

კავკასიური და ალპური ჭიანჭველების (*Myrmoxenus tamarae* (Arnol'di, 1968),
Leptothorax scamni Ruzsky, 1905, *Leptothorax acervorum* (Fabricius, 1793))

შესწავლა

ნანა გრატიაშვილი

სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებების და საინჟინრო ფაკულტეტზე სიცოცხლის
შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების
შესაბამისად

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა სადოქტორო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

დავით თარხნიშვილი – ბიოლ. მეცნ. დოქტორი, ილიას სახელმწიფო
უნივერსიტეტის პროფესორი

იურგენ ჰაინცე – დოქტორი, რეგენსბურგის უნივერსიტეტის პროფესორი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2016

სამუშაო ადგილი: ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის სამეცნიერო კვლევითი ინსტიტუტი
„ზოოლოგიის ინსტიტუტი“

მისამართი: თბილისი, გლდანის V მ/რ, 26ა კორპ. ბ. 33

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და
საინჟინრო ფაკულტეტის დეკანს,
პროფესორ დავით თარხნიშვილს,
ამავე ფაკულტეტის დოქტორანტის
ნანა გრატიაშვილის

განაცხადი

როგორც წარმოდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის „კავკასიური და ალპური ჭიანჭველების (*Myrmoxenus tamarae* (Arnol'di, 1968), *Leptothorax scamni* Ruzsky, 1905, *Leptothorax acervorum* (Fabricius, 1793)) შესწავლა“ ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული/ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ნანა გრატიაშვილი

23.05.2016

აბსტრაქტი

მოცემულ კვლევაში სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით შესწავლილ იქნა *Myrmoxenus*-ის და *Leptothorax*-ის გვარის ჭიანჭველების (Formicoxenini-ის ტრიბა) საქართველოს და ცენტრალური ევროპის წარმომადგენლები. მათ ახასიათებთ ერთმანეთისაგან განსხვავებული სასიცოცხლო ციკლები, რომლებიც აქამდე შესწავლილი არ ყოფილა.

კვლევა სამი ნაწილისგან შედგება. პირველი ნაწილი ეხება სოციალური პარაზიტის, მონათმფლობელი ჭიანჭველის *M. tamarae* (Arnoldi, 1968)-ს ტაქსონომიური სტატუსის განსაზღვრას; ასევე მისი სასიცოცხლო ციკლის და კოლონიის სტრუქტურის შესწავლას გენეტიკური მარკერების გამოყენებით. კვლევის მეორე ნაწილის მიზანია კავკასიასა და ჩრდილოეთ თურქეთში გავრცელებული *L. scamni*-ის კოლონიების სოციალური ორგანიზაციის შესწავლა. კვლევის მესამე ნაწილი ეხება „ბერგმანის წესის“ ტესტირებას ჰოლარქტიკული *L. acervorum*-ის ალპური პოპულაციების მაგალითზე.

აღნიშნულ კვლევაში მოხდა *Myrmoxenus*-ის ორი ტაქსონის - *M. tamarae*-ს, საქართველოდან და მსოფლიოში ფართოდ გავრცელებული და მორფოლოგიურად მსგავსი *M. ravouxi* (André, 1896)-ის ქცევის, მორფომეტრიის, ბირთვული და მიტოქონდრიული დნმ-ის ფრაგმენტების შედარება იმისთვის, რომ დაგვედგინა *M. tamarae* წარმომადგენდა ვალიდურ სახეობას თუ *M. ravouxi*-ის კავკასიურ პოპულაციას.

კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ამ ორი ტაქსონის მუშები აშკარად განსხვავდებოდნენ ლოკომოტორულ აქტივობასა და მორფომეტრიაში, რაც ამტკიცებს *M. tamarae*-ის ვალიდურობას. *M. tamarae* -სა და *M. ravouxi* -ის შორის ბირთვულ და მიტოქონდრიულ დნმ-ის ფრაგმენტებში გამოვლენილი მცირე განსხვავება შესაძლოა აიხსნას *Myrmoxenus*-ის გვარში არსებული ამჟამინდელი რადიაციით. ჩვენს მიერ ჩატარებული მორფომეტრიული კვლევის შედეგად *Myrmoxenus*-ის ქართული და თურქული პოპულაციები გამოიყო როგორც ცალკე სახეობა - *M. tamarae*, რომელიც გამოცალკევებულია დასავლეთ და ცენტრალურ ევროპაში გავრცელებული *M. ravouxi* -გან.

M. tamarae-ს კოლონიების გამოკვლევამ გვიჩვენა, რომ *M. tamarae*-ს ახალგაზრდა დედოფლები აინვაზირებენ *Temnothorax* - ის გვარის ჭიანჭველების ბუდეებს და მასპინძელ დედოფალს კლავენ დახრჩობით. ერთ კოლონიაში ერთდროულად ორი მონა სახეობის არსებობა (*T. crasecundus* და *T. cf. unifasciatus*) მიუთითებს *M. tamarae*-ის აქტიურ მონათმფლობელობაზე. კოლონიების გენეტიკური სტრუქტურა შეესაბამება მოსალოდნელ მონოგინიას და მონოანდრიას.

L. scamni-ის ფუნქციური ერთდედოფლიანობის დასამტკიცებლად შევისწავლეთ მისი შეწყვილების ქცევა და დავაკვირდით განაყოფიერებულ დედოფლებს, ასევე გავკვეთეთ და შევადარეთ რვა კოლონიიდან დედოფლების საკვერცხეები.

COI მიტოქონდრიული გენის სექვენსზე დაყრდნობით *Leptothorax*-ის გვარის ფილოგენეზმა დაადასტურა მოსაზრება, რომ ფუნქციური ერთდედოფლიანობა განვითარდა კონვერგენტულად *Leptothorax*-ის რამოდენიმე ტაქსონში. ასე რომ, რეპროდუქციული უნარი საკმაოდ ლაბილურია და შეიძლება სწრაფადვე შეიცვალოს ჰაბიტატის ცვლილებასთან ერთად.

ბერგმანის წესის ტესტირებისთვის გამოვიკვლიეთ *Leptothorax acervorum*-ის მუშები 53 ბუდიდან, რომლებიც მოპოვებული იყო ალპებში სხვადასხვა სიმაღლეზე. როგორც კვლევის შედეგებმა აჩვენა, ზღვის დონიდან სიმაღლის მატებასთან ერთად ხდება მუშების სხეულის ზომის, მაგრამ არა კოლონიის ზომის ზრდა.

საკვანძო სიტყვები: Formicidae, *Myrmoxenus*, მონათმფლობელი ჭიანჭველები, მორფომეტრია, ფილოგენეზი, *Leptothorax*, კოლონიის სტრუქტურა, რეპროდუქციური უნარი, შეწყვილების ქცევა, ბერგმანის წესი.

Abstract

In the present study, Georgian and Central European representatives of the ant genera *Myrmoxenus* and *Leptothorax* (tribe Formicoxenini) were investigated using different methodologies. These species have totally different life styles, which have not been studied before.

The study consists of three parts. The primary goal of the project was to define the taxonomic position of the socially parasitic, slave-making ant *M. tamaræ* (Arnoldi, 1968); To study the life history and colony structure of *M. tamaræ* using genetic markers. Another purposes were to determine social organization of colonies of another ant species, *L. scamni*, which is found in the Caucasus and Northern Turkey and to test Bergmann's rule in application to holarctic ant *Leptothorax acervorum*.

In the current study, behavior, morphometry, nuclear and mtDNA sequences were compared between two taxa of *Myrmoxenus*, *M. tamaræ*, from Georgia and the morphologically similar, wide-spread species *M. ravouxi* (André, 1896). This was done in order to determine if *M. tamaræ* is a valid species, or alternatively might represent a Caucasian population of *M. ravouxi*.

According to the results, the workers of these two taxa differed conspicuously in locomotor activity and in morphometry, that supports view about *M. tamaræ*'s validity. Small difference between nuclear and mitochondrial DNA fragments of *M. tamaræ* and *M. ravouxi*, might be explained by a recent radiation of the genus *Myrmoxenus*. According to the results of morphometry, Georgian and Turkish populations of the genus *Myrmoxenus* belong to the species-*M. tamaræ*, separated from Western and Central European populations of *M. ravouxi*.

The study of colonies of *M. tamaræ* showed that young queens invade *Temnothorax* nests and kill the host queen by throttling. The simultaneous presence of two slave species in a single colony (*T. crasecundus* and *T. cf. unifasciatus*) indicates that *M. tamaræ* is an active slave-maker. The genetic structure of the colonies matched that expected for a monogynous and monandrous ants.

To document functional monogyny in *L. scamni*, the mating behavior was studied, the behavior of mating queens were observed, and the ovaries of nestmate queens from eight colonies were dissected.

A phylogeny of *Leptothorax* species based on partial CO I sequences corroborated the view that functional monogyny has evolved convergently in several taxa of *Leptothorax*. It appears that this is a highly variable trait that can rapidly adapt to habitat changes.

To test Bergmann's rule, we studied 53 nests of *Leptothorax acervorum* (workers only), collected along altitudinal gradients in Alps. Our results showed that the body size of workers but not the colony size increases with altitude.

Key words: Formicidae, *Myrmoxenus*, slave making ants, morphometry, phylogeny, *Leptothorax*, colony structure, reproductive skew, mating behavior, Bergmann's rule.

მადლობა

მადლობა მინდა გადავუხადო ჩემს ხელმძღვანელებს, რეგენსბურგის უნივერსიტეტის პროფესორს, იურგენ ჰაინცეს იმ შეუფასებელი დახმარებისთვის, რაც გამიწია მან ხუთი წლის განმავლობაში, ასევე ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის პროფესორს დავით თარხნიშვილს გაწეული დახმარებისთვის და მხარდაჭერისთვის.

განსაკუთრებული პატივისცემით მინდა მოვიხსენიო გერმანელი მეცნიერი, გოერლიცის ბუნების ისტორიის მუზეუმის ენტომოლოგიის განყოფილების ხელმძღვანელი, დოქტორი ბერნჰარდ საიფერტი, რომელმაც გამიწია მნიშვნელოვანი კონსულტაციები ტაქსონომიის კუთხით.

ასევე დიდი პატივისცემით მინდა ავღნიშნო ფრანგი კოლეგა, დოქტორი აბელ ბერნადოუ და მადლობა გადავუხადო გაწეული დახმარებისა და რჩევებისთვის, ქცევითი ექსპერიმენტების დროს; დოქტორ ანდრეას შულცს, დოქტორ ალფრედ ბუშინგერს და უკრაინელ ტაქსონომისტ ალექსანდრე რადჩენკოს, მირმეკოლოგიური კოლექციების თხოვებისთვის, რაც უმნიშვნელოვანესი იყო ჩემი ნაშრომის შესრულებისთვის.

სადისერტაციო ნაშრომი მომზადდა რეგენსბურგის უნივერსიტეტის ზოოლოგიის ინსტიტუტის ევოლუციის, ქცევის და გენეტიკის განყოფილების ბაზაზე და დიდი მადლობა მინდა ვუთხრა მთელ კოლექტივს გაწეული დახმარებისთვის და გვერდში დგომისთვის.

ასევე მინდა მადლიერება გამოვხატო ილიას უნივერსიტეტის ადმინისტრაციის მიმართ, გაწეული ფინანსური მხარდაჭერისათვის, რომლის დახმარებითაც მე განვახორციელე ვიზიტი რეგენსბურგის უნივერსიტეტში, გერმანიაში, კვლევების ნაწილის ჩასატარებლად.

აღნიშნული სადისერტაციო ნაშრომი განხორციელდა შემდეგი სამეცნიერო-კვლევითი გრანტების საშუალებით:

1. „ბორჯომის ხეობის ჭიანჭველები (Formicidae): ტაქსონომია, ბიოეკოლოგია და კონსერვაცია“, ახალგაზრდა მეცნიერთათვის საქართველოს პრეზიდენტის სამეცნიერო გრანტი (GNSF/PRES08/6-341);

2. “ საქართველოს ენდემის, მონათმფლობელი ჭიანჭველა *Myrmoxenus tamarae* (Arnol'di, 1968)-ს პოპულაციური ბიოლოგიის შესწავლა“ (DAAD-ის სტიპენდია);
3. „ენდემური, მონათმფლობელი ჭიანჭველის *Myrmoxenus tamarae* (Arnol'di, 1968)-ს ტაქსონომია, პოპულაციური ბიოლოგია და სასიცოცხლო ისტორია“ (ახალგაზრდა მეცნიერთა უცხოეთში სამეცნიერო-კვლევითი სტაჟირება, შოთა რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდი, YS/83/7-110/11).
4. “გვარ *Leptothorax* Mayr, 1855 - ის ჭიანჭველების ეკოლოგიური, გენეტიკური და ეთოლოგიური შესწავლა“ (ახალგაზრდა მეცნიერთა უცხოეთში სამეცნიერო-კვლევითი სტაჟირება, შოთა რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდი, YS/51/7-110/14).
5. “ბილატერული კოლაბორაცია რეგენსბურგის უნივერსიტეტსა და ილიას უნივერსიტეტის, ენტომოლოგიის და ბიოკონტროლის ცენტრს შორის მირმეკოლოგიური კვლევისთვის” (DFG, HE 1623/30-1).
6. „ენდემური, მოწყვლადი ჭიანჭველის *Myrmoxenus tamarae* - ს გამოკვლევა და ადგილობრივი მოსახლეობის განათლება ჭიანჭველების კონსერვაციის საკითხში ბორჯომის რაიონში (სამცხე-ჯავახეთის რეგიონი, საქართველო)“. (Rufford Small Grants for Nature Conservation, 11054-1).
7. „მოწყვლადი ჭიანჭველებისა და ჭიანჭველებთან ასოცირებული პეპლების გამოკვლევა და ადგილობრივი მოსახლეობის განათლება მწერების კონსერვაციის საკითხში სამცხე-ჯავახეთის რეგიონში, საქართველო“ (Rufford Small Grants for Nature Conservation, 14711-2).

სარჩევი

ცხრილების, სურათების და დიაგრამების ჩამონათვალი	8
შესავალი	10
სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა	15
საქართველოში ჭიანჭველების შესწავლის ისტორია	15
სოციალური პარაზიტიზმი და <i>Myrmoxenus</i> -ის გვარის ჭიანჭველების ბიოლოგია, <i>Myrmoxenus tamarae</i> (Arnol'di, 1968)	15
<i>Leptothorax</i> -ის გვარის ჭიანჭველების ბიოლოგია, <i>Leptothorax scamni</i> Ruzsky, 1905	18
ბერგმანის წესი, <i>Leptothorax acervorum</i> (Fabricius, 1793)	20
კვლევის მასალა და მეთოდების მიმოხილვა	22
ჭიანჭველების შეგროვება და შენახვა	22
ქცევითი ექსპერიმენტები	26
მორფომეტრია	31
საკვერცხეების გაკვეთა	33
გენეტიკური შესწავლა	34
შედეგები	37
თავი 1. <i>Myrmoxenus tamarae</i> - ს კვლევის შედეგები	37
ქცევითი ექსპერიმენტის შედეგი	37
მორფომეტრიული კვლევის შედეგი	37
გენეტიკური კვლევის შედეგი	38
სოციოგენეტიკური ანალიზის შედეგები	41
<i>Myrmoxenus tamarae</i> - ს მასპინძელი სახეობები	41
თავი 2. <i>Leptothorax scamni</i> -ის კვლევის შედეგები	42
<i>Leptothorax scamni</i> -ის შეწყვილების ექსპერიმენტის შედეგი	42
საკვერცხეების გაკვეთის შედეგი	44
<i>Leptothorax</i> -ის გვარის ფილოგენეზი	45

თავი 3. <i>Leptothorax acervorum</i> -ის მუშების სხეულის ზომის დამოკიდებულება	
სიმაღლის ცვლილებებთან.	47
დისკუსია	47
დასკვნები	52
ციტირებული ლიტერატურა	53
დისერტაციის ფარგლებში მომზადებული პუბლიკაციები	65

ცხრილების, სურათების და დიაგრამების ჩამონათვალი

ცხრილი 1. <i>Myrmoxenus</i> – ის გვარის სახეობები, მასპინძლები და გავრცელებები . . .	გვ 16
სურათი 1. ბორჯომის რაიონი, სოფ. დაბა. <i>Myrmoxenus tamarae</i> -ს მოპოვების ადგილი.	გვ 22
სურათი 2. <i>Myrmoxenus tamarae</i> -ს კოლონია ფიჭვის ქერქის ქვეშ	გვ 23
სურათი 3. <i>M. ravouxi</i> -ის კოლონია კლდის ნაპრალებში	გვ 23
სურათი 4. <i>Leptothorax scamni</i> Ruzsky, 1905-ის ბუდე სოჭის ქერქის ქვეშ	გვ 24
სურათი 5. ჰაფელეკარის მთები, (ინსბრუკი, ავსტრია).	გვ 25
სურათი 6. სამგანყოფილებიანი ბუდე ჭიანჭველების კოლონიების ლაბორატორიულ პირობებში განსათავსებლად	გვ 26
სურათი 7. სპონტანური ლოკომოტორული ქცევის საექსპერიმენტო არენა	გვ 28
სურათი 8. შესაწყვილებელი არენა - პეტრის ჯამი, რომელიც დაფარულია თაბაშირის თხელი ფენით	გვ 30
სურათი 9. მორფომეტრიაში გამოყენებული <i>Myrmoxenus</i> -ის სახეობების მოპოვების ადგილები	გვ 31
სურათი 10. <i>Myrmoxenus tamarae</i> (Arnol'di, 1968). a - ტიპის მოპოვების	

ადგილი საქართველოში; b – მუშა; c – დედოფალი; d – მამრი	გვ 32
სურათი 11. მოლეკულურ კვლევაში გამოყენებული <i>Myrmoxenus</i> -ის სახეობების მოპოვების ადგილები	გვ 34
სურათი 12. <i>M. tamarae</i> -ს და <i>M. ravouxi</i> -ის მუშების მორფომეტრიული მონაცემების NC-Ward კლასტერიზაცია	გვ 39
სურათი 13. <i>Myrmoxenus</i> -ის გვარის რამოდენიმე ტაქსონის მიტოქონდრიული დნმ -ის (COI/COII) 1 430 ბაზურ წყვილზე დაფუძნებული ბაიეზიური ხე	გვ 40
სურათი 14. <i>M. tamarae</i> -ს დედოფლის მიერ <i>T. crasecundus</i> -ის დედოფლის დახრჩობა ლაბორატორიულ პირობებში	გვ 42
სურათი 15. <i>Leptothorax scamni</i> -ის მდედრების სპერმით სავსე სპერმათეკა	გვ 44
სურათი 16. <i>Leptothorax scamni</i> -ის და მისი მონათესავე სახეობების მიტოქონდრიული COI გენის 820 ბაზურ წყვილზე დაფუძნებული ბაიეზიური კონსესუსის ხე	გვ 46
დიაგრამა 1. სექსუალური აქტივობის განრიგი <i>Leptothorax scamni</i> - ის კოლონიებში	გვ 43
დიაგრამა 2. <i>L. acervorum</i> -ის მუშების თავის მაქსიმალური სიგანის დამოკიდებულება ზღვის დონიდან სიმაღლის ცვლილებებთან	გვ 48

შესავალი

მაღალი სახეობრივი მრავალფეროვნებით და ენდემიზმით, ასევე ბიომრავალფეროვნების განადგურების მაღალი რისკების მიხედვით მსოფლიოში გამოყოფილია ბიომრავალფეროვნების 34 ცხელი წერტილი, რომელთა შორისაა კავკასიის ეკორეგიონი (Zazanashvili et al., 1999; Myers et al., 2000; Zazanashvili et al., 2004).

ჭიანჭველები სოციალური მწერებია, რომლებიც მიეკუთვნებიან სიფრიფანაფრთიანების (Hymenoptera) რიგსა და ოჯახ Formicidae–ს (Bolton, 2003; Ward, 2007). ჭიანჭველები უდავოდ ევოლუციურად წარმატებულ ჯგუფს წარმოადგენენ. მათი კომპლექსური კოოპერატიული ცხოვრების ნირი განაპირობებს მათ არსებობას მრავალფეროვან ეკოლოგიურ ნიშაში (Wilson, 1971; Hölldobler & Wilson, 1990, 2008), თუმცა ამავე დროს ხდის განსაკუთრებულად მოწყვლადს პათოგენების და პარაზიტების ზემოქმედების გამო (Schmid-Hempel, 1998).

ჭიანჭველები გამოიყენებიან როგორც ბიომრავალფეროვნებისა და გარემოს ეკოლოგიური ცვალებადობის ინდიკატორები (Andersen, 1997; Joshua, 1998; Andersen et al., 2002). ზოგიერთი სახეობა გამოიყენება მავნებელი მწერების ბიოლოგიურ კონტროლში (Hölldobler & Wilson, 1990). არსებობენ ჭიანჭველები, რომლებსაც გამოიყენებენ კულინარიასა (DeFoliart, 1999) და მედიცინაში (Gottrup & Leaper, 2004; Gudger, 1925; Sapolsky & Robert, 2001). თუმცა, ზოგიერთ მათგანს დიდი ზიანიც მოაქვთ ადამიანისთვის, ვინაიდან საფრთხეს უქმნიან ადამიანის ჯანმრთელობას და აზიანებენ სასოფლო-სამეურნეო კულტურებს და შენობებს (McGain & Winkler, 2002; Haddad et al., 2005).

დღეისათვის მსოფლიოში რეგისტრირებულია ჭიანჭველების 15 000–ზე მეტი სახეობა (<http://www.antwiki.org>, 2015), საქართველოში - 143 სახეობა (Gratiashvili & Barjadze, 2008; Seifert & Csösz, 2015).

მიუხედავად იმისა, რომ ჭიანჭველები გვხვდებიან ყველგან და გამოირჩევიან შესამჩნევი აქტიურობით, მათაც ემუქრებათ გადაშენების მაღალი საფრთხე: მათი პოპულაციების ეფექტური ზომა ხშირად არის ბევრად მცირე, ვიდრე ინდივიდების

რაოდენობა, რადგან უმეტეს ინდივიდებს (მუშებს) გამრავლების უნარი არ გააჩნიათ (Seppä, 2008). ეს განსაკუთრებით ეხება ჭიანჭველათა მცირე ჯგუფს - სოციალურ პარაზიტებს.

მსოფლიოში რეგისტრირებული ჭიანჭველების 15 000-ზე მეტი სახეობიდან, 150 მიეკუთვნება სოციალურ პარაზიტებს, რომლებიც დამოკიდებულნი არიან სხვა სახეობის ჭიანჭველებზე თავიანთი სასიცოცხლო ციკლის გარკვეული პერიოდის განმავლობაში (Hölldobler & Wilson, 1990; Buschinger, 2009).

მონათმფლობელი ჭიანჭველის ახლგაზრდა, განაყოფიერებული დედოფალი აინვაზირებს მასპინძელი სახეობის ბუდეს, თავისი მანდიბულების მეშვეობით ახრჩობს მასპინძლის დედოფალს, რაც ხშირად კვირების განმავლობაში გრძელდება, ხოლო დამონებული მასპინძლის მუშები ზრდიან პარაზიტის შთამომავლობას. მონათმფლობელი ჭიანჭველები გვხვდებიან მასპინძელი სახეობის მხოლოდ დიდ და ხშირ პოპულაციებში და რთულად საპოვნელნი არიან. ისინი მიეკუთვნებიან იშვიათ ჭიანჭველებს და თითქმის ყველა სახეობა შეტანილია IUCN-ის წითელ ნუსხაში როგორც მოწყვლადი ან გადაშენების პირას მყოფი (Social Insects Specialist Group, 1996).

სოციალური მწერების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი თვისებაა შრომის ეფექტური და სწორი განაწილება. დედოფლები რჩებიან ბუდის შიგნით და იძლევიან შთამომავლობას, ხოლო მუშები, რომლებიც უმეტეს შემთხვევებში არიან სტერილურები, ზრუნავენ შთამომავლობაზე, აგროვებენ საკვებს და იცავენ ბუდეს. მდედრების განაყოფიერების შემდეგ მამრები იღუპებიან, ხოლო დედოფლები იწყებენ ახალი კოლონიების დაფუძნებას (Hölldobler & Wilson, 1990).

მიუხედავად მათი თანასაზოგადოებების ჰარმონიულობისა, ხშირად ადგილი აქვს კონფლიქტს რეპროდუქციის განაწილებასთან დაკავშირებით. ჯგუფის წევრებს შორის რეპროდუქციის განაწილებას „რეპროდუქციული უნარი“ (“reproductive skew”) ეწოდება (Trettin et al., 2011; Trettin et al., 2014; Heinze & Gratiashvili, 2015). ზოგიერთ სოციალურ სახეობებში ასეთი კონფლიქტის გადაჭრა ხდება დომინანტური იერარქიების ფორმირებით, სადაც ერთი ან მხოლოდ რამდენიმე დომინანტი დედოფალი ახდენს რეპროდუქციის მონოპოლიზებას („მაღალი რეპროდუქციული უნარი“). სხვა სახეობებში

ჯგუფის ყველა დედოფალი წარმოშობს შთამომავლობის თანაბარ რაოდენობას („დაბალი რეპროდუქციული უნარი“) (Bourke et al. 1997).

„რეპროდუქციული უნარი“ მეტად ცვალებადია სოციალური სიფრიფანაფრთინების ახლო მონათესავე სახეობებშიც კი (Hammond et al., 2006). „მაღალი რეპროდუქციის უნარი“ დადასტურებულია ჭიანჭველებში მხოლოდ ტრიბა *Formicoxenini*-ის გვარების *Formicoxenus* Mayr, 1855-ის და *Leptothorax* Mayr, 1855-ის ზოგიერთ სახეობებში (Buschinger, 1968a; Buschinger & Winter, 1976; Buschinger et al., 1980; Heinze & Buschinger, 1988; Ito, 1990; Buschinger & Francoeur, 1991; Felke & Buschinger, 1999; Gill et al., 2009).

ჩემი სადისერტაციო კვლევა ეხება *Formicoxenini*-ის ტრიბაში შემავალი ორი გვარის, *Myrmoxenus*-ის და *Leptothorax*-ის წარმომადგენლებს, რომლებსაც ახასიათებთ ერთმანეთისაგან განსხვავებული სასიცოცხლო ციკლები.

ნაჩვენებია, რომ სახეობების გამიჯვნის პროცესში დიდი მნიშვნელობა ენიჭება სხვადასხვა მიდგომების ერთობლივ გამოყენებას, როგორცაა მიტოქონდრიული და ბირთვული მარკერების, მორფოლოგიური, ქცევითი და ეკოლოგიური კვლევები (Steiner et al., 2004; Seifert & Goropashnaya, 2004; Schlick-Steiner et al., 2005; Ross et al., 2010; Steiner et al., 2010; Seppä et al., 2011; Gotzek et al., 2012; Blaimer & Fisher, 2013). შესაბამისად, ჩემი კვლევების განსახორციელებლად გამოვიყენე სხვადასხვა მეთოდების (მორფოლოგიური, გენეტიკური, ეთოლოგიური და ეკოლოგიური) კომბინაცია.

ჩემი სადისერტაციო კვლევის მიზნებს წარმოადგენდა:

- მომეხდინა *M. tamarae*-ს ახალი ეგზემპლარების მოძიება მათი ტიპის მოპოვების ადგილიდან და განმესაზღვრა *M. tamarae*-ს ტაქსონომიური სტატუსი;
- შემესწავლა *M. tamarae*-ს სასიცოცხლო ციკლი და გენეტიკური მარკერების დახმარებით გამერკვია მისი კოლონიის სტრუქტურა;
- მომეხდინა *M. tamarae*-ს მასპინძელი სახეობების იდენტიფიცირება და განმესაზღვრა მასპინძელ-სპეციფიურობა;

- მომეხდინა *L. scamni*-ის ახალი კოლონიების მოძიება ტიპის მოპოვების ადგილიდან, შემესწავლა შეწყვილების ქცევა და შემემოწმებინა მასში ფუნქციური ერთდედოფლიანობის არსებობის ჰიპოთეზა;
- შემესწავლა *Leptothorax*-ის გვარის ფილოგენეზი;
- ჰოლარქტიკული *Leptothorax acevorum* (Fabricius, 1793)-ის მაგალითზე შემესწავლა იწვევდა თუ არა გარემო პირობების ცვლილებები სხეულის და კოლონიის ზომის ცვლილებებს.

გამოქვეყნებულია სამი პუბლიკაცია იმპაქტ-ფაქტორიან ჟურნალებში, მეოთხე მიღებულია გამოსაქვეყნებლად ჟურნალში Ecological Entomology. ასევე, ერთი სტატია გამოქვეყნებულია არარეფერირებად ჟურნალში. ამ პუბლიკაციების ერთობლიობა წარმოადგენს სადისერტაციო ნაშრომის ძირითად ნაწილს და ქართული რეფერატის შემდეგაა ჩართული.

1. **Gratiashvili N.**, Bernadou A., Suefujii M., Seifert B. & Heinze J. (2014) The Caucaso-Anatolian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Arnoldi, 1968) and its more widely distributed congener *Myrmoxenus ravouxi* (André, 1896): a multidisciplinary comparison (Hymenoptera: Formicidae). *Organisms, Diversity & Evolution* 14 : 259–267
2. **Gratiashvili N.**, Suefujii M., Barjadze Sh. & Heinze J. (2015) Morphometrics, life history and population biology of the Ponto-Caucasian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Hymenoptera: Formicidae). *European Journal of Entomology* 112 (1) : 175–179
3. Heinze J. & **Gratiashvili N.** (2015) High skew in the Caucasus: functional monogyny in the ant *Leptothorax scamni*. *Insectes Sociaux* , 62 (4): 385-392

4. Bernadou A., Römermann C., **Gratiashvili N.** & Heinze J. (2016) Body size but not colony size increases with altitude in the Holarctic ant, *Leptothorax acervorum*. *Ecological Entomology*, (under review).

5. **Gratiashvili, N.** & Barjadze, Sh. (2008) Checklist of the ants (Formicidae Latreille, 1809) of Georgia. *Proceedings of the Institute of Zoology*, 23: 130-146.

სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

საქართველოში ჭიანჭველების შესწავლის ისტორია

საქართველოში ჭიანჭველების შესწავლა დაიწყო XIX საუკუნის 80-იანი წლების ბოლოდან. ქართული მირმეკოფაუნის შესწავლაში წვლილი შეიტანეს როგორც ქართველმა, ასევე უცხოელმა მეცნიერებმა: კ. არნოლდიმ, გ. დლუსკიმ, ა. ფორელმა, თ. ჟიჟილაშვილმა, ვ. კარავაევმა, ნ. ნასონოვმა, მ. რუსსკიმ, ბ. საიფერტმა, ა. რადჩენკომ და გ. არაქელიანმა. თუმცა მათ მიერ განხორციელებული კვლევები საქართველოს მირმეკოფაუნაზე მხოლოდ ტაქსონომიური და ნაწილობრივ ეკოლოგიურ-გეოგრაფიული ხასიათის იყო (Gratiashvili & Barjadze, 2008).

სოციალური პარაზიტიზმი და Myrmoxenus-ის გვარის ჭიანჭველების ბიოლოგია, Myrmoxenus tamarae (Arnol'di, 1968)

სოციალური პარაზიტიზმი - სოციალური მწერების პარაზიტული დამოკიდებულება ერთ ან რამდენიმე თავისუფლად მცხოვრებ სოციალურ სახეობაზე -არის თვისება, დამახასიათებელი კრაზანებისთვის, ფუტკრებისთვის და განსაკუთრებით მრავალფეროვანია ჭიანჭველებში (Buschinger, 1986; 2009; Holldobler & Wilson, 1990). მონათმფლობელობის (დულოზისი), დროებითი პარაზიტიზმის, უმუშო პარაზიტიზმის ანუ ინქვილინიზმის და სტუმარი ჭიანჭველების ფენომენის შესწავლა ხდებოდა 1810 წლიდან პიერ ჰუბერის და 1859 წლიდან ჩარლზ დარვინის მიერ (Huber, 1810; Darwin, 1859). ჭიანჭველებში სოციალური პარაზიტიზმის უფრო დაწვრილებითი მიმოხილვა მოგვიანებით, 1990 წელს გამოქვეყნდა ბ. ჰოლდობლერის და ე. ვილსონის წიგნში "The Ants" (Holldobler & Wilson, 1990). 2001 წელს კ. დეტორემ და ი. ჰაინცემ გამოსცეს მიმოხილვა ამ საკითხის შესახებ (D'ettore & Heinze, 2001). მიუხედავად იმისა, რომ ბოლო ოცი წლის მანძილზე მრავალი დამატებითი დეტალი იქნა გამოკვლეული, ჭიანჭველებში სოციალური პარაზიტიზმი რჩება საინტერესო და ამოუწურავ თემად.

ტრიბა Formicoxenini განსაკუთრებით მდიდარია სოციალური პარაზიტებით, სადაც მონათმფლობელობა წარმოიშვა ექვსჯერ ერთმანეთისგან დამოუკიდებლად (Beibl et al.,

2005). მონათმფლობელი ჭიანჭველებიდან *Myrmoxenus* Ruzsky, 1902 (ყოფილი *Epimyrma* Emery, 1915) წარმოადგენს განსაკუთრებით საინტერესო გვარს მისი ფართო გეოგრაფიული საზღვრებითა და სასიცოცხლო ციკლების მრავალფეროვნებით. იგი მონათმფლობელ ჭიანჭველებში სახეობრივად ყველაზე მდიდარი ტაქსონია, თუმცა ცალკეული სახეობები მორფოლოგიურად ხშირად კარგად გამიჯნული არ არის (Gratiashvili et al., 2014).

ცნობილია *Myrmoxenus* - ის გვარის შემდეგი სახეობები (ცხრილი 1):

ცხრილი 1. *Myrmoxenus* – ის გვარის სახეობები, მასპინძლები და გავრცელებები (<http://www.antwiki.org>, 2016)

N	სახეობის სახელი	მასპინძელი ჭიანჭველის სახეობა	გავრცელება
1	<i>Myrmoxenus adlerzi</i> (Douwes, Jessen & Buschinger, 1988)	<i>Temnothorax exilis</i> (Emery, 1869)	საბერძნეთი
2	<i>Myrmoxenus africana</i> (Bernard, 1948)	-	ალჟირი
3	<i>Myrmoxenus algeriana</i> (Cagniant, 1968)	<i>Temnothorax curtulus</i> (Santschi, 1923), <i>T. curtulus gentilis</i> (Santschi, 1923), <i>T. monjauzei</i> (Cagniant, 1968), <i>T. spinosus</i> (Forel, 1909)	ალჟირი, მაროკო
4	<i>Myrmoxenus bernardi</i> (Espadaler, 1982)	<i>Temnothorax gredosi</i> (Espadaler & Collingwood, 1982)	ესპანეთი
5	<i>Myrmoxenus birgatae</i> (Schultz, 1994)	<i>Temnothorax gracilicornis nivarianus</i> (Santschi, 1925)	ესპანეთი-კანარის კუნძულები
6	<i>Myrmoxenus corsica</i> (Emery, 1895)	<i>Temnothorax exilis</i> (Emery, 1869)	საფრანგეთი-კორსიკა, ცენტრალური იტალია და ხორვატია
7	<i>Myrmoxenus gordiagini</i> Ruzsky, 1902	<i>Temnothorax lichtensteini</i> (Bondroit, 1918), <i>T. serviculus</i> (Ruzsky, 1902)	ხორვატია, მონტენეგრო, სლოვენია, ბულგარეთი, საბერძნეთი, ყაზახეთი, თურქეთი და რუსეთი
8	<i>Myrmoxenus kraussei</i> (Emery, 1915)	<i>Temnothorax recedens</i> (Nylander, 1856)	ცენტრალური და სამხრეთ ევროპა, ჩრდილოთ აფრიკა და თურქეთი
9	<i>Myrmoxenus ravouxi</i> (Andre, 1896)	<i>Temnothorax affinis</i> (Mayr,	ცენტრ. და სამხრ. ევროპა

		1855), <i>T. interruptus</i> (Schenck, 1852), <i>T. nigriceps</i> (Mayr, 1855), <i>T. unifasciatus</i> (Latreille, 1798) და <i>Temnothorax</i> -ის გვარის სხვა სახეობები	
10	<i>Myrmoxenus stumperi</i> (Kutter, 1950)	<i>Temnothorax tuborum</i> (Fabricius, 1775)	საფრანგეთი, შვეიცარია
11	<i>Myrmoxenus tamarae</i> (Arnol'di, 1968)	<i>Temnothorax crasecundus</i> Seifert & Csösz, 2015, <i>T. cf. unifasciatus</i> (Latreille, 1798)	საქართველო, თურქეთი
12	<i>Myrmoxenus zaleskyi</i> (Sadil, 1953)	-	ჩეხეთი

გვარ *Myrmoxenus*-ის დედოფლები კოლონიებს აარსებენ *Temnothorax*-ის გვარის სხვადასხვა სახეობების ბუდეების დაინვაზირებით (Buschinger, 1989). *Myrmoxenus*-ის კოლონიები რამდენიმე ათეულიდან ასეულამდე ზრდასრული ინდივიდისგან შედგება, რომლებიც არიან 2.5–5 მმ სიგრძის. ბუდეები გვხვდება ერთკამერიანი ღრუს სახით ხეებში ქერქის ქვეშ ან კლდის ნაპრალებში. შესაძლებელია სრული კოლონიების მოგროვება, აღწერა და ლაბორატორიულ პირობებში წლების მანძილზე დაკვირვებების ჩატარება (Buschinger, 1968; 1987; Buschinger & Winter, 1983).

Myrmoxenus tamarae (Arnol'di, 1968) არის ამ გვარის ერთადერთი წარმომადგენელი საქართველოდან. ამ სახეობის 2 მუშა ინდივიდი მოპოვებული იყო თ. ჟიჟილაშვილის მიერ ბორჯომის რაიონის სოფ. დაბაში *Temnothorax*-ის გვარის ჭიანჭველების ბუდეში 1963 წელს (Жижилაშვილი, 1967). ზემოაღნიშნულ ინდივიდებზე დაყრდნობით 1968 წელს კ. არნოლდიმ აღწერა მეცნიერებისათვის ახალი სახეობა *M. tamarae* (Арнольд, 1968), რომელიც საქართველოს ენდემია და შეტანილია IUCN-ის ნუსხაში როგორც მოწყვლადი სახეობა–VU D2 კატეგორიით (Social Insects Specialist Group, 1996). ჩვენს გამოკვლევამდე არაფერი არ იყო ცნობილი *M. tamarae*-ს შესახებ გარდა სახეობის მოკლე აღწერისა. *M. tamarae*-ს მუშების აღწერის მწირ ინფორმაციაზე დაყრდნობით არსებობდა მოსაზრება, რომ იგი შესაძლოა ყოფილიყო მსოფლიოში ფართოდ გავრცელებული *M. ravouxi* (André, 1896)-ის სინონიმი (Buschinger, 1989; Schulz & Sanetra, 2002).

Leptothorax -ის გვარის ჭიანჭველების ბიოლოგია, *Leptothorax scamni* Ruzsky, 1905

ბოლო ორი ათწლეულის მანძილზე სოციობიოლოგიური კვლევების ძირითად საკითხებს სოციალური მწერების კოლონიებში დედოფლების, განაყოფირებული და რეპროდუქციული უნარის მქონე მდედრების რაოდენობა და მათი რეგულაცია წარმოადგენს. კოლონიები შეიძლება იყოს ერთდედოფლიანი, მრავალდედოფლიანი ან ფუნქციურად ერთდედოფლიანი (როდესაც კოლონიაში მრავალი დედოფალია, თუმცა ყველანი არ არიან პოტენციურად კვერცხის მდებლები, არამედ მხოლოდ ერთი წარმოადგენს რეპროდუქციულ დედოფალს).

ფუნქციონალური ერთდედოფლიანობა ანუ „ფუნქციონალური მონოგინია“ თავდაპირველად აღწერა ლ. პარდიმ (Pardi, 1940, 1946) ქალაქის კრაზანაში *Polistes gallicus* Linnaeus, 1761 და აღმოჩნდა, რომ იშვიათია ჭიანჭველებში. გარდა *Solenopsis invicta*-სი, სადაც ის გვხვდება პოლიგინიასა და მონოგინიასთან ერთად, ფუნქციონალური ერთდედოფლიანობის არსებობა დამტკიცებულია ტრიბა Formicoxenini-ის ზოგიერთ სახეობებში: *Leptothorax acervorum* (Fabricius, 1793) *Leptothorax gredleri* (Buschinger, 1968a), *Leptothorax sphagnicolus* (Francoeur, 1986) და ქსენობიოტური გვარის *Formicoxenus* Mayr, 1855-ის სახეობების უმეტესობაში (Buschinger & Winter, 1976; Buschinger, 1979; Buschinger et al., 1980; Francoeur et al., 1985; Trettin et al., 2011).

გვარი *Leptothorax* მოიცავს პატარა და საშუალო ზომის ჭიანჭველების 20-მდე სახეობას, რომლებიც ცხოვრობენ პატარა კოლონიების სახით ქვების ქვეშ, ლპობად ხეებში ან ტოტების სიდრუეებში (Heinze et al., 1993). ეს გვარი ძირითადად ჰოლარქტიკაშია გავრცელებული. საქართველოში გვხვდება 4 სახეობა: *Leptothorax acervorum* (Fabricius, 1793), *L. gredleri* Mayr, 1855, *L. muscorum* (Nylander, 1846), და *L. scamni* Ruzsky, 1905 (Gratiashvili & Barjadze, 2008). პირველი სამი სახეობა გვხვდება მსოფლიოს სხვადასხვა ადგილას და საკმაოდ კარგადაა შესწავლილი, ხოლო *L. scamni* გვხვდება კავკასიასა და ჩრდილოეთ თურქეთში და მასზე ძალიან მწირი ინფორმაციაა ცნობილი. ამ გვარის სქესობრივი თაობა არ წყვილდება დიდი ნუპტიალური გუნდების სახით, არამედ უფრო ხშირად იყენებენ „მამრების მოხმობის“

ქცევას შესაწყვილებელი პარტნიორის მოსახიბლად (Buschinger, 1968c, 1971; Heinze et al., 1992; Oberstadt & Heinze, 2003).

გვარ *Leptothorax*-ის კოლონიებში მრავალი დედოფლის ერთდროული თანაარსებობა შეწყვილების შემდეგ ახალგაზრდა დედოფლების მშობლიურ ბუდეში დაბრუნების ტიპური შედეგია (Douwes et al., 1987; Stille et al., 1991; Heinze, 1995; Bourke et al., 1997; Hammond et al., 2006; Bernadou & Heinze, 2013). ზოგიერთ სახეობებში ბუდის ამხანაგი დედოფლები სრულიად ტოლერანტულები არიან ერთმანეთის მიმართ და ყველანი დებენ კვერცხებს („ფაკულტატიური პოლიგინია“) (Buschinger, 1968a; Bourke, 1991, 1993; Heinze, 1993). სხვა სახეობებში დედოფლები ამყარებენ რეპროდუქციულ იერარქიას შემოდგომით და ჰიბერნაციის შემდეგ და მხოლოდ ყველაზე მაღალ საფეხურზე მყოფი დედოფალი იწყებს კვერცხების დებას გაზაფხულზე („ფუნქციური მონოგინია“) (Buschinger, 1968a; Heinze & Smith, 1990; Heinze et al., 1992; Ito, 2005). სოციალური და რეპროდუქციული იერარქიის დამყარების შემდეგ, მუშებს იერიში მიაქვთ მეორეხარისხოვან დედოფლებზე, რომლებიც იწყებენ ოციტების მომწიფებას და მათ ყრიან ბუდიდან (Heinze & Smith, 1990; Gill & Hammond, 2011; Trettin et al., 2011). ასე რომ, დომინანტ დედოფალს, როგორც ჩანს, აქვს სრული კონტროლი შთამომავლობაზე კოლონიაში, იქნება ეს პირდაპირი კონტროლი თუ არაპირდაპირი, მუშების მეშვეობით.

“დაბალი რეპროდუქციული უნარი” და შესაბამისად „ფაკულტატიური პოლიგინია“ გვხვდება ჩრდილოეთ ნახევარსფეროების ვრცელი, ერთგვაროვანი წიწვოვანი ტყეების *Leptothorax*-ის კოლონიებში (მაგ. ცენტრალური და ჩრდილოეთ ევროპის *L. acervorum*-ში, *L. canadensis*-ში, *L. muscorum*-ში; (Buschinger, 1968a; Bourke & Heinze, 1994; Heinze et al., 1995).

„მაღალი რეპროდუქციული უნარის“ მქონე სახეობები *L. gredleri*, *L. sphagnicolus*, და *L. sp. A* (ახლახანს რეფერირებული, როგორც “*Leptothorax AF-erg*,” (Ellison et al., 2012)) და *L. acervorum*-ის ფუნქციონალურად მონოგინური პოპულაციები, ცხოვრობენ არაერთგვაროვან ჰაბიტატებში, როგორცაა მდელოები ხშირ ტყეებში, ჭაობიანი ადგილების პატარა, მშრალი ნაწილები, კლდოვანი წარმონაქმნების კიდეები, ან მშრალი

ტყეების ტენიანი ადგილები (Bourke & Heinze, 1994; Felke & Buschinger, 1999; Trettin et al., 2011).

Leptothorax scamni თავდაპირველად აღწერილი იყო როგორც *L. muscorum* –ის კავკასიური ვარიანტი *Leptothorax (Mychothorax) muscorum* var. *scamni* აბასთუმანთან ახლოს, ბაღის სკამზე მოპოვებულ რამოდენიმე მუშაზე დაყრდნობით (ლათინურად “*scamnum*“ ნიშნავს სკამს) (Рузский, 1905). კ. არნოლდომ (Arnol'di, 1977) აიყვანა ის სახეობის რანგში, დამატებითი ინფორმაციის მოწოდების გარეშე. ოფიციალურ ხელახალ აღწერას და ნეოტიპების აღნიშვნას (Heinze et al., 1993) თან დაერთო ახალი ნიმუშების მოპოვება ჩრდილოეთ თურქეთსა და ჩრდილოეთ კავკასიაში. მიუხედავად ინტენსიური საველე სამუშაოებისა ჩრდილოეთ ანატოლიაში, სრული კოლონიების პოვნა შეუძლებელი აღმოჩნდა. აქედან გამომდინარე, გაჩნდა ვარაუდი, რომ *L. scamni* შესაძლოა იყოს ლაქობრივად განაწილებული ჰაბიტატის სპეციალისტი, ისევე როგორც *L. gredleri* (Heinze et al., 1993) და ხასიათდებოდეს „მაღალი რეპროდუქციული უნარით“.

ბერგმანის წესი, *Leptothorax acervorum* (Fabricius, 1793)

ორგანიზმებს, რომლებიც ბინადრობენ ცივ გარემო პირობებში, გააჩნიათ უფრო დიდი სხეულის ზომა ან მასა, ვიდრე იმავე სახეობის წარმომადგენლებს მობინადრეებს უფრო თბილ კლიმატურ პირობებში (Bergmann, 1847; Shelomi, 2012). მიუხედავად იმისა, რომ თავდაპირველად ბერგმანის წესი ეხებოდა თბილსისხლიან ხერხემლიანებს, მოგვიანებით ის გავრცელდა ცივსისხლიანებზეც, სადაც გამოავლინა არაერთგვაროვანი შედეგები (Bergmann, 1847; Blackburn et al., 1999; Shelomi, 2012).

ბოლო წლებში სხვადასხვა კვლევებით მოხდა ბერგმანის წესის ტესტირება სოციალურ მწერებში შიდასახეობრივ და სახეობათაშორის დონეებზე. სოციალურ მწერებში „სხეულის ზომა“ განიხილება როგორც ცალკეული მუშების სხეულის ზომა ან „სუპერორგანიზმის“ ზომა, რაც გულისხმობს კოლონიაში ინდივიდების საერთო რაოდენობას (Kaspari & Vargo, 1995; Heinze et al., 2003; Dunn et al., 2010).

ჰოლარქტიკული ჭიანჭველა *Leptothorax acervorum* წარმოადგენს შესაფერის სამოდელო სისტემას სხვადასხვა გარემო პირობებში სასიცოცხლო ციკლის

შესასწავლად. იგი ფართოდაა გავრცელებული სხვადასხვა გეოგრაფიულ განედებში და ზღვის დონიდან სხვადასხვა სიმაღლეზე (Glaser, 2006; Seifert, 2007; Bernadou et al., 2015). კოლონიები არის პატარა და ბუდეების მოპოვება ადვილადაა შესაძლებელი. 2003 წელს, ჰაინცესა და მისი კოლეგების კვლევაში (Heinze et al. 2003) *L. acervorum*-ის ინდივიდების სხეულის საშუალო ზომა იზრდებოდა განედურად სამხრეთიდან ჩრდილოეთისაკენ. აქედან გამომდინარე, გაგვიჩნდა ვარაუდი, რომ სიმაღლის ზრდასთან დაკავშირებითაც შესაძლოა გამოვლენილიყო სხეულის ზომის მსგავსი დამოკიდებულება და ჩატარებულიყო კვლევა ალპებში სხვადასხვა სიმაღლეზე მოპოვებული *L. acervorum*-ის მაგალითზე, რაც მოგვცემდა საშუალებას ბერგმანის წესის ტესტირებისთვის სოციალურ მწერებში.

კვლევის მასალა და მეთოდების მიმოხილვა

ჭიანჭველების შეგროვება და შენახვა

ჩემი სადისერტაციო კვლევის ფარგლებში ჩავატარეთ მორფოლოგიური, გენეტიკური და ქცევითი ექსპერიმენტები (I, II, III, IV პუბლიკაციები).

საკვლევი ობიექტების *Myrmoxenus tamarae*-ს, *Leptothorax scamni*-ის და *L. acervorum*-ის კოლონიები მოვიპოვეთ ასპირატორის მეშვეობით, მირმეკოლოგიაში მიღებული მეთოდების შესაბამისად (I, II, III, IV პუბლიკაციები).

Myrmoxenus tamarae-ს და მისი ორი მასპინძლის: *Temnothorax cf. unifasciatus* (Latreille, 1798)-ის და *T. crasecundus* Seifert & Csösz, 2015-ის სრული კოლონიები მოვიპოვეთ მცირე კავკასიონზე-ბორჯომის ხეობაში, გვირგვინას მთის სამხრეთ-აღმოსავლეთ ფერდობზე, სოფელ დაბის სასაფლაოსთან ახლოს (41°48'39.89"N, 43°27'6.05"E), სიმაღლე ზღვის დონიდან: ~1,027 მ. კოლონიები მდებარეობდნენ ფიჭვების (*Pinus sylvestris* var. *hamata* Steven) ქერქის ქვეშ და კლდის ნაპრალებში (სურ. 1 - 3).



სურ 1. ბორჯომის რაიონი, სოფ. დაბა. *Myrmoxenus tamarae* – ს მოპოვების ადგილი.



სურ. 2. *Myrmoxenus tamarae*-ს კოლონია ფიჭვის ქერქის ქვეშ. ცენტრში დედოფალი, მუშები და ჭურბები.



სურ. 3. *Myrmoxenus tamarae* -ის კოლონია კლდის ნაპრალებში.

2010-2011 წწ. მოვიპოვეთ 100-მდე კოლონია, თუმცა აქედან მხოლოდ 9 კოლონია იყო დაპარაზიტირებული *Myrmoxenus tamarae*-თი. კოლონიები შეიცავდნენ მუშებს და აქამდე აუღწერელ სქესობრივ თაობას.

Leptothorax scamni-ის სრული კოლონიები, ცალკეული დედოფლები და ახალი კოლონიების დამფუძნებელი დედოფლების ჯგუფები მოვიპოვეთ სამცხე-ჯავახეთის რეგიონში, აბასთუმანში, წიწვოვანი ტყის სამხრეთ ფერდობზე (41°45'25.54"N; 42°49'4.37"E), სიმაღლე ზღვის დონიდან: 1535 მ. კოლონიები ბუდობდნენ კავკასიური სოჭის (*Abies nordmanniana* (Steven) Spach) და აღმოსავლური ნაძვის (*Picea orientalis* (L.) Peterm.) ღეროს სამხრეთ მხარეს, ქერქის ქვეშ. დიდი რაოდენობით ბუდეები იქნა ნაპოვნი დაზიანებული ხეების ღეროებთან, სადაც ფისი ჟონავდა (სურ. 4).



სურ. 4. *Leptothorax scamni* Ruzsky, 1905-ის ბუდე სოჭის ხის ქერქის ქვეშ. ისრით ნაჩვენებია ბუდეში არსებული ლარვების ჯგუფი. ბუდის ზემოთ და ქვემოთ თეთრად არის ფისის მშრალი ფენა.

L. acervorum -ის სრული კოლონიები მოვიპოვეთ ავსტრიის ალპებში 975 მ-დან 1,980 მ სიმაღლემდე დიაპაზონში ხის დამპალ ტოტებში, მორებში, ქერქის ქვეშ და კლდის

ნაპრალებში. 43 კოლონია მოვიპოვეთ კლაინვალსერტალში და 10 კოლონია ინსბრუკში (სურ. 5), (დეტალები იხილეთ IV პუბლიკაციაში).



სურ. 5. ჰაფელეკარის მთები, (ინსბრუკი, ავსტრია).

საკვლევი ობიექტების მოპოვებული კოლონიები გადავიყვანეთ თბილისში, ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის ზოოლოგიის ინსტიტუტის ენტომოლოგიის ლაბორატორიასა და რეგენსბურგის უნივერსიტეტის ევოლუციის, ქცევის და გენეტიკის ლაბორატორიაში. მასალის მოპოვების შემდეგ ხდებოდა კოლონიების სტრუქტურების განსაზღვრა მუშების, სქესობრივი თაობის, კვერცხების, ჭუპრებისა და ლარვების დათვლით. ცოცხალი კოლონიები ინახებოდა თაბაშირის ფსკერის მქონე, სტანდარტულ, სამ განყოფილებიან პლასტმასის ყუთებში (სურ. 6) ნახევრად ბუნებრივ პირობებში, როგორც ეს აღწერილია Formicoxenini-ის სხვა ჭიანჭველებისთვის (Buschinger, 1974; Heinze & Ortius, 1991).



სურ. 6. სამგანყოფილებიანი ბუდე ჭიანჭველების კოლონიების ლაბორატორიულ პირობებში განსათავსებლად. ერთ განყოფილება მოიცავს უშუალოდ ბუდეს, მეორეში თავსდება საკვები, ხოლო მესამე განყოფილებაში – წყალი.

მორფოლოგიური და გენეტიკური გამოკვლევებისთვის მასალა ინახებოდა 96 %-იან სპირტში ან საყინულეში -20°C -ზე.

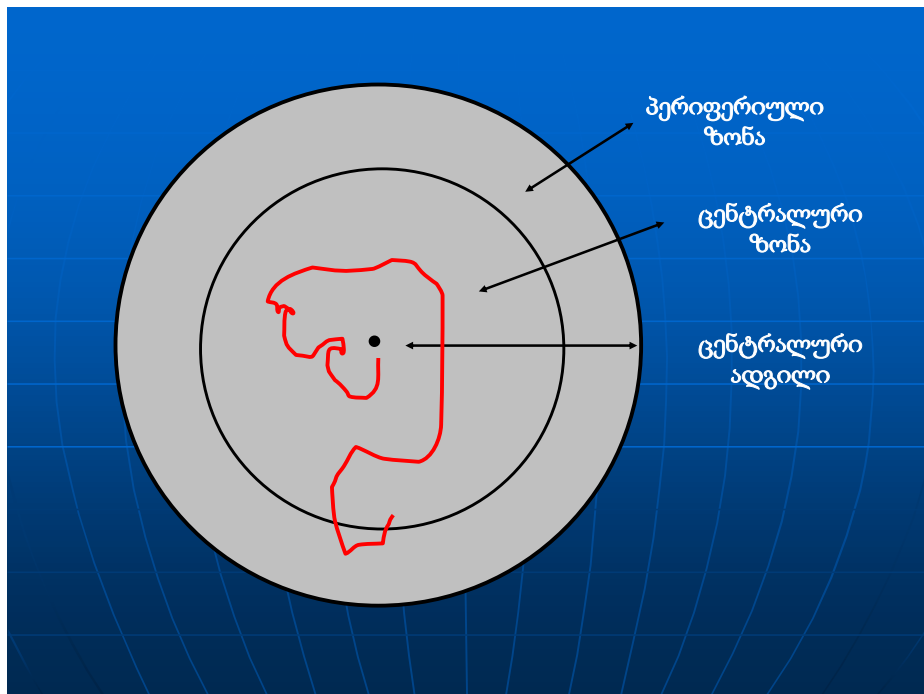
ქცევითი ექსპერიმენტები

1) საველე დაკვირვებებმა ცხადყო, რომ *M. ravouxi*-ის მუშები ველზე მოპოვებისას მოძრაობენ ნელა მაშინაც კი, როცა ხდება მათი ბუდეების დაზიანება. ამის საპირისპიროდ, *M. tamarae*-ს მუშები დარბოდნენ ბევრად უფრო სწრაფად ბუდეების დაზიანებისას. აქედან გამომდინარე, გადავწყვიტეთ გაგვეზომა სპონტანური ქცევის ხასიათი *M. tamarae*-ს და *M. ravouxi*-ის მუშებს შორის ლაბორატორიულ პირობებში. ქცევითი ექსპერიმენტისთვის გამოვიყენეთ *M. ravouxi*-ის კოლონიები გერმანიიდან, კალმუნცის და შიონჰოფენის წიწვოვანი ტყიდან და *M. tamarae* - ს კოლონიები საქართველოდან, სოფ. დაბიდან. ლოკომოტორულ ქცევით ექსპერიმენტში (I პუბლიკაცია) გამოვიყენეთ *M. tamarae*-ს და *M. ravouxi*-ის კოლონიები, რომლებიც ინახებოდა ერთსა და იმავე ლაბორატორიულ პირობებში რამოდენიმე თვის მანძილზე იმ არტეფაქტების თავიდან ასაცილებლად, რომლებიც წარმოიშობა ჭიანჭველების

ველზე და ლაბორატორიაში სხვადასხვა დონის აქტიურობის გამო. ექსპერიმენტამდე ჭიანჭველები ინახებოდნენ 2 კვირის მანძილზე ინკუბატორში ხელოვნური შემოდგომის პირობებში 12 სთ დღე 20 °C/12 სთ ღამე 10 °C.

სპონტანური ქცევის ხასიათის გასაზომად ვახდენდით მუშა ჭიანჭველების მოძრაობების მონიტორინგს 15 სმ დიამეტრის მქონე მრგვალ არენაზე, რომლის კედლებიც დაფარული იყო Fluon®-ით (პოლიტეტრაფლუოროეთილენი). ამ ნივთიერებას იყენებენ უხერხემლო ცხოველების შემთხვევებში, რომ ვერ შეძლონ მათ გალიებზე, მახეებზე ან სხვა კონტეინერებზე აცოცება. არენას ძირი დაფარული იყო თხელი ფილტრის ქაღალდით, რომელიც იცვლებოდა ცდის ყოველ ორ განმეორებას შორის. ექსპერიმენტის დასაწყისში მუშებს ფრთხილად ვსვავდით პატარა პლასტმასის ცილინდრში (დიამეტრით 2 სმ) საკვლევი არენის ცენტრში. რამოდენიმე წამის შემდეგ ხდებოდა ცილინდრის მოცილება და ჭიანჭველებს შეეძლოთ არენაზე თავისუფლად მოძრაობა. ჭიანჭველების ტესტირება ხდებოდა ინდივიდუალურად და მათი სპონტანური საკვლევი ტრაექტორიის ჩაწერა ხდებოდა 180 წამის განმავლობაში კამერით, რომელიც არენის ძირიდან დაშორებული იყო 70 სმ-ით. იმისათვის, რომ მომხდარიყო სინათლის ჰომოგენიზირება და დაფარულიყო ნებისმიერი ვიზუალური ხინჯი, რასაც შეეძლო ჭიანჭველის ტრაექტორიაზე გავლენის მოხდენა, არენა გარშემორტყმული იყო თეთრი მუყაოთი და ნათდებოდა ზემოდან თეთრი ნეონის სინათლით. ყველა ჩანაწერი კეთდებოდა ოთახის ტემპერატურაზე (23.2–24.0°C, 52 % ტენიანობა). ჭიანჭველების გამოყენება ექსპერიმენტში ხდებოდა მხოლოდ ერთხელ.

მოძრაობების ანალიზი ხდებოდა სათვალთვალ კომპიუტერული პროგრამა EthoVision® XT 7.0-ის მეშვეობით, (Noldus Information Technology, 2007). ტრაექტორიის ანალიზისთვის, წრიული არენა დაყოფილი იყო ცენტრალურ ზონად (დიამეტრი 13 სმ) და პერიფერიულ ზონად (სიგანე 1 სმ) (სურ. 7).



სურ. 7. სპონტანური ლოკომოტორული ქცევის საექსპერიმენტო არენა, რომელიც შედგება პერიფერიული და ცენტრალური ზონებისგან. წითელი ფერით პირობითად აღნიშნულია ჭიანჭველის მიერ გავლილი მანძილის ტრაექტორია.

ციფრებში გადაყვანილი ტრაექტორიიდან გამოვითვალეთ შემდეგი ოთხი ქცევითი პარამეტრი: უმოძრაობის დრო (წმ), გავლილი მანძილი (სმ), სიჩქარე (სმ/წმ) და ხვეული ($^{\circ}$ /სმ). ოთხივე პარამეტრში *M. tamarae*-ს მუშები მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდნენ *M. ravouxi* - ის მუშებისგან.

ქცევითი ნიმუშები შედარდა ცვალებადი მულტივარიაციული დისპერსიული ანალიზით (PERMANOVA) კომპიუტერული პროგრამული პაკეტის PERMANOVA-ს (Anderson, 2001; McArdle & Anderson, 2001) გამოყენებით. დამოკიდებულ ცვლადებს წარმოადგენდა ქცევითი პარამეტრები: უმოძრაობის დრო, გავლილი მანძილი, სიჩქარე და ხვეული, ხოლო დამოუკიდებელი ცვლადები იყო სახეობები (ორი დონე).

იმისათვის რომ განგვესაზღვრა, თუ რომელ ლოკომოტორულ პარამეტრში განსხვავდებოდნენ სახეობები, ორფაქტორიანი დისპერსიული ანალიზი (Two-Way ANOVA) ჩავატარეთ გამოთვლილ ოთხ პარამეტრთან, როგორც დამოკიდებულ

ცვლადებთან და სახეობებთან (*M. ravouxi* და *M. tamarae*) და კოლონიებთან (ჯამში რვა კოლონია), როგორც დამოუკიდებელ ცვლადებთან.

გამოყენებული იქნა ასევე შაპირო–ვილქის ტესტი და ბართლეთ–ის ტესტი. ურთიერთდამოკიდებულება ამ ორი ტაქსონის ლოკომოტორულ ქცევებს შორის ვაჩვენეთ არამეტრიზებული მრავალგანზომილებიანი მასშტაბით (NMDS) სტატისტიკური კომპიუტერული პროგრამულ პაკეტი R 2.11.0-ის (R Development Core Team 2010) და პაკეტი VEGAN ver. 1.15–1-ის გამოყენებით (Oksanen et al., 2011) (I პუბლიკაცია).

2) *Leptothorax scamni* - ის შეწყვილების ექსპერიმენტის დაწყებამდე ხდებოდა მდედრების აქტიურობის დადგენა. მდედრები გამოდიან ბუდის გარეთ და იწყებენ აქტიურად მოძრაობას, რაც სხვა დროს მათთვის დამახასიათებელი არ არის (როგორც წესი, ისინი ყოველთვის ბუდის შიგნით არიან). ამიტომ დილის 8 საათიდან (მზის ამოსვლიდან) საღამოს 7 საათამდე ხდებოდა კოლონიების სკანირება 3 დღის მანძილზე და იმ მდედრების დათვლა, რომლებიც იმყოფებოდნენ იმ მომენტისთვის ბუდის გარეთ (III პუბლიკაცია).

მხედველობაში მიიღებოდა მდედრების აქტიურობის პიკური პერიოდი, კერძოდ თუ რომელი საათისთვის იმყოფებოდა მათი მაქსიმალური რაოდენობა ბუდის გარეთ (8:00–11:00) და შეწყვილების ექსპერიმენტები ტარდებოდა სწორედ დროის იმ მონაკვეთში.

შესაწყვილებელ არენას წარმოადგენდა პეტრის ჯამი, რომლის ფსკერიც დაფარული იყო თაბაშირის თხელი ფენით (სურ. 8).



სურ. 8. შესაწყვილებელი არენა - პეტრის ჯამი, რომელიც დაფარულია თაბაშირის თხელი ფენით. მასში მოთავსებული ჯოხები საშუალებას აძლევს მდედრებს, რომ აცოცდნენ და განახორციელონ „მამრების მოხმობა“.

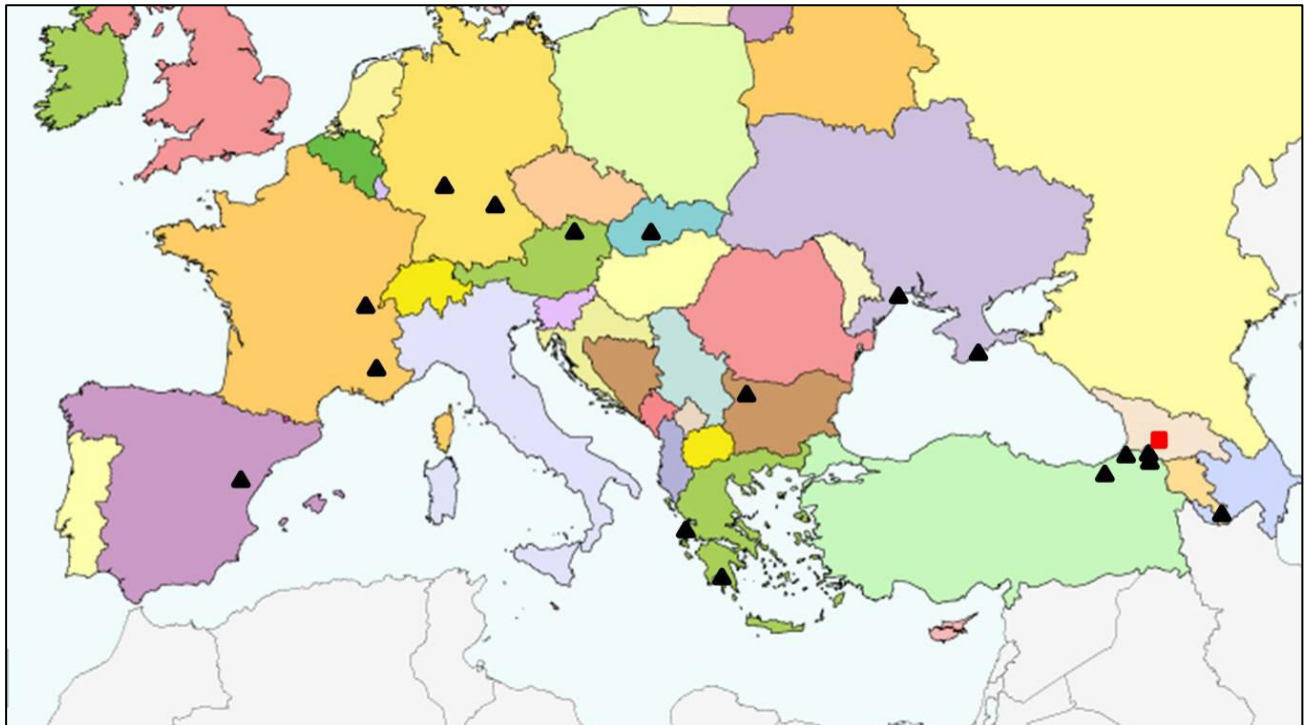
თაბაშირის ფენაში ვერტიკალურად მოთავსებული იყო რამოდენიმე პატარა ზომის ჯოხი, რომლებზეც მდედრებს შეეძლოთ აცოცება. პეტრის ჯამში ასევე ვსვავდით სხვა კოლონიების მამრებს შეწყვილების განსახორციელებლად. ვახდენდით კოპულაციების რაოდენობის და ხანგრძლივობის ჩანიშვნას. შეწყვილების მცდელობა წარმატებულად ითვლებოდა, თუ მამრი შეწყვილებისას უკან გადაიხრებოდა და უძრავად დარჩებოდა ამ პოზიციაში რამდენიმე წამის განმავლობაში (Oberstadt & Heinze, 2003). განაყოფიერებული დედოფლები გადაგვყვავდა ცალკე ბუდეებში, ვახდენდით მარკირებას და შემდგომში მათზე დაკვირვებას. განაყოფიერების შემდეგ დედოფლები მალევე იწყებდნენ ფრთების მოცილებას.

მორფომეტრია

მორფომეტრიული განაზომებისთვის მასალის ფიქსაცია და მონტირება ხდებოდა ჯ. ლატკეს მეთოდით (Lattke, 2000).

დეტალური მორფოლოგიური განაზომებისთვის გამოვიყენეთ დამონტირებული ეგზემპლარები ჩემი პირადი კოლექციიდან და მოწოდებული ახელ ბერნადოუს მიერ რეგენსბურგინდან, ალფრედ ბუმინგერის მიერ როზდორფიდან, ანდრეას შულცის მიერ ლევერკუზენიდან და ალექს რადჩენკოს მიერ კიევიდან (პუბლიკაციები I, II, IV).

მოვახდინეთ მსოფლიოს 11 ქვეყნის (საქართველო, თურქეთი, სომხეთი, გერმანია, ავსტრია, ბულგარეთი, საფრანგეთი, ესპანეთი, სლოვაკეთი, საბერძნეთი და უკრაინა), 18 წერტილში მოპოვებული *M. ravouxi*-ის და *M. tamarae*-ს მუშების, მამრებისა და დედოფლების მორფოლოგიური განაზომების გაკეთება (Gratiashvili et al. 2014; სურ. 9).



სურ. 9. მორფომეტრიაში გამოყენებული *Myrmoxenus*-ის სახეობების მოპოვების ადგილები.

სიმბოლოები: შავი ტოლფერდა სამკუთხედი - *Myrmoxenus ravouxi* -ის მოპოვების ადგილები; წითელი კვადრატი - *Myrmoxenus tamarae*-ის მოპოვების ადგილი.

სულ გავზომეთ *Myrmoxenus*-ის გვარის 90 ინდივიდი. აქედან 66 იყო მუშა ჭიანჭველა, დანარჩენი სქესობრივი თაობა (სურ. 10). თითოეულ მუშა ჭიანჭველაზე გავზომეთ შემდეგი 21 მორფოლოგიური ნიშანი: CL, CW, EL, EW, SL, PoOC, FRS, MH, ML, MW, PEH, PEW, PPW, SPBA, SPST, SPTI, SPH, MpGr, NOL, PHL, PnHL (დეტალები იხილეთ I და II პუბლიკაციებში).



სურ. 10. *Myrmoxenus tamarae* (Arnol'di, 1968). a - ტიპის მოპოვების ადგილი საქართველოში, სოფ. დაბასთან ახლოს, (მასშტაბი = 5 მ); b - მუშა; c - დედოფალი; d - მამრი. (მასშტაბი b-d -თვის= 250 μ m).

ყველა განაზომი გავაკეთეთ ქინძისთავის დამჭერ სტეიჯერის გამოყენებით, რომელიც საშუალებას იძლევა X, Y და Z ღერძების გარშემო შეუზღუდავად ვამოძრაოთ დამონტირებული ეგზემპლარი და Wild M 10 სტერეო მიკროსკოპის საშუალებით, რომელიც აღჭურვილია $\times 1.6$ ტიპის პლან-აპოქრომატული ობიექტივით. განაზომების

გაკეთება ხდებოდა 200 - 320 × გადიდებებს შორის. *M. tamarae*-სა და *M. ravouxi* -ის მორფოლოგიური მონაცემები შევაფასეთ NC-Ward, NC-UPGMA, და NC-K-Means მონაცემთა საკვლევი ანალიზებით (Seifert et al., 2013) (დეტალები მოცემულია I პუბლიკაციაში).

L. acervorum-ის მუშების სხეულის ზომის გამოსაკვლევად გავზომეთ 318 დამონტრებული ინდივიდის თავის მაქსიმალური სიგანე (CW) და მეზოსომის სიგრძე (ML) (Seifert 2007). საშუალო ცდომილებების გამოსავლენად შემთხვევითი 20 მუშა ჭიანჭველა გავზომეთ ორჯერ.

მუშების სხეულის ზომასა და ზღვის დონიდან სიმაღლეს შორის ურთიერთდამოკიდებულების გამოსარკვევად გამოვიყენეთ ხაზობრივი შერეული-ეფექტების მოდელი (lme ფუნქცია, R-package “nlme”). პროგრამული პაკეტი R “MuMIn” (r.squaredGLMM ფუნქცია)-ის გამოყენებით მოვახდინეთ კიდური და პირობითი ფსევდო-დეტერმინაციის კოეფიციენტის სიდიდეების (Pseudo- R^2 values: R^2_m და R^2_c) (Nakagawa & Schielzeth, 2013) გამოთვლა. სიმაღლის ცვლილებებთან ერთად კოლონიის ზომის (თითოეულ კოლონიაში მუშების რაოდენობა) ცვლილებების დასადგენად გამოვიყენეთ განზოგადებული ხაზობრივი შერეული მოდელი (glmmPQL ფუნქცია, პროგრამული პაკეტი R “MASS”). სტანდარტული ცდომილებები შევასწორეთ quasi-GLM model -ის გამოყენებით (Zuur et al., 2009). ყველა სტატისტიკური ანალიზი განხორცილდა და გრაფიკები აიგო კომპიუტერული პროგრამა R 3.2.1 (R Development Core Team, 2015)-ის საშუალებით. (IV პუბლიკაცია).

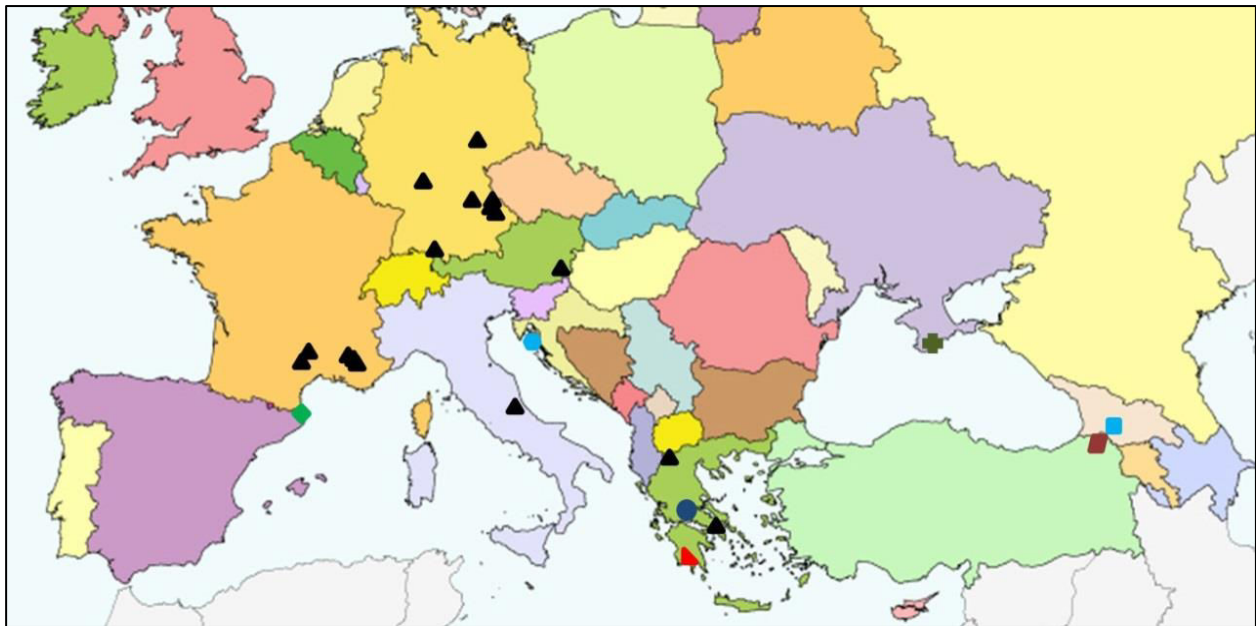
საკვერცხეების გაკვეთა

საკვერცხეების გაკვეთა მოხდა ბინოკულარული მიკროსკოპის ქვეშ ა. ბუშინგერის და თ. ალოვეის მიხედვით (Buschinger & Alloway, 1978) *L. scamni*-ის რვა მრავალდედოფლიან კოლონიებში, პირველი კვერცხის გამოჩენიდან ორი კვირის შემდეგ და როდესაც რამოდენიმე ფიზოგასტრული დედოფლის მუცელი გახდა შესამჩნევად გამობერილი დიდი რაოდენობით მომწიფებული კვერცხების გამო (III პუბლიკაცია).

გენეტიკური შესწავლა

გენეტიკური კვლევისთვის დნმ-ის გამოყოფა ხდებოდა სეთილტრიმეთილ ამონიუმის ბრომიდის გამოყენებით (CTAB) პროტოკოლის მიხედვით (Sambrook & Russell, 2001) (პუბლიკაციები I, II, III).

1) გენეტიკური კვლევისთვის გამოვიკვლიეთ *M. ravouxi*-ის მუშების დნმ ევროპის 15 წერტილიდან, *M. tamarae*-ის მუშების დნმ სოფ. დაბის პოპულაციიდან და უმუშო *M. adlerzi* -ის დედოფალი. რამოდენიმე ნიმუში, რომლებიც ძალიან გვანან *M. ravouxi*-ის, მაგრამ მათი მორფომეტრიული ანალიზით იდენტიფიცირება არ მომხდარა, კვლევაში მოხსენებულია როგორც *Myrmoxenus* sp. აუთგრუპად შერჩეული იქნა *M. gordiagini* (Ruzsky, 1902) ბასკადან, (ხორვატია) და *T. unifasciatus* კალმუნციდან, (გერმანია) (სურ.11).



სურ. 11. მოლეკულურ კვლევაში გამოყენებული *Myrmoxenus*-ის სახეობების მოპოვების ადგილები. სიმბოლოები: შავი ტოლფერდა სამკუთხედი - *Myrmoxenus ravouxi*-ის; ცისფერი კვადრატი - *Myrmoxenus tamarae*-ის; ცისფერი რგოლი - *Myrmoxenus gordiagini*-ის; ლურჯი რგოლი - *Myrmoxenus adlerzi*-ის; მწვანე რომბი - *Myrmoxenus* sp. ლიანკადან, ესპანეთი; წითელი მართკუთხა სამკუთხედი - *Myrmoxenus* sp. მთა ტაიგეტიდან, საბერძნეთი; მწვანე ჯვარი - *Myrmoxenus* sp. იალტადან, უკრაინა; ყავისფერი პარალელოგრამი - *Myrmoxenus* sp. პოსოფიდან, თურქეთი.

ბირთვული პროტეინ-მაკოდირებელი გენები: უფრთო (wingless), მუცლის (abdominal-A), გრძელტალღიანი როდოპსინი (longwave rhodopsin) და დაგრძელების ფაქტორი 1 (elongation factor 1), ასევე მიტოქონდრიული გენები: ციტოქრომოცვიდაზას I და II სუბერთეული-COI/COII იქნა ამპლიფიცირებული ი. ოტლერის და მისი კოლეგების მიხედვით (Oettler et al. 2010). პოლიმერაზას ჯაჭვური რეაქციების (PCR) ციკლური პროგრამა შედგება 40 ციკლისაგან, სადაც 1 წუთის განმავლობაში ხდება დენატურაცია 94 °C – ზე, 1 წუთის განმავლობაში 50 – 60 °C მიმდინარეობს პრაიმერების დაკავშირება და 1 წუთისა და 30 წამის განმავლობაში 72 °C – ზე ხდება ელონგაცია. ამ ყველაფერს წინ უძღვის 2 წუთის განმავლობაში 94 °C და მოყვება საბოლოო გაგრძელების პროცესი (final extension) 5 წუთის განმავლობაში 72 °C – ზე. PCR პროდუქტების ვწმენდით საწმენდი მიკრო ნაკრებით (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). პროდუქტების სექვენირება მიმდინარეობდა ABI პრიზმულ 310 გენეტიკურ ანალიზატორში (Applied Biosystems, Weiterstadt).

ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობებს ვასწორებდით პროგრამით Sequencing Analysis ver. 3.4 და ჰომოლოგიურ ფრაგმენტებს ერთმანეთთან ვადარებდით (alignment) Bio-Edit ver. 7.0.5.2 (Hall 1999)–ით Clustal W algorithm–ის გამოყენებით.

ფილოგენეზური ხეები ავაგეთ ბაიეზიური ანალიზის საშუალებით კომპიუტერული პროგრამა MrBayes ver. 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001) გამოყენებით. მოდელი გამოკვლეული გენების ევოლუციისთვის შეფასებული იქნა პროგრამა MrMTgui–ის ver. 1.01 MrModeltest–ით (<http://genedrift.org/software/mrmtgui.html>), TOPALi ver. 2 (Milne et al. 2009), და MetaPIGA ver. 2.0 (Helaers and Milinkovitch 2010)–ის გამოყენებით.

M. tamarae–ის კოლონიის სტრუქტურის განსაზღვრისთვის დნმ–ის ექსტრაქცია მოხდა *M. tamarae* - ს 8 კოლონიის 60 მუშიდან. სტანდარტული პოპულაციურ – გენეტიკური პარამეტრები (ალელების რიცხვი, მოსალოდნელი და გამოვლენილი ჰეტეროზიგოტულობა, ნული ალელების სიხშირე) გამოვითვალეთ კომპიუტერული პროგრამა Cervus ver. 3.03 (Kalinowski et al., 2007)–ის მეშვეობით. მუშებს შორის ნათესაობა განვსაზღვრეთ GenAlEx (Genetic Analysis in Excel, an Excel add-in: Peakall & Smouse, 2012) – ის მეშვეობით Queller & Goodnight (1989) – ის მიხედვით. სტანდარტული

ცდომილებები ლოკუსებზე უზრუნველყოფილი იქნა ჯეკნიფაინგით. საშუალო ნათესაობის შეფასებები გამოვიკვლიეთ ერთდედოფლიანი და მრავალმამრიანი კოლონიების მუშებში (0,75) მოსალოდნელი მნიშვნელობის წინააღმდეგ t-ტესტის საშუალებით.

2) იმისათვის, რომ განგვესაზღვრა თუ რამდენად ხშირად ვითარდებოდა ფუნქციური ერთდედოფლიანობა კონვერგენტულად *Leptothorax*-ის გვარში, შევისწავლეთ ამ გვარის ფილოგენია. ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობები განსაზღვრულ იქნა *Leptothorax*-ის გვარის ხუთი არაპარაზიტული პალეარქტიკული სახეობიდან ოთხი სახეობის ჭიანჭველის (*L. acervorum*, *L. gredleri*, *L. muscorum* და *L. scamni*) დნმ-თვის, უმუშო პარაზიტი ჭიანჭველის *L. kutteri* Buschinger, 1966 -ის და ორი ნეარქტიკული სახეობის (*L. canadensis* Provancher, 1887 და *L. sp. A*) დნმ-თვის. ეს დასექვენირებული მასალა მოიცავს *Leptothorax* - ის გვარის ამჟამად აღწერილი ფუნქციური ერთდედოფლიანი და მრავალდედოფლიანი ტაქსონების უმეტესობას.

დნმ-ის იზოლაცია მოხდა CTAB მეთოდის მიხედვით, პროტეინაზა K-ს გამოყენებით (Sambrook & Russell, 2001). ამპლიფიცირებული იქნა მიტოქონდრიული გენის ციტოქრომოქსიდაზას პირველი სუბერთეულის CO I ფრაგმენტი, რნმ-ის tLeu რეგიონის ჩათვლით C1-J-2183/A8-N-3914 პრაიმერების კომბინაციით (Simon et al. 1994) და ბირთვული პროტეინ-მაკოდირებელი გენები: უფრთო, გრძელტალღიანი როდოპსინი და დაგრძელების ფაქტორი 1a-F1, ბრეიდის და ოტლერის მიხედვით (Brady et al., 2006; Oettler et al., 2010).

შედეგები

თავი 1. *M. tamarae* - ს კვლევის შედეგები

ქვევითი ექსპერიმენტის შედეგი

ლოკომოტორულმა ექსპერიმენტმა აჩვენა, რომ *M. tamarae* - ს მუშები არიან უფრო მოძრავნი, ვიდრე *M. ravouxi* - ის მუშები (PERMANOVA, $F_{(1,29)} = 19.65$, $P < 0.001$). *M. ravouxi* - ის მუშებთან შედარებით, *M. tamarae* - ს მუშები არიან უფრო აქტიურები (საშუალო უმოძრაობის დრო $\pm SD$ - M. t. 17.44 ± 11.03 წმ; M. r. 47.04 ± 22.29 წმ), გაიარეს ბევრად მეტი მანძილი 180 წამის განმავლობაში (საშუალო გავლილი მანძილი $\pm SD$ - M. t. 73.03 ± 36.67 სმ; M. r. 19.67 ± 9.95 სმ), იყვნენ უფრო სწრაფები (საშუალო სიჩქარე $\pm SD$ - M. t. 0.74 ± 0.19 სმ/წმ; M. r. 0.41 ± 0.12 სმ/წმ) და მათ მიერ გავლილი ტრაექტორია შეიცავდა უფრო ნაკლებ ხვეულებს (საშუალო ხვეული $\pm SD$ - M. t. $198.39 \pm 128.78^\circ/\text{სმ}$; M. r. $414.33 \pm 297.40^\circ/\text{სმ}$) (დეტალური ინფორმაცია იხილეთ I პუბლიკაციაში).

მორფომეტრიული კვლევის შედეგი

M. tamarae-ს და *M. ravouxi*-ის მუშებზე გაზომილი ოცდაერთი მორფოლოგიური ნიშნის გათვალისწინებით NC-Ward, NC-UPGMA და NC-K-Means კლასტერულ ანალიზებში, კორელაცია ფენოტიპებსა და გეოგრაფიას შორის შესამჩნევი არ იყო. შესაბამისად, ხაზობრივი დისკრიმინანტული ანალიზის (LDA) საშუალებით მოვახდინეთ ნიშნების ეტაპობრივი შემცირება SPSS ver. 15.0 კომპიუტერული პროგრამული პაკეტის გამოყენებით. დავუშვით ჰიპოთეზა, რომ ყველა ნიმუში საქართველოდან, სომხეთიდან და თურქეთიდან მიეკუთვნებოდა *M. tamarae*-ს, ხოლო ნიმუშები ევროპის ქვეყნებიდან - *M. ravouxi*-ის. ნიშნების შემცირების შემდეგ ანალიზში გამოყენებული იქნა ხუთი ნიშანი: PoOC, SPBA, EW, PEW და PPW, რის შემდეგაც საწყისი კლასიფიკაცია შეიცვალა.

NC-K-Means კლასიფიკაციის თანახმად, მხოლოდ ერთი ეგზემპლარი სომხეთიდან, რომელიც ანალიზის დაწყების წინ ჰიპოთეზით მივაკუთვნეთ *M. tamarae*-ს, დაჯგუფდა *M. ravouxi* -თან. იმავე ხუთი ნიშნის მხედველობაში მიღებით, NC Ward (სურ. 12) და

NC-UPGMA ანალიზებმა ეგზემპლარები “Armenia” და “Georgia (Daba)-2” დააჯგუფა *M. ravouxi*-თან. თუ ამ ორ ნიმუშს დავაჯგუფებთ ხაზობრივ დისკრიმინანტულ ანალიზში (LDA) როგორც განურჩეველ სიმბოლოებს „wild cards“, მაშინ სომხეთის ეგზემპლარი “Armenia” დადასტურდება როგორც *M. ravouxi*, ხოლო საქართველოს ეგზემპლარი “Georgia (Daba)-2” - როგორც *M. tamarae*.

მაშასადამე, ხაზობრივი დისკრიმინანტული ანალიზის (LDA) თანხმად, ორი იერარქიული მეთოდით („NC Ward“ და „NC-UPGMA“) მხოლოდ ერთი ეგზემპლარი წარმოადგენს მცდარად კლასიფიცირებულს (=4 %), ხოლო ერთი არა-იერარქიული NC K-Means კლასტერიზაციული მეთოდით კი არც ერთი ეგზემპლარი არ არის მცდარად კლასიფიცირებული.

გარდა მუშების განაზომებისა, გაკეთებული იქნა *M. tamarae* -ს სქესობრივი თაობის განაზომებიც. (დეტალები იხილეთ II პუბლიკაციაში).

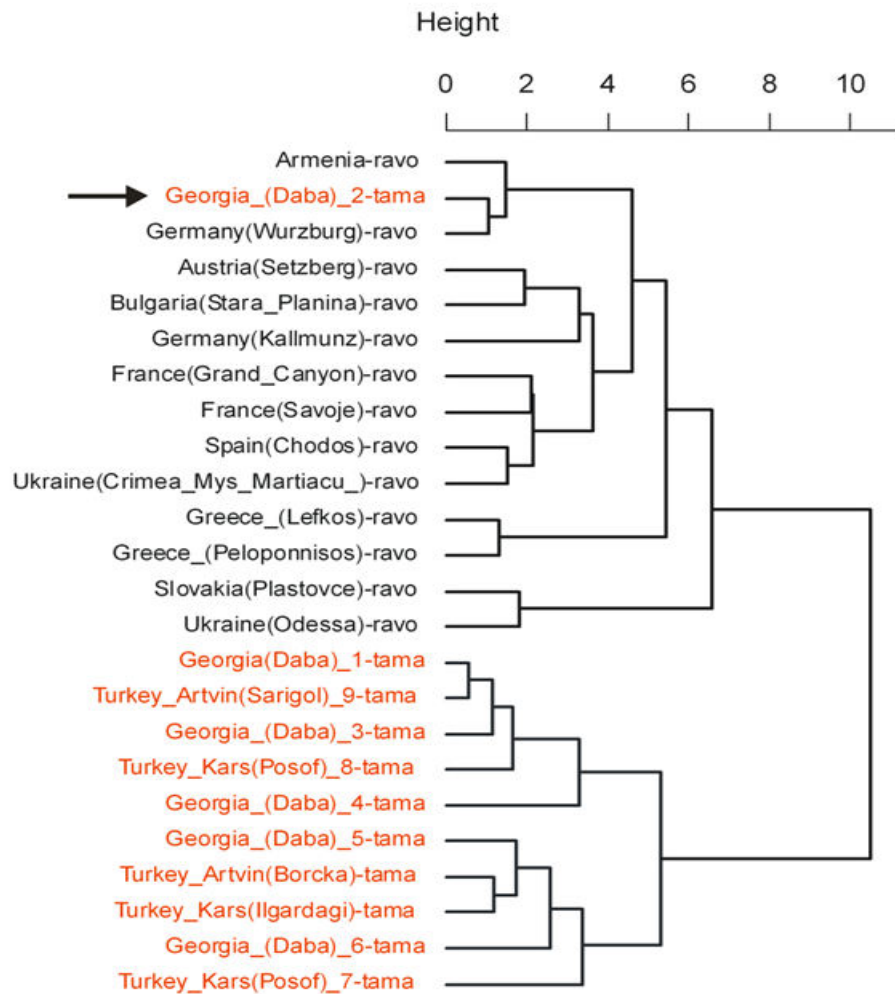
გენეტიკური კვლევის შედეგი

ბირთვულმა მარკერებმა არ აჩვენეს დიდი ვარიაციები *Myrmoxenus* -ის გვარში. მორფოლოგიურად მკვეთრად განსხვავებული სახეობა *M. gordiagini* განსხვავდებოდა *M. ravouxi* / *M. tamarae* - გან უფროთო გენის 3 ბაზურ წყვილში, გრძელტალღიან როდოპსინში 7 ბაზურ წყვილში, მუცლის-A გენში 1 ბაზურ წყვილში და დაგრძელების ფაქტორი-1 გენში 1 ბაზურ წყვილში (Gratiashvili et al., 2014).

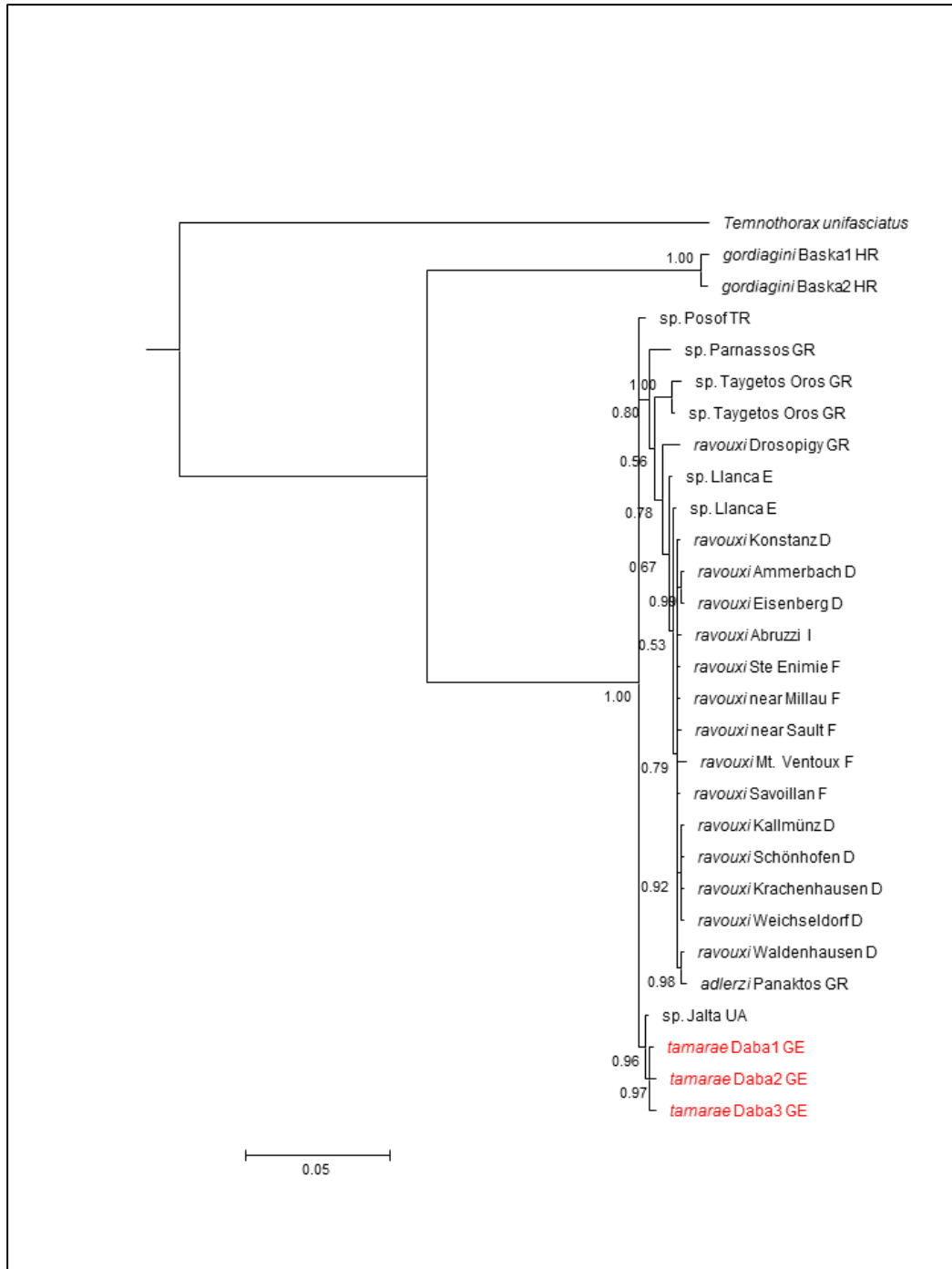
M. tamarae და *M. ravouxi* განსხვავდებოდნენ ერთმანეთისგან უფროთო გენის 4 ბაზურ წყვილში და დაგრძელების ფაქტორი-1 გენის 2 ბაზურ წყვილში. ორ სხვა ბირთვულ გენში (გრძელტალღიანი როდოპსინი და მუცლის-A) ისინი იდენტურები იყვნენ.

M. ravouxi მიტოქონდრიული გენების COI/COII ფრაგმენტებში მცირედ განსხვავდებოდა დასავლეთ და ცენტრალური ევროპის მასშტაბით (მაქს. 4 ჩანაცვლება). *M. ravouxi* ცენტრ. და დას. ევროპიდან მნიშვნელოვნად განსხვავდებოდა საბერძნეთის ეგზემპლარებისგან (11, 13, 15 ჩანაცვლებები) და *M. tamarae*-ს (დაბა, საქართველო) ეგზემპლარებისგან (13-დან 15-მდე ჩანაცვლება). პოსოფის ეგზემპლარმა წარმოქმნა *M. tamarae* - ს და *M. ravouxi* -ის აუთოგრუპი (სურ. 13). *M. tamarae*-მ წარმოქმნა კარგად

დადასტურებული შტო იალტის ეგზემპლართან ერთად ისევე, როგორც ეს მოხდა ბირთვული უფრო გენის შემთხვევაში (დეტალები იხილეთ I პუბლიკაციაში).



სურ. 12. მონათმფლობელი ჭიანჭველების *Myrmoxenus tamarae* - ს და *M. ravouxi* - ის მუშების მორფომეტრიული მონაცემების NC-Ward კლასტერიზაცია. ისრით ნაჩვენებია გაურკვეველი კლასიფიკაციის მქონე ეგზემპლარი. აკრონიმები “ravo” და “tama” აღნიშნავს საბოლოო დეტერმინაციას.



სურ. 13. *Myrmoxenus* -ის გვარის მონათმფლობელი ჭიანჭველების რამოდენიმე ტაქსონის მიტოქონდრიული დნმ -ის (COI/COII) 1 430 ბაზურ წყვილზე დაფუძნებული ბაიეზიური ხე. ბაიეზიური აპოსტერიორული ალბათობები მოცემულია კვანძებთან.

სოციოგენეტიკური ანალიზის შედეგები

სამი მიკროსატელიტური ლოკუსი, რომლებიც შევისწავლეთ, აღმოჩნდა საკმარისად ცვალებადი *M. tamarae* - ს გენეტიკური კოლონიის სტრუქტურის შესაფასებლად. ლოკუსი 2MS60 შეიცავდა ექვს ალელს, 2MS65 - შვიდ ალელს, ხოლო ლოკუსი 2MS86II - ოთხ ალელს.

გამოვითვალეთ პოტენციური ნული ალელების სიხშირე და თითოეულ ლოკუსზე იყო 0.2 -ზე ნაკლები. საშუალო ნათესაობა (Mean relatedness), გამოანგარიშებული ქველერის და გუდნაითის მიხედვით (Queller & Goodnight, 1989), შეადგენდა $0.627 \pm SE$ 0.086. ეს შედეგი მნიშვნელოვნად არ განსხვავდებოდა მონოგინიის და მონოანდრიის შემთხვევაში მოსალოდნელისგან (0.75). თუმცა, რვა კოლონიიდან სამში, ჩვენს მიერ აღმოჩენილი იქნა ორი ან სამი ინდივიდი ერთ ლოკუსში გენოტიპით, რომელიც არ შეესაბამებოდა მონოგინიას და მონოანდრიას (Gratiashvili et al., 2015) (დეტალები იხილეთ II პუბლიკაციაში)

M. tamarae - ს მასპინძელი სახეობები

საველე მონაცემებმა გვიჩვენა, რომ სოფ. დაბაში *M. tamarae* მასპინძლად იყენებს *Temnothorax*-ის ორ სახეობას. ჩვენი გამოკვლევისას ექვსი კოლონია შეიცავდა მასპინძლის მუშებს, რომლებიც მორფოლოგიურად გარკვეულნი იყვნენ როგორც *T. unifasciatus* (Latreille, 1798) ბერნჰარდ საიფერტის და ანდრეას შულცის მიერ, თუმცა გენეტიკური კვლევის შედეგად არ დაჯგუფდნენ ცენტრალურ ევროპულ *T. unifasciatus* და *T. nigriceps* (Mayr, 1855)-თან. ერთი კოლონია შეიცავდა *T. crasecundus* Seifert & Csoesz, 2015-ის მუშებს, რომელიც არის *T. crassispinus* (Karavaiev, 1926)-ის ახლოს მონათესავე სახეობა. ერთი კოლონია შეიცავდა ორივე სახეობის მონა ჭიანჭველებს. ერთ-ერთ ლაბორატორიულ კოლონიაში ჩვენ მოწმენი გავხდით ახალგაზრდა *M. tamarae*-ს დედოფლის მიერ მასპინძლის, *T. crasecundus* - ის დედოფლის დახრჩობის პროცესისა (სურ. 14).

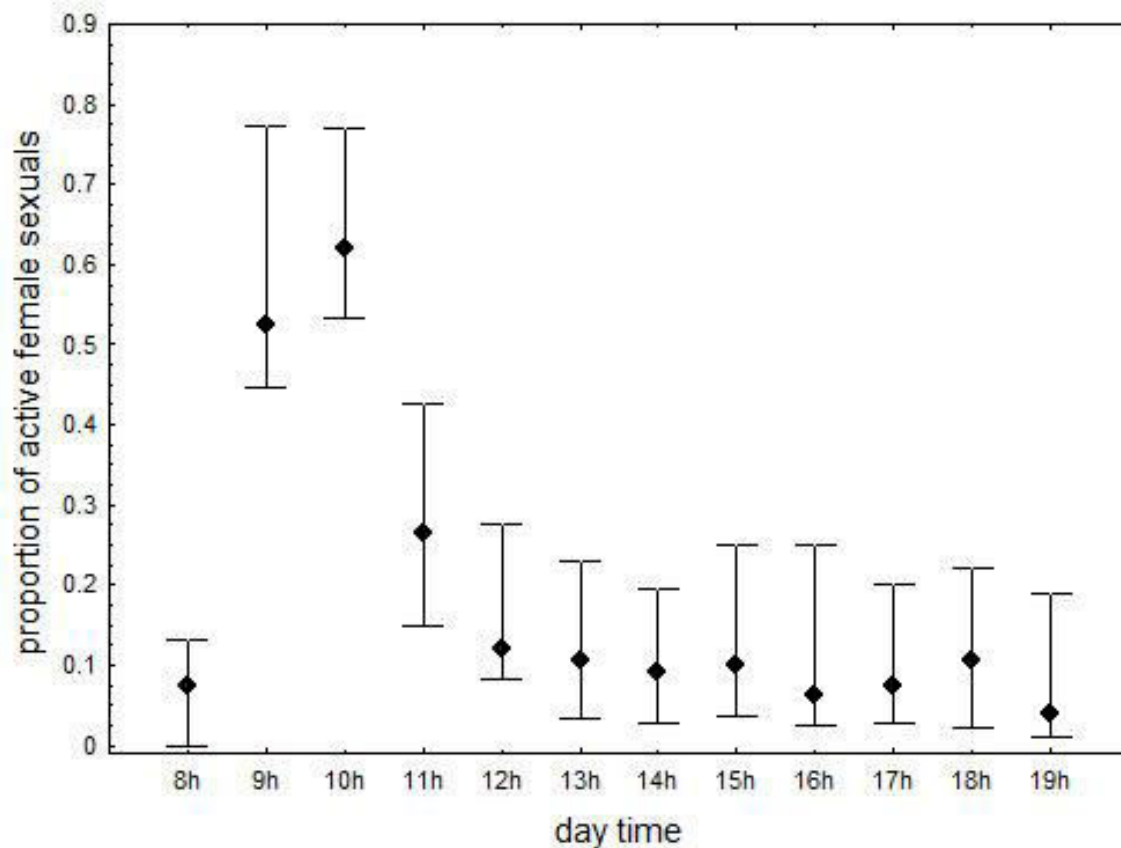


სურ. 14. *Myrmoexnus tamarae*-ს დედოფალი ახრჩობს *Temnothorax crasecundus*-ის დედოფალს ლაბორატორიულ პირობებში.

თავი 2. *L. scamni*-ის კვლევის შედეგები

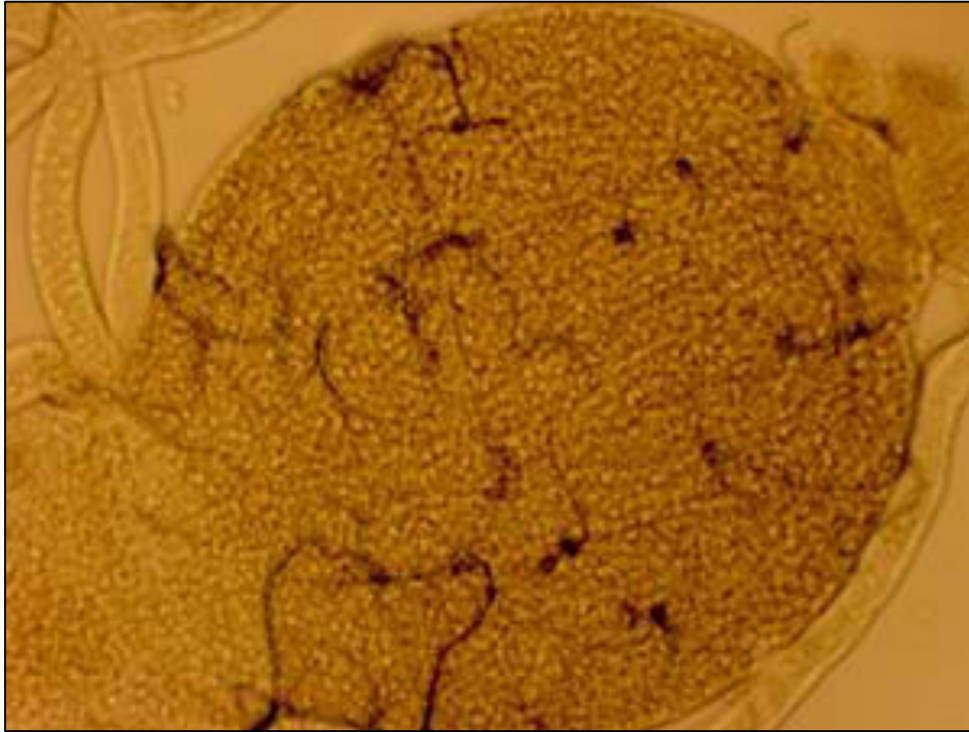
L. scamni-ის შეწყვილების ექსპერიმენტის შედეგი

L. scamni-ის კოლონიების ინტენსიური სკანირების შედეგად გამოვლინდა, რომ ყველაზე მაღალ აქტივობას მდებარეობს ავლენდნენ დილის 9 სთ-დან 11 სთ-ის ჩათვლით, ანუ ხელოვნური მზის ამოსვლიდან 1-2 საათის შემდეგ (დიაგრამა 1) და იწყებდნენ აცოცებას ბუდეში მოთავსებულ ჯოხებზე.



დიაგრამა 1. სექსუალური აქტივობის განრიგი (საშუალო, აქტიური მდედრების პროპორციის კვარტილი) *Leptothorax scamni* - ის 16 კოლონიაში.

შეწყვილებამდე მდედრები რეგულარულად ამოძრავებდნენ, ღუნავდნენ და შლიდნენ მუცელს და ფრთებს, თუმცა აშკარა „მამრების მოხმობის“ ქცევა, რომელიც ცნობილია *Leptothorax* - ის სხვა სახეობებში და მონათესავე გვარებში (Buschinger, 1968b, 1971; Heinze & Buschinger, 1987), ჩვენს მიერ დაფიქსირებული არ ყოფილა. მიუხედავად ამისა, ჩვენს ექსპერიმენტში მდედრებმა მაინც მოახერხეს მამრების მოხიბლვა და მოწმე გავხდით 34 კოპულაციის. კოპულაციები გრძელდებოდა 15-დან 77 წამამდე (საშუალოდ 32 წმ). შეწყვილების შემდეგ მდედრები სწრაფადვე იცლიდნენ ფრთებს. გაკვეთამ დაადასტურა სპერმის არსებობა 23 - დან 21 უფროთო მდედრის სპერმათეკაში (სურ.15); ორ დედოფალში სპერმის არსებობის დამტკიცება ვერ მოხერხდა.



სურ.15. *Leptothorax scamni* -ის მდედრების სპერმით სავსე სპერმათეკა შეწყვილების შემდეგ.

საკვერცხეების გაკვეთის შედეგი

გაკვეთილი იქნა რვა კოლონიის დედოფლების საკვერცხეები. თითოეული კოლონია შეიცავდა მრავალ უფრთო დედოფალს და/ან უფრთო ქალწულს. თითოეულ კოლონიაში იყო მხოლოდ ერთი ვიზუალურად ფიზოგასტრული დედოფალი (რომლის მუცელიც შესამჩნევად გამობერილია დიდი რაოდენობით მომწიფებული კვერცხების გამო). ოთხი ასეთი ფიზოგასტრული დედოფლის გაკვეთამ გამოავლინა, რომ მათი საკვერცხეები იყო წაგრძელებული (3-5 მმ, საშუალოდ 4 მმ) და შეიცავდნენ მრავალრიცხოვან მომწიფებულ ოოციტებს. ყვითელი სხეულის არსებობა მეტყველებდა იმაზე, რომ ამ დედოფლებს წარსულში დიდი რაოდენობით კვერცხები ჰქონდათ დადებული. სხვა, შეწყვილებული და ქალწული დედოფლების საკვერცხეები არ იყო წაგრძელებული და არ შეიცავდნენ მომწიფებულ კვერცხებს ($n = 25$; 0,4–2 მმ, საშუალოდ 0.83 მმ; Mann–Whitney U test, $U = 0$, $p = 0.0017$).

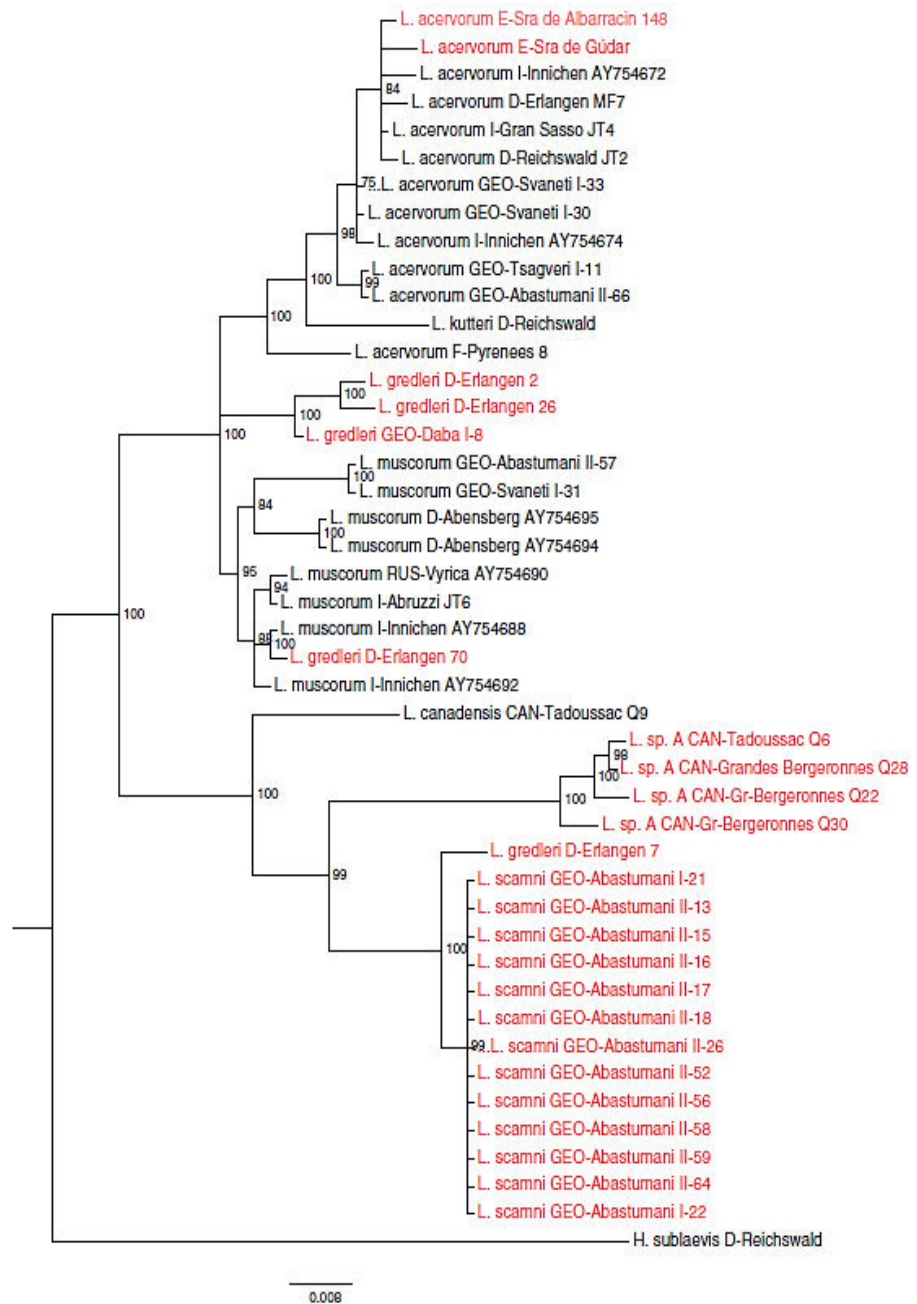
თითოეული კოლონია შეიცავდა მხოლოდ ერთ ფერტილურ დედოფალს და ერთ კოლონიაში რამოდენიმე ფერტილური დედოფლის თანაცხოვრების არც ერთი შემთხვევა არ დაფიქსირებულა.

***Leptothorax* - ის გვარის ფილოგენეზი**

Leptothorax-ის სახეობების 821 ბაზური წყვილი სიგრძის მქონე მიტოქონდრიული დნმ-ის (COI) ფრაგმენტები იყო საკმაოდ ცვალებადი (163 ჩანაცვლების ადგილით), მაგრამ ბირთვული გენები (უფროს, გრძელტალღიანი როდოქსინი, დაგრძელების ფაქტორი 1a-F1) იყვნენ ბევრად უფრო სტაბილურები: 3 ჩანაცვლების ადგილით უფროს გენში, 10-ით - გრძელტალღიანი როდოქსინის გენში და 9-ით დაგრძელების ფაქტორი 1a-F1 გენში (დანართი S6).

მიტოქონდრიულ დნმ-ის ფრაგმენტების ბაიეზიურმა (სურ. 16) და მაქსიმალური მსგავსების (maximum likelihood) ანალიზმა მოგვცა მსგავსი ხის ტოპოლოგიები, სადაც ხე გაყოფილია ორ ძირითად ტოტად. ერთი შეიცავს ძირითადად ჰოლარქტიკულ *L. acervorum*-ს და პალეარქტიკულ *L. muscorum*-ს, მეორე კი *L. scamni*-ის და ორ ნეარქტიკულ ტაქსონს *L. canadensis* და *L. sp. A*-ს. ხის ტოპოლოგია ნათლად აჩვენებს, რომ ფუნქციური ერთდედოფლიანობა (მონოგინია) განვითარდა კონვერგენტულად სხვადასხვა ევოლუციურ განშტოებებში (evolutionary lineages), ანუ სულ ცოტა ერთხელ განვითარდა *L. scamni* - ის და *L. sp. A*-ს განშტოებაში და სულ ცოტა ორჯერ - *L. gredleri*-ის და *L. acervorum*-ის განშტოებაში (დეტალები იხილეთ III პუბლიკაციაში).

Fig. 1 Bayesian consensus tree from two independent analyses of 821 bp sequences of the mitochondrial CO I gene of *Leptothorax scamni* and related species. Bayesian posterior probabilities (as percentages) are given at the nodes. Functionally monogynous taxa are highlighted by *red font* in the online version



სურ. 16. *Leptothorax scamni*-ის და მისი მონათესავე სახეობების მიტოქონდრიული CO I გენის 821 ბაზური წყვილი სიგრძის მქონე სექვენსის ორი დამოუკიდებელი ანალიზიდან აგებული ბაიეზური კონსენსუსის ხე. ბაიეზური აპოსტერიორული ალბათობები (პროცენტული) მოცემულია კვანძებთან. ფუნქციურად მრავალდედოფლიანი ტაქსონები მოცემულია წითელ ფერად.

L. acervorum -ის მუშების სხეულის ზომის დამოკიდებულება სიმაღლის ცვლილებებთან

L. acervorum -ის მუშების თავის მაქსიმალური სიგანე იცვლებოდა 0.71 მმ-დან 0.94 მმ-მდე (საშუალო: 0.82 ± 0.004), ხოლო მეზოსომის სიგრძე 0.91 მმ-დან 1.29 მმ-მდე (საშუალო: 1.10 ± 0.006) და თანაფარდობაში იყო ერთმანეთთან (Spearman's rank correlation: $n = 318$, $r = 0.74$, $P < 0.001$). თავის მაქსიმალური სიგანის შემთხვევაში განაზომის საშუალო ცდომილება იყო 0.0133 ± 0.004 მმ და მეზოსომის სიგრძის შემთხვევაში - 0.0176 ± 0.007 მმ. ვინაიდან განაზომების საშუალო ცდომილებები თავის სიგანის შემთხვევაში უფრო ნაკლები იყო, ვიდრე მეზოსომის სიგრძისას, მხოლოდ თავის სიგანის ანალიზს განვიხილავთ, თუმცა მეზოსომის სიგრძის შემთხვევაშიც ზუსტად ანალოგიური შედეგია მიღებული.

ადგილის სიმაღლის მატებასთან ერთად მოხდა თავის სიგანის მნიშვნელოვანი ზრდა ($t = 3.350$, $P = 0.001$, $R^2_m = 0.098$ and $R^2_c = 0.472$; დიაგრამა 2).

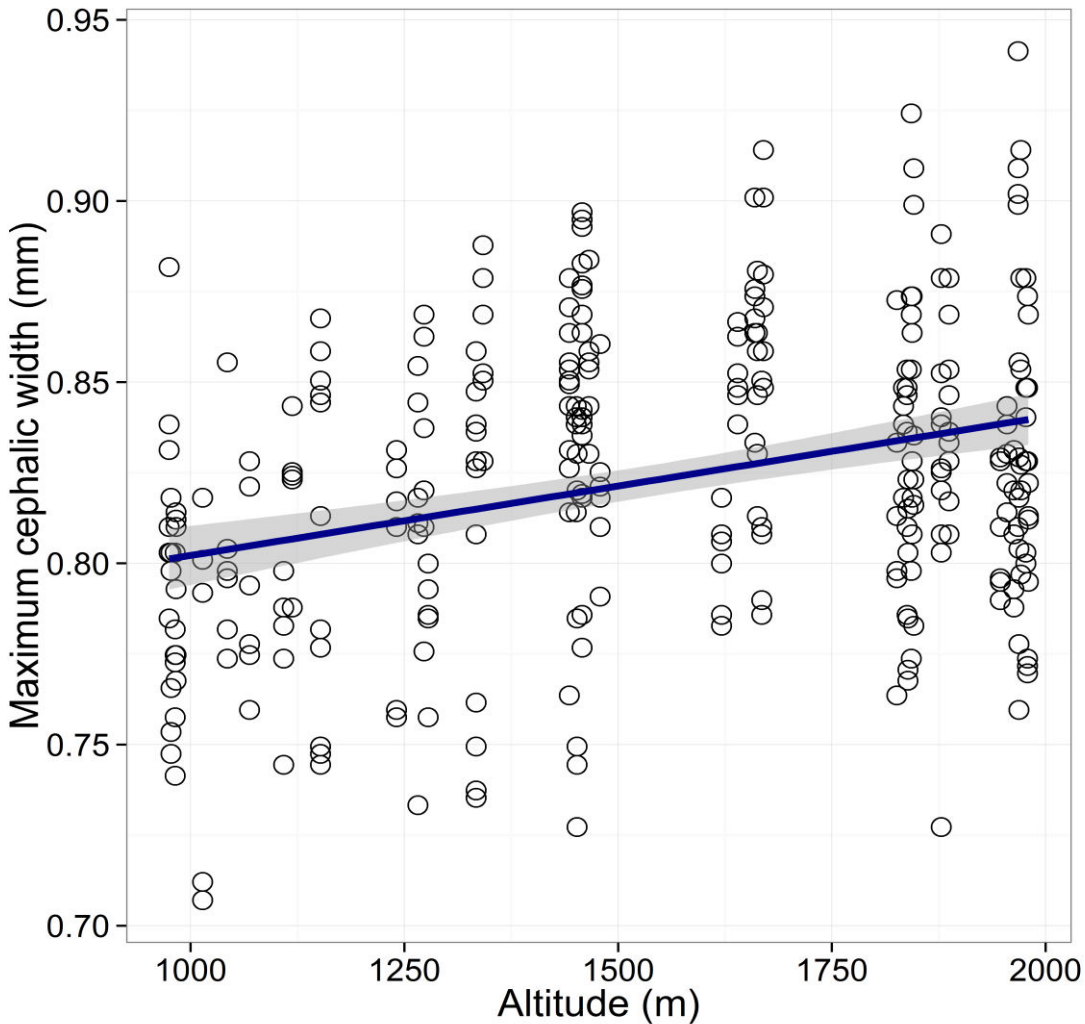
კოლონიის ზომა იცვლებოდა 12-დან 282 მუშამდე თითოეულ ბუდეში (საშუალო: 72.54 ± 17.37 ინდივიდი), მაგრამ სიმაღლის მატებასთან ერთად კოლონიის ზომა არ გაზრდილა ($t = -1.589$, $P = 0.118$).

ჩვენს კვლევაში, ხის ბუდეებში (ქერქის ქვეშ, დამპალ ტოტებში) ნაპოვნი კოლონიები იყვნენ უფრო დიდი ზომის (საშუალო: 93.35 ± 32.43 ინდივიდი), ვიდრე კლდის ნაპრალებში ნაპოვნი (საშუალო: 55.46 ± 16.50 ინდივიდი). თუმცა მონაცემების სტატისტიკური დამუშავებისას მნიშვნელოვანი სხვაობა ამ ორი მასალის ბუდეებს შორის არ დაფიქსირებულა.

დისკუსია

მონათმფლობელი ჭიანჭველის *M. tamarae*-ს ტაქსონომიური სტატუსის განსაზღვრისას გამოვლინდა განსხვავებები *M. tamarae*-ს და *M. ravouxi*-ის შორის და შესაძლო სინონიმიზაციის საკითხი არ დადასტურდა (Gratiashvili et al., 2014). ყველაზე აშკარა სხვაობა ამ ორ ტაქსონს შორის გამოვლინდა ქცევაში. ერთსა და იმავე პირობებში *M. tamarae*-ს მუშები მოძრაობდნენ უფრო სწრაფად, გადიოდნენ უფრო მეტ მანძილს და

ქმნიდნენ უფრო ნაკლებ ხვეულებს მოძრაობისას, ვიდრე *M. ravouxi*-ის მუშები. ერთი მხრივ, ცხოველთა ქცევა არის ხშირად საკმაოდ პლასტიკური სოციალურ მწერებს შორის და შესაძლოა იცვლებოდეს პოპულაციების შიგნითაც კი (Gordon et al. 2011; Modlmeier & Foitzik 2011; Pinter-Wollman et al., 2012), თუმცა ქცევითი სხვაობებით შესაძლოა მოხდეს სახეობა-ორეულების გამიჯვნა (Davison et al., 1999).



დიაგრამა 2. *Leptothorax acervorum* -ის მუშების თავის მაქსიმალური სიგანის დამოკიდებულება ზღვის დონიდან სიმაღლის ცვლილებებთან. 318 მუშა (6 ინდივიდი თითოეული კოლონიიდან) 53 ბუდიდან იქნა გაზომილი. ხაზი გვიჩვენებს ხაზობრივი შერეული მოდელის მიერ პროგნოზირებად დამოკიდებულებას ($t = 3.350, P = 0.001$). ნაცრისფერი არეა გვიჩვენებს ანალიზის 95%-იან სარწმუნოებას.

მორფომეტრიულ ანალიზში *M. tamarae*-ს ყველა ეგზემპლარი გარდა ერთის დაჯგუფდა თურქულ ეგზემპლარებთან, რომლებიც ცნობილი იყვნენ, როგორც *M. ravouxi* (Schulz & Sanetra, 2002), მაშინ როცა ევროპულმა *M. ravouxi* -იმ ჩამოაყალიბა ცალკე კლასტერი (Gratiashvili et al., 2014).

ამ ორი ტაქსონის ბირთვული და მიტოქონდრიული დნმ-ის თანმიმდევრობები მცირედ განსხვავდებოდა ერთმანეთისგან, რაც შესაძლოა აიხსნას ამ გვარში არსებული ამჟამინდელი რადიაციით და ევოლუციური ხაზების არასრული გამიჯნვით (incomplete lineage sorting) (Funk & Omland, 2003; Weimers & Fiedler, 2007; Seifert, 2009).

96 %-იანი კორელაცია გეოგრაფიასა და ფენოტიპს შორის და მცირე, მაგრამ მდგრადი განსხვავება *M. tamarae* -სა და *M. ravouxi* -ის შორის ორი ბირთვული გენის და მიტოქონდრიულ დნმ-ის თანმიმდევრობებში უფლებას გვაძლევს რომ კავკასიურ-თურქული პოპულაციები გამოვყოთ როგორც ცალკე სახეობა, რომელიც გამოცალკევებულია დასავლეთ და ცენტრალურ ევროპაში გავრცელებული *M. ravouxi* -გან. ამ არგუმენტაციას ამყარებს ქცევითი სხვაობები ამ ორ ტაქსონს შორის და ის ფაქტი, რომ დაბის პოპულაცია რეგულარულად იყენებს მასპინძლად *T. cf. unifasciatus*-თან ერთად *T. crasecundus*-ს, რომელიც მიეკუთვნება *Temnothorax nylanderi*-ის კომპლექსს. მიუხედავად იმისა, ეს სახეობა გვხვდება *Myrmoxenus*-ის გვარის გავრცელების არეალში (Seifert & Csösz, 2015), არასოდეს დაფიქსირებულა რომელიმე სოციალური პარაზიტის მასპინძლად (Buschinger 1989; Mei, 1992; Delattre et al., 2012, 2013).

სოფ. დაბაში მოპოვებული *M. tamarae*-ს მცირე რაოდენობის კოლონიების გამოკვლევით მივიღეთ მნიშვნელოვანი ინფორმაცია მისი სასიცოცხლო ციკლის შესახებ. *M. tamarae*-ს ერთი კოლონია ერთდროულად შეიცავდა ორივე ზემოთხსენებული მასპინძელი სახეობის მუშებს, რაც ადასტურებს *M. tamarae* აქტიურ მონათმფლობელობას და მონებზე თავდასხმებს. მონებზე აქტიური თავდასხმა შესაძლოა იყოს ასევე *M. tamarae*-ს ზოგიერთ კოლონიებში არსებული მუშების განსხვავებული გენოტიპების არსებობის ერთ-ერთი ახსნა, რომელიც *Myrmoxenus*-ის გვარის ტიპურ სოციოგენეტიკურ სტრუქტურას, მონოგინიას და მონოანდრიას არ შეესატყვისებოდა.

როგორც *Myrmoxenus*-ის ყველა სახეობისთვისაა დამახასიათებელი, *M. tamarae*-ს დედოფლები მასპინძლის დედოფალს კლავენ დახრჩობით, რისი მოწმეც ჩვენ გავხდით დაკვირვებების დროს ერთ-ერთ კოლონიაში (სურ.14).

კვლევის ანალიზებმა გვიჩვენა, რომ *Leptothorax scamni*-ის კოლონიები მცირე კავკასიონიდან არიან ფუნქციურად ერთდედოფლიანი. თითოეული გამოკვლეული კოლონია შეიცავდა მხოლოდ ერთ ფიზოგასტრულ დედოფალს, საკვერცხეებში მომწიფებული ოოციტებით. ამავე კოლონიების შეწყვილებულ და შეუწყვილებელ დედოფლებს გააჩნდათ პატარა საკვერცხეები მომწიფებული კვერცხების გარეშე. ოპტიმალური უნარების კონცესიური მოდელების (Concession models of optimal skew) (Johnstone, 2000; Reeve & Keller, 2001; Nonacs & Hager, 2011) თანახმად მაღალი რეპროდუქციული უნარი დაკავშირებულია ხელსაყრელი ჰაბიტატის ლაქობრივ გავრცელებასთან, რაც ახალგაზრდა დედოფლების გაბნევას და მარტოულად კოლონიების დაარსებას იწვევს (Bourke & Heinze, 1994). სავლელ დაკვირვებების შედეგად აღინიშნა *L. scamni*-ის სწორედ ასეთი ლაქობრივი ჰაბიტატის არსებობა, რის გამოც ნავარაუდევია იყო *L. scamni*-ის შემთხვევაში მაღალი რეპროდუქციული უნარის და ადგილობრივი შეწყვილების არსებობა. ახასთუმანში წიწვოვანი ტყის მასივში კოლონიების პოვნა ჩვენ შევძელით მხოლოდ მთის სამხრეთ ფერდობზე არსებული ნამძნარის ღია ადგილზე. მიუხედავად ახასთუმნის სხვა ადგილებში ინტენსიური ძებნისა, ამ სახეობის კოლონიების პოვნა ვერ მოხერხდა.

ლაბორატორიაში *L. scamni*-ის მამრებმა და ახალგაზრდა დედოფლებმა, მონათესავე სახეობების მსგავსად (Heinze & Buschinger, 1987; Bernadou & Heinze, 2013), სექსუალური აქტივობა გამოავლინეს დილით, მაგრამ *L. acervorum*-გან განსხვავებით (Franks et al., 1991), შეწყვილდნენ დიდი ფრენითი აქტივობის გარეშე. ახალგაზრდა შეწყვილებული დედოფლები უპრობლემოდ იქნენ მიღებულნი უკან მშობლიურ ბუდეში, თუმცა სავლელ დაკვირვებების შედეგად გამოვლენილი იქნა კოლონიების დამაარსებელი ცალკეული დედოფლების და დედოფალთა ჯგუფების არსებობაც.

Leptothorax-ის გვარის ფუნქციურად ერთდედოფლიანი სახეობების დედოფლები მშობლიურ ბუდეში დაბრუნების და ასევე ჰიბერნაციის შემდეგ ანტენებით ჩხუბით და

კბენით აყალიბებენ დომინანტურ იერარქიებს (Heinze & Smith, 1990; Heinze & Ortius, 1991; Heinze et al., 1992; Ito, 2005; Trettin et al., 2011). დედოფალ-დედოფლის და მუშა-დედოფლის აგრესიამ შესაძლოა გამოიწვიოს მათი დაზიანებები და დაბალ რანგზე მყოფი დედოფლების გამოძევება ბუდიდან (Heinze et al., 1992; Ortius & Heinze, 1999; Gill & Hammond, 2011). ჩვენი გამოკვლევის დროს *L. scamni*-ის მშობლიურ ბუდეში უკან დაბრუნებული რამდენიმე დედოფალი დაილუპა ბუდეში მიბრუნებიდან რამდენიმე კვირაში, რას შესაძლოა მიუთითებს სწორედ ასეთი აგრესიის არსებობაზე.

ფილოგენეზურმა ანალიზმა აჩვენა, რომ *Leptothorax*-ის გვარში ფუნქციური ერთდედოფლიანობა განვითარდა კონვერგენტულად რამდენიმე ევოლუციურ ხაზში. რეპროდუქციული უნარი ვლინდება, რომ არის ლაბილური თვისება, რისი ნათელი მაგალითიცაა *L. acervorum*-ის ორივე, ფუნქციურად ერთდედოფლიანი და მრავალდედოფლიანი პოპულაციების არსებობა (Heinze et al., 1995; Gill et al., 2009). ეს მიანიშნებს იმას, რომ მაღალი ან დაბალი რეპროდუქციული უნარი შეიძლება განვითარდეს გარემო პირობების შეცვლით.

როგორც ჩვენმა გამოკვლევამ გვიჩვენა, ზღვის დონიდან სიმაღლის მატებასთან ერთად *L. acervorum*-ის კოლონიებში მუშების სხეულის ზომა იზრდება, რაც გამოიხატება თავის სიგანისა და მეზოსომის სიგრძის ზრდაში.

სხეულის დიდი ზომა შესაძლოა იყოს უპირატესობა დაბალი ტემპერატურის დროს, როდესაც საკვების მოპოვება შეზღუდულია, რადგანაც უფრო დიდ მუშებს აქვთ გაზრდილი შიმშილისადმი რეზისტენტულობა (Cushman et al., 1993; Heinze et al., 2003). შესაძლოა სხეულის ზომის ზრდა გამოწვეული იყოს სხვა მექანიზმებით, მაგ. კონკურენციის შესუსტებით და სითბოს შენახვით (Blackburn et al., 1999; Heinze et al., 2003).

სიმაღლის მატებასთან ერთად *L. acervorum*-ის კოლონიების ზომა არ გაზრდილა. სავარაუდოდ, ჭიანჭველების კოლონიის ზრდა ხდება ტროპიკებიდან ზომიერი სარტყლისკენ საკვები რესურსების ნაკლებობისას (Kaspari & Vargo, 1995). მკაცრ კლიმატურ პირობებში დედოფლები უფრო დიდხანს ცოცხლობენ დიდ კოლონიებში, ვიდრე პატარაში (Kaspari & Vargo, 1995). როგორც ჩანს, *L. acervorum*-ში კოლონიის

ზომასთან დაკავშირებით სხვა ფაქტორმა იქონია გავლენა, როგორცაა ბუდის მასალა. ჩვენს კვლევაში, ხის ბუდეებში (ქერქის ქვეშ, დამპალ ტოტებში) ნაპოვნი კოლონიები იყვნენ უფრო დიდი ზომის, ვიდრე კლდის ნაპრალებში ნაპოვნი. კვლევის დროს მეტი ფაქტორია გასათვალისწინებელი, როგორცაა კოლონიის განვითარების სტადია ან დედოფლების რაოდენობა, ასევე საკვების და ამინდის ცვალებადობა, რამაც შესაძლებელია იქონიოს გავლენა კოლონიის ზომაზე ზღვის დონიდან სიმაღლესთან კავშირში.

დასკვნები

- რამოდენიმე მეთოდის (მორფოლოგიური და ქცევითი) გამოყენებით დადასტურდა *M. tamarae*-ს ვალიდურობა.
- *M. tamarae*-ს კოლონიის სტრუქტურა შეესაბამება მოსალოდნელ მონოგინიას და მონოანდრიას.
- *M. tamarae*-ს ახალგაზრდა დედოფლები აინვაზირებენ ორ მასპინძელ სახეობას (*T. crasecundus* და *T. cf. unifasciatus*).
- *L. scamni*-ის შეწყვილების ქცევის შესწავლის, განაყოფიერებულ დედოფლებზე დაკვირვებების და დედოფლების საკვერცხეების გაკვეთის შედეგად დადასტურდა მასში ფუნქციური ერთდედოფლიანობის არსებობა.
- COI მიტოქონდრიული გენის სექვენსზე დაყრდნობით *Leptothorax*-ის გვარის ფილოგენეზმა დაადასტურა, რომ ფუნქციური ერთდედოფლიანობა განვითარდა კონვერგენტულად *Leptothorax*-ის რამოდენიმე ტაქსონში.
- *Leptothorax acevorum*-ის კოლონიების გამოკვლევამ აჩვენა *L. acevorum*-ის მუშების სხეულის ზომის, მაგრამ არა კოლონიის ზომის ზრდა ზღვის დონიდან სიმაღლის ზრდასთან ერთად.

ლიტერატურა

- Арнольди К. В. (1968) Важные дополнения к мирмекофауне (Hymenoptera, Formicidae) СССР и описание новых форм. *Зоологический Журнал*, 47: 1800–1822.
- Andersen, A. N. (1997) Using Ants as bioindicators: Multiscale Issues in Ant Community Ecology. *Conservation Ecology*, 1: 8.
- 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: 8 -17.
- Anderson, M. J. (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26, 32–46.
- Arnol'di, K.V. (1977) New and little known species of the genus *Leptothorax* (Mayr) (Hymenoptera, Formicidae) in the European regions of the USSR and the Caucasus. *Entomol. Rev.* 56: 148–153
- Beibl, J., Stuart, R. G., Heinze, J. & Foitzik, S. (2005) Six origin of slavery in formicoxenine ant. *Insectes Sociaux*, 52: 291–297.
- Bergmann, C. (1847) Ueber die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttinger Studien*, 3, 595 –708
- Bernadou, A. & Heinze, J. (2013) Mating-associated changes in the behaviour of *Leptothorax gredleri* ant queens. *Ethology*, 119: 634–643.
- Bernadou, A., Espadaler, X., Le Goff, A. & Fourcassié, V. (2015) Ant community organization along elevational gradients in a temperate ecosystem. *Insectes Sociaux*, 62, 59-71.
- Blackburn T.M., Gaston K.J. & Loder, N. (1999) Geographic gradients in body size: a clarification of Bergmann's rule. *Diversity and Distributions*, 5, 165–174.
- Blaimer, B. B. & Fisher, B. L. (2013) How much variation can one ant species hold? Species delimitation in the *Crematogaster kelleri* group in Madagascar. *PLoS ONE*, 8, e68082. doi:10.1371/journal.pone.0068082

- Bolton, B. (2003) Synopsis and Classification of Formicidae. *Memoirs of American Entomological Institute*, 71: 1-370.
- Bourke, A. F. G. (1991) Queen behaviour, reproduction and egg cannibalism in multiple-queen colonies of the ant *Leptothorax acervorum*. *Animal Behaviour*, 42: 295-310.
- Bourke, A. F. G. (1993) Lack of experimental evidence for pheromonal inhibition of reproduction among queens in the ant *Leptothorax acervorum*. *Animal Behaviour*, 45: 501–509.
- Bourke, A. F. G. & Heinze, J. (1994) The ecology of communal breeding: the case of multiply-queened leptothoracine ants. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 345: 359-372.
- Bourke, A. F. G., Green, H. A. A. & Bruford, M. W. (1997) Parentage, reproductive skew and queen turnover in a multiple-queen ant analysed with microsatellites. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 264: 277-283.
- Brady, S. G., Schultz, T. R., Fisher, B. L. & Ward, P. S. (2006) Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *PNAS*, 103: 18172–18177.
- Buschinger, A. (1968a) Mono- und Polygynie bei Arten der Gattung *Leptothorax* Mayr (Hymenoptera Formicidae). *Insectes Sociaux*, 15: 217-226.
- Buschinger, A. (1968b) „Locksterzeln“ begattungsbereiter ergatoider Weibchen von *Harpagoxenus sublaevis* NYL. (Hymenoptera, Formicidae). *Experientia* 24: 297.
- Buschinger, A. (1968c) Zur Verbreitung und Lebensweise des Tribus Leptothoracini (Hymenoptera, Formicidae) in Nordbayern. *Bayer Tierwelt*, 1: 115-128.
- Buschinger, A. (1971) “Locksterzeln” und Kopula der sozialparasitischen Ameise *Leptothorax kutteri* Buschinger (Hym. Form.). *Zoologischer Anzeiger*, 186: 242–248.
- Buschinger, A. (1974) Mono-und polygynie in Insektensozietäten. In: Schmidt, G. H. (Ed), *Sozialpolymorphismus bei insekten*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, pp. 862–896.
- Buschinger, A. (1979) Functional monogyny in the American guest ant, *Formicoxenus hirticornis* (Emery) (= *Leptothorax hirticornis*) (Hym., Form.). *Insectes Sociaux*, 26: 61-68.

- Buschinger, A. (1986) Evolution of social parasitism in ants. *Trends in Ecology & Evolution*, 1: 155–160.
- Buschinger, A. (1987) Biosystematics of the ant tribe Leptothoracini. *In*: Eder, J. & Rembold, H. (Eds), *Chemistry and Biology of Social Insects*. Peperny, München, pp. 27–28.
- Buschinger, A. (1989) Evolution, speciation and inbreeding in the parasitic ant genus *Epimyrma* (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 2, 265–283.
- Buschinger, A. (2009). Social parasitism among ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 12: 219–235.
- Buschinger, A. & Winter, U. (1976) Funktionelle Monogynie bei der Gastameise *Formicoxenus nitidulus* (Nyl.) (Hym. Form.). *Insectes Sociaux*, 23: 549–558.
- Buschinger, A. & Alloway, T. M. (1978) Caste polymorphism in *Harpagoxenus canadensis* MR Smith (Hym. Formicidae). *Insectes Sociaux*, 25: 339–350.
- Buschinger, A., Francoeur, A. & Fischer, K. (1980) Functional monogyny, sexual behavior, and karyotype of the guest ant, *Leptothorax provancheri* Emery (Hymenoptera, Formicidae). *Psyche*, 87: 1–12.
- Buschinger, A. & Winter, U. (1983) Population studies of the dulotic ant, *Epimyrma ravouxi*, and the degenerate slavemaker *E. krausseii* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomologia Generalis*, 8: 251–266.
- Buschinger, A. & Francoeur, A. (1991) Queen polymorphism and functional monogyny in the ant, *Leptothorax sphagnicolus* Francoeur. *Psyche*, 98: 119–133
- Cushman, J. H., Lawton, J. H. & Manly, B. F. J. (1993) Latitudinal patterns in European ant assemblages: variation in species richness and body size. *Oecologia*, 95, 30–37.
- D’ettore, P. & Heinze, J. (2001) Sociobiology of slave making ants. *Acta ethologica*, 3: 67– 82.
- Darwin, C. (1859) *On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life*. John Murray, London, 502 pp.
- Davison, A., McMillan, W. O., Griffin, A. S., Jiggins, C. D. & Mallet, J. L. B. (1999) Behavioral and physiological differences between two parapatric *Heliconius* species. *Biotropica*, 31: 661–668.

- DeFoliart, G. R (1999) Insects as food: Why the western attitude is important. *Annual Review of Entomology*, 44: 21–50.
- Delattre, O., Blatrix, R., Châline, N., Chaméron, S., Fédou, A., Leroy, C. & Jaisson, P. (2012) Do host species evolve a specific response to slave-making ants? *Frontiers in Zoology*, 9: 1–10.
- Delattre, O., Châline, N., Chaméron, S., Lecoutey, E. & Jaisson, P. (2013) Opportunist slave-making ants *Myrmoxenus ravouxi* discriminate different host species from a non-host species. *Insectes Sociaux*, 60: 7–13.
- Douwes, P., Sivusaari, L., Niklasson, M. & Stille, B. (1987) Relatedness among queens in polygynous nests of the ant *Leptothorax acervorum*. *Genetica*, 75: 23–29.
- Dunn, R.R., Guénard, B., Weiser, M.D. & Sanders, N.J. (2010) Geographic gradients. Ant ecology (ed. by L. Lach, C.L. Parr & K.L. Abbott), pp. 38–58. Oxford University Press, Oxford, U.K.
- Ellison, A. M., Gotelli, N. J., Farnsworth, E. J. & Alpert, G. D (2012) *A field guide to the ants of New England*. Yale University Press, New Haven, 416 pp.
- Felke, M. & Buschinger, A. (1999) Social organization, reproductive behavior and ecology of *Leptothorax acervorum* (Hymenoptera, Formicidae) from the Sierra de Albarracin in central Spain. *Insectes Sociaux*, 46: 84–91.
- Francoeur, A., Loiselle, R. & Buschinger, A. (1985). Biosystematique de la tribu Leptothoracini (Formicidae, Hymenoptera). Le genre *Formicoxenus* dans la region holarctique. *Le Naturaliste canadien*, 112: 343–403.
- Franks, N. R., Sendova-Franks, A.B., Sendova-Vassileva, M. & Vassilev, L. (1991) Nuptial flights and calling behaviour in the ant *Leptothorax acervorum* (Fabr.). *Insectes Sociaux*, 38: 327–330.
- Funk, D. J. & Omland, K. E. (2003) Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34: 397–423.
- Gill, R. J, Arce, A., Keller, L. & Hammond, R. L. (2009) Polymorphic social organization in an ant. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 276: 4423–4431.

- Gill, R. J. & Hammond, R. L. (2011) Workers influence royal reproduction. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 278: 1524–1531.
- Glaser, F. (2006) Biogeography, diversity and vertical distribution of ants (Hymenoptera: Formicidae) in Vorarlberg, Austria. *Myrmecological News*, 8, 263–270.
- Gordon, D. M., Guetz, A., Greene, M. J. & Holmes, S. (2011) Colony variation in the collective regulation of foraging by harvester ants. *Behavioral Ecology*, 22: 429–435.
- Gottrup, F. & Leaper, D. (2004) Wound healing: Historical aspects. *EWMA Journal*, 4: 21-26.
- Gotzek, D., Brady, S. G., Kallal, R. J. & LaPolla, J. S. (2012) The importance of using multiple approaches for identifying emerging invasive species: the case of the raspberry crazy ant in the United States. *PLoS ONE*, 7: e45314 doi:10.1371/journal.pone.0045314
- Gratiashvili, N. & Barjadze, Sh. (2008) Checklist of the ants (Formicidae Latreille, 1809) of Georgia. *Proceedings of the Institute of Zoology*, 23: 130-146.
- Gratiashvili N., Bernadou A., Suefuji M., Seifert B. & Heinze J. (2014) The Caucaso-Anatolian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Arnoldi, 1968) and its more widely distributed congener *Myrmoxenus ravouxi* (André, 1896): a multidisciplinary comparison (Hymenoptera: Formicidae). *Organisms, Diversity & Evolution* 14 : 259–267
- Gratiashvili N., Suefuji M., Barjadze Sh. & Heinze J. (2015) Morphometrics, life history and population biology of the Ponto-Caucasian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Hymenoptera: Formicidae). *European Journal of Entomology* 112 (1) : 175–179
- Gudger, E. W. (1925) Stitching wounds with the mandibles of ants and beetles. *Journal of the American Medical Association*, 84: 1861–1864.
- Hall, T. A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/96/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95–98.
- Hammond, R. L., Bruford, M. W. & Bourke, A. F. G. (2006) A test of reproductive skew models in a field population. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 61:265–275.
- Heinze, J. (1993) Habitat structure, dispersal strategies and queen number in two boreal *Leptothorax* ants. *Oecologia*, 96: 32–39.

- Heinze, J. (1995) Reproductive skew and relatedness in *Leptothorax* ants. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 261: 375–379.
- Heinze, J. & Buschinger, A. (1987) Queen polymorphism in a non-parasitic *Leptothorax* species (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, 34: 28–43.
- Heinze, J. & Buschinger, A. (1988) Polygyny and functional monogyny in *Leptothorax* ants (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 95: 309–325.
- Heinze, J. & Smith T. A. (1990) Dominance and fertility in a functionally monogynous ant. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 27: 1–10.
- Heinze, J. & Ortius, D. (1991) Social organization of *Leptothorax acervorum* from Alaska (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 98: 227–240.
- Heinze, J., Lipski, N. & Hölldobler, B. (1992) Reproductive competition in colonies of the ant *Leptothorax gredleri*. *Ethology*, 90: 265–278.
- Heinze, J., Schulz, A. & Radchenko, A. (1993) Redescription of *Leptothorax* (s.str.) *scamni* from Turkey and the Caucasus. *Psyche*, 100: 177–183.
- Heinze, J., Lipski, N., Hölldobler, B. & Bourke, A. F. G. (1995) Geographical variation in the genetical and social structure of the ant, *Leptothorax acervorum*. *Zoology*, 98: 127–135.
- Heinze, J., Foitzik, S., Fischer, B., Wanke, T. & Kipyatkov, V.E. (2003) The significance of latitudinal variation in body size in a holarctic ant, *Leptothorax acervorum*. *Ecography*, 26, 349–355.
- Heinze J. & Gratiashvili N. (2015) High skew in the Caucasus: functional monogyny in the ant *Leptothorax scamni*. *Insectes Sociaux*, 62 (4): 385–392
- Helaers, R. & Milinkovitch, M. C. (2010) MetaPIGA v2.0: maximum likelihood large phylogeny estimation using the metapopulation genetic algorithm and other stochastic heuristics. *BMC Bioinformatics*, 11: 1–379.
- Hölldobler, B. & Wilson, M. O. (1990) *The ants*. Belknap Press, Cambridge, 732 pp.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. O. (2008) *The Superorganism: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies*. W.W. Norton & Company, New York, 521 pp.

- Huber, P. (1810) *Recherches sur les moeurs des fourmis indigenes*. J. J. Paschoud, Paris, XIII - 328 pp.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 745–755.
- Ito, F. (1990) Functional monogyny of *Leptothorax acervorum* in northern Japan. *Psyche*, 97: 203–211.
- Ito, F. (2005) Mechanisms regulating functional monogyny in Japanese population of *Leptothorax acervorum* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae): dominance hierarchy and preferential egg cannibalism. *Belgian Journal of Zoology*, 135: 3–8.
- Жижилашвили Т.И. (1967) Материалы к мирмекощауне лесов Боржоми и Бакуриани. В кн.: Джапаридзе Н. и Кохя С (Ред.), Материалы к фауне Грузии, вып.2, с. 50-70.
- Johnstone, R. A. (2000) Models of reproductive skew: a review and synthesis. *Ethology*, 106: 5–26.
- Joshua, R., King, A., Andersen, N. A. & Cutter, D. (1998) Ants as bioindicators of habitat disturbance: validation of the functional group model for Australia's humid tropics. *Biodiversity & Conservation*, 7: 1627–1638.
- Kalinowski S. T., Taner M. L. & Marshall T. C. (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 16: 1099–1106.
- Kaspari, M. & Vargo, E.L. (1995) Colony size as a buffer against seasonality: Bergmann's rule in social insects. *American Naturalist*, 145, 610–632.
- Latke, J. E. (2000) Specimen processing: building and curating an ant collection. *In*: Agosti, D., Majer, J.D., Alonso, L.E. & Schultz T.R. (Eds), *Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*. Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 155–171.
- McArdle, B. H. & Anderson, M. J. (2001) Fitting multivariate models to community data: a comment on distance based redundancy analysis. *Ecology*, 82: 290–297.
- McGain, F. & Winkel, K. D. (2002) Ant sting mortality in Australia. *Toxicon*, 40: 1095–1100.

- Mei, M. (1992) A survey of the socially parasitic ant genera *Epimyрма* Emery, 1915 and *Chalepoxenus* Menozzi, 1922 in Italy (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae). *Insectes Sociaux*, 39: 145–156.
- Milne, I., Lindner, D., Bayer, M., Husmeier, D., McGuire, G., Marshall, D. F. & Wright, F. (2009) TOPALi v2: a rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops. *Bioinformatics*, 25: 126–127.
- Modlmeier, A. P. & Foitzik, S. (2011) Productivity increases with variation in aggression among group members in *Temnothorax* ants. *Behavioral Ecology*, 22: 1026–1032.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A. & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858.
- Nakagawa, S. & Schielzeth, H. (2013) A general and simple method for obtaining R^2 from Generalized Linear Mixed-effects Models. *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 133–142.
- Noldus Information Technology. (2007) Ethovision XT: the next generation of video tracking systems. Reference Manual, Version 5. Wageningen, The Netherlands.
- Nonacs, P. & Hager, R. (2011) The past, present and future of reproductive skew theory and experiments. *Biological Reviews*, 86: 271–298.
- Oberstadt, B. & Heinze, J. (2003) Mating biology and population structure of the ant, *Leptothorax gredleri*. *Insectes Sociaux*, 50: 340–345.
- Oettler, J., Suefuji, M. & Heinze, J. (2010) The evolution of alternative reproductive tactics in male *Cardiocondyla* ants. *Evolution*, 64: 3310–3317.
- Oksanen, J., Guillaume Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., O’ Hara, R.B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H. & Wagner, H. (2011) Vegan: community ecology package. Version 1.17-9. <http://cran.r-project.org/web/packages/vegan/>
- Ortius, D. & Heinze, J. (1999) Fertility signaling in queens of a North American ant. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 45: 151–159.
- Pardi, L. (1940) Ricerche sui Polistini. I. Poliginia vera ed apparente in *Polistes gallicus* L. *Atti della Società Toscana de Scienze Naturali di Pisa*, 49: 3–9.

- Pardi, L. (1946) Ricerche sui Polistini. VII. La "dominazione" e il ciclo ovarico annual in *Polistes gallicus* (L.). *Bollettino dell' Istituto di Entomologia della Università di Bologna*, 15: 25-84.
- Peakall, R. & Smouse, P. E. (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics*, 28: 2537–2539.
- Pinter-Wollman, N., Gordon, D. M. & Holmes, S. (2012) Nest site and weather affect the personality of harvester ant colonies. *Behavioral Ecology*, 23: 1022–1029.
- Queller, D. C. & Goodnight, K. F. (1989) Estimating relatedness using genetic markers. *Evolution*, 43: 258–275.
- Рузский М. (1905) Муравьи России (Formicariae Imperii Rossici). *Труды Общества Естественных Испытателей при Императорскомъ Казанскомъ Университете*. 37: 1–800
- R Development Core Team (2010) R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org>.
- R Development Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
- Reeve, H. K. & Keller, L. (2001) Tests of reproductive-skew models in social insects. *Annual Review of Entomology*, 46: 347–385.
- Ross, K. G., Gotzek, D., Ascunce, M. S. & Shoemaker, D. D. (2010) Species delimitation: a case study in a problematic ant taxon. *Systematic Biology*, 59: 162–184.
- Sambrook, J. & Russell, D. (2001) *Molecular Cloning*. 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2344 pp.
- Sapolsky, R. M. (2001) *A Primate's Memoir: A Neuroscientist's Unconventional Life Among the Baboons*. Simon & Schuster, New York, 156 pp.
- Schlick-Steiner, B. C., Steiner, F. M., Sanetra, M., Heller, G., StauVer, C., Christian, E. & Seifert, B. (2005) Queen size dimorphism in the ant *Tetramorium moravicum* (Hymenoptera, Formicidae): Morphometric, molecular genetic and experimental evidence. *Insectes Sociaux*, 52: 186–193.
- Schmid-Hempel, P. (1998) *Parasites in Social Insects*. Princeton University Press, Princeton, NJ, 409 pp.

- Schulz, A. & Sanetra, M. (2002) Notes on the socially parasitic ants of Turkey and the synonymy of *Epimyрма* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomofauna*, 23: 157–172.
- Seifert, B. (2007) Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas. Lutra, Klitten.
- 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. & Goropashnaya, A.V. (2004) Ideal phenotypes and mismatching haplotypes—errors of mtDNA treeing in ants (Hymenoptera: Formicidae) detected by standardized morphometry. *Organisms Diversity & Evolution*, 4: 295–305.
- Seifert, B., Ritz, M. & Csösz, S. (2013) Application of exploratory data analyses opens a new perspective in morphology-based alpha-taxonomy of eusocial organisms. *Myrmecological News*, 19: 1–15.
- Seifert, B., & Csösz, S. (2015) *Temnothorax crasecundus* sp. n. a cryptic Eurocaucasian ant species (Hymenoptera, Formicidae) discovered by Nest Centroid Clustering. *ZooKeys* 479: 37–64.
- Seppä, P. (2008) Do ants (Hymenoptera: Formicidae) need conservation and does ant conservation need genetics. *Myrmecological News*, 11: 161–172.
- Seppä, P., Helanterä, H., Trontti, K., Puntila, P., Chernenko, A., Martin, S. J. & Sundström, L. (2011) The many ways to delimit species: hairs, genes and surface chemistry. *Myrmecological News*, 15: 31–41.
- Shelomi, M. (2012) Where are we now? Bergmann's rule sensu lato in insects. *American Naturalist*, 180, 511–519.
- Simon, C., Frati, F., Benckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Flook, P. (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87: 652–701.
- Skaloudova, B., Zemek, R. & Krivan, V. (2007) The effect of predation risk on an acarine system. *Animal Behaviour*, 74: 813–821.

- Social Insects Specialist Group. 1996. Formicidae. In: IUCN 2016. IUCN Red List of Threatened Species. www.iucnredlist.org. Accessed 20 April 2016.
- Steiner, F. M., Schlick-Steiner, B. C., Schödl, S., Espadaler, X., Seifert, B., Christian, E. & StauVer, C. (2004) Phylogeny and bionomics of *Lasius austriacus* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, 51: 24–29.
- 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 alpestre* sp.n. (Hymenoptera: Formicidae). *Zoologischer Anzeiger*, 249: 223–254.
- Stille, B., Stille, M. & Douwes, P. (1991) Polygyny, relatedness and nest founding in the polygynous myrmicine ant *Leptothorax acervorum* (Hymenoptera; Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 28: 91–96.
- Sword, G. A. (2005) Local population density and the activation of movement in migratory band-forming Mormon crickets. *Animal Behaviour*, 69: 437–444.
- Trettin, J., Haubner, M., Buschinger, A. & Heinze, J. (2011) Queen dominance and worker policing control reproduction in a threatened ant. *BMC Ecology*, 11: 1-7.
- Trettin, J., Seyferth, T. & Heinze, J. (2014) Behavioral plasticity in ant queens: environmental manipulation induces aggression among normally peaceful queens in the socially polymorphic ant *Leptothorax acervorum*. *PLoS ONE* 9: e95153. doi:10.1371/journal.pone.0095153
- Ward, P. S. (2007) Phylogeny, classification, and species-level taxonomy of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Zootaxa*, 1668: 549–563.
- Weimers, M. & Fiedler, K. (2007) Does the DNA barcoding gap exist? a case study in blue butterflies (Lepidoptera, Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4: 1-16.
- Wilson E. O. (1971) *The Insect Societies*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, 548 pp.

- Zazanashvili, N., Sanadiradze, G. & Bukhnikashvili, A. (1999) Caucasus. *In: Mittermeier, R. A., Myers, N. & Mittermeier, C. G. (Eds), Hotspots – Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions*. CEMEX and Conservation International, Mexico City.
- Zazanashvili, N., Sanadiradze, G., Bukhnikashvili, A., Kandaurov, A. & Tarkhnishvili, D. (2004) Caucasus. *In: Mittermaier, R. A., Gil, P.G, Hoffmann, M., Pilgrim, J., Brooks, T., Mittermaier, C.G., Lamoreux, J. & Fonseca, G. A. B. (Eds), Hotspots revisited, Earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions*. CEMEX/Agrupacion, Sierra Madre, pp 148–153.
- Zuur, A., Ieno, E.N., Walker, N., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Springer, New York.

*The Caucaso-Anatolian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Arnoldi, 1968) and its more widely distributed congener *Myrmoxenus ravouxi* (André, 1896): a multidisciplinary comparison (Hymenoptera: Formicidae)*

Nana Gratiashvili, Abel Bernadou, Masaki Suefuji, Bernhard Seifert & Jürgen Heinze

Organisms Diversity & Evolution

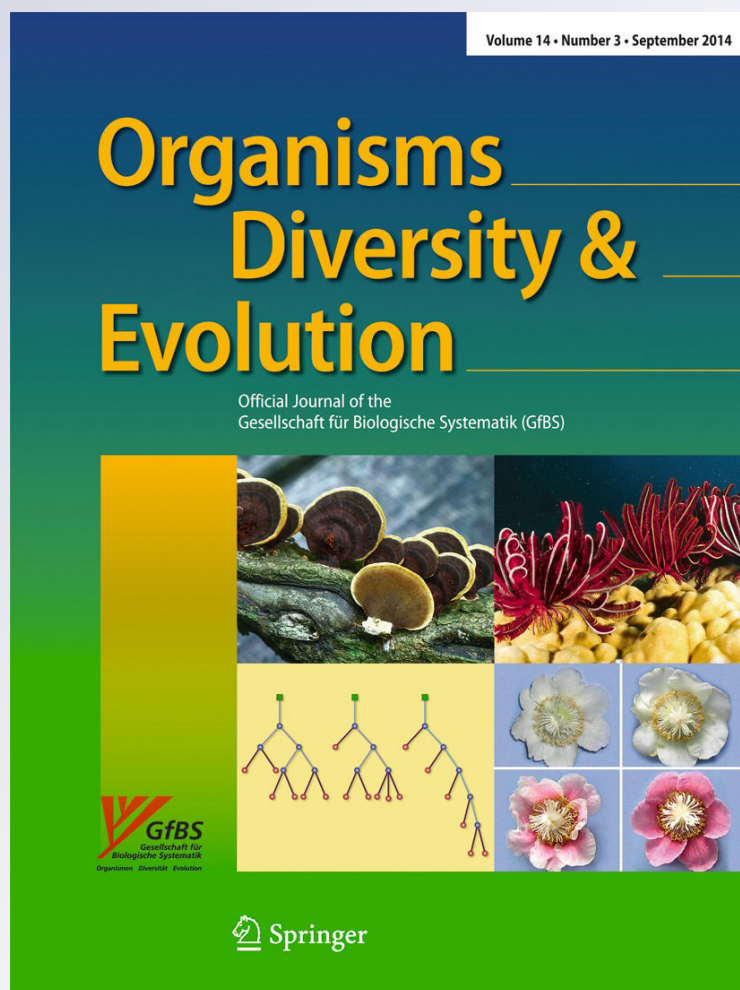
ISSN 1439-6092

Volume 14

Number 3

Org Divers Evol (2014) 14:259-267

DOI 10.1007/s13127-014-0174-6



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by Gesellschaft für Biologische Systematik. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".

The Caucaso-Anatolian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Arnoldi, 1968) and its more widely distributed congener *Myrmoxenus ravouxi* (André, 1896): a multidisciplinary comparison (Hymenoptera: Formicidae)

Nana Gratiashvili · Abel Bernadou · Masaki Suefuji ·
Bernhard Seifert · Jürgen Heinze

Received: 13 December 2013 / Accepted: 23 April 2014 / Published online: 29 June 2014
© Gesellschaft für Biologische Systematik 2014

Abstract A small minority of the presently recognized ~12,500 species of ants are slave-makers, which permanently depend on the help of “slave workers,” that is workers of other ant species, which they pillage as brood from their nests in well-organized slave raids. The genus *Myrmoxenus* is one of the most species-rich taxa of slave-making ants, but individual species are often not well-delimited. Here, we compare behavior, morphometry, and nuclear and mtDNA sequences between two taxa of *Myrmoxenus*: *Myrmoxenus tamarae* (Arnoldi, 1968), known only from its type locality in Georgia, and the wide-spread *M. ravouxi* (André, 1896) to determine if the former might simply represent a Caucasian variant of the latter. Workers of the two taxa differed clearly in locomotor activity and slightly also in morphometry, while genetic investigations with nuclear and mitochondrial genes revealed only a weak differentiation. Given that *Myrmoxenus* appears to be a genus with a relatively recent radiation, we suggest to conservatively keep the present taxonomic situation with *M. ravouxi* and *M. tamarae* as separate species. The latter would then include specimens from Eastern Turkey and probably also Ukraine. Further studies, in particular in Greece and

Turkey, might help to clarify the status of these endangered ants.

Keywords *Myrmoxenus* · Slave-making ants · Dulosis · Phylogeography

Introduction

About 150 of the more than 12,500 species of ants are social parasites, which temporarily or permanently depend on the help of workers from other ant species (Hölldobler and Wilson 1990; Buschinger 2009). The myrmicine tribe Formicoxenini is particularly rich in social parasites, with six or more separately evolved workerless inquiline and at least six convergent origins of slave-making (dulosis) (Beibl et al. 2005). Among the slave-making genera, *Myrmoxenus* Ruzsky, 1902 (formerly *Epimyрма*) is of particular interest because of its wide geographical range and the large diversity of its life histories. Young *Myrmoxenus* queens seek adoption into nests of *Temnothorax* ants, where they kill the resident queen by slowly throttling it. Some *Myrmoxenus* species have many workers, which during well-organized slave-raids pillage brood from neighboring *Temnothorax* nests, while other species are “degenerate slave-makers” with only very few workers or even completely workerless (Buschinger 1989). At present, about ten species are recognized in Southern Europe and Northern Africa, ranging from the Canary Islands to the Caucasus (Schulz and Sanetra 2002).

Myrmoxenus tamarae (Arnoldi, 1968) is the only representative of this genus yet reported from Georgia. It was described based on two workers collected in 1963 by the Georgian myrmecologist T. Jijilashvili from a nest of “*Temnothorax unifasciatus*” found near the village of Daba,

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s13127-014-0174-6) contains supplementary material, which is available to authorized users.

N. Gratiashvili · A. Bernadou · M. Suefuji · J. Heinze
Biologie I, Universität Regensburg, 93040 Regensburg, Germany

N. Gratiashvili (✉)
Institute of Zoology, Ilia State University, Giorgi Tsereteli 3,
0162 Tbilisi, Georgia
e-mail: nanagratiashvili@yahoo.com

B. Seifert
Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz, Am Museum 1,
02826 Görlitz, Germany

Southern Georgia (Jijilashvili 1967; Arnoldi 1968). From the brief original description and the figures, Buschinger (1989) considered *M. tamarae* as synonymous with the widely distributed *Myrmoxenus ravouxi* (André, 1896). Similarly, Schulz and Sanetra (2002) suggested synonymy of these two taxa and referred to specimens collected in Turkey close to the Georgian border as *M. ravouxi*. Despite of this, *M. tamarae* is still listed by IUCN (2013) as a valid species endemic to Georgia under category VU D2, that is, vulnerable with a very restricted area of occupancy (IUCN 2001). Until recently, nothing was known about *M. tamarae* except for the type material (holotype worker and one paratype worker).

In 2010 and 2011, we succeeded in collecting several complete colonies of *M. tamarae* and two host species, “*T. unifasciatus*” (Latreille, 1798) and *T. sp. NYL2*, an, as yet, undescribed species closely related to *T. nylanderi* (Förster, 1850) and *T. crassispinus* (Karavaiev, 1926), at the type locality. Here, we use an integrative approach to clarify whether *M. tamarae* is an independent evolutionary lineage and thus a valid species separate from *M. ravouxi*. A growing number of studies document that using data from multiple sources, such as mitochondrial and nuclear markers, morphology, behavior, and ecology, allows a more accurate species delimitation than studies with only a single type of information (for ants see, for example, Ross et al. 2010; Steiner et al. 2010; Seppä et al. 2011; Gotzek et al. 2012; Blaimer and Fisher 2013). We therefore investigated locomotion behavior of the two taxa in addition to traditional morphometry and molecular analyses of mitochondrial DNA (mtDNA) and nuclear genes. Behavioral differences have previously been used in species delimitation (Davison et al. 1999; Schlick-Steiner et al. 2010), and the much higher locomotion activity of *M. tamarae* upon disturbance of their nests inspired a closer examination of particularly this trait.

Materials and methods

Ant collecting and maintenance

Colonies of a species morphologically very closely resembling *T. unifasciatus*, *T. sp. NYL2*, and *M. tamarae* were collected in August 2010 and June 2011 from their nests under pine bark and in rock crevices at the type locality, the southeastern slope of the Gvirgvina mountain range above the right bank of the Gijaretistskali river near the cemetery of the village Daba, Borjomi Gorge (Southern Georgia; 41° 48.6' N, 43° 27' E; elevation ~1,020 m).

For a comparison of behavior, we used one colony of *M. ravouxi* (5 individuals) from a pine forest at Kallmünz, Germany (49° 09.5' N, 11° 56.5' E; Suefuji and Heinze 2014), two colonies of *M. ravouxi* (4 and 5 individuals, respectively) from Schönhofen (49° 0.7' N, 11° 57.3' E.), and five colonies

(16 individuals) of *M. tamarae* from Daba, Georgia. Colonies were kept in standard three-chambered plastic boxes with a plaster floor (Buschinger 1974; Heinze and Ortius 1991). To avoid artifacts arising from different activity levels in the lab and field, we studied only colonies that had been kept under the same laboratory conditions for several months. Before the behavioral analyses, the ants had been kept for 2 weeks in incubators at 12 h 20 °C/12 h 10 °C.

Locomotor behavior

Workers of *M. ravouxi* from Germany, France, and Italy typically move only very slowly when their nest is opened in the field (J.H., unpublished). In contrast, field observations suggested that workers of *M. tamarae* fled more rapidly upon disturbance. We therefore quantified the spontaneous behavioral patterns of workers of *M. tamarae* and *M. ravouxi* in the laboratory by tracking their movements in a circular arena (diameter 15 cm) with Fluon®-coated walls. The floor of the arena was covered by an unmarked filter paper, which was replaced between each trial. At the beginning of the experiment, workers were gently placed into a small plastic cylinder (diameter 2 cm) in the center of the observation arena. The cylinder was removed after a few seconds, and the ants could move freely in the arena. Ants were tested individually, and their spontaneous exploration trajectory was recorded for 180 s with a camera (DNT® DigiMicro 2.0 Scale, resolution 800×600 pixels) centered 70 cm above the arena floor. To homogenize the light and to mask any visual cues that could have influenced the ant's trajectory, the arena was surrounded by a white cardboard and was lighted from above by white neon lights. All recordings were made at room temperature (23.2–24.0 °C, 52 % humidity). Ants were used only once in this experiment.

Movements were analyzed using the tracking software EthoVision® XT 7.0, (<http://www.noldus.com>) at a sample rate of six samples/s. Ants were tracked using the “image subtraction” and “only objects that are darker than the background” methods. For the trajectory analysis, the circular arena was divided into two zones as follows: a central zone (diameter 13 cm) and a peripheral zone (width 1 cm). To avoid edge effects on locomotion parameters (velocity and meander), only the parts of the trajectories performed in the central zone were analyzed. A threshold movement of 0.1 cm was used as an input filter to eliminate, from true locomotion, system noise or slight movements due to body wobble. Four behavioral parameters commonly used in the literature (Sword 2005; Skaloudova et al. 2007) were calculated from each digitized paths: (1) *time not moving* (s), total time spent moving and total time spent not moving during the 180 s, where ants were considered not moving if they did not exceed a velocity of 0.08 cm/s (approximately one ant body length, 0.4 cm, per 5 s); (2) *distance moved* (cm), total distance traveled during 180 s;

(3) *velocity* (cm/s), mean distance moved per unit time; (4) *meander* ($^{\circ}$ /cm), mean absolute change in the direction of movement of an ant relative to the distance moved. For further details about these different parameters, see Noldus Information Technology (2007).

Behavioral patterns were compared by permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) using the software package PERMANOVA (Anderson 2001; McArdle and Anderson 2001) with time spent not moving, distance moved, velocity and meander as dependent variables, and species (two levels) as independent variables. PERMANOVA tests were based on a Euclidean distance matrix and performed on 9,999 permutations. Locomotor parameters were standardized to *z*-scores prior to analysis.

To determine in which locomotor parameter both species differed, we performed two-way analysis of variance (ANOVA) with time spent not moving, distance moved, velocity or meander as dependent variables, and species (two modalities; *M. ravouxi* and *M. tamarae*) and colonies (eight colonies in total) as independent variables. The assumptions of normality and homoscedasticity were tested with a Shapiro-Wilk test and a Bartlett's test, respectively. To comply with these assumptions, dependent variables were $\log(x+1)$ -transformed before analysis. The relationships between locomotor behavior in the two taxa were visualized by non-metric multidimensional scaling (NMDS) using the statistical software R 2.11.0 (R Development Core Team 2010) and the package VEGAN ver. 1.15–1 (Oksanen et al. 2011).

Morphometry

For detailed morphometric comparisons, we used mounted and dried specimens from our own collections and those provided by A. Buschinger, Rossdorf, A. Schulz, Leverkusen, and A. G. Radchenko, Kiev (Table 1a—supplementary material). All measurements were made using a pin-holding stage, permitting unlimited rotation around the *X*, *Y*, and *Z* axes and a Wild M 10 stereomicroscope equipped with a $\times 1.6$ plan-apochromatic objective. In each worker, we evaluated 21 metric distances (Seifert 2006; Table 2—supplementary material) at magnifications between $\times 200$ and $\times 320$. Readings of measurements were done for whole units of graduation marks—this, e.g., corresponds to 8 μm in case of mesosoma length and reduces the accuracy.

Morphological data were evaluated by the exploratory data analyses NC-Ward, NC-UPGMA, and NC-K-Means according to the methods and software described in Seifert et al. (2013). Nest-centroid clustering (NC clustering) is a form of exploratory data analysis and was introduced by Seifert et al. (2013) as a tool for hypothesis formation in morphology-based alpha-taxonomy of eusocial organisms. The special feature of NC clustering is calculating centroids for each nest sample before being introduced in the

downstream algorithms of Ward, UPGMA, and K-Means. These centroids are calculated by a hypothesis-free application of linear discriminant analysis—i.e., there is no a priori grouping because each nest sample is assumed to represent a different class. The consequence is an optimal spacing of all nest samples in the multidimensional Euclidian space—the obvious reason for the increased performance of the different downstream algorithms (see Seifert et al. 2013).

Two of the applied downstream algorithms are the agglomerative nesting (AGNES) methods, Ward's method, and UPGMA (Edwards and Parker 2011). AGNES proceeds by a series of fusions. It starts with the situation (at step 0), where each nest sample (here composed of one to many ant workers) forms a separate cluster of its own, and then the algorithm merges a pair of minimally dissimilar nest samples into one cluster. The method successively merges nodes that have the least dissimilarity, until all nest samples are agglomerated in a cluster. Unweighted pair group method with arithmetic mean (UPGMA) uses the distance matrix of centroids of nest samples as simple Euclidian distance, and Ward's method utilizes squared Euclidean distances. The other applied downstream method is K-Means clustering, a non-hierarchical/non-nested cluster analysis that aims to partition *n* objects into *K* clusters in which an object belongs to the cluster with the nearest mean (Lloyd 1982). In contrast to AGNES, K-Means clustering does not require the estimation of distances to nodes, thus avoiding a weakness of agglomerative nesting.

Genetics

We sequenced DNA from workers of *M. ravouxi* from populations throughout its range and from *M. tamarae* from the type locality (Table 1b—supplementary material). In addition, we included a queen of the workerless *M. adlerzi* (Douwes et al. 1988), which is morphologically very similar to *M. ravouxi*. Several samples that resemble *M. ravouxi* could not be identified yet by thorough morphometric analysis and here are referred to as *M. sp.* As outgroups, we chose *M. gordiagini* (Ruzsky, 1902) from Baška, Croatia, and *T. unifasciatus* from Kallmünz, Germany.

DNA was extracted using a cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) protocol (Sambrook and Russell 2001). The nuclear protein-coding genes wingless (355 base pairs (bp)), abdominal-A (404 bp), longwave rhodopsin (543 bp) and elongation factor 1 (376 bp), and mitochondrial gene *COI/COII* (1,430 bp, including tLeu region) were amplified following Oettler et al. (2010) with slight modifications, i.e., using 1.2 μl /10 μM of each forward and reverse primer and 0.25 μl /100 mM of each dNTP (Fermentas, St. Leon-Rot) in a total reaction volume of 20 μl . Nuclear genes could not be amplified in all specimens.

The PCR cycling program consisted of 40 cycles of 1 min at 94 $^{\circ}\text{C}$ (denaturation), 1 min at 50–60 $^{\circ}\text{C}$ (annealing), and

1 min 30 s at 72 °C (extension), preceded by 2 min at 94 °C and followed by a final extension of 5 min at 72 °C. PCR products were purified with the High Pure PCR Cleanup Micro Kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). Cycle sequencing was then conducted in a total reaction volume of 20 µl with 2 µl of Big Dye Terminator v1.1 Sequencing RR-100 (Applied Biosystems, Weiterstadt), 3 µl of 5× sequencing buffer, 1 µl/10 µM of each primer, 2–7 µl of the purified product, and 7–12 µl of PCR-H₂O. Cycling program consisted of 30 cycles of 10 s at 96 °C, 8 s at 55 °C (for wingless)/58 °C (for abdominal-A)/54 °C (for longwave rhodopsin)/60 °C (for elongation factor 1)/50 °C (for *COI/COII*), and 4 min at 60 °C. After cleaning with an ethanol precipitation, all products were sequenced with an ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Weiterstadt). The reads were corrected with Sequencing Analysis 3.4 and aligned with Bio-Edit 7.0.5.2 (Hall 1999) using the Clustal W algorithm.

The phylogeny was reconstructed using a Bayesian analysis with the software MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck and Ronquist 2001). The model for the evolution of the investigated genes was estimated with MrModeltest using MrMTgui (<http://genedrift.org/mtgui.php>), TOPALi v2 (Milne et al. 2009), and MetaPIGA v2.0 (Helaers and Milinkovitch 2010). All three software packages suggested the same nucleotide substitution model, GTR + Γ (General Time Reversible with Γ distribution). The evolutionary model was assigned for the entire undivided dataset using the Akaike information criterion. MrBayes analysis was done using the default settings of four Markov chains (three heated, one cold) and a heating parameter of 0.2. Each analysis was conducted with a Markov chain Monte Carlo method repeatedly, and the results were compared to ensure convergence on the same topology. An initial run based on 10,000,000 generations did not generate a different topology compared to a single GTR + Γ model. The chain was sampled every 100 generations over 5,000,000 generations after discarding the first 1,250,000 generations (the burn-in). We assessed the burn-in and the run convergence using the program Tracer 1.4 (available at <http://tree.bio.ed.ac.uk/software>). The tree was obtained with FigTree 1.2.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software>).

Results

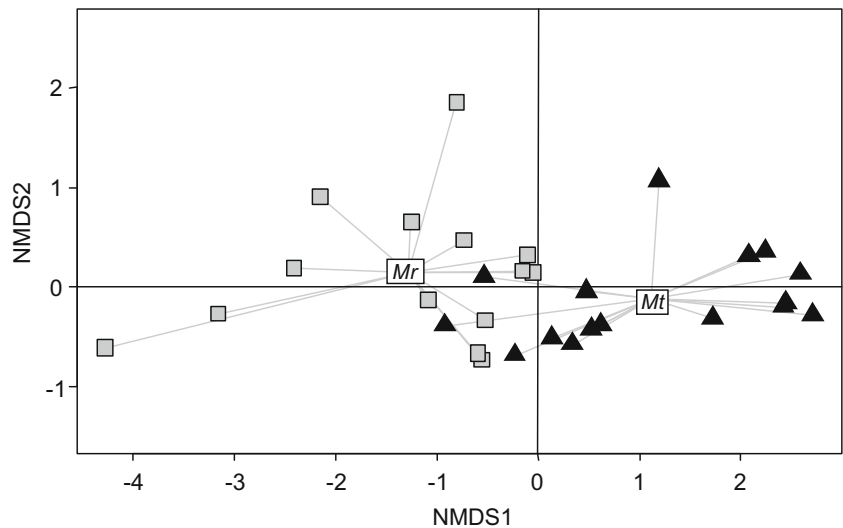
The impression that workers of *M. tamarae* are more mobile than workers of *M. ravouxi* when their nests are disturbed in the field was corroborated by detailed behavioral analyses under standardized laboratory conditions (PERMANOVA, $F_{1,29}=19.65$, $P<0.001$). In all four parameters defined above, workers of *M. tamarae* differed significantly from workers of *M. ravouxi* (Table 3—supplementary material). Compared to *M. ravouxi*, *M. tamarae* were more active (mean time not

moving±SD—*M. t.* 17.44±11.03 s; *M. r.* 47.04±22.29 s), moved over significantly longer distances (mean distance moved±SD—*M. t.* 73.03±36.67 cm; *M. r.* 19.67±9.95 cm), were faster (mean velocity±SD—*M. t.* 0.74±0.19 cm/s; *M. r.* 0.41±0.12 cm/s), and had a less sinuous trajectory (mean meander±SD—*M. t.* 198.39±128.78°/cm; *M. r.* 414.33±297.40 °/cm) (Table 3—supplementary material). Except for velocity, we found no effect of colonies on locomotor behavior.

This is visualized by non-metric multidimensional scaling (NMDS): the *x*-axis opposes workers with a high velocity and a larger distance moved (right part of the plot, *M. tamarae*) from workers with a low velocity and a low distance moved (left part of the plot, *M. ravouxi*). The *y*-axis opposes workers that are not moving (positive values on the *y*-axis) from workers that are moving (negative values on the *y*-axis). The group centroid of *M. tamarae* was separated from the group centroid of *M. ravouxi* (Fig. 1).

Workers of *M. tamarae* and *M. ravouxi* differed slightly in a number of morphometric measurements. For example, workers of *M. tamarae* on average had a smaller relative postpetiole width (PPW/CS 3.27±SD 0.15 vs. 3.48±0.14), a smaller minimal distance between the lateral margins of the propodeal spines (SPBA/CS 2.26±0.14 vs. 2.50±0.16), and a larger postocular distance (PoOc 3.12±0.14 µm vs. 3.02±0.14 µm) than workers of *M. ravouxi*, but individual values overlapped widely. Considering all 21 morphological characters in a NC-Ward, NC-UPGMA, and NC-K-Means clustering, there was no correlation between phenotype and geography detectable. However, these cluster algorithms are likely to make more errors if too many characters with high variance and low indicative value are considered (Seifert et al. 2013). Accordingly, we aimed at a reduction to the most discriminative characters by running a linear discriminant analysis (LDA) with stepwise character reduction as implemented in the SPSS 15.0 software package under the hypothesis that all samples from Georgia, Armenia, and Anatolia belong to *M. tamarae* and those from outside this region to *M. ravouxi*. After reducing the analysis to the characters PoOC, SPBA, EW, PEW, and PPW, NC-K-Means changed the primary classification of only the sample from Armenia to *M. ravouxi*. This NC-K-Means classification was supported for all 24 samples by a confirmative LDA. Considering the same five characters, both NC-Ward (Fig. 2) and NC-UPGMA allocated the samples “Armenia” (labeled Armenia, Megrikek, P.H.C Lichkvas, N 386–86. Radchenko 22.6.86) and “Georgia (Daba)-2” in a branch together with *M. ravouxi*. If these two samples were set as wild cards in a LDA, the former was confirmed as *M. ravouxi*, but the latter one changed to *M. tamarae*. Taking the LDA classification as truth, there

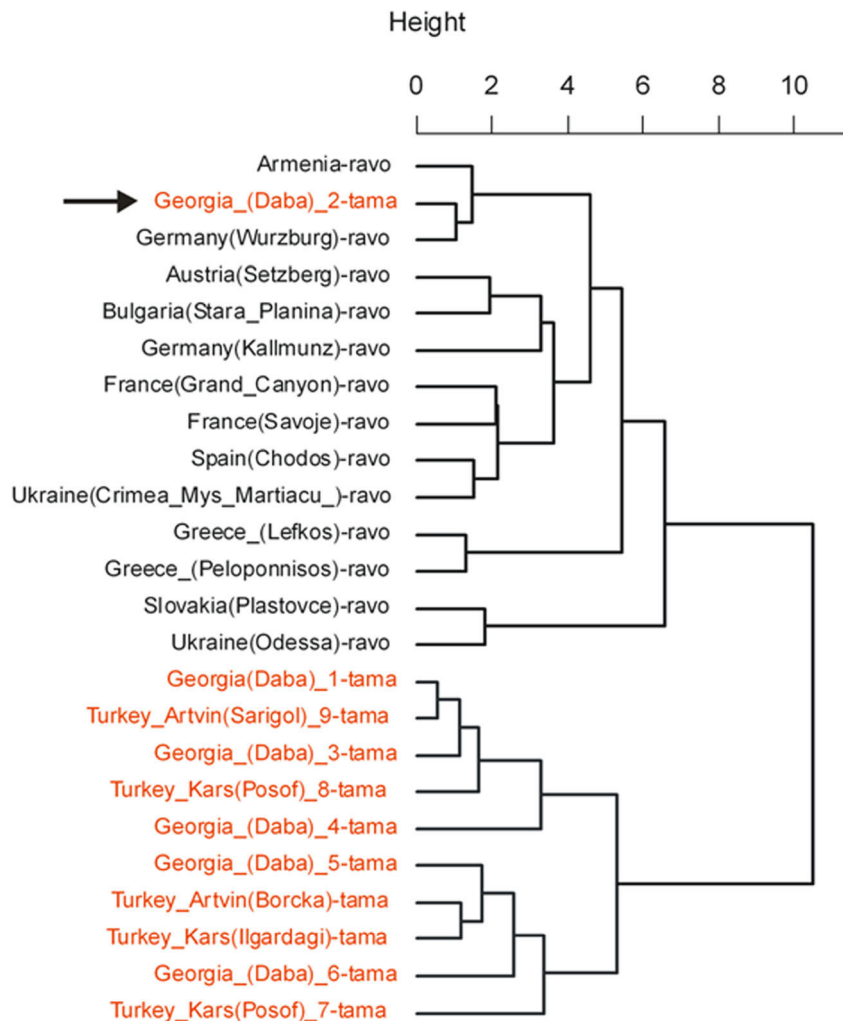
Fig. 1 Non-metric multidimensional scaling plot on locomotor behavior (see main text for details on the parameters used) of the slave-making ants *M. ravouxi* (label *Mr*, gray squares, $N=14$) and *M. tamarae* (label *Mt*, black triangles, $N=16$). The labels indicate the centroid of each group



is only one sample (=4 %) misclassified by the two hierarchical and no sample by the non-hierarchical NC-clustering methods.

Nuclear markers did not show much variation within the whole genus *Myrmoxenus*. The morphologically very distinct species *M. gordiagini* differed from *M. ravouxi*/*M. tamarae* in

Fig. 2 NC-Ward clustering of morphometric data obtained from workers of the slave-making ants *M. tamarae* and *M. ravouxi*. The arrow points to the misplaced sample. The acronyms “ravo” and “tama” designate the final determination



only 3 of 355 bp of wingless (0.8 %), 7 of 543 bp of longwave rhodopsin (1.3 %), 1 of 404 bp of abdominal-A (0.2 %), and 1 of 376 bp of elongation factor 1 (0.3 %) without intraspecific variation.

M. tamarae and *M. ravouxi* differed consistently in 4 bp of wingless (1.1 %, three substitutions synonymous and one non-synonymous leading to an exchange of threonine by methionine in *M. tamarae*) and 2 bp of elongation factor 1 (0.5 %, both substitutions synonymous) and were identical in the other two nuclear genes (see Table 4a—supplementary material). A specimen from Jalta, Ukraine, (morphology not examined) had the same wingless sequence as *M. tamarae*. *Myrmoxenus* sp. from Taygetos Oros, Greece, had an intermediate sequence of wingless, sharing two synonymous substitutions with *M. tamarae* but like *M. ravouxi* from Central and Western Europe, lacking the third synonymous and the non-synonymous substitution (see Fig. 1—supplementary material).

Similarly, *M. ravouxi* varied little in the sequence of the mitochondrial gene *COI/COII* throughout Western and Central Europe (max. four substitutions in a total of 1,430 base pairs, 0.3 %, *M. ravouxi* from Kallmünz vs. Mt. Ventoux, France, see Table 4b—supplementary material). *M. ravouxi* from Central and Western Europe differed considerably more from material from Greece (Kallmünz vs. Drosopigi, 11 substitutions, 0.8 %, Kallmünz vs. Taygetos Oros, 13 and 15 substitutions, 0.9 and 1.0 %, details not shown) and from *M. tamarae* from Daba, Georgia (13 to 15 substitutions, 0.9–1.0, see Table 4b—supplementary material). A specimen from Posof, Turkey, which was identified as *M. tamarae* by morphometry and for which no nuclear gene sequences were available, constituted the outgroup of *M. tamarae* and *M. ravouxi*. As in the nuclear gene wingless, *M. tamarae* from Georgia formed a well-supported branch together with a specimen from Jalta, Ukraine (Fig. 3).

Discussion

Our three approaches to clarify the taxonomic position of the slave-making ant *M. tamarae* from Daba, Georgia, relative to the more widely distributed *M. ravouxi* yielded conflicting results. The most conspicuous difference between the two taxa was found in behavior. In a morphometric analysis, all but one specimen of *M. tamarae* clustered with samples from Anatolia currently recognized as *M. ravouxi*, while European *M. ravouxi* formed a separate cluster. Nuclear and mitochondrial DNA sequences differed slightly between the two taxa, but the branching pattern was less clear, probably reflecting recent radiation of the genus and incomplete lineage sorting.

Previous fieldwork throughout most of the range of *M. ravouxi* consistently showed that workers of *M. ravouxi* move only slowly and rarely flee when their nest site is opened

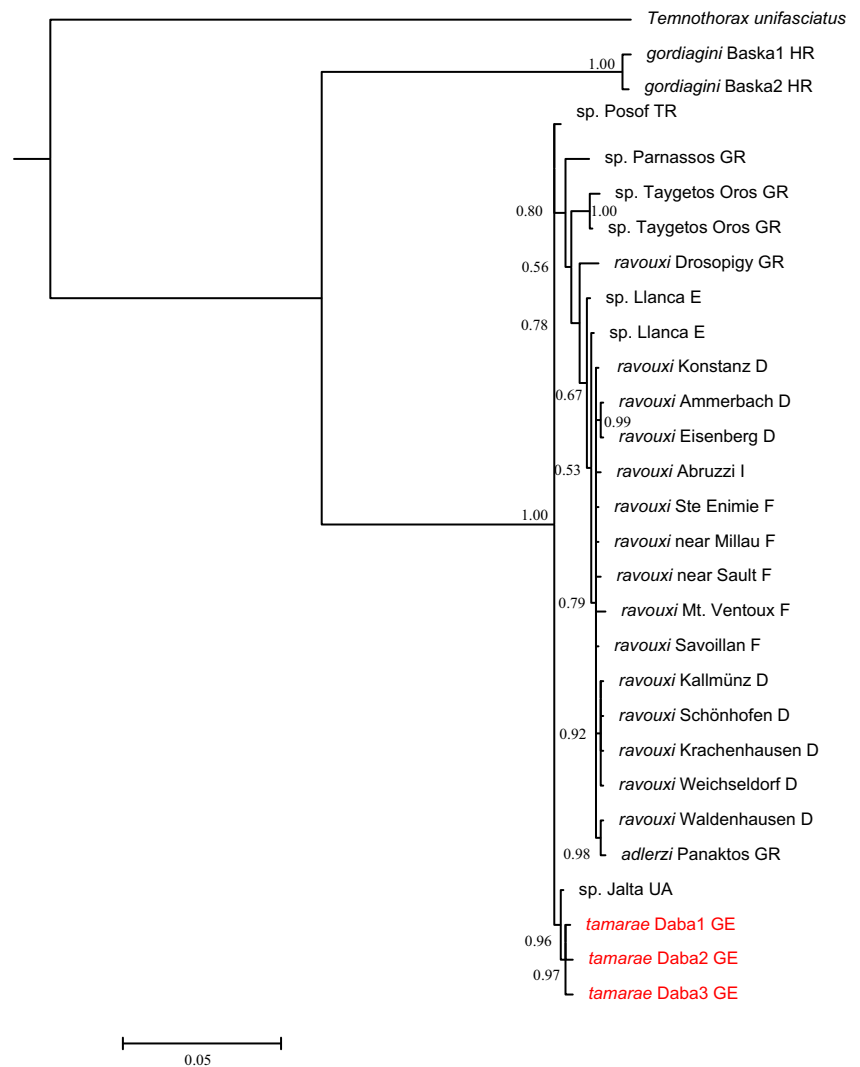
(unpublished observations). In contrast, *M. tamarae* rapidly escaped upon nest disturbance. This behavioral difference was corroborated by detailed studies in the laboratory. Under exactly the same conditions, workers of *M. tamarae* walked faster, over longer distances, and in less meandering paths than *M. ravouxi*. Though animal behavior is often quite plastic and among social insects may vary even within populations (e.g., Gordon et al. 2011; Modlmeier and Foitzik 2011; Pinter-Wollman et al. 2012), several studies have shown that behavioral differences may reliably corroborate species delimitations based on other traits (e.g., Schlick-Steiner et al. 2010). This is quite trivial in the case of mating behavior, but other types of behavior, including general activity patterns, have also been found to be highly helpful for differentiating among cryptic species (e.g., Davison et al. 1999).

In morphology, workers of *M. tamarae* and *M. ravouxi* differed in the mean values of a number of traits, but like in other closely related pairs of ant species, the large variability within taxa does not allow to reliably determine individuals based on only one or a few simple characters (e.g., Seifert 2009). A multivariate analysis of the characters PoOc, SPBA, EW, PEW, and PPW differentiated the two taxa with only one sample misclassified.

M. ravouxi from Western and Central Europe differed consistently from *M. tamarae* from Daba in two of four investigated nuclear genes. Similarly, mtDNA sequences of *M. tamarae* from Daba and a specimen from Jalta, Ukraine, formed a well-supported branch separate from the *M. ravouxi* cluster from Western and Central Europe. Material from Posof, Turkey, which was identified as *M. tamarae* by morphometry, constituted the outgroup of *M. tamarae* from Georgia and *M. ravouxi*. The low divergence in both nuclear and mitochondrial genes and the shallow branching patterns of phylogenies presumably reflect a recent and rapid expansion of the genus *Myrmoxenus* with incomplete lineage sorting (e.g., Funk and Omland 2003; Seifert 2009; Weimers and Fiedler 2007), interspecific hybridization, and mtDNA capture (e.g., Shaw 2002; Good et al. 2008; Schubart et al. 2008). Ongoing speciation is also indicated by the observation that most currently recognized species of *Myrmoxenus* hybridize in the laboratory (Jessen and Klinkicht 1990; Buschinger 2001). *Myrmoxenus* from Greece, which differed in the sequences of both mitochondrial and nuclear gene sequences from *M. ravouxi* from Central and Western Europe, requires additional investigations, which, however, are not part of this present study.

The 96 % correlation of geography and phenotype and the small but consistent difference between *M. tamarae* and *M. ravouxi* in two nuclear genes and mtDNA sequences leads us to suggest maintaining the Caucaso-Anatolian populations as a species separate from *M. ravouxi* from Western and Central Europe. This argumentation is supported by the behavioral difference between the two taxa and the unique

Fig. 3 Bayesian tree based on 1,430 base pairs of mitochondrial DNA (*COI/COII*) from several taxa of the slave-making ant genus *Myrmoxenus*. Bayesian posterior probabilities are given at the nodes



situation within *Myrmoxenus* that the Daba population regularly uses a species of the *Temnothorax nylanderii* complex as an accessory host. Though widely distributed throughout the range of *Myrmoxenus*, species of this complex have never been found to be utilized as host by any social parasite (Buschinger 1989; Delattre et al. 2012). Our study highlights the importance of using an integrative approach for species delimitation rather than relying on only one or a few characters. Recent studies have shown that many cryptic species can reliably be identified only by a multisource approach (Schlick-Steiner et al. 2010; Padial et al. 2010; Seppä et al. 2011; Edwards and Knowles 2014) that combine data from morphology, genetics, and ecology.

Conclusion

The unified species concept of De Queiroz (2007) defines a species as “a separately evolving metapopulation lineage

recognized by at least one operational criterion.” In the context of our study, morphology, locomotion behavior, host species selection, geography, and mtDNA are the applied operational criteria. All criteria supported heterospecificity to some extent. To better elucidate the taxonomic relationship between *M. ravouxi* and *M. tamarae*, it would be ideal to sample material from geographic areas connecting the here studied populations. Unfortunately, the patchy distribution of slave-making species and the difficulties of detecting parasitized host colonies even during intensive fieldwork preclude continuous sampling throughout the whole range of *M. ravouxi*/*M. tamarae*. This is clearly documented by the fact that extensive sampling of populations of *Temnothorax* throughout Georgia (e.g., around Daba, Abastumani, and Mestia) did not reveal any other sites with *Myrmoxenus*. Given that parts of the forests in Borjomi-Kharagauli National Park close to Daba were destroyed by wildfire during the 2008 South Ossetia war, the Daba population

appears to be quite isolated. It is therefore certainly worth being protected from further destruction and merits additional studies.

Acknowledgments We thank A. Buschinger, A. Schulz, and A.G. Radchenko for providing a material of *Myrmoxenus* for genetic and morphometric analyses; Sh. Barjadze for his valuable help in the field; and J. Bond and an anonymous referee for their helpful comments on the manuscript. This research was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (HE 1623/24 and/30) and Deutsche Akademischer Austausch Dienst: Research Grants for Doctoral Candidates and Young Academics and Scientists (ref. A/10/77630).

References

- Anderson, M. J. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, *26*, 32–46.
- Arnoldi, K. V. (1968). Important additions to the myrmecofauna (Hymenoptera, Formicidae) of the USSR and descriptions of new forms. *Zoologicheskii Zhurnal*, *47*, 1800–1822 (in Russian).
- Beibl, J., Stuart, R. G., Heinze, J., & Foitzik, S. (2005). Six origin of slavery in formicoxenine ant. *Insectes Sociaux*, *52*, 291–297.
- Blaimer, B. B., & Fisher, B. L. (2013). How much variation can one ant species hold? Species delimitation in the *Crematogaster kelleri*-group in Madagascar. *Public Library of Science One*, *8*, e68082.
- Buschinger, A. (1974). Mono- und polygynie in Insektensozietäten. In G. H. Schmidt (Ed.), *Sozialpolymorphismus bei insekten* (pp. 862–896). Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft.
- Buschinger, A. (1989). Evolution, speciation and inbreeding in the parasitic ant genus *Epimyrma* (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Evolutionary Biology*, *2*, 265–283.
- Buschinger, A. (2001). Multiple Hybridisierung von Arten der Ameisen-Gattung *Epimyrma* (Hymenoptera: Formicidae), und Beobachtungen zur Ausbeutung der Wirtsarten durch die Parasiten. *Myrmecologische Nachrichten*, *4*, 25–35.
- Buschinger, A. (2009). Social parasitism among ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, *12*, 219–235.
- Davison, A., McMillan, W. O., Griffin, A. S., Jiggins, C. D., & Mallet, J. L. B. (1999). Behavioral and physiological differences between two parapatric *Heliconius* species. *Biotropica*, *31*, 661–668.
- De Queiroz, K. (2007). Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology*, *56*, 879–886.
- Delattre, O., Blatrix, R., Châline, N., Chameron, S., Fédou, A., Leroy, C., & Jaisson, P. (2012). Do host species evolve a specific response to slave-making ants? *Frontiers in Zoology*, *9*, 38.
- Douwes, P., Jessen, K., & Buschinger, A. (1988). *Epimyrma adlerzi* sp. n. (Hymenoptera: Formicidae) from Greece: morphology and life history. *Insect Systematics & Evolution*, *19*, 239–249.
- Edwards, D. L., & Knowles, L. L. (2014). Species detection and individual assignment in species delimitation: can integrative data increase efficacy? *Proceedings of the Royal Society B*, *281*, 20132765.
- Edwards, R.J., & Parker, J.D (2011). UPGMA worked example. <http://www.southampton.ac.uk/~relu06/teqching/upgma/> Accessed in May 2012.
- Funk, D. J., & Omland, K. E. (2003). Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *34*, 397–423.
- Good, J., Hird, S., Reid, N., Demboski, J. R., Stepan, S. J., Martin-Nims, T. R., & Sullivan, J. (2008). Ancient hybridization and mitochondrial capture between two species of chipmunks. *Molecular Ecology*, *17*, 1313–1327.
- Gordon, D. M., Guetz, A., Greene, M. J., & Holmes, S. (2011). Colony variation in the collective regulation of foraging by harvester ants. *Behavioral Ecology*, *22*, 429–435.
- Gotzek, D., Brady, S. G., Kallal, R. J., & LaPolla, J. S. (2012). The importance of using multiple approaches for identifying emerging invasive species: the case of the raspberry crazy ant in the United States. *Public Library of Science One*, *7*, e45314.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/96/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, *41*, 95–98.
- Heinze, J., & Ortius, D. (1991). Social organization of *Leptothorax acervorum* from Alaska (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, *98*, 227–240.
- Helaers, R., & Milinkovitch, M. C. (2010). MetaPIGA v2.0: maximum likelihood large phylogeny estimation using the metapopulation genetic algorithm and other stochastic heuristics. *BMC Bioinformatics*, *11*, 1–379.
- Hölldobler, B., & Wilson, M. O. (1990). *The ants*. Cambridge, Mass: The Belknap Press of Harvard University Press.
- Huelsensbeck, J. P., & Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, *17*, 745–755.
- IUCN. (2001). *IUCN red list categories and criteria, version 3.1* (2nd ed.). Gland: IUCN.
- IUCN. (2013). IUCN red list of threatened species. Version 2013.1. www.iucnredlist.org accessed 10 November 2013.
- Jessen, K., & Klinkicht, M. (1990). Hybridization in the social parasitic ant genus *Epimyrma* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*, *37*, 273–293.
- Jijilashvili, T. (1967). Material on the ant fauna of the Borjomi-Bakuriani forests. In N. Japaridze & S. Kokhia (Eds.), *Materials on the fauna of Georgia, part II* (pp. 50–70). Tbilisi: Metsniereba (in Russian).
- Lloyd, S. (1982). Least squares quantization in PCM. *IEEE Transactions on Information Theory*, *28*, 129–137.
- McArdle, B. H., & Anderson, M. J. (2001). Fitting multivariate models to community data: a comment on distance based redundancy analysis. *Ecology*, *82*, 290–297.
- Milne, I., Lindner, D., Bayer, M., Husmeier, D., McGuire, G., Marshall, D. F., & Wright, F. (2009). TOPALi v2: a rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops. *Bioinformatics*, *25*, 126–127.
- Modlmeier, A. P., & Foitzik, S. (2011). Productivity increases with variation in aggression among group members in *Temnothorax* ants. *Behavioral Ecology*, *22*, 1026–1032.
- Noldus Information Technology. (2007). Ethovision XT: the next generation of video tracking systems. Reference Manual, Version 5. Wageningen, The Netherlands.
- Oettler, J., Suefuiji, M., & Heinze, J. (2010). The evolution of alternative reproductive tactics in male *Cardiocondyla* ants. *Evolution*, *64*, 3310–3317.
- Oksanen, J., Guillaume Blanchet, F., Kindt, R., Legendre, P., O' Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., & Wagner, H. (2011). Vegan: community ecology package. Version 1.17-9. <http://cran.r-project.org/web/packages/vegan/>
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I., & Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, *7*, 16.
- Pinter-Wollman, N., Gordon, D. M., & Holmes, S. (2012). Nest site and weather affect the personality of harvester ant colonies. *Behavioral Ecology*, *23*, 1022–1029.
- R Development Core Team. (2010). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org>.
- Ross, K. G., Gotzek, D., Asuncion, M. S., & Shoemaker, D. D. (2010). Species delimitation: a case study in a problematic ant taxon. *Systematic Biology*, *59*, 162–184.

- Sambrook, J., & Russell, D. (2001). *Molecular cloning: a laboratory manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Schlick-Steiner, B. C., Steiner, F. M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E., & Crozier, R. H. (2010). Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual Review of Entomology*, 55, 421–438.
- Schubart, C. D., Santl, T., & Koller, P. (2008). Mitochondrial patterns of intra- and interspecific differentiation among endemic freshwater crabs of ancient lakes in Sulawesi. *Contributions to Zoology*, 77, 83–90.
- Schulz, A., & Sanetra, M. (2002). Notes on the socially parasitic ants of Turkey and the synonymy of *Epimyrma* (Hymenoptera: Formicidae). *Entomofauna, Zeitschrift für Entomologie*, 23, 157–172.
- Seifert, B. (2006). *Temnothorax saxonicus* (Seifert, 1995) stat. nov., comb. nov. - a parapatric, closely-related species of *T. sordidulus* (Müller, 1923) comb. nov., stat nov. and description of two new closely-related species, *T. schoedli* sp. n. and *T. artvinense* sp. n. from Turkey (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 8, 1–12.
- 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., Ritz, M., & Czösz, S. (2013). Application of exploratory data analyses opens a new perspective in morphology-based alpha-taxonomy of eusocial organisms. *Myrmecological News*, 19, 1–15.
- Seppä, P., Helanterä, H., Trontti, K., Punttila, P., Chernenko, A., Martin, S. J., & Sundström, L. (2011). The many ways to delimit species: hairs, genes and surface chemistry. *Myrmecological News*, 15, 31–41.
- Shaw, K. L. (2002). Conflict between nuclear and mitochondrial DNA phylogenies of a recent species radiation: what mtDNA reveals and conceals about modes of speciation in Hawaiian crickets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 99, 16122–16127.
- Skaloudova, B., Zemek, R., & Krivan, V. (2007). The effect of predation risk on an acarine system. *Animal Behaviour*, 74, 813–821.
- 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 alpestre* sp.n. (Hymenoptera: Formicidae). *Zoologischer Anzeiger*, 249, 223–254.
- Suefuji, M., & Heinze, J. (2014). The genetic population structure of two socially parasitic ants: “the active slave-maker” *Myrmoxenus ravouxi* and the “degenerate slave-maker” *M. kraussei*. *Conservation Genetics*, 15, 201–211.
- Sword, G. A. (2005). Local population density and the activation of movement in migratory band-forming Mormon crickets. *Animal Behaviour*, 69, 437–444.
- Weimers, M., & Fiedler, K. (2007). Does the DNA barcoding gap exist?—a case study in blue butterflies (Lepidoptera, Lycaenidae). *Frontiers in Zoology*, 4, 8.

Supplementary material

Suppl. Table 1a. Collecting information for the ants analyzed in this study. Material examined by morphometry is stored in the collections of A. Schulz, Leichlingen, A.G. Radchenko, Kiev, or N. Gratiashvili at Ilia State University, Tbilisi. Except were indicated samples were collected by the person in whose collection it is deposited.

Code in Figure 2	Collecting site and date	Deposition
Armenia	Armenia, Megrikek, P.H.C Lichkvas, 22.6.1986	A. G. Radchenko
Austria (Setzberg)	1.5km N Spitz, Wachau, 48°23'N, 15°25'E', 300m, 5.5.2001	A. Schulz
Bulgaria (Stara Planina)	1.5km W Tipchenitsa 10km E Zverion, 400m, 43°03'46" N, 23°41'22" E, 07.06.2009	A. Schulz
France (Grand Canyon)	Grand Canyon du Verdon, Collet Barris, 1000m; 05.-11.05.1992	A. Schulz
France(Savoie)	Prov. Savoie, 4km N Culoz, vic. Col du Grande Colombier, 700-900 m, 13.04.1996.	A. Schulz
Georgia (Daba) 1 - 6	1km E, Daba village, Georgia, 1013m, 2010	N. Gratiashvili

Germany (Würzburg)	Waldenhausen, 49°44.70' N, 9°31.40 E, Sept. 2008, coll. M. Suefuji / J. Heinze	N. Gratiashvili
Germany (Kallmünz)	Kallmünz, 49°9.50' N, 11°6.50'E, Oct. 2011, coll. M. Suefuji / J. Heinze	N. Gratiashvili
Greece (Lefkos)	Lefkos, Kallighoni 26.03.71, Leg. Lobl	A. Schulz
Slovakia (Plastovce)	Plastovce, 7.8.1988, Leg. P. Werner	A. Schulz
Spain (Chodos)	Chodos, Peñagolosa, 1300-1500m, 18.05.1991	A. Schulz
Turkey (Artvin)	20 km NW Sarigol, 60 km SW Artvin, 1600-1900 m, 28.06.1993	A. Schulz
Turkey Kars (Posof)	near Posof, 1700m, 25.06.1993	A. Schulz
Turkey Artvin (Borcka)	3 km S Borçka, Civan, 25 km NW Artvin, 29.06.1993	A. Schulz
Turkey Kars (Ilgardagi)	Ilgardağı Geçidi, 10 km S Posof, 2500 m, 25.06.93,	A. Schulz
Ukraine (Crimea Mys Martiacu)	Crimea, Mys Martiacu, N 15431, 10.8.1995, coll. A. Buschinger	N. Gratiashvili
Ukraine (Odessa)	Odessa Prov., Tatrabynaesky distr., 6.6.1983	A. Radchenko

Suppl. Table 1b. Material examined by molecular analyses

Code in Figure 3	Collecting site	GenBank Accession No.
<i>Temnothorax unifasciatus</i>	Kallmünz, 49°9.50' N, 11°6.50' E, Oct. 2011, J. Heinze	COI/COII-LK392516. WG-LK392481.
<i>M. gordiagini</i> Baška HR	St. Ivana, Baška, Croatia, J. Beibl, 19.4.2003	COI/COII-LK392507; LK392508. WG-LK392457; LK392458. EF1-LK392484. Abd A-LK392487. LW Rd-n.a.
<i>M. ravouxi</i> Abruzzi	Abruzzi, Italy, 14525, A. Buschinger, 1990	COI/COII-LK392496. WG-LK392467.
<i>M. ravouxi</i> Ammerbach	Ammerbach nr. Jena, Germany, J. Trettin, 2012	COI/COII-LK392493. WG-LK392464.
<i>M. ravouxi</i> Drosopigi	Drosopigi, Greece, 12359, A. Buschinger, 1985	COI/COII-LK392497
<i>M. ravouxi</i> Eisenberg	Eisenberg, Austria, 15592, A. Buschinger 1997	COI/COII-LK392495. WG-LK392466.
<i>M. ravouxi</i> Kallmünz	Kallmünz, 49°9.50' N, 11°6.50' E, Oct. 2011, M. Suefuji	COI/COII-LK392488. WG-LK392468. EF1-LK392482.

		Abd A-LK392485. LW Rh-n.a.
<i>M. ravouxi</i> Konstanz	Konstanz, Germany; H. Martz, 12.2009	COI/COII-LK392490. WG-LK392462.
<i>M. ravouxi</i> Krachenhausen	Krachenhausen, 49°9.20' N , E11°57.20' E, 2011.M. Suefuji	COI/COII-LK392492. WG-LK392465.
<i>M. ravouxi</i> Mt. Ventoux	Mont Ventoux, Provence, France, 13894, A. Buschinger 1988	COI/COII-LK392498. WG-LK392472.
<i>M. ravouxi</i> near Millau	near Millau, Midi-Pyrenees, France, 16163, A. Buschinger. 1.10.2003	COI/COII-LK392499. WG-LK392470.
<i>M. ravouxi</i> near Sault	Sault, Provence, France, 13908, A. Buschinger, 1988	COI/COII-LK392500. WG-LK392471.
<i>M. ravouxi</i> Savoillan	Savoillan, France, J. Beibl, July 2003	COI/COII-LK392501. WG-LK392473.
<i>M. ravouxi</i> Schönhofen	Schönhofen, 49°0.70 N, 11°57.30' E , 2009, M. Suefuji	COI/COII-LK392491. WG-LK392463.
<i>M. ravouxi</i> St. Enemie	Ste Enemie, Languedoc-Roussillon, France, 16168, A. Buschinger, 2.10.2003	COI/COII-LK392502. WG-LK392469.
<i>M. ravouxi</i> Waldenhausen	Waldenhausen, 49°44.70' N, 9°31.40 E, Sept. 2008, J. Heinze / M. Suefuji	COI/COII-LK392489. WG-LK392461.
<i>M. ravouxi</i> Weichseldorf	Weichseldorf, 49°8.10 N, 11°56.60' E, 2011.	COI/COII-LK392494.

	M. Suefuji	WG-LK392474.
<i>M. sp. Jalta</i>	Jalta, Ukraine, 15432, A. Buschinger, 1995	COI/COII-LK392509. WG-LK392477.
<i>M. sp. Llanca</i>	Llanca, Catalonia, Spain, 16154, A. Buschinger, Sept. 2003	COI/COII-LK392510; LK392511. WG-LK392475; LK392476.
<i>M. sp. Parnassos</i>	Parnassos, 15477, A. Buschinger, 1996	COI/COII-LK392512
<i>M. sp. Posof</i>	3km E Posof, prov. Ardahan, Turkey, A. Schulz 17.7.2012	COI/COII-LK392513
<i>M. sp. Taygetos Oros</i>	Taygetos Oros, Greece, A. Schulz, 30.4.2011	COI/COII-LK392514; LK392515. WG-LK392459; LK392460.
<i>M. tamarae</i> Daba	1km E Daba village, Georgia, 1013m, N. Gratiashvili, 2010	COI/COII-LK392503; LK392504;LK392505. WG-LK392478; LK392479;LK392480. EF1-LK392483. Abd A-LK392486. LW Rh-n.a.
<i>M. adlerzi</i>	Panaktos, Greece, 15432 A. Buschinger, 1995	COI/COII-LK392506

Suppl. Table 2. Morphological characters measured in *M. ravouxi* and *M. tamarae*. For detailed definitions of measurements except SPH and NOL see Seifert (2006).

CL Maximum cephalic length in median line

CW Maximum cephalic width

CS arithmetic mean of CL and CW

EL the large diameter of the compound eye

EW the small diameter of the compound eye

FRS Distance of frontal carinae

MH (workers) maximum mesosoma height

ML (workers) mesosoma length

MW Maximum mesosoma width

PeH Maximum petiole height

PeW Maximum width of petiole

PHL Length of longest hair on petiole

PnHL Length of longest hair on pronotum

PoOc Postocular distance

PPW Maximum width of postpetiole

SL Maximum straight line scape length

SPBA smallest distance between the lateral margins of the propodeal spines

SPST Distance between the center of propodeal stigma and spine tip. The stigma center refers to the midpoint defined by the outer cuticular ring but not to the center of stigma opening which may be positioned eccentrically.

SPTI The distance of spine tips in dorsal view; if spine tips are rounded or thick take the centers of spine tips as reference points.

SPH The distance between the center of petiolar stigma and the apex of the petiolar sternal process.

NOL The distance between the anterior most and posterior most point of petiole measured along a horizontal line crossing the center of stigma.

Suppl. Table 3. Results of two-way ANOVA for each locomotion parameter of *Myrmoxenus ravouxi* and *M. tamarae*

Dependent variables	Independent variables	F value	P
Time not moving	Species	$F_{(1,22)} = 25.63$	$P < 0.001$
	Colonies	$F_{(6,22)} = 1.11$	$P = 0.38$
Distance moved	Species	$F_{(1,22)} = 44.65$	$P < 0.001$
	Colonies	$F_{(6,22)} = 2.12$	$P = 0.09$
Velocity	Species	$F_{(1,22)} = 47.69$	$P < 0.001$
	Colonies	$F_{(6,22)} = 3.69$	$P = 0.01$
Meander	Species	$F_{(1,22)} = 10.91$	$P = 0.003$
	Colonies	$F_{(6,22)} = 2.06$	$P = 0.09$

Suppl. Table 4a: Sequence differences in the nuclear genes wingless and elongation Factor 1 among *M. ravouxi* from Kallmünz, Germany, *M. gordiagini* and *M. tamarae*. Indicated are the codon positions of substitutions, if they are transitions or transversions, and if they are synonymous or resulted in a changed protein sequence.

Wingless

Position	9	21	108	124	151	270	350	transitions	transversions
<i>M. gordiagini</i> (Baška)				A→G	C→T	T→G		2	1
<i>M. tamarae</i> (Daba)	C→T				C→T	T→G	C→T	3	1
codon position	3	3	3	1	1	3	2		
amino acid exchange	syn	syn	syn	Arg → Gly	syn	syn	Thr→ Met		

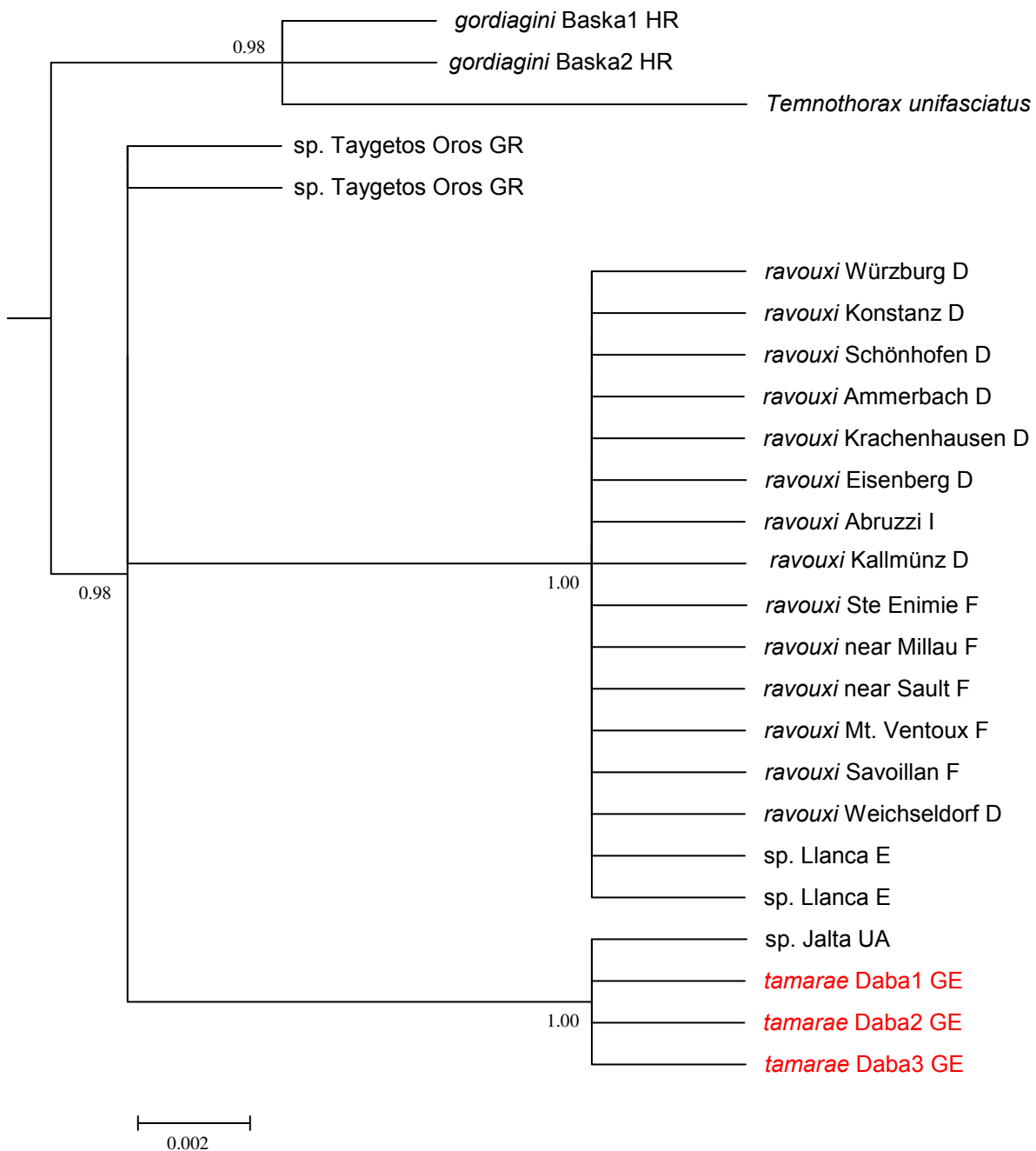
Elongation factor 1

position	40	150	transitions	transversions
<i>M. gordiagini</i> (Baška)	T→C		1	0
<i>M. tamarae</i> (Daba)	T→C	C→T	2	0
codon position	1	3		
amino acid exchange	syn	syn		

Suppl. Table 4b: Differences between CO I (highlighted in grey) and CO II sequences of *M. ravouxi* from Kallmünz, Germany, and some exemplary *Myrmoxenus* specimens from other populations. Indicated are the codon positions of substitutions, if they are transitions or transversions, and if they are synonymous or resulted in a changed protein sequence. No differences were found in the sequence of tLeu RNA (position 790 – 852).

position	244	276	294	357	405	558	616	679	684	723	855	864	930	945	954	1123	1179	1296	1344	1377	1380	transitions / transversions		
<i>M. ravouxi</i> (Mt Ventoux)								A→T	A→T					C→T		A→G							2	2
<i>M. sp.</i> (Jalta)		G→A		C→T	T→C	A→G	G→A	T→A							C→T	A→G		T→A	T→C	T→C	G→A		10	2
<i>M. sp.</i> (Posof)		G→A		C→T	T→C	A→G	G→A	T→A			T→C				C→T				T→C		G→A		8	1
<i>M. tamarae</i> (Daba 1)		G→A		C→T	T→C	A→G	G→A	T→A				A→G			C→T	A→G	T→C	T→A	T→C	T→C	G→A		12	2
<i>M. tamarae</i> (Daba 2)	A→G	G→A		C→T	T→C	A→G	G→A	T→A				A→G	C→T		C→T	A→G		T→A	T→C	T→C	G→A		13	2
<i>M. tamarae</i> (Daba 3)		G→A	C→T	C→T	T→C	A→G	G→A	T→A				A→G			C→T			T→A	T→C	T→C	G→A		11	2
codon position	1	3	3	3	3	3	1	1	3	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3			
amino acid exchange	Ile → Val	syn	syn	syn	syn	syn	Val → Met	Cys → Ser	syn	syn	syn	syn	syn	syn	syn	Ile → Val	syn	syn	syn	syn	syn			

Suppl. Figure 1. Bayesian tree of *Temnothorax unifasciatus*, *Myrmoxenus gordiagini*, *M. ravouxi* and *M. tamarae* based on sequences of the nuclear gene wingless. The small number of differences among the various taxa does not allow drawing firm conclusions about the phylogeny of the various taxa, but it supports the view that *M. tamarae* and *M. ravouxi* are distinct species. The analysis of nuclear genes from older samples of *Myrmoxenus*, including *M. adlerzi*, failed.



Morphometrics, life history and population biology of the Ponto-Caucasian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Hymenoptera: Formicidae)

NANA GRATIASHVILI^{1,2}, MASAKI SUEFUJI¹, SHALVA BARJADZE³ and JÜRGEN HEINZE¹

¹Biologie I, Universität Regensburg, 93040 Regensburg, Germany; e-mails: nanagratiashvili@yahoo.com; Masaki.Suefuji@biologie.uni-regensburg.de; Juergen.Heinze@biologie.uni-regensburg.de

²Institute of Zoology, Ilia State University, Giorgi Tsereteli 3, 0162 Tbilisi, Georgia

³Institute of Entomology, Agricultural University of Georgia, 13th km of David Aghmashenebeli Alley, 0159 Tbilisi, Georgia; e-mail: shalva.barjadze@yahoo.com

Key words. Hymenoptera, Formicidae, *Myrmoxenus*, slave-making ants, morphometrics, colony structure, population biology

Abstract. The ant genus *Myrmoxenus* consists of about ten socially parasitic species including active slave-makers and workerless “degenerate slave-makers”. *Myrmoxenus tamarae* was previously known only from type material, two workers collected at Daba, Georgia and nothing was known about its life history, colony structure or the morphology of its sexuals. An inspection of colonies of *M. tamarae* near the type locality in 2010 indicates that young queens of *M. tamarae* invade *Temnothorax* nests and kill the host queen by throttling. The simultaneous presence of two slave species in a single colony (an undescribed species related to *T. nylanderi* and a species morphologically resembling *T. unifasciatus*) indicates that *M. tamarae* is an active slave-maker. The genetic structure of the colonies matches that expected for a monogynous and monandrous ant, but three of eight colonies inspected appeared to contain workers belonging to an additional genetic lineage.

INTRODUCTION

Ants are indisputedly one of the big successes in evolution. Their complex cooperative life enables them to thrive in numerous ecological niches (Wilson, 1971; Hölldobler & Wilson, 1990, 2008), but at the same time makes them particularly vulnerable to exploitation by pathogens or parasites (Schmid-Hempel, 1998). Among the latter are slave-making ants (“dulotic ants”; Wilson, 1975; Buschinger, 1986, 2009; Hölldobler & Wilson 1990; d’Ettorre & Heinze, 2001). Instead of founding new societies independently, young slave-maker queens usurp the nests of other ant species, in which they kill or expel the resident queen(s) and often also adult workers. Host workers that later emerge in the conquered nest misidentify the slave-maker queen as their own (e.g., Lenoir et al., 2001) and, as in unparasitized nests, take over all the daily duties in the colony. Workers produced by the slave-maker queen herself do not engage in brood care or foraging but instead pillage pupae from host nests in the neighborhood to replenish the stock of slaves “at home” (Wilson, 1971; Buschinger, 1986, 2009; Hölldobler & Wilson, 1990; d’Ettorre & Heinze, 2001).

Myrmoxenus Ruzsky, 1902 is the most species-rich of six or more clades of slave-making ants that have evolved in the myrmicine tribe Formicoxenini (Beibl et al., 2005). It comprises 10 to 12 species in Southern Europe and Northern Africa (Buschinger, 1989; Schulz & Sanetra, 2002). Two workers collected in 1963 in Georgia (Jijilashvili, 1967) were described as *M. tamarae* (Arnol’di, 1968), but since then no additional specimens of this taxon have been collected. Here we report on the results of two field

trips to the type locality of *M. tamarae* near Daba, Borjomi district, Georgia, during which we collected a total of nine colonies of this rare and probably endangered species of ant. We describe in detail the habitat of this ant, morphology of its sexuals and social and genetic composition of its colonies. A multidisciplinary comparison of *M. tamarae* and other species of *Myrmoxenus* does not support the view that *M. tamarae* is a junior synonym of *M. ravouxi* (André, 1896) and indicate that it can be considered as a valid species (Gratiashvili et al., 2014).

MATERIAL AND METHODS

Ant collecting and culture

Colonies of *M. tamarae* and its two host species were collected in August 2010 (n = 5) and June 2011 (n = 4) from their nests under pine bark and in rock crevices at the type locality near Daba, Borjomi Gorge (Borjomi district, South Georgia) (Fig. 1a). The structure of six colonies was investigated immediately after sampling. Then the colonies were transferred to laboratories in Tbilisi and Regensburg and kept in standard three-chambered plastic boxes with a plaster floor under semi-natural conditions as described previously for other formicoxenine ants (Buschinger, 1974; Heinze & Ortius, 1991).

Morphometry

We measured 21 morphological characters of each of 20 mounted and dried workers (from six nests), five queens (incl. female sexuals, from two nests), and five males (from one nest) using a pin-holding stage, permitting unlimited rotation around the X, Y and Z axes, and a Wild M 10 stereomicroscope equipped with a 1.6 × plan-apochromatic objective at magnifications between 200 × and 320 ×. Measurements are defined by Seifert (2006) and Gratiashvili et al. (2014). Automontage pictures were produced using a Keyence VHX 500 FD digital microscope.

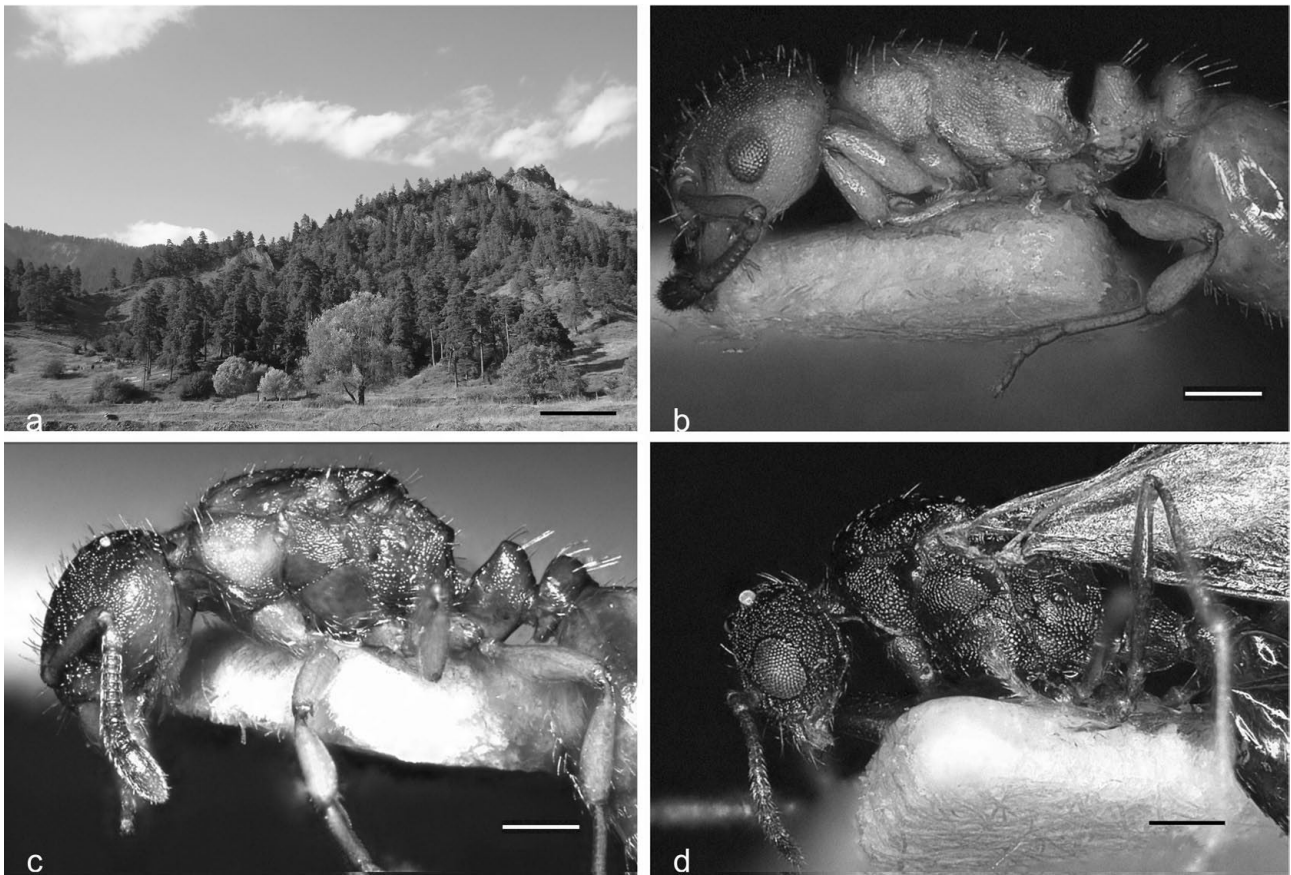


Fig. 1: *Myrmoxenus tamarae* (Arnol'di, 1968). a – type locality near Daba, Georgia (bar = 5 m); b – worker; c – queen; d – male (bars for b–d = 250 µm).

Sociogenetic analysis

Genomic DNA was extracted from 60 workers from eight colonies (3 to 10 per colony) using a CTAB-protocol (Sambrook & Russell, 2001). PCR was performed using primers and methods previously established for *Myrmoxenus ravouxi* (Suefuji et al., 2011; Suefuji & Heinze, 2014) in 20 µl reaction volumes [1 µl DNA template, 0.1 µl 1 U Taq polymerase (Fermentas), 0.8 µl 5 µM of each forward and reverse primer (MWG Biotech; forward primer labeled with 6-FAM, TET or HEX), 2 µl 10 × Taq buffer (Fermentas), 4 µl 1 × Enhancer (PEQLAB), 1.6 µl 25 mM MgCl₂, 4 µl 1 mM of each dNTPs (Fermentas), 5.7 µl PCR water] in Eppendorf Mastercycler with the cycling program described by Suefuji & Heinze (2014) (32 cycles of 1 min 15 s at 94°C, 45 s at 50–60°C, 45 s at 72°C, preceded by 4 min at 94°C and followed by 30 s at 72°C). After adding GeneScan-500 (Tamra) size standard, we analyzed the labelled amplification products using an ABI PRISM 310 Genetic Analyzer with a 310 Genetic Analyzer Capillary 47 cm and POP4-Polymer. Loci were genotyped using GeneScan 3.1 (PE Biosystems).

We determined the colony structure of *M. tamarae* by genotyping workers at loci 2MS60, 2MS65 (Suefuji et al., 2011) and 2MS86II (forward primer: AGA TTC ACT TGA AGC AGG AGC; reverse primer: ACG CTT GGG CAT AAT AAA AAT C). Standard population genetic parameters (number of alleles, expected and observed heterozygosities, frequency of null alleles) were determined using the software Cervus 3.03 (Kalinowski et al., 2007). Worker relatedness was estimated following Queller & Goodnight (1989) using GenAlEx (Genetic Analysis in Excel, an Excel add-in: Peakall & Smouse, 2012). Standard errors were obtained by jackknifing over loci. Mean relatedness estimates were

tested against the value expected for workers in monogynous and monandrous ant colonies (0.75) using t-test.

RESULTS

The type locality of *M. tamarae* is on the south-eastern slope of the Gvirgvina mountains above the right bank of Gujaretistskali river (Fig. 1a) near the cemetery at Daba (Borjomi district, Southern Georgia; 41°48.5'N, 43°27'E; 1000–1016 m a.s.l.). The habitat is mixed forest with Scots pine (*Pinus sylvestris* var. *hamata*) and, less abundant, Caucasian spruce (*Picea orientalis*) and a xerophyte herbaceous plant cover (“Pineta xeroherbosa”: Akhalkatshi & Tarkhnishvili, 2012; complete list of vegetation in Table 1). Numerous nests of two species of *Temnothorax* Mayr, 1861 were found under the uppermost bark layers at the base of living pines and in rock crevices. Approximately 8% of the *Temnothorax* colonies inspected were parasitized, i.e., contained workers and / or queens of *M. tamarae*.

Colonies of *M. tamarae* contained a single *M. tamarae* queen, 5 to 22 *M. tamarae* workers (n = 6, median 8) and 16 to 48 *Temnothorax* host workers (n = 6, median 18). Two colonies collected in the field in August 2010 contained sexuals of *M. tamarae* (3♀ and 8♀ / 1♂) and in colonies collected in June 2011 sexuals eclosed in the laboratory in early August (10♀ / 1♂; 2♀ / 13♂; 1♀ / 4♂). Workers, queens, and males of *M. tamarae* very closely resemble those of other *Myrmoxenus* species (Figs 1b–d; Table 2), in particular *M. ravouxi*. At present, workers of *M. ravouxi*

TABLE 1. Complete list of the vegetation found at the type locality of the slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* at Daba, Georgia.

Trees	<i>Acer laetum</i> , <i>Carpinus orientalis</i> , <i>Picea orientalis</i> , <i>Pinus kochiana</i> , <i>Quercus macranthera</i>
Shrubs	<i>Berberis vulgaris</i> , <i>Chamaecytisus caucasicus</i> , <i>Rosa canina</i> , <i>Rubus fruticosus</i>
Herbs	<i>Asperula orientalis</i> , <i>Astracantha microcephala</i> , <i>Bellis perennis</i> , <i>Brachypodium sylvaticum</i> , <i>Carex buschiorum</i> , <i>Centaurea bella</i> , <i>Cerastium sosnowskyi</i> , <i>Coeloglossum viride</i> , <i>Coluteocarpus vesicaria</i> , <i>Dactylorhiza euxina</i> , <i>Leucanthemum vulgare</i> , <i>Onobrychis sosnowskyi</i> , <i>Onosma rupestris</i> , <i>Orobis laxiflorus</i> , <i>Platanthera chlorantha</i> , <i>Poa nemoralis</i> , <i>Prunella vulgaris</i> , <i>Scutellaria sosnowskyi</i> , <i>Sempervivum sosnowskyi</i> , <i>Sesleria anatolica</i> , <i>Silene compacta</i> , <i>S. dianthoides</i> , <i>Stachys annua</i>

TABLE 2. Means of morphometric data of samples of workers, queens and males of *Myrmoxenus tamarae*. Data are arithmetic means \pm standard deviations. Upper and lower extremes are given in square brackets. n is the number of colonies sampled, i the total number of individuals studied in these samples. Characters were measured as defined by Seifert (2006) and Gratiashvili et al. (2014).

Abbreviation	Definition of measurements and ratios	Workers (n = 6; i = 20)	Queens (n = 2; i = 5)	Males (n = 1; i = 5)
CL	maximum cephalic length in median line [μm]	639.034 \pm 30.042 [689.720; 572.628]	638.552 \pm 18.502 [661.650; 617.540]	511.676 \pm 11.553 [529.320; 501.250]
CW	maximum cephalic width [μm]	613.851 \pm 41.900 [693.730; 545.360]	623.154 \pm 10.457 [633.580; 609.520]	580.648 \pm 22.399 [601.500; 553.380]
CS	arithmetic mean of CL and CW [μm]	626.442 \pm 34.573 [683.705; 558.994]	630.853 \pm 8.796 [641.600; 619.946]	546.162 \pm 15.438 [565.410; 529.320]
CL / CW	maximum cephalic length in median line / maximum cephalic width	1.043 \pm 0.039 [1.096; 0.971]	1.029 \pm 0.044 [1.066; 0.975]	0.882 \pm 0.027 [0.913; 0.840]
SL / CS	maximum straight line scape length / CS	0.729 \pm 0.042 [0.844; 0.665]	0.692 \pm 0.041 [0.739; 0.643]	0.311 \pm 0.019 [0.327; 0.289]
PoOc / CS	postocular distance / CS	0.395 \pm 0.018 [0.423; 0.369]	0.373 \pm 0.010 [0.388; 0.359]	0.374 \pm 0.008 [0.381; 0.362]
FRS / CS	distance of frontal carinae / CS	0.346 \pm 0.049 [0.537; 0.299]	0.342 \pm 0.016 [0.369; 0.329]	n/a
EYE / CS	arithmetic mean of large and small diameter of the elliptical compound eye / CS	0.246 \pm 0.011 [0.265; 0.223]	0.285 \pm 0.010 [0.297; 0.270]	0.377 \pm 0.018 [0.394; 0.358]
MW	maximum mesosoma width [μm]	404.774 \pm 29.563 [453.010; 333.395]	524.779 \pm 13,027 [547.175; 514,090]	536.486 \pm 26.103 [580.260; 514.090]
MW / CS	maximum mesosoma width / CS	0.646 \pm 0.033 [0.713; 0.546]	0.832 \pm 0.014 [0.852; 0.814]	0.982 \pm 0.042 [1.026; 0.932]
SPBA / CS	smallest distance between lateral margins of propodeal spines / CS	0.286 \pm 0.015 [0.319; 0.261]	0.388 \pm 0.028 [0.420; 0.353]	n/a
SPTI / CS	distance of spine tips in dorsal view / CS	0.328 \pm 0.019 [0.363; 0.300]	0.357 \pm 0.029 [0.397; 0.325]	n/a
SPST / CS	distance between center of propodeal stigma and tip of spine / CS	0.259 \pm 0.012 [0.283; 0.238]	0.251 \pm 0.025 [0.279; 0.210]	0.380 \pm 0.058 [0.413; 0.277]
PEW / CS	maximum petiole width / CS	0.292 \pm 0.024 [0.374; 0.253]	0.286 \pm 0.008 [0.300; 0.279]	0.305 \pm 0.023 [0.332; 0.276]
PPW / CS	maximum post petiole width / CS	0.411 \pm 0.020 [0.452; 0.378]	0.416 \pm 0.010 [0.428; 0.407]	0.434 \pm 0.023 [0.471; 0.414]
PEH / CS	maximum petiole height / CS	0.587 \pm 0.031 [0.637; 0.515]	0.595 \pm 0.026 [0.639; 0.575]	0.433 \pm 0.022 [0.471; 0.413]
SPH / CS	distance between center of petiolar stigma and apex of petiolar sternal process / CS	0.276 \pm 0.023 [0.311; 0.225]	0.286 \pm 0.027 [0.311; 0.254]	0.267 \pm 0.016 [0.288; 0.250]
ML	mesosoma length [μm]	795.383 \pm 45.242 [890.220; 689.720]	942.812 \pm 51.630 [1000.890; 862.150]	1006.956 \pm 38.231 [1041.330; 960.450]
ML / CS	mesosoma length / CS	1.270 \pm 0.038 [1.317; 1.208]	1.495 \pm 0.068 [1.570; 1.391]	1.843 \pm 0.025 [1.870; 1.808]
MH / CS	maximum mesosoma height / CS	0.569 \pm 0.031 [0.640; 0.532]	0.920 \pm 0.101 [1.059; 0.813]	1.167 \pm 0.030 [1.209; 1.134]
NOL / CS	distance between anteriormost and posteriormost point of petiole measured along a horizontal line crossing center of stigma / CS	0.364 \pm 0.020 [0.400; 0.325]	0.363 \pm 0.037 [0.399; 0.317]	0.414 \pm 0.019 [0.441; 0.391]
PHL / CS	length of longest hair on petiole / CS	0.177 \pm 0.022 [0.216; 0.118]	0.205 \pm 0.013 [0.226; 0.194]	0.179 \pm 0.032 [0.216; 0.129]
PnHL / CS	length of longest hair on pronotum / CS	0.129 \pm 0.024 [0.170; 0.091]	0.147 \pm 0.038 [0.191; 0.106]	0.160 \pm 0.015 [0.175; 0.135]

TABLE 3. Primer sequences, repeat motives and annealing temperature (T_a) of the three microsatellite loci studied in the slave-making ant *Myrmoxenus tamarae*. Allele size range, number of alleles (A), expected and observed heterozygosities (H_{exp} , H_{obs}) were calculated. N indicates the number of individuals that were genotyped (ten per colony).

Locus	GB accession	T_a (°C)	Size range (bp)	N	A	H_{exp}	H_{obs}
2MS60	HQ154543	60	115–137	60	6	0.682	0.633
2MS65	HQ154544	60	139–155	60	7	0.789	0.650
2MS86II	not available	60	145–151	60	4	0.686	0.883

and *M. tamarae* can be distinguished only by complex statistical methods (Gratiashvili et al., 2014).

Field data show that at the type locality *M. tamarae* utilizes as hosts two species of *Temnothorax*. Six nests contained host workers of a species morphologically identified as *T. unifasciatus* (Latreille, 1798) by B. Seifert and A. Schulz, but genetically forming the out group to Central European *T. unifasciatus* and *T. nigriceps* (Mayr, 1855) (based on a sequence of the mitochondrial gene COI/COII, M. Suefuji, unpubl.). Two nests contained workers of “*T. crasecundus*” (provisional name of a recognized morphospecies currently being described by B. Seifert and S. Csösz), which is a species closely related to *T. nylanderi* (Foerster, 1850) and *T. crassispinus* (Karavaiev, 1926). One colony contained both slave species. In one laboratory colony we observed a young *M. tamarae* queen killing a “*T. crasecundus*” host queen by throttling.

The three microsatellite loci studied were sufficiently variable to give a crude estimate of genetic colony structure. Locus 2MS60 had six alleles, 2MS65 seven alleles and 2MS86II four alleles (mean number of alleles: 5.67; Table 3). The frequency of potential null alleles was estimated to be lower than 0.2 at each locus. Mean relatedness, estimated following Queller & Goodnight (1989), was $0.627 \pm \text{SE } 0.086$, which is not significantly different from the value of 0.75 expected for monogyny and monandry (a single, singly mated queen per colony; $t = 1.489$, $p = 0.180$). Nevertheless, in three of eight colonies we found two or three individuals with a genotype at one locus that was not compatible with monogyny and monandry.

DISCUSSION

M. tamarae closely resembles other slave-making species of the genus *Myrmoxenus*, in particular *M. ravouxi*, in morphology and life history. Workers, and presumably also queens and males, of *M. tamarae* can be separated from those of *M. ravouxi* only by an exploratory statistical analysis of multiple morphological characters, as in other pairs of closely related or cryptic species (e.g., Seifert, 2013; Seifert et al., 2013; Csösz et al., 2013). *M. tamarae* has therefore been considered to be synonymous with *M. ravouxi* (Buschinger, 1989; Schulz & Sanetra, 2002), but our recent integrative study revealed subtle differences between the two taxa, which do not support the proposed synonymy (Gratiashvili et al., 2014).

The few colonies of *M. tamarae* collected provide useful information about the life history of this species, which support our view that *M. tamarae* is a close relative of *M. ravouxi* (Gratiashvili et al., 2014). One colony contained

workers from two host species, which demonstrates that *M. tamarae* is an active slave-maker like *M. ravouxi*. At Daba, *M. tamarae* utilizes a species of *Temnothorax*, which morphologically resembles *T. unifasciatus*. The other host is *T. “crasecundus”*, a species closely related to *T. nylanderi* and *T. crassispinus*. This is particularly surprising, as species of this taxonomic group, though abundant throughout much of the range of *Myrmoxenus*, are rarely if ever parasitized (Buschinger, 1989; Delattre et al., 2012, 2013; but see Mei, 1992). Active slave-raiding may also be the explanation for genotypes of *M. tamarae* workers that did not match the typical sociogenetic structure of *Myrmoxenus*, monogyny and monandry (a single, singly mated queen per colony). Similarly aberrant genotypes are recorded in a large fraction of *M. ravouxi* colonies in Southern Germany. Genotyping the offspring produced by queens under controlled laboratory conditions strongly supported monogyny and monandry and suggested that genetic heterogeneity in the field might result from colony fusion or raiding of neighboring colonies or adoption of stray *Myrmoxenus* workers (Suefuji & Heinze, 2014).

As is the case for all species of *Myrmoxenus*, queens of *M. tamarae* appear to eliminate the host queen by throttling. We observed such an interaction in a colony that had been queenless when collected one year before. Presumably sexuals of both the host and parasite eclosed from brood in the laboratory. Unfortunately we could not determine whether the queens were inseminated. While sexuals of *M. ravouxi* leave the nest to mate during nuptial flights, those of *M. krausseii* (Emery, 1915) and other species regularly mate in the nest, which results in considerable heterozygote deficiency (Suefuji & Heinze, 2014). The genetic data, albeit based on a small sample and only three loci, do not support regular inbreeding in *M. tamarae*. It is therefore unlikely that the *M. tamarae* queen had been inseminated.

Genetic diversity in the population studied was relatively high and matched that found at other loci in a similarly small number of colonies of *M. ravouxi* (Suefuji & Heinze, 2014, population Schönhofen; average number of alleles 6.2). This indicates that the population at the type locality does not suffer from inbreeding and might probably be larger than concluded from the difficulties of finding slave-maker colonies.

The type locality at Daba is the only known population of *M. tamarae* in Georgia, but the finding of morphologically and genetically similar ants in Northern Turkey close to the Georgian border suggests that the species might be more common throughout the Lesser Caucasus and other

mountainous areas. At least the habitat, dry and open mixed forests with pines, firs and oaks, and the two host species are abundant in many places in this area.

ACKNOWLEDGEMENTS. We are grateful to B. Seifert (Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz) for identification of *Temnothorax* and Z. Asanidze (Ilia State University, Tbilisi, Georgia) for assessing habitat type and identification of plants from the type locality. This research was funded by DFG (HE 1623/30-1), DAAD (ref. A/10/77630) and a grant from Shota Rustaveli National Science Foundation (04/24).

REFERENCES

- AKHALKATSI M. & TARKHNISHVILI D. 2012: *Habitats of Georgia*. PGSSRP Commission paper, Tbilisi, 118 pp.
- BEIBL J., STUART R.J., HEINZE J. & FOITZIK S. 2005: Six origins of slavery in formicoxenine ants. — *Insectes Soc.* **52**: 291–297.
- BUSCHINGER A. 1974: Mono- und Polygynie in Insektensozietäten. In Schmidt G.H. (ed.): *Sozialpolymorphismus bei Insekten*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, pp. 862–896.
- BUSCHINGER A. 1986: Evolution of social parasitism in ants. — *Trends Ecol. Evol.* **1**: 155–160.
- BUSCHINGER A. 1989: Evolution, speciation, and inbreeding in the parasitic ant genus *Epimyrmica* (Hymenoptera, Formicidae). — *J. Evol. Biol.* **2**: 265–283.
- BUSCHINGER A. 2009: Social parasitism in ants: a review (Hymenoptera: Formicidae). — *Myrmecol. News* **12**: 219–235.
- CSÖSZ S., SEIFERT B., MÜLLER B., TRINDL A., SCHULZ A. & HEINZE J. 2014: Cryptic diversity in the Mediterranean *Temnothorax lichtensteini* species complex (Hymenoptera: Formicidae). — *Org. Divers. Evol.* **14**: 75–88.
- DELATTRE O., BLATRIX R., CHÂLINE N., CHAMERON S., FÉDOU A., LEROY C. & JAISON P. 2012: Do host species evolve a specific response to slave-making ants? — *Front. Zool.* **9**: 38.
- DELATTRE O., CHÂLINE N., CHAMERON S., LECOUEY E. & JAISON P. 2013: Opportunist slave-making ants *Myrmoxenus ravouxi* discriminate different host species from a non-host species. — *Insectes Soc.* **60**: 7–13.
- D'ETTORRE P. & HEINZE J. 2001: Sociobiology of slave-making ants. — *Acta Ethol.* **3**: 67–82.
- GRATIASHVILI N., BERNADOU A., SUEFUJI M., SEIFERT B. & HEINZE J. 2014: The Caucaso-Anatolian slave-making ant *Myrmoxenus tamarae* (Arnoldi, 1968) and its more widely distributed congener *Myrmoxenus ravouxi* (André, 1896): a multidisciplinary comparison (Hymenoptera: Formicidae). — *Org. Divers. Evol.* **14**: 259–267.
- HEINZE J. & ORTIUS D. 1991: Social organization of *Leptothorax acervorum* from Alaska (Hymenoptera: Formicidae). — *Psyche* **98**: 227–240.
- HÖLLDOBLER B. & WILSON E.O. 1990: *The ants*. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA, 732 pp.
- HÖLLDOBLER B. & WILSON E.O. 2008: *The Superorganism: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies*. W.W. Norton & Company, New York, 521 pp.
- JUJILASHVILI T. 1967: Material on the ant fauna of the Borjomi-Bakuriani forests. In Japaridze N. & Kokhia S. (eds): *Materials on the Fauna of Georgia, Part II*. Metsniereba, Tbilisi, pp. 50–70 [in Russian].
- KALINOWSKI S.T., TANER M.L. & MARSHALL T.C. 2007: Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. — *Mol. Ecol.* **16**: 1099–1106.
- LENOIR A., D'ETTORRE P., ERRARD C. & HEFETZ A. 2001: Chemical ecology and social parasitism in ants. — *Annu. Rev. Entomol.* **46**: 573–599.
- MEI M. 1992: A survey of the socially parasitic ant genera *Epimyrmica* Emery, 1915 and *Chalepoxenus* Menozzi, 1922 in Italy (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae). — *Insectes Soc.* **39**: 145–156.
- PEAKALL R. & SMOUSE P.E. 2012: GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. — *Bioinformatics* **28**: 2537–2539.
- QUELLER D.C. & GOODNIGHT K.F. 1989: Estimating relatedness using genetic markers. — *Evolution* **43**: 258–275.
- SAMBROOK J. & RUSSELL D. 2001: *Molecular Cloning, 3rd Ed.* Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2344 pp.
- SCHMID-HEMPEL P. 1998: *Parasites in Social Insects*. Princeton University Press, Princeton, NJ, 409 pp.
- SCHULZ A. & SANETRA M. 2002: Notes on the socially parasitic ants of Turkey and the synonymy of *Epimyrmica* (Hymenoptera: Formicidae). — *Entomofauna* **23**: 157–172.
- SEIFERT B. 2006: *Temnothorax saxonicus* (Seifert, 1995) stat. nov., comb. nov. – a parapatric, closely-related species of *T. sordidulus* (Müller, 1923) comb. nov., stat. nov. and description of two new closely-related species, *T. schoedli* sp. n. and *T. artvinense* sp. n. from Turkey (Hymenoptera: Formicidae). — *Myrmecol. News* **8**: 1–12.
- SEIFERT B. 2013: *Hypoponera ergatandria* (Forel, 1893) – a cosmopolitan tramp species different from *H. punctatissima* (Roger, 1859) (Hymenoptera: Formicidae). — *Soil Org.* **85**: 189–201.
- SEIFERT B., RITZ M. & CSÖSZ S. 2013: Application of exploratory data analyses opens a new perspective in morphology-based alpha-taxonomy of eusocial organisms. — *Myrmecol. News* **19**: 1–15.
- SUEFUJI M. & HEINZE J. 2014: The genetic population structure of two socially parasitic ants: the active slave-maker *Myrmoxenus ravouxi* and the “degenerate slave-maker” *M. kraussei*. — *Conserv. Genet.* **15**: 201–211.
- SUEFUJI M., TRINDL A. & HEINZE J. 2011: Characterization of 13 microsatellite markers for the threatened, slave-making ant *Myrmoxenus ravouxi* (Formicidae: Myrmicinae). — *Conserv. Genet. Resour.* **3**: 229–231.
- WILSON E.O. 1971: *The Insect Societies*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, 548 pp.

Received June 4, 2014; revised and accepted October 9, 2014
Prepublished online December 5, 2014

*High skew in the Caucasus: functional monogyny in the ant *Leptothorax scamni**

J. Heinze & N. Gratiashvili

Insectes Sociaux

International Journal for the Study of
Social Arthropods

ISSN 0020-1812

Insect. Soc.

DOI 10.1007/s00040-015-0415-5



Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by International Union for the Study of Social Insects (IUSI). This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".

High skew in the Caucasus: functional monogyny in the ant *Leptothorax scamni*

J. Heinze¹ · N. Gratiashvili²

Received: 8 December 2014 / Revised: 14 April 2015 / Accepted: 17 May 2015
© International Union for the Study of Social Insects (IUSI) 2015

Abstract Animal societies vary considerably concerning how reproductive rights are partitioned among individual group members (“reproductive skew”). Nestmate queens of most polygynous species contribute more or less equally to the brood, but queens of a few species of the genus *Leptothorax* form dominance hierarchies in which only the top ranking queen lays eggs (“functional monogyny”). As predicted by optimal skew models, high skew appears to be associated with habitat patchiness. Here, we document functional monogyny in the Caucaso-Anatolian ant *Leptothorax scamni* (Ruzsky 1905). Similar to related species, young female sexuals mate on the ground near their natal nests and thereafter either disperse to found new colonies solitarily or in groups or return into their natal nest, where only one of several co-occurring queens reproduces. A phylogeny of *Leptothorax* species based on partial CO I sequences corroborates the view that functional monogyny has evolved convergently in several taxa of *Leptothorax*. It thus is a relatively labile trait that can rapidly adapt to habitat changes.

Keywords *Leptothorax* · Colony structure · Queen number · Reproductive skew · Mating behavior

Introduction

When animals live in groups, conflict arises about the partitioning of reproduction. In some social species, this conflict is resolved by the formation of dominance hierarchies, and only one or a few dominants monopolize reproduction (“high reproductive skew”). In others, all group members produce similar numbers of offspring (“low reproductive skew”). Optimal skew theory (e.g., Keller and Reeve 1994; Johnstone 2000; Reeve and Keller 2001; Nonacs and Hager 2011) explains the magnitude of reproductive skew from genetic relatedness of group members, their fighting strength and impact on group productivity, and ecological constraints on dispersal and solitary nesting.

Because of their division of labor between reproductives (queens and—in termites—kings) and non-reproductive workers, insect colonies are typically regarded as high-skew societies (Sherman et al. 1995). However, colonies of many species of wasps and ants regularly contain multiple queens, whose share in the offspring of the group may vary widely. Queens of mature multi-queen colonies of ants usually contribute roughly equally to the brood pile (e.g., Buschinger 1968a; Bourke 1991; Hammond et al. 2006). Variation in queen egg laying rates, if present at all, presumably reflects differences in queen age or physiological status rather than social hierarchies. At present, high reproductive skew has been documented only in a few ant species, notably in the myrmicine tribe Formicoxenini (*Formicoxenus* and *Leptothorax*; e.g., Buschinger 1968a; Buschinger and Winter 1976; Buschinger et al. 1980; Heinze and Buschinger 1988; Ito 1990; Buschinger and

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00040-015-0415-5) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ J. Heinze
juergen.heinze@biologie.uni-regensburg.de
N. Gratiashvili
nanagratiashvili@yahoo.com

¹ Zoology/Evolutionary Biology, University of Regensburg, 93040 Regensburg, Germany

² Institute of Zoology, Ilia State University, Giorgi Tsereteli 3, 0162 Tbilisi, Georgia

Francoeur 1991; Felke and Buschinger 1999; Gill et al. 2009).

The co-occurrence of multiple queens in colonies of *Leptothorax* typically results from the return of young queens into their natal nests after mating (e.g., Douwes et al. 1987; Stille et al. 1991; Heinze 1995; Bourke et al. 1997; Hammond et al. 2006; Bernadou and Heinze 2013). In some species, nestmate queens completely tolerate one another and all lay eggs (“facultative polygyny”; e.g., Buschinger 1968a; Bourke 1991, 1993; Heinze 1993). In other species, queens form reproductive hierarchies in fall and after hibernation, and only the top-ranking queen begins to lay eggs in spring (“functional monogyny”, Buschinger 1968a; Heinze and Smith 1990; Heinze et al. 1992; Ito 2005). After the social and reproductive hierarchy has become established, workers attack subordinate queens that begin to mature oocytes and expel them from the nest (e.g., Heinze and Smith 1990; Gill and Hammond 2011; Trettin et al. 2011). Hence, the dominant queen appears to have full control over breeding in the colony, either directly or indirectly via its workers. Of the various models of optimal skew theory (Johnstone 2000; Reeve and Keller 2001; Nonacs and Hager 2011), concession models might, therefore, be applicable and *Leptothorax* ants allow testing their predictions. Concession models predict an increase of skew with relatedness and environmental constraints. Contrary to these predictions, queen–queen relatedness is similar in high-skew and low-skew societies (Heinze 1995), but skew indeed appears to be linked to the magnitude of environmental constraints on dispersal and solitary nesting (Bourke and Heinze 1994; Reeve and Keller 2001). Skew is low in *Leptothorax* colonies from extended, homogenous coniferous forests of the Northern hemisphere (e.g., *L. acervorum* from Central and Northern Europe, *L. canadensis*, *L. muscorum*; Buschinger 1968a; Bourke and Heinze 1994; Heinze et al. 1995). Nest densities have never been mapped over more than a few dozen m², but fieldwork shows that nesting sites—rotting twigs or bark—are quite evenly distributed over large areas of these forests (unpubl. observations; Seifert 2007). Young queens should thus have a good chance to locate a suitable nest site after dispersal on the wing (Bourke and Heinze 1994).

In contrast, the high-skew species *L. gredleri*, *L. sphagnicolus*, and *L. sp. A* (recently referred to as “*Leptothorax* AF-erg,” Ellison et al. 2012) and the functionally monogynous populations of *L. acervorum* all live in more patchy habitat, such as clearings in dense forests, small, dry patches in spruce bogs, the edge of rocky outcrops, or moist areas in dry forests (Bourke and Heinze 1994; Felke and Buschinger 1999; Trettin et al. 2011). Mapping the distribution of colonies of *Leptothorax* sp. A showed that available nest sites were limited. Dispersing queens might, therefore, risk

to remain without suitable nest site or to drift off into unsuitable habitat (Heinze 1993).

Empirical data thus appear to support skew theory (e. g., Keller and Reeve 1994; Johnstone 2000). However, for most species colony structure and habitat requirements had been known before skew models were available, and the association between skew and habitat was recognized in retrospect. Predicting the colony structure of a previously unstudied species from habitat characteristics would provide a more convincing test of skew theory.

Leptothorax scamni was originally described as a variety of *L. muscorum* based on individual workers collected from a bench (lat. *scannum*, bench, stool) near Abastumani, Caucasus (Ruzsky 1905). Arnol'di (1977) later elevated it to species rank without giving additional information. The formal re-description and designation of neotypes (Heinze et al. 1993) was sparked by the finding of new samples from Northern Turkey and the Caucasus. Despite intensive field work in Northern Anatolia, complete colonies could not be found. From this it was concluded that *L. scamni* “rarely occurs in dense populations, but may be a patchily distributed habitat specialist, such as *L. gredleri*” (Heinze et al. 1993), i.e., with local mating and high reproductive skew.

Here, we describe the structure of colonies of *L. scamni* from a coniferous forest near its type locality in the Lesser Caucasus in Georgia. Dissection of queens shows that colonies of *L. scamni* are functionally monogynous. Furthermore, like in several other *Leptothorax*, mating occurs near the natal nest of female sexuals without intensive flight activity. Finally, based on the molecular phylogeny of *Leptothorax* species we show that functional monogyny evolved convergently in separate clades, highlighting that reproductive skew is a rather plastic trait in *Leptothorax* ants.

Materials and methods

Complete colonies, solitary queens, and groups of founding queens were collected in a coniferous forest on a south-exposed slope below the Abastumani Astrophysical Observatory, Samtskhe-Javakheti region, Georgia (N: 41°45.473', E: 042°49.044', elev. appr. 1535 m) in August 2010 and September 2013. Quite unusual for *Leptothorax*, colonies nested under the bark on the southern side of stems of Caucasian firs (*Abies nordmanniana*) and Oriental spruce (*Picea orientalis*) up to 1.6 m above the ground. Many nests were found near old, withered, injured stem areas, where resin had been tapped, and some colonies were completely surrounded by dry resin deposits (Fig. S1). Six colonies were also found in rotting logs and tree stumps on the ground, the typical nest site of other species of *Leptothorax*.

Colonies no longer contained eggs and thus appeared to have already prepared for hibernation when collected in the field. To avoid confusing young queens, which had been adopted shortly before collection and had not yet matured eggs, with the typical subordinate non-laying queens in functionally monogynous colonies we did not dissect ovaries immediately after collection. Instead, colonies were brought to the lab at University of Regensburg, transferred into small plastic boxes with a plastic frame sandwiched between two microscope slides serving as nest (Heinze and Ortius 1991) and subjected to artificial hibernation (14 h 0 °C/10 h 10 °C) for approximately 10 weeks in incubators. Thereafter, temperatures were increased to spring (2 weeks, 12 h 10 °C/12 h 20 °C) and summer conditions (12 h 15 °C/12 h 25 °C). Colonies were provided with honey every 2 weeks in winter and with honey and chopped up cockroaches twice per week in spring and summer. Ovaries were dissected following Buschinger and Alloway (1978) in eight multi-queen colonies 2 weeks after first eggs had appeared in the colonies and the gasters of several queens had become visibly swollen from the mass of developing eggs.

Data on the structure of colonies of other *Leptothorax* species, i.e., facultative polygyny vs. functional monogyny, were taken from the literature (e.g., Buschinger 1968a, b; Heinze 1993; Bourke and Heinze 1994; Heinze et al. 1995; Oberstadt and Heinze 2003; Gill and Hammond 2011; Scharf et al. 2011; Trettin et al. 2011). Polygyny of *L. acervorum* and *L. muscorum* from Georgia was verified by dissections (Abastumani) or the occurrence of several visibly physogastric queens within single colonies (Tsagveri, Svaneti). The structure of colonies of *L. acervorum* and *L. muscorum* from Central Italy (Abruzzi, Gran Sasso) was not examined.

Mating behavior was observed in June 2014 in 16 colonies kept in incubators under artificial summer conditions. Colonies were removed from the incubators at the beginning of the artificial day conditions and observed in the laboratory at daylight and room temperature (19 °C). We placed a small upright stick into one of the chambers of the plastic box to allow female sexuals to climb up from the plaster floor and added males from other colonies to elicit mating. We scanned colonies once every hour between 8:00 and 19:00 on each of three subsequent days and counted the number of all female sexuals that were found outside of their nests. In addition we directly observed all behavior during the peak period of sexual activity (8:00–11:00) and noted the duration and timing of copulations.

To determine how often functional monogyny evolved convergently in *Leptothorax* we determined the molecular phylogeny of *Leptothorax*. We sequenced ants from four of the five non-parasitic Palearctic species of *Leptothorax*, the workerless parasite *L. kutteri*, and two Nearctic species for

which reliable data on colony structure are available (Heinze 1993). This covers most of the presently described functionally monogynous and polygynous taxa of *Leptothorax*. Only *L. oceanicus* from East Siberia and North Korea (e.g., Radchenko and Heinze 1997; Radchenko 2004, 2005; colony structure unknown), the rare functionally monogynous bog specialist *L. sphagnicolus* from Québec (Buschinger and Francoeur 1991), and several described or undescribed nearctic taxa with unclear colony structure (Heinze 1989) were not available for this study.

DNA was isolated using the CTAB method including proteinase K digestion (Sambrook and Russell 2001). We amplified a fragment of the mitochondrial gene CO I including tLeu RNA using the primer combination C1-J-2183/A8-N-3914 (Simon et al. 1994) and the nuclear protein-coding genes wingless, longwave rhodopsin, and elongation factor 1 α -F1 following Brady et al. (2006) and Oettler et al. (2010). For PCR we used the GO-Taq Hot Start Master Mix from Promega (Madison, WI) with a final primer concentration of 0.7 μ M and 1 μ l DNA. PCR conditions were an initial denaturation step at 94 °C for 240 s, 38 cycles of denaturation at 94 °C, 45 s; annealing at 50 °C, 45 s; elongation at 72 °C, 105 s, and a final step of 72 °C, 300 s. DNA was sequenced by LGC Genomics (Berlin) in an ABI 3100 capillary sequencer. Sequences were visually corrected and ambiguous parts at the fragment ends were removed, resulting in partial sequences of 821 bp (CO I), 361 bp (elongation factor 1 α -F1), 523 bp (longwave), and 340 bp (wingless).

To increase the robustness of our phylogenetic analysis, we added several partial CO I sequences of *L. acervorum*, *L. muscorum*, and *Harpagoxenus sublaevis* from Brandt et al. (2007) and aligned the complete set of sequences in Bioedit 7.2.5 (Hall 1999) using the Clustal W algorithm. The sequences did not contain unexpected stop codons, deletions or inversions, and the amino acid sequences of the CO I fragment of *Leptothorax* widely matched those published in GenBank and Gotzek et al. (2010). Nuclear gene sequences for these specimens were not available from GenBank. Furthermore, nuclear genes could not be amplified in all of our samples and those that did differed only in few base pairs. They were thus not further included in the full phylogenetic analysis. The software MEGA 6.06 (Tamura et al. 2013) suggested HKY + G (Hasegawa et al. 1985) as best model for the evolution of CO I sequences.

Bayesian analysis was performed with MrBayes 3.2.1 (Ronquist et al. 2012) with three heated and one cold Markov chains. Default heating parameter was set at 0.2 with an MCMC length of 3,000,000 generations. The first 500 generations (burn-in) were discarded and every 500th generation was sampled. A maximum likelihood analysis was performed with MEGA 6.06 and 1000 bootstraps (Felsenstein 1985). The phylogenetic tree was drawn using

FigTree version 1.4.0 (available at <http://tree.bio.ed.ac.uk/software>). GenBank accession numbers and the placement of voucher specimens are given in Table S1.

To better document the observed heterogeneity of sequences of *L. gredleri* we repeated the analysis with additional, 646 bp long CO I sequences from an earlier, unpublished study. To clarify the taxonomic status of *L. gredleri* we also investigated the nuclear genes longwave rhodopsin and elongation factor 1 α -F1. For both genes MEGA 6.06 (Tamura et al. 2013) suggested the Jukes-Cantor model (Jukes and Cantor 1969) as best model for the evolution of nuclear genes.

Results

In August 2010 and September 2013 we collected colonies of *L. scammii* at its type locality in Abastumani, Georgia. In total we found seven solitary queens, two colonies consisting of five and six queens and one or four workers with a few larvae, and 32 larger colonies (5 queenless, 11 with a single queen, 18 with multiple—2 to 13—dealate female sexuals or queens of unknown reproductive status).

Ovary dissection

We dissected the ovaries of queens from eight colonies, each with multiple dealate queens and/or dealate virgin female sexuals. Each colony had only one visibly physogastric queen, i.e., with the abdomen slightly swollen from the mass of maturing eggs. Dissections of four of these physogastric queens revealed that the ovarioles were elongated (3–5 mm, median 4 mm) and contained numerous maturing oocytes. The presence of corpora lutea suggested that these queens had laid large numbers of eggs in the past. The ovaries of other queens, both mated and virgin, were not elongated and did not contain maturing eggs (Table 1; $n = 25$; 0.4–2 mm, median 0.83 mm; Mann–Whitney U test, $U = 0$, $p = 0.0017$). We did not find any evidence for the co-existence of multiple, highly fertile queens with viable eggs in their ovaries. The fat bodies of fertile queens and also those of most inseminated, non-fertile queens had a yellowish coloration, while fat bodies of young queens are usually white. This indicates that at least some of the non-fertile, mated queens had been present already before the last mating season.

Mating behavior

Most female sexuals remained inside their nests at the beginning of the artificial day time, but 1 hour later a large number of female sexuals was seen running around in the arena and moving up the provided small sticks. They

Table 1 Dissection data of nestmate queens found in the colonies of the ant *Leptothorax scammii*

Colony	Fully fertile queens: visibly physogastric and/or with maturing oocytes	Mated queens no mature oocytes ^a	unmated queens no mature oocytes ^a
GEO II 8	1		8
GEO II 13	1 (not dissected)		4
GEO II 17	1 (not dissected)	1	4
GEO II 25	1 (not dissected)	1	2
GEO II 52	1	3	1
GEO II 54	1 (not dissected)	3	2
GEO II 60	1	11	1
GEO II 64	1		2

Each colony contained only one fertile queen, while the ovaries of others did not contain viable eggs. This suggests functional monogyny

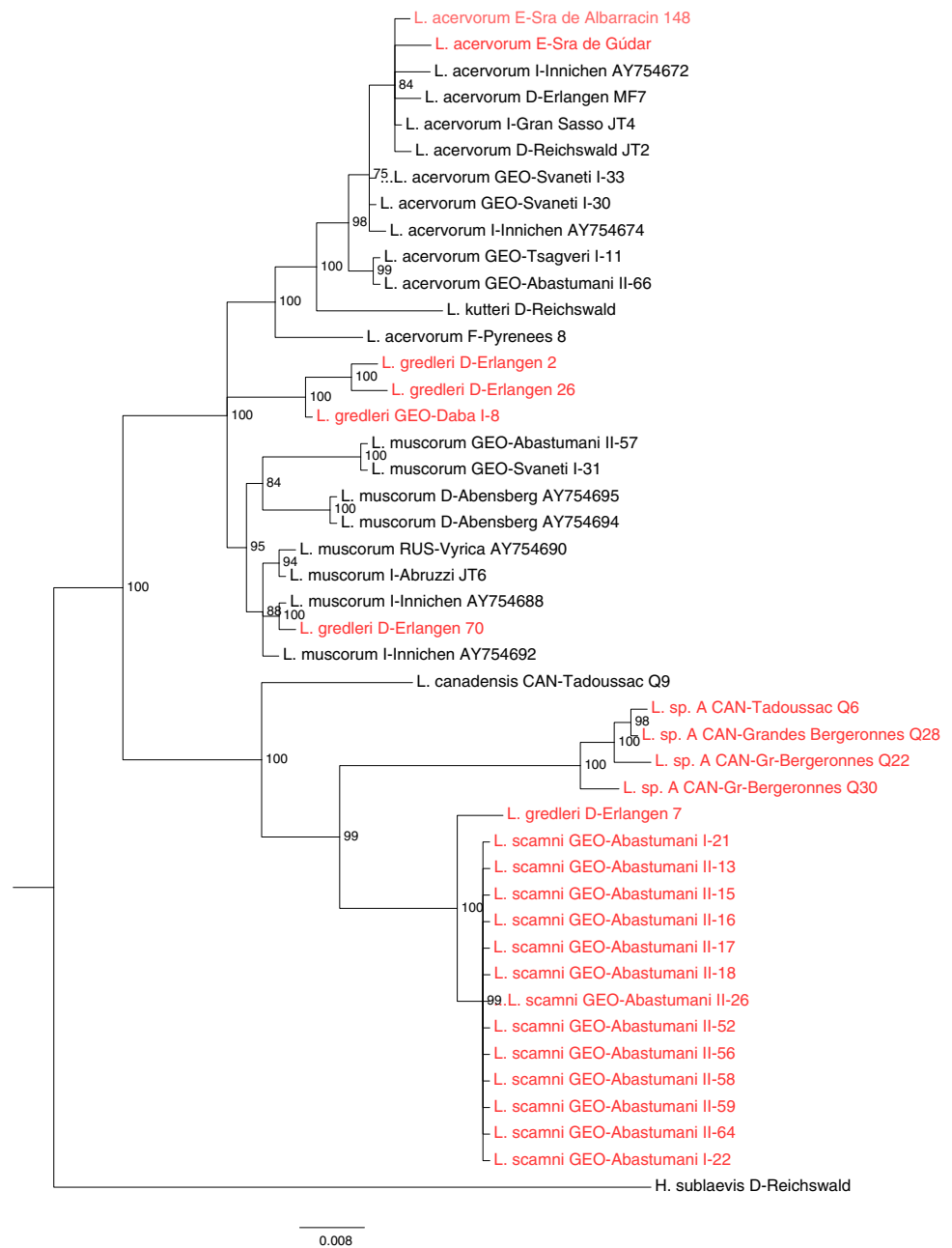
^a The ovaries of seven inseminated and five uninseminated queens contained each one trophic egg with large yolk droplets

regularly bent and twisted their gasters and contorted their wings, but we never observed the clear female calling behavior known from other *Leptothorax* and related genera (Buschinger 1968b, 1971; Heinze and Buschinger 1987), i.e., raising the gaster, extrusion of the sting, and secretion of droplets of poison gland pheromone via the sting. Nevertheless, female sexuals attracted males and we witnessed a total of 34 copulations, all between 1 and 2½ hours after artificial sunrise (Fig. S2). Copulations lasted from 15 to 77 s (median 32 s). After mating, female sexuals quickly shed their wings. Dissection proved the presence of sperm in the spermathecae of 21 of 23 dealate queens; in two queens the presence could not be substantiated.

Phylogeny

The 821-bp fragment of mitochondrial DNA was reasonably variable, with 163 variable and 105 parsimony informative sites, but nuclear genes were much more conserved (3 variable sites in wingless, 10 in longwave rhodopsin, and 9 in elongation factor 1 α -F1). Variation in elongation factor 1 α -F1 was due to an aberrant sequence of *L. muscorum* from Abruzzi, which differed in eight or nine base pairs from other sequences, while the remaining sequences differed in maximally one base pair (see below). As nuclear sequences were not available for all samples we focused our analysis on mtDNA. Bayesian (Fig. 1) and Maximum likelihood analysis (Fig. S3) of the mtDNA fragment gave essentially similar tree topologies with a split between two main branches, one containing mainly holarctic *L. acervorum* and Palearctic *L. muscorum*, the other *L. scammii* and the two Nearctic taxa *L. canadensis* and *L. sp. A*. The tree topology clearly suggests that

Fig. 1 Bayesian consensus tree from two independent analyses of 821 bp sequences of the mitochondrial CO I gene of *Leptothorax scamni* and related species. Bayesian posterior probabilities (as percentages) are given at the nodes. Functionally monogynous taxa are highlighted by *red font* in the online version



functional monogyny evolved convergently in different lineages, i.e. at least once in the lineage of *L. scamni* and *L. sp. A* and at least twice in the lineages of *L. gredleri* and *L. acervorum*.

While most taxa from which material from different populations could be investigated formed clear monophyla, sequences of *L. gredleri* varied considerably, with one sample clustering with *L. scamni* and another from the same population with *L. muscorum*. On average, sequences including that of *H. sublaevis* differed in 35.5 base pairs, and the most divergent sequences of *L. acervorum* differed in 18 base pairs. In contrast, two samples from the same

population of *L. gredleri* (Erlangen-7 and Erlangen-70) differed in 48 base pairs, which translates into two hypothetical amino acid exchanges in the CO I protein. An analysis with additional sequences from *L. gredleri* corroborated this high diversity (Fig. S4). Nevertheless, monophyly of *L. gredleri* is supported by a specific sequence of longwave rhodopsin shared by all studied *L. gredleri* (GEO-Daba I-8 and D-Erlangen 2, 7, and 26) but different from the sequences of all other taxa in three or four bases (Fig. S5). Similarly, all *L. gredleri*, but also two samples recognized as *L. muscorum* from Georgia (GEO I-31 and GEO II-57), consistently differed from the

remaining samples (excluding one aberrant sequence of *L. acervorum* from Gran Sasso) in a transversion of A to G in the gene elongation factor 1 α -F1. The workerless social parasite *L. kutteri* is situated within its host *L. acervorum*, reflecting its presumed origin from this taxon (Buschinger 1990).

Discussion

Our analysis shows that colonies of the ant *Leptothorax scamni* from the Lesser Caucasus are functionally monogynous. Each examined colony contained only a single physogastric queen with maturing oocytes in its ovaries. Other mated or unmated queens had short ovarioles without maturing viable eggs, though some ovaries contained trophic eggs with large yolky droplets. Similar to other functionally monogynous *Leptothorax*, the contribution of nestmate queens to the brood is, therefore, highly skewed. Concession models of optimal skew (Johnstone 2000; Reeve and Keller 2001; Nonacs and Hager 2011) suggest that high reproductive skew is associated with constraints on dispersal and solitary founding by young ant queens, e.g., when suitable habitat is patchily distributed (Bourke and Heinze 1994). Previous field observations indicated such habitat patchiness for *L. scamni*, suggesting a life history similar to that of *L. gredleri* with high reproductive skew and local mating (Heinze et al. 1993). The present study confirms these predictions and corroborates the view that *Leptothorax* ants are suitable models for testing optimal skew theory (e.g., Bourke and Heinze 1994; Trettin et al. 2014).

In the laboratory, males and young queens of *L. scamni* showed sexual activity early in the morning and mated without much flight activity, similar to related species (e.g., Heinze and Buschinger 1987; Bernadou and Heinze 2013) but different from *L. acervorum* (Franks et al. 1991). Young mated queens were readily accepted in their natal nests, but field observations also revealed solitarily founding queens and groups of five or more dealate queens. Whether and how reproductive hierarchies develop in such foundress associations remains to be studied. Queens of functionally monogynous *Leptothorax* form dominance hierarchies by antennal boxing and biting after re-adoption and again after the end of hibernation (e.g., Heinze and Smith 1990; Heinze and Ortius 1991; Heinze et al. 1992; Ito 2005; Trettin et al. 2011). Workers may additionally influence and reinforce the outcome of queen antagonism through differential aggression and care (e.g., Heinze and Smith 1990; Heinze et al. 1992; Ortius and Heinze 1999; Gill and Hammond 2011). Both queen–queen and worker–queen aggression may cause injuries and lead to the expulsion of low-ranking queens from the nest (e.g., Heinze et al. 1992). In our study, the observation that several of the adopted queens died

within a few weeks after adoption might indicate such aggression (N. Gratiashvili, unpubl.). Nevertheless, the dark yellowish coloration of the fat bodies of most non-reproductive queens shows that the presence of multiple queens in a nest is not a transient phenomenon associated with the hibernation of young queens before regular dispersal in spring (as in *Temnothorax gredosi* and *T. minutissimus*, Buschinger 2002; Buschinger and Linksvayer 2004).

Our fieldwork supports the earlier impression that *L. scamni* is rather patchily distributed. Despite intensive search in other areas around Abastumani, we found colonies only on a south-exposed slope in an open spruce forest. In contrast to other *Leptothorax* species, which live at the base of pine trees or in rotting branches (e.g., Buschinger 1968a; Seifert 2007), *L. scamni* nested under the bark of spruce and fir trees and many nests were surrounded by large deposits of dry resin (Fig. S1). Some ants gather resin to protect themselves against pathogens (e.g., Christe et al. 2003; Castella et al. 2008) and it might be interesting to compare the expression of immune genes between *L. scamni* and related species that live in other nest materials.

Finally, phylogenetic analysis suggests that functional monogyny evolved convergently in several lineages of *Leptothorax*. Reproductive skew thus appears to be a labile trait. This is made particularly obvious by the existence of both functionally monogynous and polygynous populations of *L. acervorum* (Heinze et al. 1995; Gill et al. 2009). Felke and Buschinger (1999) suggested the possibility that the functionally monogynous population from S^{ra}. de Albaracin in Spain constitute a separate species. However, this is neither supported by our data nor by previous phylogenetic studies (e.g., Brandt et al. 2007; Gill et al. 2009). The flexibility of queen behavior is further supported by the observation that experimental manipulations can elicit aggressive interactions among queens from low-skew societies similar to those observed in the functionally monogynous populations (Trettin et al. 2014). This indicates that skew can evolve with environmental changes.

Though not the aim of the study our analysis yielded some interesting data about another functionally monogynous ant, *Leptothorax gredleri*. First, our finding of this ant in Daba, Georgia, greatly enlarges its presently known range (Central and Southern Europe) and matches a recent record from the Northern Caucasus (Yusupov 2014). Second, while nuclear genes confirm a monophyletic origin of *L. gredleri*, our samples do not form a separate clade in a phylogeny based on an 821-bp sequence of mtDNA. Instead, different specimens even from the same population cluster with *L. muscorum*, *L. scamni*, or form an own branch. Whether this reflects incomplete lineage sorting or hybridization, in particular with the morphologically very similar, sympatrically occurring *L. muscorum*, remains to be investigated. In any case, our finding documents that

barcoding based on partial CO I sequences is not always a reliable method of distinguishing among closely related ant taxa.

Acknowledgments Supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (He1623/30) and Shota Rustaveli National Science Foundation (04/24). We thank Abel Bernadou and Nina Spitzenpfeil for providing sequences of *L. gredleri* and Andreas Trindl and Jürgen Trettin for sequences of *L. acervorum*. Three referees made helpful comments on the manuscript.

References

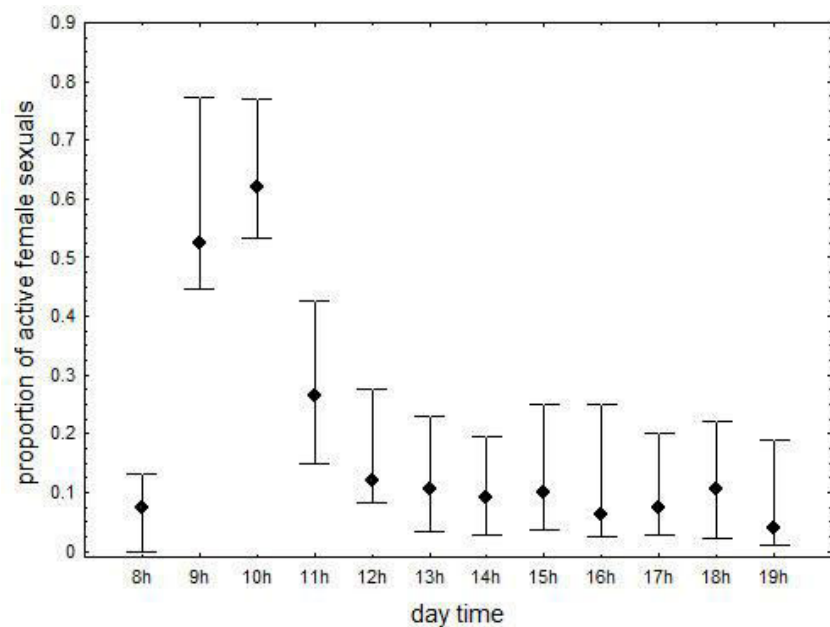
- Arnol'di KV (1977) New and little known species of the genus *Leptothorax* (Mayr) (Hymenoptera, Formicidae) in the European regions of the USSR and the Caucasus. *Entomol Rev* 56:148–153
- Bernadou A, Heinze J (2013) Mating-associated changes in the behaviour of *Leptothorax gredleri* ant queens. *Ethology* 119:634–643
- Bourke AFG (1991) Queen behaviour, reproduction and egg cannibalism in multiple-queen colonies of the ant *Leptothorax acervorum*. *Anim Behav* 42:295–310
- Bourke AFG (1993) Lack of experimental evidence for pheromonal inhibition of reproduction among queens in the ant *Leptothorax acervorum*. *Anim Behav* 45:501–509
- Bourke AFG, Heinze J (1994) The ecology of communal breeding: the case of multiply-queened leptothoracine ants. *Phil Trans R Soc Lond B* 345:359–372
- Bourke AFG, Green HAA, Bruford MW (1997) Parentage, reproductive skew and queen turnover in a multiple-queen ant analysed with microsatellites. *Proc R Soc Lond B* 264:277–283
- Brady SG, Schultz TR, Fisher BL, Ward PS (2006) Evaluating alternative hypotheses for the early evolution and diversification of ants. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:18172–18177
- Brandt M, Fischer-Blass B, Heinze J, Foitzik S (2007) Population structure and the coevolution between social parasites and their hosts. *Mol Ecol* 16:2063–2078
- Buschinger A (1968a) Mono- und Polygynie bei Arten der Gattung *Leptothorax* Mayr (Hymenoptera Formicidae). *Insect Soc* 15:217–226
- Buschinger A (1968b) „Locksterzeln“ begattungsbereiter ergatoider Weibchen von *Harpagoxenus sublaevis* NYL. (Hymenoptera, Formicidae). *Experientia* 24:297
- Buschinger A (1971) „Locksterzeln“ und Kopula der sozialparasitischen Ameise *Leptothorax kutteri* Buschinger (Hym. Form.). *Zool Anz* 186:242–248
- Buschinger A (1990) Sympatric speciation and radiative evolution of socially parasitic ants—heretic hypothesis and their factual background. *J Zool Syst Evol Res* 28:241–260
- Buschinger A (2002) Intranidal mated offspring hibernation (IMOH) in the ant species *Leptothorax gredosi* (Hymenoptera: formicidae: Formicoxenini). *Entomol Gener* 26:1–8
- Buschinger A, Alloway TM (1978) Caste polymorphism in *Harpagoxenus canadensis* MR Smith (Hym. Formicidae). *Insect Soc* 25:339–350
- Buschinger A, Francoeur A (1991) Queen polymorphism and functional monogyny in the ant, *Leptothorax sphagnicolus* Francoeur. *Psyche* 98:119–133
- Buschinger A, Linksvayer TA (2004) Novel blend of life history traits in an inquiline ant, *Temnothorax minutissimus*, with description of the male (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecol. Nachr.* 6:67–76
- Buschinger A, Winter U (1976) Funktionelle Monogynie bei der Gastameise *Formicoxenus nitidulus* (Nyl.) (Hym. Form.). *Insect Soc* 23:549–558
- Buschinger A, Francoeur A, Fischer K (1980) Functional monogyny, sexual behavior, and karyotype of the guest ant, *Leptothorax provancheri* Emery (Hymenoptera, Formicidae). *Psyche* 87:1–12
- Castella G, Chapuisat M, Moret Y, Christe P (2008) The presence of conifer resin decreases the use of the immune system in wood ants. *Ecol Entomol* 33:408–412
- Christe P, Oppliger A, Bancalà F, Castella G, Chapuisat M (2003) Evidence for collective medication in ants. *Ecol Lett* 6:19–22
- Douwes P, Sivusaari L, Niklasson M, Stille B (1987) Relatedness among queens in polygynous nests of the ant *Leptothorax acervorum*. *Genetica* 75:23–29
- Ellison AM, Gotelli NJ, Farnsworth EJ, Alpert GD (2012) A field guide to the ants of New England. Yale University Press, New Haven
- Felke M, Buschinger A (1999) Social organization, reproductive behavior and ecology of *Leptothorax acervorum* (Hymenoptera, Formicidae) from the Sierra de Albarracín in central Spain. *Insect Soc* 46:84–91
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783–791
- Franks NR, Sendova-Franks AB, Sendova-Vassileva M, Vassilev L (1991) Nuptial flights and calling behaviour in the ant *Leptothorax acervorum* (Fabr.). *Insect Soc* 38:327–330
- Gill RJ, Hammond RL (2011) Workers influence royal reproduction. *Proc R Soc B* 278:1524–1531
- Gill RJ, Arce A, Keller L, Hammond RL (2009) Polymorphic social organization in an ant. *Proc R Soc Lond B* 276:4423–4431
- Gotzek D, Clarke J, Shoemaker D (2010) Mitochondrial genome evolution in fire ants (Hymenoptera: Formicidae). *BMC Evol Biol* 10:300
- Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser* 41:95–98
- Hammond RL, Bruford MW, Bourke AFG (2006) A test of reproductive skew models in a field population. *Behav Ecol Sociobiol* 61:265–275
- Hasegawa M, Kishino H, Yano T (1985) Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evol* 22:160–174
- Heinze J (1989) A biochemical approach toward the systematics of the *Leptothorax “muscorum”* group in North America (Hymenoptera: Formicidae). *Biochem Syst Ecol* 17:595–601
- Heinze J (1993) Habitat structure, dispersal strategies and queen number in two boreal *Leptothorax* ants. *Oecologia* 96:32–39
- Heinze J (1995) Reproductive skew and relatedness in *Leptothorax* ants. *Proc R Soc Lond B* 261:375–379
- Heinze J, Buschinger A (1987) Queen polymorphism in a non-parasitic *Leptothorax* species (Hymenoptera, Formicidae). *Insect Soc* 34:28–43
- Heinze J, Buschinger A (1988) Polygyny and functional monogyny in *Leptothorax* ants (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* 95:309–325
- Heinze J, Ortius D (1991) Social organization of *Leptothorax acervorum* from Alaska (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* 98:227–240
- Heinze J, Smith TA (1990) Dominance and fertility in a functionally monogynous ant. *Behav Ecol Sociobiol* 27:1–10
- Heinze J, Lipski N, Hölldobler B (1992) Reproductive competition in colonies of the ant *Leptothorax gredleri*. *Ethology* 90:265–278
- Heinze J, Schulz A, Radchenko A (1993) Redescription of *Leptothorax* (s.str.) *scammii* from Turkey and the Caucasus. *Psyche* 100:177–183
- Heinze J, Lipski N, Hölldobler B, Bourke AFG (1995) Geographical variation in the genetical and social structure of the ant, *Leptothorax acervorum*. *Zool Anal Compl Syst* 98:127–135

- Ito F (1990) Functional monogyny of *Leptothorax acervorum* in northern Japan. *Psyche* 97:203–211
- Ito F (2005) Mechanisms regulating functional monogyny in Japanese population of *Leptothorax acervorum* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae): dominance hierarchy and preferential egg cannibalism. *Belg J Zool* 135:3–8
- Johnstone RA (2000) Models of reproductive skew: a review and synthesis. *Ethology* 106:5–26
- Jukes TH, Cantor CR (1969) Evolution of protein molecules. In: Munro HN (ed) *Mammalian protein metabolism*. Academic Press, New York, pp 21–132
- Keller L, Reeve HK (1994) Partitioning of reproduction in animal societies. *Trends Ecol Evol* 9:98–102
- Nonacs P, Hager R (2011) The past, present and future of reproductive skew theory and experiments. *Biol Rev* 86:271–298
- Oberstadt B, Heinze J (2003) Mating biology and population structure of the ant, *Leptothorax gredleri*. *Insect Soc* 50:340–345
- Oettler J, Suefuji M, Heinze J (2010) The evolution of alternative reproductive tactics in male *Cardiocondyla* ants. *Evolution* 64:3310–3317
- Ortius D, Heinze J (1999) Fertility signaling in queens of a North American ant. *Behav Ecol Sociobiol* 45:151–159
- Radchenko AG (2004) A review of the ant genera *Leptothorax* Mayr and *Temnothorax* Mayr (Hymenoptera, Formicidae) of the Eastern Palaearctic. *Acta Zool Acad Sci Hung* 50:109–137
- Radchenko AG (2005) Monographic revision of the ants (Hymenoptera: Formicidae) of North Korea. *Ann Zool* 55:127–221
- Radchenko A, Heinze J (1997) A redescription of the ant *Leptothorax oceanicus* (Hymenoptera, Formicidae). *Vestn Zool* 44:78–81
- Reeve HK, Keller L (2001) Tests of reproductive-skew models in social insects. *Ann Rev Entomol* 46:347–385
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Syst Biol* 63:539–542
- Ruzsky M (1905) Formicariae Imperii Rossici. *Trud Obshch Est Imp Kaz Univ* 37:1–800 (in Russian)
- Sambrook J, Russell D (2001) *Molecular cloning*, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- Scharf I, Bauer S, Fischer-Blass B, Foitzik S (2011) Impact of a social parasite on ant host populations depends on host species, habitat and year. *Biol J Linn Soc* 103:559–570
- Seifert B (2007) *Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas*. Lutra, Tauer
- Sherman PW, Lacey EA, Reeve HK, Keller L (1995) The eusociality continuum. *Behav Ecol* 6:102–108
- Simon C, Frati F, Benckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann Entomol Soc Am* 87:652–701
- Stille B, Stille M, Douwes P (1991) Polygyny, relatedness and nest founding in the polygynous myrmicine ant *Leptothorax acervorum* (Hymenoptera; Formicidae). *Behav Ecol Sociobiol* 28:91–96
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S (2013) Mega6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30:2725–2729
- Trettin J, Haubner M, Buschinger A, Heinze J (2011) Queen dominance and worker policing control reproduction in a threatened ant. *BMC Ecol* 11:21
- Trettin J, Seyferth T, Heinze J (2014) Behavioral plasticity in ant queens: environmental manipulation induces aggression among normally peaceful queens in the socially polymorphic ant *Leptothorax acervorum*. *PLoS One* 9:e95153
- Yusupov ZM (2014) Two ant species (Hymenoptera, Formicidae) from the Northern Caucasus, new to the Fauna of Russia. *Entomol Rev* 94:286–287

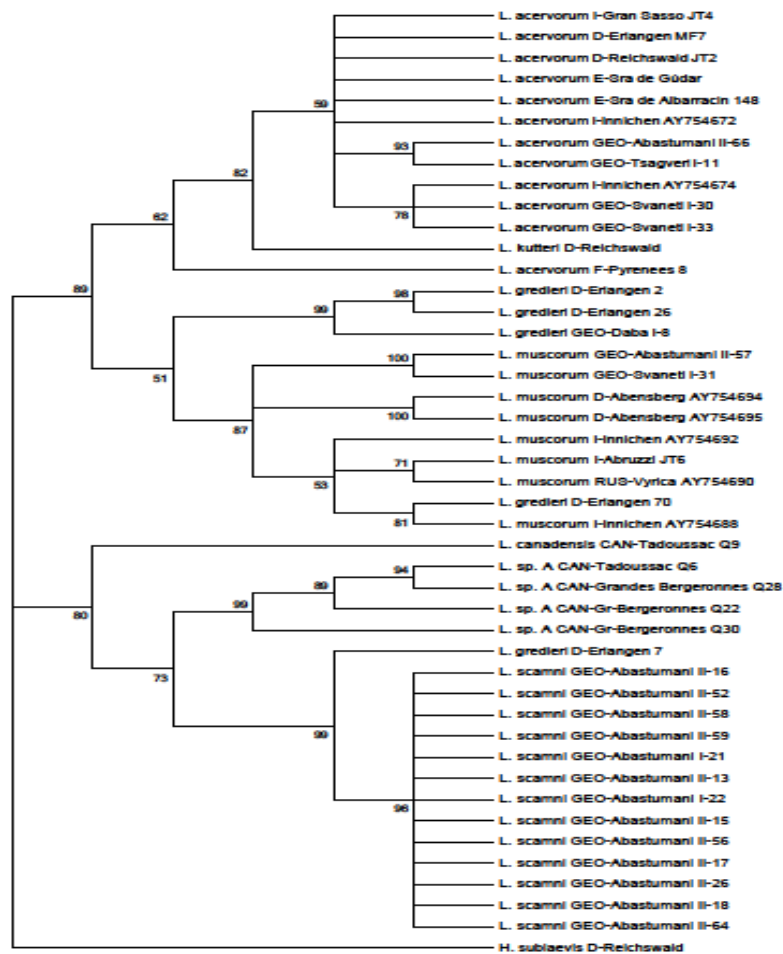
Supplementary material



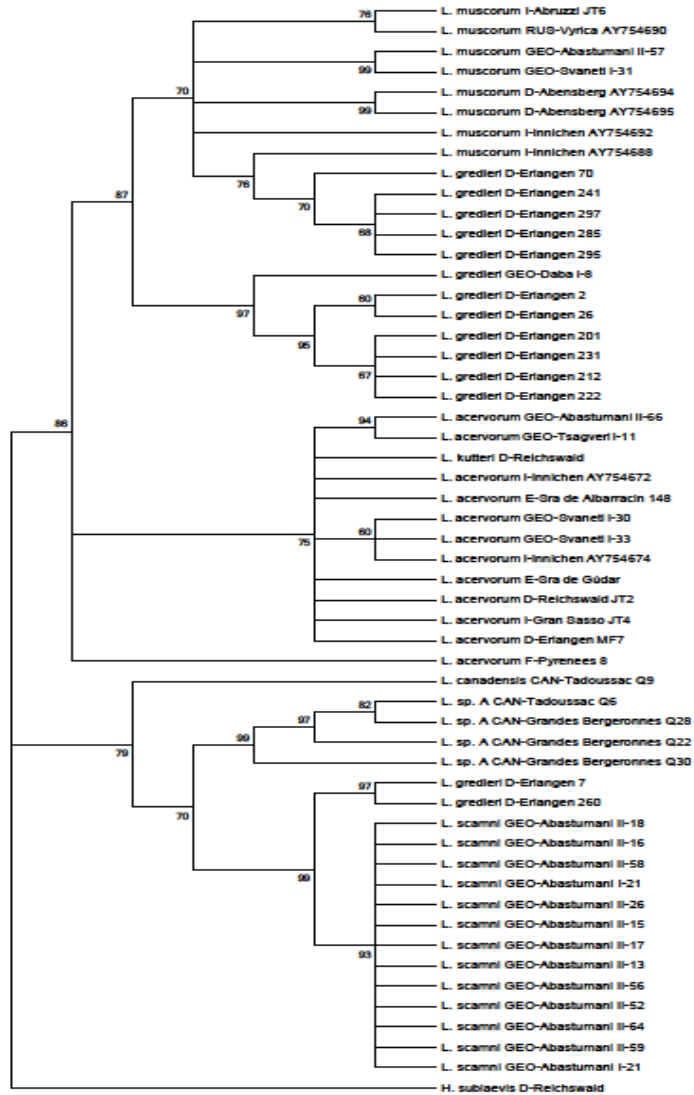
Supplementary material Fig. S1. Close up of the nest of *Leptothorax scamni* under spruce bark. The arrow points to the nest cavity with a cluster of larvae. The white material above and below the nest is dried resin.



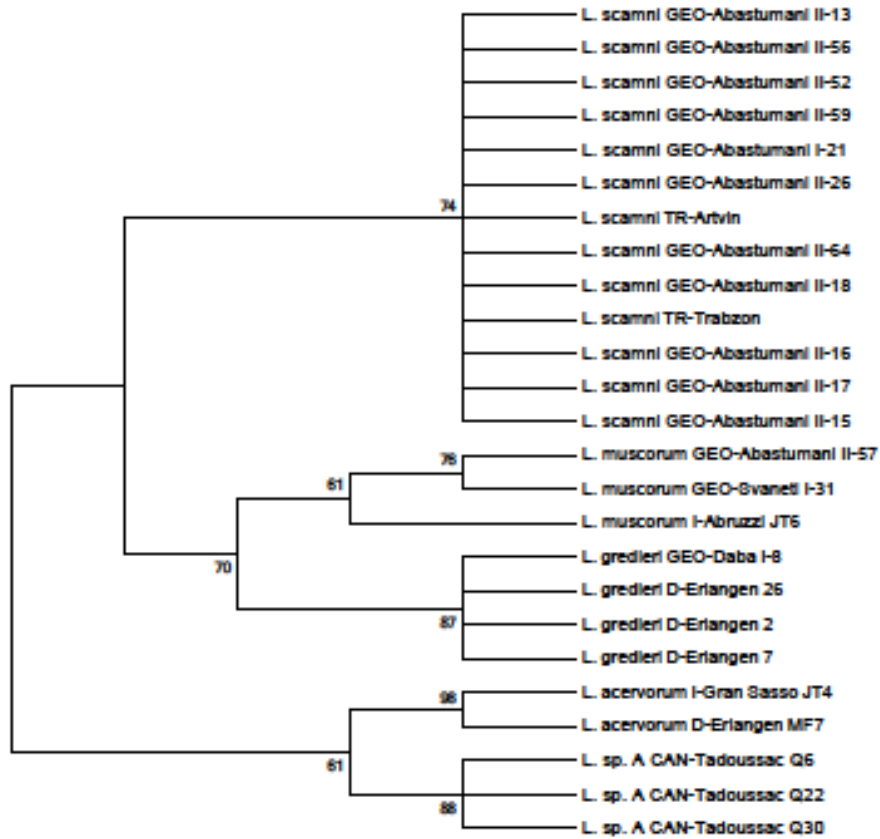
Supplementary material Fig. S2. Timing of sexual activity (median, quartiles of the proportion of active female sexuals) in 16 colonies of the ant *Leptothorax scamni*. Colonies were removed from dark incubators at 15 °C and exposed to light and room temperature (19 °C) at 8:00.



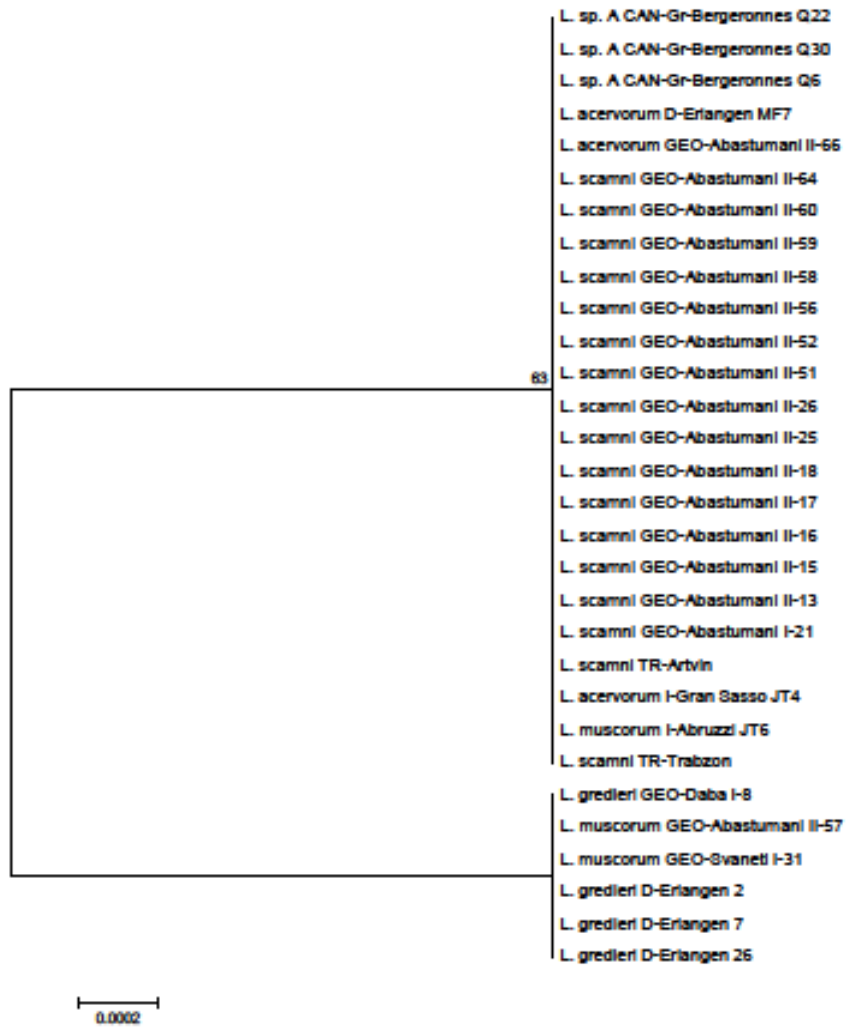
Supplementary material Fig. S3. Maximum Likelihood consensus tree inferred from 820 bp sequences of the mitochondrial CO I gene of *Leptothorax scamni* and related species. Figures at the nodes represent the percentage of replicate trees with a particular branching pattern. Branches found in less than 50 % of 1000 bootstrap replicates are collapsed.



Supplementary material Fig. S4. Maximum Likelihood consensus tree inferred from 646 bp sequences of the mitochondrial CO I gene of *Leptothorax scamni* and related species, including additional sequences of *L. gredleri*. Figures at the nodes represent the percentage of replicate trees with a particular branching pattern. Branches found in less than 50 % of 1000 bootstrap replicates are collapsed.



Supplementary material **Fig. S5**. Maximum Likelihood consensus tree inferred from 523 bp sequences of the nuclear protein-coding gene longwave rhodopsin of *Leptothorax scamni* and related species. Figures at the nodes represent the percentage of replicate trees with a particular branching pattern. Branches found in less than 50 % of 1000 bootstrap replicates are collapsed.



Supplementary material Fig. S6. Maximum Likelihood consensus tree inferred from 361 bp sequences of the nuclear protein-coding gene elongation factor 1α -F1 of *Leptothorax scamni* and related species. Figures at the nodes represent the percentage of replicate trees with a particular branching pattern. Branches found in less than 50 % of 1000 bootstrap replicates are collapsed.

Supplementary material Tab. S1. Collecting sites of *Leptothorax* samples, GenBank accession numbers of gene sequences, and deposition of voucher specimens.

Code in Figure 1	Collecting site	GenBank Accession No.
L. acervorum D-Reichswald JT2	Nürnberger Reichswald, Germany, coll. J. Trettin	LN831885
L. acervorum I-Gran Sasso JT4	GrSA 1.3, Abruzze Gran Sasso, Italy, coll. J. Trettin	LN831886
L. muscorum I-Abruzzi JT6	Abruzze, Italy (42°42'N, 13°73'E), coll. J. Trettin	LN831887
L. acervorum E-Sra de la Demanda 10	Sra de la Demanda, coll. J. Trettin	LN831916
L. acervorum E-Sra de Albarracin 148	Sra.de Albarracin, Spain, coll. J. Trettin	LN831918
L. acervorum GEO-Svaneti I-33	Chalai Valley, Latali, Svaneti, Georgia, 2010, coll. J. Heinze	LN831919
L. acervorum GEO-Svaneti I-30	Chalai Valley, Latali, Svaneti, Georgia, 2010, coll. J. Heinze	LN831915
L. acervorum GEO-Abastumani II-66	Abastumani, Georgia. 09. 2013	LN831902
L. acervorum GEO-Tsagveri I-11	Tsagveri, Georgia, 2010, coll. J. Heinze	LN831912
L. kutteri D-Reichswald	Reichswald, Gemany	LN831920

L. acervorum F-Pyrenees 8	Pyrenees, France, coll. J. Trettin	LN831917
L. gredleri GEO-Daba I-8	Abastumani, Georgia, coll. J. Heinze	LN831888
L. gredleri D-Erlangen 2	Erlangen, Germany (49°35'N, 11°01'E)	LN831904
L. gredleri D-Erlangen 7	Erlangen, Germany (49°35'N, 11°01'E)	LN831905
L. gredleri D-Erlangen 26	Erlangen, Germany (49°35'N, 11°01'E)	LN831907
L. gredleri D-Erlangen 70	Erlangen, Germany (49°35'N, 11°01'E)	LN831906
L. acervorum D-Erlangen MF7	Erlangen, Germany (49°35'N, 11°01'E)	LN831908
L. canadensis CAN-Tadoussac Q9	Pointe de l'Islet, Tadoussac, Québec, 2010	LN831913
L. sp. A CAN-Tadoussac Q6	Pointe de l'Islet, Tadoussac, Québec, 2010	LN831909
L. sp. A CAN-Grandes Bergeronnes Q28	4km east Cap Bon Desir, Grandes Bergeronnes, Québec, 2010	LN831921
L. sp. A CAN-Grandes Bergeronnes Q22	4km east Cap Bon Desir, Grandes Bergeronnes, Québec, 2010	LN831910
L. sp. A CAN-Grandes Bergeronnes Q30	4km east Cap Bon Desir, Grandes Bergeronnes, Québec, 2010	LN831911

L. muscorum GEO-Abastumani II-57	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831898
L. muscorum GEO-Svaneti I-31	Svaneti, Georgia, coll. J. Heinze	LN831903
L.scamni GEO-Abastumani I-21	Abastumani, Georgia, 2010	LN831889
L.scamni GEO-Abastumani I-22	Abastumani, Georgia, 2010	LN831914
L.scamni GEO-Abastumani II-13	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831890
L.scamni GEO-Abastumani II-15	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831891
L.scamni GEO-Abastumani II-16	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831892
L.scamni GEO-Abastumani II-17	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831893
L.scamni GEO-Abastumani II-18	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831894
L.scamni GEO-Abastumani II-26	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831895
L.scamni GEO-Abastumani II-52	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831896
L.scamni GEO-Abastumani II-56	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831897

L.scamni GEO-Abastumani II-58	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831899
L.scamni GEO-Abastumani II-59	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831900
L.scamni GEO-Abastumani II-64	Abastumani, Georgia. 09.2013	LN831901
H. sublaevis D-Reichswald	Nürnberger Reichswald, Germany	LN831922

jkh6@york.ac.uk

To

abel.bernadou@ur.de christine.roemermann@uni-jena.de nanagratiashvili@yahoo.com juergen.heinze@ur.de

May 27 at 9:33 PM

27-May-2016

Dear Dr. Bernadou:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Body size but not colony size increases with altitude in the Holarctic ant, *Leptothoraxacervorum*" in its current form for publication in Ecological Entomology. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

Please complete the form attached to this email and send it to the Ecological Entomology editorial office (ecol.ent@royensoc.co.uk). This will help us to promote the article and increase the number of downloads it attracts.

Your article cannot be published until the publisher has received the appropriate signed license agreement. Within the next two weeks the corresponding author will receive an email from Wiley's Author Services system which will ask them to log in and will present them with the appropriate license for completion.

As the successful author of a paper being published in a Royal Entomological Society Journal, we would like to encourage you to consider applying for Fellowship of the Society, see here <http://www.royensoc.co.uk/membership/fellowship.htm> for details.

Thank you for your contribution. On behalf of the Editors of Ecological Entomology, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Prof. Jane Hill

Editor in Chief, Ecological Entomology

jkh6@york.ac.uk

Body size but not colony size increases with altitude in the Holarctic ant, *Leptothorax acervorum*

Abel Bernadou ^{1*} • Christine Römermann ² • Nana Gratiashvili ^{1,3} • Jürgen Heinze ¹

¹ Zoology / Evolutionary Biology, Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, 93053 Regensburg, Germany

² Plant Biodiversity, Institute of Systematic Botany, Friedrich-Schiller University Jena, Philosophenweg 16, 07743 Jena, Germany

³ Institute of Zoology, Ilia State University, Giorgi Tsereteli 3, 0162, Tbilisi, Georgia

* Corresponding author: Tel: + 49 (0) 941 943 2461; Fax: + 49 (0) 941 943 3304; Email: Abel.Bernadou@ur.de

Abstract

Bergmann's rule states that organisms inhabiting colder environments show an increase in body size or mass in comparison to their conspecifics living in warmer climates. Although originally proposed for homeothermic vertebrates, this rule was later extended to ectotherms. In social insects, only few studies have tested this rule and results have yielded ambiguous conclusion. Here, "body size" can be considered at two different levels (the size of the individual workers or the size of the colony). In this study, we use data from 53 nests collected along altitudinal gradients in the Alps to test the hypotheses that the worker and colony size of the ant *Leptothorax acervorum* increase with increasing altitude and therefore follow Bergmann's rule. Our results show that the body size of workers but not the colony size increases with altitude. Whether this pattern is driven by starvation resistance or other mechanisms remains to be investigated.

Keywords: Bergmann's rule, elevation, worker size, life-history trait.

Introduction

Bergmann's rule states that organisms inhabiting colder environments show an increase in body size or mass, e.g. with increasing latitude or altitude, in comparison to their conspecifics living in warmer climates (Bergmann, 1847; Shelomi, 2012). Although originally proposed for homoeothermic vertebrates, this rule was later extended to ectotherms where it yielded ambiguous results (Bergmann, 1847; Blackburn *et al.*, 1999; Shelomi, 2012). For example, in insects an almost equal number of studies found Bergmann clines or converse-Bergmann clines (body size decreases with temperature). However, most studies did not show a specific pattern at all (Shelomi, 2012). More empirical data, particularly at the intraspecific level and within contiguous ranges (Shelomi, 2012) are needed to uncover the variation in body size with changing environmental conditions and the mechanisms that shape them.

In the last years, several studies have tested Bergmann's rule in social insects in intraspecific and interspecific comparisons. Here, "body size" can be considered at two different levels: the size of the individual workers or the size of the "superorganism", i.e. the total number of individuals in a colony (Kaspari & Vargo, 1995; Dunn *et al.*, 2010; Heinze *et al.*, 2003). While there is some indication that worker body size and colony size in ants tend to be larger at higher latitude and thus follow Bergmann's rule (body size: Cushman *et al.*, 1993; Heinze *et al.*, 1999; Heinze *et al.*, 2003; colony size: Kaspari & Vargo, 1995), other studies failed to find a consistent pattern in other groups (Hawkins, 1995; Porter & Hawkins, 2001). However, only very few studies have tested for Bergmann's rule in social insects along altitudinal gradients (e.g. Geraghty *et al.*, 2007).

The holarctic ant *Leptothorax acervorum* (Fabricius, 1793) (Hymenoptera: Formicidae) is a suitable model system to study life history traits under different environmental conditions. The species is widely distributed both in latitude and altitude (Glaser, 2006; Seifert, 2007; Bernadou *et al.*, 2015), colonies are small, and nests can be easily collected. In a previous study, Heinze *et al.* (2003) found that in *L. acervorum*, average individual body size increases with latitude and that workers from two localities

with rough and alpine climate were larger than expected from latitude. This suggested that altitude may similarly affect body size. Here, we use data from 53 nests collected along altitudinal gradients in the Alps to test the hypotheses that the two different levels of “body size” that can be found in social insects (i.e., size of the worker, size of the colony) follow Bergmann’s rule, i.e., that both parameters increase with increasing altitude.

Materials and Methods

Colonies of *L. acervorum* are inconspicuous and mainly consist of a few dozen to a few hundred workers and one or several queens (Heinze *et al.*, 2003). Complete colonies were collected with aspirators and forceps in two localities in the Alps (Austria: Vorarlberg, Kleinwalsertal, 47°20′N 10°10′E and Tyrol, Innsbruck, 47°16′N 11°23′E, distance between the sites is about 90 km). A total of 53 nests (43 nests in Kleinwalsertal and 10 nests in Innsbruck) were sampled during the summers 2012 (18 nests sampled in early July in Kleinwalsertal) and 2013 (25 nests collected in early July in Kleinwalsertal and 10 nests sampled in early September in Innsbruck) along altitudinal gradients ranging from 977 to 1,980 m, and from 975 to 1,846 m, for the Walmendinger Horn (Kleinwalsertal) and the Hafelekar (Innsbruck) mountains, respectively. The altitude of each nest was recorded by means of a GPS (Garmin® eTrex Vista™). In areas known to be suitable for *L. acervorum* (e.g., small stands of pine trees, pine forest, rocky areas), we randomly searched potential nest sites for colonies, including rotting branches, tree stumps, under bark, and rock crevices (Heinze *et al.*, 2003; Seifert, 2007). Nests were placed in plastic vials and brought to the laboratory to determine the colony size by counting the number of workers (two nests were excluded for the colony size analysis as workers were not counted in these nests). Colonies were subsequently stored in ethanol to investigate the worker body size.

The worker body size (maximum cephalic width, CW, and mesosoma length, ML; Seifert 2007) was investigated on mounted and dried workers. Six randomly selected workers per colony were

measured, summing up to 318 individuals (Walmendinger Horn: N= 258, Hafelekar: N= 60). All measurements were made using a pin-holding stage, permitting full rotation around the X, Y, and Z axes, and a Wild M10 stereomicroscope equipped with a 1.6x plan-apochromatic objective at magnifications between 200-320x (see Gratiashvili *et al.*, 2014). Mean measurement errors, determined by measuring a random subsample of 20 workers twice, were 0.0133 ± 0.004 mm for maximum cephalic width and 0.0176 ± 0.007 mm for mesosoma length. All measurements were made blind to altitude by the same person (N.G.).

We used a linear mixed-effect model (lme function, R-package “nlme”) to examine the relationship between altitude and worker body size (CW or ML). To account for pseudo-replication problems, the variable “colony” (six workers per colony were used) was nested within the variable “localities” and was entered as a random variable in the model. We used the R-package “MuMIn” (r.squaredGLMM function) to calculate the marginal and conditional Pseudo- R^2 values (R^2_m and R^2_c , respectively, Nakagawa & Schielzeth, 2013). To examine the variation in colony size (number of workers per nest) with changing altitude, we used a generalized linear mixed model (glmmPQL function, R-package “MASS”) with a Poisson error distribution. Because of overdispersion, the standard errors were corrected using a quasi-GLM model (Zuur *et al.*, 2009). The variable “localities” was entered as a random variable as described above. All statistical analyses were performed and graphs generated with the software R 3.2.1 (R Development Core Team, 2015). All data in the text are given as mean \pm 95% Confidence Interval (CI_{0.95}).

Results and Discussion

Maximum cephalic width and mesosoma length of *L. acervorum* workers varied between 0.71 and 0.94 mm (mean: 0.82 ± 0.004) and between 0.91 and 1.29 mm (mean: 1.10 ± 0.006), respectively. Maximum cephalic width and mesosoma length were highly correlated (Spearman's rank correlation: n

= 318, $r = 0.74$, $P < 0.001$). Because mean measurement errors were lower for cephalic width than for mesosoma length, only the analysis of cephalic width is reported in the following. However, the results are qualitatively identical for mesosoma length.

Head width increased significantly with altitude: workers were larger at high than low altitudes ($t = 3.350$, $P = 0.001$, $R^2_m = 0.098$ and $R^2_c = 0.472$; Fig 1.). While a similar pattern was found along latitudinal gradients in other studies (Heinze *et al.*, 1999; Heinze *et al.*, 2003; in ant assemblages: Cushman *et al.*, 1993), our results differed from those of Geraghty *et al.* (2007), who did not find a relationship between body size and altitude across different ant species. The reason for this might be that Geraghty *et al.* (2007) did not take intraspecific variation in body size into account. The variation among ant species might have overshadowed the relation to altitude (Shelomi, 2012).

A larger body size can be advantageous under low temperature when foraging activity and food access are restricted: bigger workers have an increased starvation resistance (Cushman *et al.*, 1993; Heinze *et al.*, 2003). However, whether this (starvation resistance hypothesis) or other mechanisms (e.g. relaxation of competition, heat conservation hypothesis, see Blackburn *et al.*, 1999; Heinze *et al.*, 2003) explain the altitudinal clines in worker body size remains to be investigated.

Colony size varied between 12 and 282 workers per nest (mean: 72.54 ± 17.37) but did not increase with altitude ($t = -1.589$, $P = 0.118$; Fig 2.). It has been suggested that colony size increases moving from the tropics towards the temperate zone to buffer food shortage (Kaspari & Vargo, 1995). In rough climate, queens are able to survive longer in large compared to smaller colonies (Kaspari & Vargo, 1995). Contrary to expectations, our data did not support this "fasting endurance hypothesis" (Kaspari & Vargo, 1995) but match previous findings in which no relationship was found (ants, latitude: Heinze *et al.*, 2003; altitude: Geraghty *et al.*, 2007; termites, latitude: Porter and Hawkins, 2001). Though our sample size is limited it appears that in *L. acervorum*, other factors might play a role for colony size, e.g. the size of available nest material (see also Heinze *et al.*, 2003). In our study, colonies found in wood

material (e.g. under bark, rotting branches) were larger (mean: 93.35 ± 32.43) than colonies found in rock material (e.g. rock crevices) (mean: 55.46 ± 16.50). Although we did not find a significant difference between both materials when incorporating these in the models (analyses not shown), eight of the 10 biggest nests were found in wood.

Despite our attempt to collect entire colonies from rock crevices and from wood material, we cannot exclude that a few workers escaped collection. Furthermore, colony life history traits, such as stage of development or queen number, could have confounded colony size pattern along altitude gradients. More data taking into account such potential bias as well as resource and weather fluctuations are needed to understand the factors associated with changes in colony size along altitude.

In conclusion, this study confirms that in the ant *L. acervorum* the body size of workers, but not the colony size increases with altitude. Whether this pattern is driven by starvation resistance or other mechanisms and to understand if worker body size and colony size are linked to colony survival rate remain open and interesting questions that need to be addressed.

Acknowledgements:

We thank Tobias Weichselgartner, Markus Johann Mühlbauer, Anna Geiger and Natascha Borchers for help collecting the ants and two referees for useful comments on previous versions of this manuscript.

References

- Bernadou, A., Espadaler, X., Le Goff, A. & Fourcassié, V. (2015) Ant community organization along elevational gradients in a temperate ecosystem. *Insectes Sociaux*, **62**, 59-71.
- Bergmann, C. (1847) Ueber die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttinger Studien*, **3**, 595–708.
- Blackburn T.M., Gaston K.J. & Loder, N. (1999) Geographic gradients in body size: a clarification of Bergmann's rule. *Diversity and Distributions*, **5**, 165–174.
- Cushman, J.H, Lawton, J.H. & Manly, B.F.J. (1993) Latitudinal patterns in Europe ant assemblages: variation in species richness and body size. *Oecologia*, **95**, 30-37.
- Dunn, R.R., Guénard, B., Weiser, M.D. & Sanders, N.J. (2010) Geographic gradients. Ant ecology (ed. by L. Lach, C.L. Parr & K.L. Abbott), pp. 38–58. Oxford University Press, Oxford, U.K.
- Geraghty, M.J., Dunn, R.R. & Sanders, N.J. (2007) Body size, colony size, and range size in ants (Hymenoptera: Formicidae): are patterns along elevational and latitudinal gradients consistent with Bergmann's rule? *Myrmecological News*, **10**, 51-58.
- Glaser, F. (2006) Biogeography, diversity and vertical distribution of ants (Hymenoptera: Formicidae) in Vorarlberg, Austria. *Myrmecological News*, **8**, 263–270.
- Gratiashvili, N., Bernadou, A., Suefuji, M., Seifert, B. & Heinze, J. (2014) The Caucaso-Anatolian slave making ant *Myrmoxenus tamarae* (Arnoldi, 1968) and its more widely distributed congener *Myrmoxenus ravouxi* (André, 1896): a multidisciplinary comparison (Hymenoptera: Formicidae). *Organisms, Diversity and Evolution*, **14**, 259–267.
- Hawkins, B.A. (1995) Latitudinal body-size gradients for the bees of the eastern United States. *Ecological Entomology*, **20**, 195-198.

- Heinze, J. (1999) Bergmann and the ants: investigations on the correlation between body size and latitude in *Leptothorax acervorum*. *Zoology – Analysis of Complex Systems*, **102** S II, 28.
- Heinze, J., Foitzik, S., Fischer, B., Wanke, T. & Kipyatkov, V.E. (2003) The significance of latitudinal variation in body size in a holarctic ant, *Leptothorax acervorum*. *Ecography*, **26**, 349-355.
- Kaspari, M. & Vargo, E.L. (1995) Colony size as a buffer against seasonality: Bergmann's rule in social insects. *American Naturalist*, **145**, 610-632.
- Nakagawa, S. & Schielzeth, H. (2013) A general and simple method for obtaining R^2 from Generalized Linear Mixed-effects Models. *Methods in Ecology and Evolution*, **4**, 133–142.
- Porter, E.E. & Hawkins, A. (2001) Latitudinal gradients in colony size for social insects: termites and ants show different patterns. *American Naturalist*, **157**, 97–106.
- R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
- Seifert, B. (2007) Die Ameisen Mittel- und Nordeuropas. Lutra, Klitten.
- Shelomi, M. (2012) Where are we now? Bergmann's rule sensu lato in insects. *American Naturalist*, **180**, 511–519.
- Zuur, A., Ieno, E.N., Walker, N., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer, New York.

Figure captions:

Fig. 1

Relationship between maximum cephalic width and altitude for workers of the ant *Leptothorax acervorum*. 318 workers (six individuals per colony) from 53 nests were measured. The line gives the relationship predicted by a linear mixed model ($t = 3.350$, $P = 0.001$). The grey area indicates the 95% confidence interval of the fitted linear function.

Fig. 2

Relationship between colony size (number of workers per colony) and altitude for the ant *Leptothorax acervorum* (n=51 nests; GLMM: $t = -1.589$, $P = 0.118$).

Fig. 1

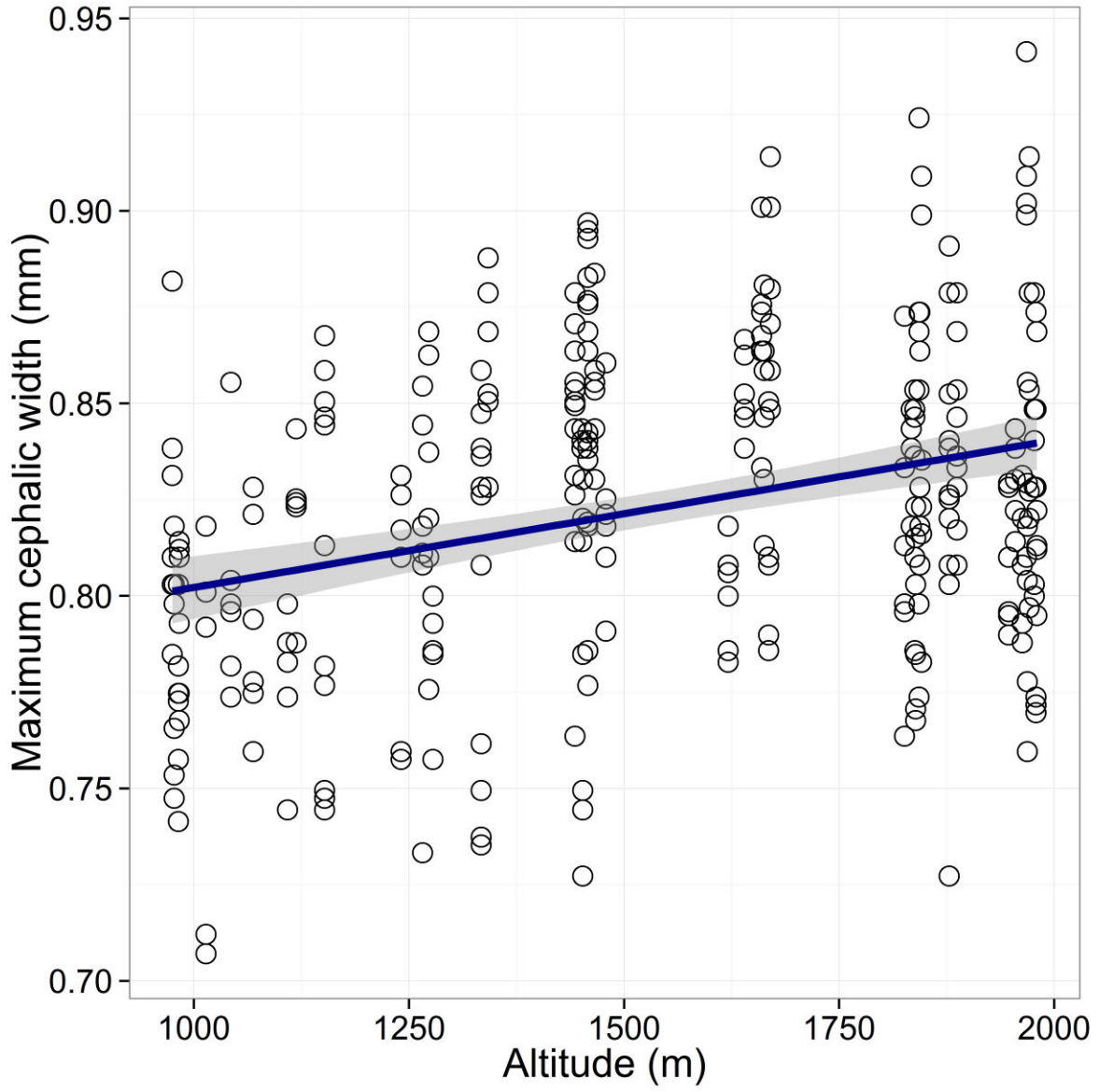
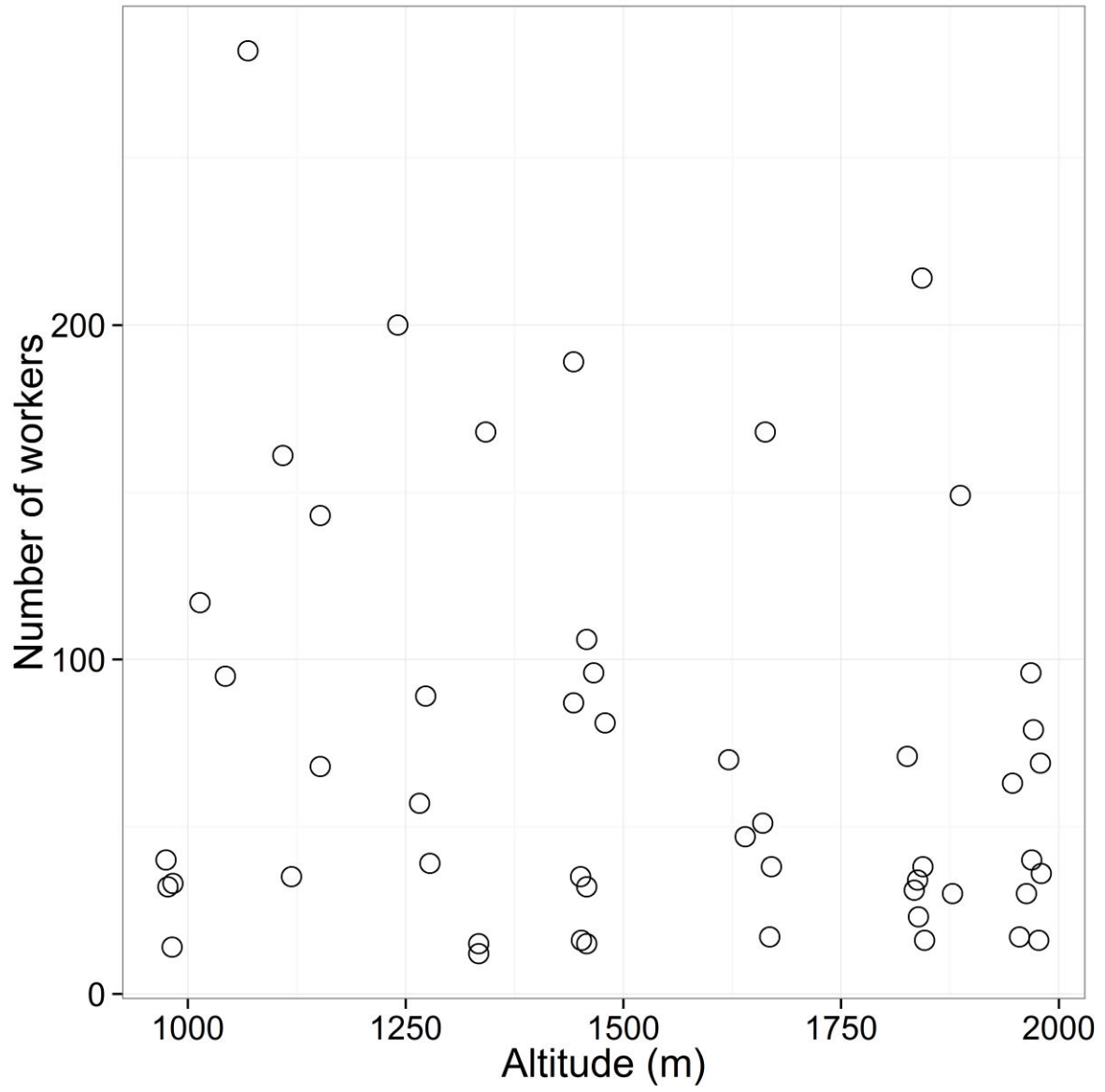


Fig. 2



CHECKLIST OF THE ANTS (*FORMICIDAE* LATREILLE, 1809) OF GEORGIA

N. Gratiashvili¹, Sh. Barjadze²

**1, 2- Institute of Zoology, e-mail: nanagratiashvili@yahoo.com,
e-mail: shalva1980@yahoo.com**

Abstract. The investigation of the ants began from the end of 80s of 19th century in Georgia. In the investigation of Georgian ants have contributed Georgian and foreign scientists as well. According to K. Arnol'di, G. Dlussky, A. Forel, T. Jijilashvili, V. Karavaiev, N. Nasonov, M. Ruzsky, B. Seifert, A. Radchenko and G. Arakelian nowadays in Georgia are recorded 142 species of ants, which are united in 4 subfamilies and in 35 genera.

Key words: ants, species, Georgia

Family *Formicidae* Latreille, 1809
Subfamily *Dolichoderinae* Forel, 1878
Genus *Bothriomyrmex* Emery, 1869

1. *B. communistus* Santschi, 1919

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Rustavi (Jijilashvili, 1968); **S.G.:** Akhaldaba, Akhaltsikhe, Borjomi, Chobiskhevi, surroundings of Atskuri, surroundings of Dmanisi (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

2. *B. meridionalis* (Roger, 1863)

Distribution: **E.G.:** Kvishkheti, Mtskheta, Tbilisi (Avchala) (Ruzsky, 1905).

Genus *Dolichoderus* Lund, 1831

3. *D. quadripunctatus* (Linnaeus, 1771)

Syn.: *Dolichoderus unicolor* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Grakali, grove along the riv. Iori, Kavtiskhevi, Lagodekhi Reserve, Mt. Kochalo, Rustavi, Sartichala, surroundings of Poladauri, Tbilisi (Mushtaidi Garden, surroundings of Tbilisi), Tsodreti (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1967b, 1966, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Batumi, Kutaisi, Senaki (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Adigeni, Akhaldaba, Akhaltsikhe, Aspindza, Baniskhevi, Borjomi, Daba, surroundings of Ota (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Liometopum* Mayr, 1861

4. *L. microcephalum* (Panzer, 1798)

Distribution: **E.G.:** surroundings of Tbilisi (Nasonov, 1889; Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b); **W.G.:** Baghdati (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Zekari Pass (Ruzsky, 1905).

Genus *Tapinoma* Foerster, 1850

5. *T. erraticum* (Latreille, 1798)

Syn.: *Tapinoma nigerimum* Nyl., *Tapinoma tauridis* Em., *Tapinoma tauridis transcaucasicus* Karaw.

Distribution: **E.G.:** Ertatsminda, Grakali, Igoeti, Karsani, Kavtiskhevi, Kianeti, Kojori, Kvareli, Manglisi, Mt. Iaghluja, Patara lilo, Sadakhlo, Sartichala, Satskhenhesi, Shiraki (Kasristskali, Ole gorge, Pantishara gorge, Zilcha), Shulaveri, surroundings of Bolnisi, surroundings of Digomi, surroundings of Gori, surroundings of Jandara Lake, surroundings of Kumisi Lake, surroundings of Mtskheta, surroundings of Taribana, surroundings of Tetrtskaro-Gokhnari, Tbilisi (Dendropark, Saburtalo, Shav nabada, surroundings of Turtle Lake, Tbilisi Sea, Tbilisi Botanical Garden, Vake Park, Vaziani), Tkviavi, Tsodreti, Udabno, Vashlovani Reserve (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, 1964b, 1966, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Anaklia, Batumi, Bichvinta Reserve, Chaladidi, Kodori gorge, Kutaisi, Ochamchire, Saghoria, Sataplia, surroundings of Alakhadze, surroundings of Lake Inkiti (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani,

Akhaldaba, Akhaltsikhe, Bakuriani, Borjomi, Daba, Dviri, Gomareti, Gujareti, Likani, Rustavi, surroundings of Adigeni, surroundings of Aspindza, surroundings of Sapara, surroundings of Trialeti, Tsaghveri, Tsalka, Vardzia (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

6. *T. karavaievi* Emery, 1925

Distribution: **E.G.:** Dedoplistskaro, Eldari Lowland, Gori, Igoeti, Kianeti, Lekistskali, Mt. Kvernaki, Patara Lilo, Saguramo, Samgori, Sartichala, surroundings of Bolnisi, surroundings of Digomi, surroundings of Iraga, surroundings of Lake Kumisi, Taribana, Tbilisi (Dendropark, Shavnabada, surroundings of Tbilisi Sea, surroundings of Turtle Lake, Tbilisi Botanical Garden, Varketili), Tetrtskaro, Zedazeni (Jijilashvili, 1964 a, b, 1966, 1968, 1973, 1974a); **S.G.:** Adigeni, Aspindza, Bakuriani, Dmanisi, Goderdzi Pass, Gujareti, surroundings of Abastumani, surroundings of Atskuri, surroundings of Kariani, surroundings of Khertvisi, Vardzia (Jijilashvili, 1974a).

Subfamily *Formicinae* Latreille, 1809

Genus *Camponotus* Mayr, 1861

Subgenus *Camponotus* Mayr, 1861

7. *C. (Camponotus) herculeanus* (L., 1758)

Distribution: **E.G.:** Shiraki, Tbilisi (Jijilashvili, 1964b, 1966); **S.G.:** Abastumani, Aspindza, Borjomi, Goderdzi Pass, Kokhtagora, Tskhratskaro, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974a).

8. *C. (Camponotus) vagus* (Scopoli, 1763)

Distribution: **E.G.:** Kvishkheti, Surroundings of Tbilisi (Nasonov, 1889; Ruzsky, 1902; Jijilashvili, 1964b); **W.G.:** Abasha, Akhali Atoni, Batumi, Bichvinta, Kintrishi, Kobuleti, Kutaisi, Oni, Poti, Sokhumi (Ruzsky, 1905, 1907; Karavaiev, 1926).

Subgenus *Colobopsis* Mayr, 1861

9. *C. (Colobopsis) truncatus* (Spinola, 1808)

Distribution: **E.G.:** Kasristskali, Lagodekhi Reserve, Tbilisi (Mushtaidi Garden, Surroundings of Tbilisi) (Ruzsky, 1902; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1967b); **W.G.:** Akhali Atoni, Bichvinta (Ruzsky, 1905, 1907; Karavaiev, 1926); **S.G.:** Borjomi Park (Jijilashvili, 1967a).

Subgenus *Myrmentoma* Forel, 1912

10. *C. (Myrmentoma) fallax* (Nylander, 1856)

Syn.: *Camponotus ruzskyi* Em.

Distribution: **E.G.:** Kavtiskhevi, Nichbisi, Sartichala, Shiraki, Tbilisi (Mushtaidi Garden) (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968); **W.G.:** Anaklia, Grigoleti, Kutaisi, Menji, Nakalakevi, Ochamchire, Sakara, Zugdidi Botanical Garden (Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Tsaghveri (Jijilashvili, 1967a).

11. *C. (Myrmentoma) lateralis* (Olivier, 1792)

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Mtskheta, Vashlovani Reserve (Ruzsky, 1902, 1905; Karavaiev, 1926, Jijilashvili, 1964b, 1966, 1974a); **W.G.:** Akhali Atoni, Bichvinta, Kutaisi, Menji, Saghoria (Ruzsky, 1905, 1907; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b).

12. *C. (Myrmentoma) piceus* (Leach, 1825)

Syn.: *Camponotus atricolor* Nyl., *Camponotus merula* Los.

Distribution: **E.G.:** Dedoplistskaro, Grakali, Karsani, Kianeti, Kitsnisi, Kvishkheti, Lochini gorge, Manglisi, Mtskheta, Pantishara, Rustavi, Sakavre, Samgori, Tbilisi (Lisi Lake, Mtatsminda Park, Surroundings of Tbilisi Sea, Tbilisi Botanical Garden, Tbilisi Dendropark), Tkviavi (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968, 1974a); **W.G.:** Batumi, Bichvinta Reserve, Oni, Sokhumi Botanical Garden (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Adigeni, Akhaltsikhe, Aspindza, Atskuri, Borjomi, Khertvisi, Likani, Ota, Vardzia (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974a).

Subgenus *Tanaemyrmex* Ashmead, 1905

13. *C. (Tanaemyrmex) aethiops* (Latreille, 1798)

Syn.: *Camponotus glaber* Em., *Camponotus sylvaticoethiops* For., *Camponotus sylvaticoides* Dalla Tor.

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Dighomi, Eldari Lowland, Ertatsminda, Gardabani, Igoeti, Iraga, Karsani, Kaspi, Kavtiskhevi, Khachini, Kianeti, Kojori, Lagodekhi Reserve, Lekistskali, Mt. Iaghluja, Mtskheta, Pantishara gorge, Patara Lilo, Patara Shiraki, Shavnabada, Sadakhlo, Sagarejo, Sakavre, Samgori field, Samshvilde, Sartichala, Satskhenhesi, Shiraki (Kasristskali), Skra, Taribana, Tbilisi (Avchala, Lisi Lake, Mtatsminda Park, Mushtaidi Garden, Surroundings of Tbilisi sea, Tbilisi Botanical Garden), Tetrtskaro, Tskneti, Vashlovani Reserve, Vaziani, Zedazeni (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Asechka, Batumi, Bjinevi, Chakvi, Chiatura, Gumbra, Jvari, Kodori gorge (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Akhaltsikhe, Aspindza, Atskuri, Borjomi, Daba, Dmanisi, Goderdzi Pass, Gomareti, Likani, Machartskali, Mzetamze, Ota, Patara Tsemi, Tsaghveri, Vardzia, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

14. *C. (Tanaemyrmex) sylvaticus* (Olivier, 1792)

Distribution: **W.G.:** Chakvi (Ruzsky, 1905).

15. *C. (Tanaemyrmex) turkestanicus* Emery, 1887

Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland (Pantishara gorge) (Jijilashvili, 1964a, b, 1966).

Genus *Cataglyphis* Foerster, 1850

16. *C. aenescens* (Nylander, 1849)

Syn.: *Cataglyphis (Monocombus) aenescens georgica* Arn., *Myrmecocystus cursor tancrei* (For.) var. *caspius* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Canyon Ole, Dedoplistskaro, Eldari Lowland, Gardabani, Gori, Igoeti, Karsani, Kasristskali, Kavtiskhevi, Kitsnisi, Lekistskali, Magharo, Mejvriskhevi, Mtskheta, Patara Lilo, Patara Shiraki, Samgori, Sartichala, Shavimta, Skra, Satskhenhesi, Surroundings of Tbilisi Sea, Taribana, Udabno, Vashlovani Reserve, Vaziani (Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968; Arnol'di, 1968); **S.G.:** Akhalkalaki, Aspindza, Rustavi, Vardzia (Jijilashvili, 1974a).

17. *C. nigripes* Arnol'di, 1964

Syn.: *Myrmecocystus viaticus setipes* var. *turcomanica* Em.

Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland, Gardabani, Kaltani gorge, Karsani, Lekistskali, Pantishara gorge, Shulaveri, Taribana, Tbilisi (Avchala, Saburtalo, Surroundings of Turtle Lake), Udabno, Vashlovani Reserve (Ruzsky, 1905; Arnol'di, 1964; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968).

18. *C. nodus* (Brullé, 1833)

Syn.: *Cataglyphis nodus caucasicola* Arn.

Distribution: **E.G.:** Armazi gorge, Bolnisi, Canyon Ole, Dedoplisthkaro, Dighomi, Eldari Lowland, Gardabani, Kaltani gorge, Khachini, Kumisi, Lekistskali, Mt. Ialghuja, Pantishara gorge, Sadakhlo, Saguramo, Surroundings of Lisi Lake, Surroundings of Shulaveri Lake, Taribana, Tbilisi Botanical Garden, Vashlovani Reserve (Arnol'di, 1964; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968, 1974a).

19. *C. viaticus* (Fabricius, 1787)

Syn.: *Myrmecocystus viaticus* (Fabr.) *desertorum* For.

Distribution: **E.G.:** Mtskheta, Surroundings of Tbilisi (Ruzsky, 1905).

Genus *Formica* L., 1758

20. *F. aquilonia* Yarrow, 1951

Distribution: **S.G.:** Akhaltsikhe, Ota, Sapara, Tadzrisi (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

21. *F. candida* Smith, 1878

Syn.: *Formica transcaucasica* Nason.

Distribution: **E.G.:** Kazbegi, Tbilisi (Nasonov, 1889; Ruzsky, 1905).

22. *F. cinerea* Mayr, 1853

Syn.: *Formica cinerea armenica* Ruzs., *Formica imitans* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Dariali gorge, Dedoplistskaro, Ertatsminda, Gudamakari gorge, Iori gorge, Kakheti Region-without exact locality, Karsani, Kavtiskhevi, Kazreti, Khachini, Khrami gorge,

Lagodekhi Reserve, Larsi, Luri, Manglisi, Mukhrani, Pasanauri, Pitareti, Poladauri, Rveli, Sartichala, Shulaveri, Tbilisi (Avchala, Mushtaidi Garden, Surroundings of the Tbilisi Sea), Tetrtskaro, Tsereti (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Akhali Atoni, Anaklia, Anaria, Baghdati, Bank of Inkiti Lake, Batumi, Buknara, Bzipi gorge, Chakvi, Chanistskali gorge, Colkhic Reserve, Darcheli, Gagra, Ghalidzga gorge, Grigoreti, Gulripshi, Ingiri, Kobuleti, Kutaisi, Mt. Urta, Nakalakevi, Natanebi, Ochamchire, Pichora gorge, Poti, Supsa gorge, Surebi, Tsaishi, Tsalenjikha (Nasonov, 1889; Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Aspindza, Bakuriani, Borjomi Park, Daba, Gomareti, Gorelovka, Gujareti, Gujaretistskali gorge, Khanchali Lake, Khertvisi, Machartskali, Tsaghveri, Tsalka, Vardzia (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

23. *F. cinereofusca* Karavaiev, 1929

Distribution: **W.G.:** Svaneti Region, without exact locality (Karavaiev, 1929).

24. *F. clara* Forel, 1886

Distribution: **E.G.:** surroundings of Tbilisi (Ruzsky, 1905).

25. *F. cunicularia* Latreille, 1798

Syn.: *Formica (Serviformica) cunicularia glauca* Ruzs., *Formica (Serviformica) cunicularia fuscoides* Dluss., *Formica rufibarbis clara* var. *caucasica* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Adzvisi, Bolnisi, Canyon Ole, Dedoplistskaro, Dighomi, Ertatsminda, Gardabani, Grakali, Karsani, Kavtiskhevi, Kazreti, Khachini, Kianeti, Kiketi, Kitsnisi, Kojori, Lagodekhi Reserve, Lochini gorge, Loshkineti, Luri, Magharo, Mejvriskhevi, Mukhrani, Sadakhlo, Saguramo, Sakavre, Samgori, Shavimta, Shulaveri, Skra, Taribana, Tbilisi (Mtatsminda Park, Surroundings of Tbilisi Sea, Surroundings of Turtle Lake, Tbilisi Botanical Garden, Tbilisi Dendropark), Tetrtskaro, Tskneti, Tsodoreti, Udzo, Varketili, Vaziani, Zedazeni (Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1967b, 1968); **W.G.:** Ajameti, Alakhadzi, Batumi Botanical Garden, Bichvinta Reserve, Bjinevi, Chakvistavi, Chalaburi, Chaladidi, Enguri gorge, Eshera, Gagra, Green Cape, Gumbra, Ingiri, Issue of riv. Rioni and Tekhuri, Khobi, Kobuleti, Kodori gorge, Menji, Nakalakevi, Natanebi, Ochamchire, Senaki, Surroundings of Inkiti Lake, Tsaishi, Tsalenjikha, Tskaltubo, Zestaponi, Zorveti, Zugdidi Botanical Garden (Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Akhalkalaki, Akhaltsikhe, Aspindza, Atskuri, Avralo, Bakuriani Botanical Garden, Baniskhevi, Bogdanovka, Borjomi (Borjomi Park), Chitakhevhesi, Daba, Dmanisi, Dviri, Goderdzi Pass, Gomareti, Gujareti, Kariani, Khanchali Lake, Likani, Mzetamze, Patara Tsemi, Saghamo Lake, Sakochao, Tadzrisi, Tandzia, Trialeti, Tsaghveri, Tsalka, Tsikhisjvari (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

26. *F. fennica* Seifert, 2000

Distribution: **E.G.:** Shenako (Seifert, 2000).

27. *F. foreli* Bondroit, 1918

Syn.: *Formica (Coptoformica) tamarae* Dluss.

Distribution: **E.G.:** Omalo (Dlussky, 1964); **S.G.:** Bakuriani, Gorelovka, Gujareti, Tsalka (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

28. *F. fusca* L., 1758

Distribution: **E.G.:** Ertatsminda, Kavtiskhevi, Khrami gorge, Lagodekhi Reserve, Saguramo, Tetrtskaro, Tkemlovani, Zedazeni (Jijilashvili, 1964a, b, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Chakvistavi, Kobuleti (Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Bakuriani, Goderdzi Pass, Gorelovka, Gujareti, Kokhtagora, Tsalka, Tskhratskaro, Zekari Pass (Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

29. *F. georgica* Seifert, 2002

Distribution: **E.G.:** Barisakho, Kazbegi, Mtskheta, Omalo, Pasanauri, Shatili, Shenako (Seifert, 2002).

30. *F. lemani* Bondroit, 1917

Distribution: **S.G.:** Bogdanovka, Khanchali Lake, Paravani Lake, Tabatskuri Lake, Tskhratskaro Pass (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

31. *F. picea* Nylander, 1846
Distribution: **S.G.:** Bakuriani, Bogdanovka, Khanchali Lake, Tabatskuri Lake, Tikmatashi Pass (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

32. *F. pratensis* Retzius, 1783
Distribution: **E.G.:** Manglisi (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Abastumani (Ruzsky, 1905).

33. *F. rufa* L., 1761
Distribution: **S.G.:** Abastumani (Ruzsky, 1905).

34. *F. rufibarbis* Fabricius, 1793
Distribution: **E.G.:** Dedoplistskaro, Dighomi, Gardabani, Kazbegi, Manglisi, Mtskheta, Pasaauri, Rustavi, Sagarejo, Sakavre, Sartichala, Tbilisi (Ortachala, Surroundings of Tbilisi Sea, Tbilisi Botanical Garden), Tsereti, Udabno, Varketili (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968, 1974a); **W.G.:** Ajameti, Bank of Inkiti Lake, Batumi, Bichvinta Reserve, Bjinevi, Chakvi, Kutaisi, Oni, Ozurgeti, Poti (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Adigeni, Arjevanidze forest, Aspindza, Bakuriani, Baniskhevi, Bogdanovka, Borjomi Park, Daba, Gujarjeti, Kimotesubani, Ota, Tadzrisi, Trialeti, Tsaghveri, Tsalka (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

35. *F. sanguinea* Latreille, 1798
Syn.: *Formica clarior* Ruzs.
Distribution: **E.G.:** Dighomi, Ertatsminda, Igoeti, Iraga, Karsani, Kavtiskhevi, Kiketi, Kojori, Kvishkheti, Lagodekhi Reserve, Manglisi, Rustavi, Saguramo, Sakavre, Samshvilde, Surroundings of Gori, Tbilisi (Surroundings of Turtle Lake), Tetrtskaro, Tskneti, Velebi (Nasonov, 1884; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Akhali Atoni, Bichvinta, Eshera, Sokhumi (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Adigeni, Akhalkalaki, Akhaltsikhe, Aspindza, Bakuriani, Borjomi, Daba, Mzetamze, Ota, Sapara, Tadzrisi, Tba, Trialeti, Tsaghveri, Tsalka, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

36. *F. subpilosa* Ruzsky, 1902
Distribution: **E.G.:** Bank of Jandara Lake, Dighomi, Gardabani, Kavtiskhevi, Kiketi, Lochini gorge, Mtskheta, Rustavi, Taribana, Tbilisi (Avchala, Samgori, Surroundings of Tbilisi Sea) (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968).

Genus *Plagiolepis* Mayr, 1861

37. *P. pallescens* Forel, 1889
Distribution: **E.G.:** surroundings of Tbilisi (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Borjomi (Ruzsky, 1905).

38. *P. pygmaea* (Latreille, 1798)
Distribution: **E.G.:** Manglisi, Mtskheta, Tbilisi (Avchala, Mushtaidi Garden, surroundings of Lisi Lake; Tbilisi Botanical Garden) (Ruzsky, 1905); **W.G.:** Batumi, Oni, Tsesi (Ruzsky, 1905).

Genus *Polyergus* Latreille, 1804

39. *P. rufescens* (Latreille, 1798)
Distribution: **E.G.:** Manglisi (Ruzsky, 1905); **W.G.:** Bjinevi (Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Borjomi, Daba, Tadzrisi, Vardzia (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Proformica* Ruzsky, 1902

40. *P. caucasea* (Santschi, 1925)
Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Karavaiev, 1926).

41. *P. kobachidzei* Arnol'di, 1968
Distribution: **E.G.:** Zemo Omalo (Arnol'di, 1968).

42. *P. nasuta* (Nylander, 1856)
Distribution: **E.G.:** Canyon Ole, Eldari Lowland, Gori, Karsani, Kavtiskhevi, Kobi, Lekistskali, Mt. Ialghuja, Mtskheta, Sartichala, Shulaveri, Surroundings of Gori, Surroundings of Gremi, Taribana,

Tbilisi (Mtatsminda, Mushtaidi Garden, Surroundings of Tbilisi Sea, Tbilisi Botanical Garden, Turtle Lake), Vashlovani Reserve (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968, 1974a); **W.G.:** Batumi, Chakvi (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Abastumani, Akhaltsikhe, Aspindza, Borjomi, Daba, Dviri, Rustavi, Tsaghveri, Vardzia (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

43. *P. pilosiscapa* Dlussky, 1969

Distribution: **W.G.:** Surroundings of Skurhesi, Tsalenjikha (Dlussky, 1969; Jijilashvili, 1974b).

Genus *Lasius* Fabricius, 1804

Subgenus *Cautolasius* Wilson, 1955

44. *L. (Cautolasius) flavus* (Fabricius, 1782)

Syn.: *Lasius (Cautolasius) flavus* (F.) var. *fuscoides* Ruzs., *Lasius (Cautolasius) flavus* (F.) var. *odoratus* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Bukhurtkhevi-*tskali* gorge, Bursachili, Dedoplistskaro, Didi Lilo, Dighomi, Gokhnari, Iraga, Kobi, Kojori, Lagodekhi Reserve, Larsi, Lekistskali, Lilo, Loshkineti, Manglisi, Mleta, Pantishara, Pasanauri, Sartichala, Satskhenhesi, Shiraki, Tbilisi (Surroundings of Tbilisi Sea, Tbilisi Dendropark, Vaziani), Tetrtskaro, Tkemlovani, Tskneti, Udabno (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Kutaisi, Oni, Sokhumi, Surroundings of Skurhesi, Tsalenjikha (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Atskuri, Avralo, Bakuriani, Bogdanovka, Borjomi, Goderdzi Pass, Gorelovka, Great and Minor Khanchali Lakes, Kariani, Paravani Lake, Tikmatashi Pass, Trialeti, Tsalka, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, Jijilashvili, 1974a).

45. *L. (Cautolasius) myops* Forel, 1894

Distribution: **S.G.:** Zekari Pass (Ruzsky, 1905).

Subgenus *Chthonolasius* Ruzsky, 1912

46. *L. (Chthonolasius) bicornis* (Foerster, 1850)

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Seifert, 1988); **W.G.:** Ritsa Lake (Seifert, 1988); **S.G.:** Adigeni, Avralo, Baniskhevi, Gujaretistskali, Tsaghveri, Tsalka (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

47. *L. (Chthonolasius) citrinus* Emery, 1922

Syn.: *Lasius (Chthonolasius) affinis* Schenck.

Distribution: **E.G.:** Kazbegi, Kvishkheti (Ruzsky, 1905; Seifert, 1988, 1990) **S.G.:** Borjomi, Kimotesubani (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a).

48. *L. (Chthonolasius) distinguendus* (Emery, 1916)

Distribution: **E.G.:** Kavtiskhevi (Jijilashvili, 1964a, b).

49. *L. (Chthonolasius) mixtus* (Nylander, 1846)

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b).

50. *L. (Chthonolasius) rabaudi* (Bondroit, 1917)

Distribution: **S.G.:** Bogdanovka, Khanchali Lake (Jijilashvili, 1974a).

51. *L. (Chthonolasius) umbratus* (Nylander, 1846)

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Mushtaidi Garden) (Ruzsky, 1902; Jijilashvili, 1964b); **S.G.:** Bogdanovka, Borjomi, Daba, Khanchali Lake (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Subgenus *Dendrolasius* Ruzsky, 1912

52. *L. (Dendrolasius) fuliginosus* (Latreille, 1798)

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Poladauri (Jijilashvili, 1974a) **S.G.:** Borjomi (Borjomi Park, Borjomi Plateau), Tsaghveri (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Subgenus *Lasius* Fabricius, 1804

53. *L. (Lasius) alienus* (Foerster, 1850)

Distribution: **E.G.:** Bank of Jandara Lake, Bolnisi, Bursachili, Gardabani, Grakali, Gudauri, Gveleti, Igoeti, Iraga, Kasristskali, Kavtiskhevi, Kazbegi, Kazreti, Khrami gorge, Kianeti, Kitsnisi, Kojori, Kvishkheti, Lagodekhi Reserve, Larsi, Lekistskali gorge, Luri, Manglisi, Mleta, Mtskheta, Nichbisi, Pantishara, Pasanauri, Poladauri, Saguramo, Sakavre, Samshvilde, Satskhenhesi, Shavimta, Shulaveri, Sighnaghi, Taribana, Tbilisi (Mushtaidi Garden, Tbilisi Botanical Garden), Tetrtskaro, Tkemlovani, Tkviavi, Udabno, Zedazeni (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Abasha, Ajshesi, Akhali Atoni, Anaklia, Anaria, Baghdati, Batumi Botanical Garden, Bichvinta Reserve, Bjineti, Chakvi, Chaladidi, Chakvistskali, Eshera, Grigoreti, Ingiri, Inkiti Lake, Kakhabeti, Khobi, Kobuleti, Kutaisi, Lidzava, Menji, Nakalakebi, Natanebi, Ochamchire, Oni, Poti, Senaki, Sokhumi, Sviri, Tsaishi, Tsalenjikha, Tsesi, Zestaponi, Zugdidi Botanical Garden (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhalkalaki, Akhaltsikhe, Aspindza, Avralo, Bakuriani, Bogdanovka, Borjomi, Dmanisi, Goderdzi Pass, Gogasheni, Kariani, Khanchali Lake, Ota, Paravani Lake, Sapara, Tabatskuri, Trialeti, Tsalka, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

54. *L. (Lasius) brunneus* (Latreille, 1798)

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Gardabani, Kianeti, Kiketi, Manglisi, Pasanauri (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1968, 1974a); **W.G.:** Akhali Atoni, Baghdati, Bank of the riv. Rioni, Kutaisi, without exact locality, Poti, Sokhumi, Surebi, Tsaishi, Zugdidi (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Akhaldaba, Aspindza, Bakuriani, Baniskhevi, Borjomi Park, Kimotesubani, Mzetamze, Ota, Tsaghveri, Tsalka, Trialeti, Vardzia, Zekari Pass (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

55. *L. (Lasius) emarginatus* (Olivier, 1792)

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Ertatsminda, Igoeti, Kazreti, Khrami gorge, Kianeti, Lagodekhi Reserve, Manglisi, Poladauri, Saguramo, Samshvilde, Shavimta, Tetrtskaro, Tskneti, Tsodoreti, Zedazeni, Zilcha (Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Anaklia, Asechka, Skurhesi, Batumi Botanical Garden, Bichvinta Reserve, Chakvi, bank of the riv. Chaladidi, without exact locality, Chanistskali, Engurhesi, Ghalidzga gorge, Kakhabeti, Khobi, Kodori gorge, Lidzava, Natanebi, Ochamchire, Telmandarcheli, Tkvarcheli, Tsalenjikha, Zestaponi, Zugdidi (Zugdidi Botanical Garden) (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Adigeni, Akhaldaba, Akhaltsikhe, Aspindza, Baniskhevi, Bank of the riv. Borjomula without exact locality, Borjomi (Borjomi Park, Borjomi plateau), Daba, Gomareti, Kariani, Libani, Mzetamze, Patara Tsemi, Sapara, Tadzrisi, Tsaghveri, Vardzia (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

56. *L. (Lasius) lasioides* (Emery, 1869)

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Avchala) (Ruzsky, 1905); **W.G.:** Alakhadzi, Anaklia, Asechka, Bank of Inkiti Lake, Bichvinta Reserve, Chakvistskali, Darcheli, Green Cape, Kakhabeti, Khelvachauri, Khobi, Kutaisi, Lidzava, Menji, Ochamchire, Senaki, Tsalenjikha, Tskaltubo, Zestaponi, Zovreti, Zugdidi (Jijilashvili, 1974b).

57. *L. (Lasius) niger* (L., 1758)

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Grove across the riv. Iori, Manglisi, Sadakhlo, Sartichala, Tbilisi (Samgori field), Tetrtskaro (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968, 1974a); **W.G.:** Abasha, Alakhadzi, Anaklia, Bank of Inkiti Lake, Bichvinta Reserve, Chaladidi, Kakhabeti, Khobi, Khrami gorge, Kobuleti, Menji, Natanebi, Ochamchire, Poti, Senaki, Surroundings of Paliastomi Lake, Surroundings of Poti (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Bakuriani, Borjomi (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

58. *L. (Lasius) obscuratus* Stitz, 1930

Distribution: **E.G.:** upper valleys of the rivers Alazani, Andiskoysu, Aragvi, Argun, Assa, Terek (Seifert, 1992).

59. *L. (Lasius) turcicus* Santschi, 1921

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Seifert, 1992).

Genus *Lepisiota* Santschi, 1926

60. *L. frauenfeldi* (Mayr, 1855)

Syn.: *Lepisiota caucasica* (Santschi, 1917)

Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland, Gardabani, Kaltani gorge, Pantishara gorge, Vashlovani Reserve (Jijilashvili, 1964b, 1966); **W.G.:** Baghdati, Kutaisi (Ruzsky, 1905, 1907).

Genus *Paratrechina* Motschoulsky, 1863

61. *P. colchica* Pisarski, 1960

Distribution: **W.G.:** Achishesi, Batumi, Buknara, Ingiri, Kakhaberi, Kochi, Zugdidi Botanical Garden (Pisarski, 1960; Jijilashvili, 1974b).

Genus *Prenolepis* Mayr, 1861

62. *P. nitens* (Mayr, 1853)

Distribution: **W.G.:** Batumi Botanical Garden, Kutaisi (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b).

Subfamily *Myrmicinae* Lepeletier de Saint-Fargeau, 1835

Genus *Aphaenogaster* Mayr, 1853

63. *A. georgica* Arnol'di, 1968

Distribution: **E.G.:** Shiraki, without exact locality (Arnol'di, 1968); **S.G.:** Dmanisi (Arnol'di, 1968).

64. *A. gibbosa* (Latreille, 1798)

Syn.: *A. gibbosa muschtaidica* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Near to Davit Gareji monastery, surroundings of Kianeti, Tbilisi (Mushtaidi), Udabno (Ruzsky, 1905, Jijilashvili, 1964b, 1966, 1974a).

65. *A. kurdica* Ruzsky, 1905

Distribution: **E.G.:** Lagodekhi Reserve (Jijilashvili, 1967b); **S.G.:** Khrami gorge (Tsalka district), surroundings of Atskuri (Jijilashvili, 1974a).

66. *A. obsidiana* (Mayr, 1861)

Distribution: **E.G.:** Bursachili, Gudauri, Mleta, Pasanauri (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Goderdzi Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974a).

67. *A. semipolita* (Nylander, 1856)

Distribution: **W.G.:** Batumi (Ruzsky, 1905).

68. *A. splendida transcaucasica* Karavaiev, 1926

Distribution: **E.G.:** Shiraki (Canyon Ole) (Jijilashvili, 1964a, b, 1966).

69. *A. subterranea* (Latreille, 1798)

Distribution: **E.G.:** Algeti, Betania, Ertatsminda, Gardabani, Karsani, Kavtiskhevi, Kianeti, Kvishkheti, Lagodekhi Reserve, Saguramo, Shiraki-Shavimta, surroundings of Kazreti, surroundings of Tetrtskaro, Tbilisi, Zedazeni (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1967b, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Baghdati, Batumi (Batumi Botanical Garden, Green cape), Bichvinta Reserve, Chakvistavi, Colchic Reserve, Natanebi, Rioni, Sakara, Sataplia, Surebi, surroundings of Kutaisi, Sviri, Tsaishi, Tsalenjikha, Zugdidi Botanical Garden (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Akhaltsikhe, Borjomi Park, Dviri, Kimotesubani, Likani, surroundings of Chitakhevhesi, surroundings of Dmanisi, Tsaghveri, Tsalka, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

70. *A. testaceopilosa* (Lucas, 1849)

Distribution: **W.G.:** Baghdati, Kutaisi (Ruzsky, 1905).

Genus *Cardiocondyla* Emery, 1869

71. *C. elegans* Emery, 1869

Distribution: **E.G.:** Mtskheta, Pantishara, Taribana, Tbilisi (Avchala, Lisi Lake, Mushtaidi Garden, Tbilisi Botanical Garden) (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966); **W.G.:** Batumi, Ingiri, Poti, Telmani-Darcheli (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhaltsikhe, Borjomi (Ruzsky, 1905).

72. *C. sahlbegi* Forel, 1913

Distribution: **E.G.:** Diklo, Tbilisi (Seifert, 2003).

73. *C. stambuloffii* Forel, 1892

Syn.: *Cardiocondyla bogdanovi* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Taribana (Jijilashvili, 1964a, b, 1966).

Genus *Crematogaster* Lund, 1831

Subgenus *Crematogaster* Lund, 1831

74. *C. (Crematogaster) laestrygon* Emery, 1869

Distribution: **W.G.:** Chakvi (Ruzsky, 1905).

75. *C. (Crematogaster) schmidti* (Mayr, 1853)

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Gardabani, Karsani, Kavtischevi, Kianeti, Khachini, Lagodekhi Reserve, Mtskheta, Nichbisi, Sadakhlo, Saguramo, Signaghi, surroundings of Poladauri, Taribana, Tbilisi (Avchala, Tbilisi Botanical Garden), Udabno, Vashlovani Reserve (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1967b, 1966, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Akhali Atoni, Anaklia, Batumi (Batumi Botanical Garden, Green cape), Bichvinta, Chakvi, Chaladidi, Eshera, Ingiri, Kakhaveri, Khobi, Kobuleti, Kodori gorge, Kutaisi, Poti, Rioni, Sakara, Senaki, Zugdidi Botanical Garden (Ruzsky, 1905, 1907; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Borjomi, surroundings of Chitakhevhesi, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

76. *C. (Crematogaster) scutellaris* (Olivier, 1792)

Distribution: **W.G.:** Batumi (Ruzsky, 1905).

77. *C. (Crematogaster) subdentata* Mayr, 1877

Distribution: **E.G.:** Igoeti, Kavtiskhevi, surroundings of Gori, surroundings of Lisi Lake, Taribana (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968, 1973).

Subgenus *Orthocrema* Santschi, 1918

78. *C. (Orthocrema) bogojawlenskii* Ruzsky, 1905

Syn.: *Crematogaster (Crematogaster) kosti* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Lisi Lake) (Ruzsky, 1905).

79. *C. (Orthocrema) sordidula* (Nylander, 1849)

Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Poladauri, Ratevani, surroundings of Khachini, surroundings of Mtskheta, Tbilisi (Mtatsminda plateau, surroundings of Lisi Lake, surroundings of Turtle Lake) (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1968, 1974a).

Genus *Harpagoxenus* Forel, 1893

80. *H. sublaevis sublaevis caucasicus* Armol'di, 1968

Distribution: **S.G.:** Patara Them, Tsaghveri (Jijilashvili, 1967a; Armol'di, 1968).

Genus *Leptothorax* Mayr, 1855

81. *L. acervorum* (Fabricius, 1793)

Distribution: **W.G.:** Manglisi, riv. Rioni, without exact locality (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Adigeni, Baniskhevi, Kimotesubani, Mzetamze, Sakochao, surroundings of Bakuriani, Tsaghveri, Tskhratskaro Pass, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

82. *L. muscorum* (Nylander, 1846)

Distribution: **E.G.:** Kazbegi, Saguramo, Zedazeni (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1968); **S.G.:** Adigeni, Aspindza, surroundings of Ota, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974a)

83. *L. scamni* Ruzsky, 1905

Distribution: **S.G.:** Abastumani (Ruzsky, 1905).

Genus *Manica* Jurine, 1807

84. *M. rubida* (Latreille, 1802)

Distribution: **E.G.:** Manglisi, Tkemlovani (Jijilashvili, 1973, 1974a); **W.G.:** Chakvi, Mamisoni Pass (Ruzsky, 1905, 1907); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Bakuriani Botanical Garden, Bogdanovka, Borjomi Park, Ota, Patara Tsemi, Sapara, surroundings of Didi and Mtsire Khanchali Lakes, Tabatskuri, Tadzrisi, Tsaghveri, Zekari Pass (Ruzsky, 1902, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Messor* Forel, 1890

85. *M. caducus* (Victor, 1839)

Syn.: *Messor caducus caucasicola* Arn.

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Arnol'di, 1977).

86. *M. incorruptus* Kuznetsov-Ugamsky, 1929

Syn.: *Messor aegyptiacus* var. *incorruptus* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Kojori, Tbilisi (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Abastumani, Akhaltsikhe (Ruzsky, 1905).

87. *M. melancholicus* Arnol'di, 1977

Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland, Gardabani, Shiraki (Zilcha), surroundings of Dighomi, Tbilisi (Mtatsminda Park, Shavnabada, surroundings of Tbilisi, Tbilisi Botanical Garden) (Jijilashvili, 1964a, b, 1968); **S.G.:** Aspindza, surroundings of Atskuri (Jijilashvili, 1974a).

88. *M. meridionalis* (André, 1883)

Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland, Gardabani, Manglisi, Shiraki (Kasris-tskali), surroundings of Dighomi, Lekistskali, Mt. Iaghluja, Mtskheta, Pantishara, Patara Shiraki, Shulaveri, Rustavi, Taribana, Tbilisi (Mushtaidi Garden, surroundings of Lisi Lake, surroundings of Tbilisi Sea, Tbilisi Botanical Garden, Varketili), Vashlovani Reserve, Zilcha (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968).

89. *M. structor* (Latreille, 1798)

Syn.: *Messor rufitarsis* (s. l.), *Messor rufitarsis* F., *Messor clivorum* Ruzs., *Messor clivorum sevani* Arn.

Distribution: **E.G.:** Adzvisi, Bolnisi, Digomi, Eldari Lowland, Ertatsminda, Gamarjveba, Gardabani, Iraga, Gori, Ghoghasheni, Karsani, Kavtiskhevi, Kojori, Kvishkheti, Lagodekhi Reserve, Manglisi, Nichbisi, Saguramo, Sakavre, Shiraki (Kasristskali, Zilcha, Canyon Ole, Didi Shiraki), Signaghi, surroundings of Dighomi, surroundings of Iraga, surroundings of Lisi Lake, Shulaveri, surroundings of Satskhenhesi, Taribana, Tetrtskaro, Udabno, Pantishara, Vashlovani Reserve, Tbilisi (Avchala, Krtsanisi, Mtatsminda Park, Mt. Shavnabada, Tbilisi Botanical Garden, Samgori field, surroundings of Tbilisi Sea, surroundings of Turtle Lake), Tkemlovani, Zedazeni, Zilcha, (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964a, b, 1967b, 1966, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Akhali Atoni, Bank of riv. Choloburi without exact locality, Bichvinta reserve, Bjinevi, Chiatura, Rgani, Gumbra, Kodori gorge, Kvemo Sakara, surroundings of Zorveti, Tskaltubo, Vani, Zestaponi (Ruzsky 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Akhalkalaki, Akhaltsikhe, Borjomi Park, Chitakhevhesi, Chobiskhevi, Daba, Dviri, Gujareti, Machartskali, Patara Tsemi, Sapara, Tsaghveri, Vardzia, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Monomorium* Mayr, 1855

90. *M. dentigerum* (Roger, 1862)

Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland, Lekistskali, Surroundings of Mingechauri, Taribana (Jijilashvili, 1964a, b, 1966).

91. *M. pharaonis* (Linnaeus, 1758)
Distribution: **E.G.:** surroundings of Tbilisi (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b); **W.G.:** Batumi (Ruzsky, 1905, 1907).

92. *M. salomonis* (Linnaeus, 1758)
Distribution: **S.G.:** Akhaltsikhe (Ruzsky, 1902, 1905).

93. *M. subopacum* (Smith. F., 1858)
Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland, Lekistskali, Pantishara, surroundings of Mingechauri, Taribana, Vashlovani Reserve (Jijilashvili, 1964b, 1966).

Genus *Myrmecina* Curtis, 1829

94. *M. graminicola* (Latreille, 1802)
Distribution: **E.G.:** Bolnisi, Kazreti, Kojori, Lagodekhi Reserve, surroundings of Ratevani, surroundings of Tetrtskaro, Tbilisi (Mtatsminda Park), Tsodreti (Jijilashvili, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Asechka, Batumi (Green cape), Bichvinta Reserve (Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Dmanisi, Khrami gorge, Tandzia (Jijilashvili, 1974a).

Genus *Myrmica* Latreille, 1804

95. *M. caucasica* Arnol'di, 1934
Distribution: **E.G.:** Kavtiskhevi, Kojori, Mukhrani, Sartichala, surroundings of Iraga, Tbilisi Botanical Garden, Tetrtskaro (Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Ajameti, Alakhadze, Anaria, Kakhberi, banks of the riv. Ghalidzga without exact locality, banks of the riv. Supsa, without exact locality, Batumi (Batumi Botanical Garden, Green cape), Bichvinta, Chaladidi, Colchic Reserve, Eshera, Gagra, Gumbra, Ingiri, Khelvachauri, Kodori gorge, Kutaisi, Kvemo Sakara, Natanebi, Ochamchire, Poti, Rioni, riv. Rioni basin, Saghoria, surroundings of Grigoreti, Tsaishi, Zestafoni, Zugdidi Botanical Garden (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Akhaldaba, Arjevani forest, Bakuriani, Borjomi Park, Daba, Dmanisi, Gujareti, Kariani, Kimotesubani, Libani, Machartskali, Mzetamze, Patara Tadzrisi, Tba, Tikmatashi Pass, Tsaghveri, Tsemi (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

96. *M. caucasicola* Arnol'di, 1934
Distribution: **E.G.:** Kiketi, surroundings of Samshvilde, Tetrtskaro, (Jijilashvili, 1968, 1974a); **S.G.:** Adigeni, Aspindza, Borjomi, Ota, Patara Tsemi, Tadzrisi, Zekari Pass (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

97. *M. georgica* Seifert, 1987
Distribution: **E.G.:** Mtskheta, Tbilisi (Seifert, 1987).

98. *M. lacustris* Ruzsky, 1905
Syn.: *Myrmica scabrinodis lobicornis* Nyl. var. *deplanata* Em.
Distribution: **W.G.:** Batumi, Oni (Ruzsky, 1905).

99. *M. lobicornis* Nylander, 1846
Distribution: **E.G.:** Bursachili, Gudauri, Gveleti, Kazbegi, surroundings of Patara Lilo, Tbilisi; (Mushtaidi Garden) (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968); **W.G.:** riv. Rioni gorge without exact locality; **S.G.:** Abastumani, surroundings of Gomareti, Tikmatashi Pass, Tskhratskaro (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

100. *M. ravasinii* Finzi, 1923
Distribution: **S.G.:** Aspindza, Ota, Patara Tsemi, Tsaghveri, Zekari Pass (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

101. *M. rubra* (Linnaeus, 1758)
Syn.: *Myrmica laevinodis* Nyl.
Distribution: **E.G.:** Loshkineti, Pasaauri (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1973); **W.G.:** Eastern slope of Mt. Ajara, Oni, Ozurgeti (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Abastumani, Bogdanovka, Borjomi, surroundings of Saghamo Lake, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974a).

102. *M. ruginodis* Nylander, 1846

Distribution: **E.G.:** Algeti gorge, Bursachili, Gudamakari, Gudauri, Iraga, Kiketi, Kitsnisi, Kojori, Larsi, Loshkineti, Pasaauri, Saguramo, Sakavre, Shindisi, surroundings of Tetrtskaro, Tbilisi (Samgori field), Tkemlovani, Zedazeni (Ruzsky, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** surroundings of Kutaisi, surroundings of Tkvarcheli, Tsalenjikha, Source of the riv. Rioni (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1966, 1974b); **S.G.:** Abastumani (surroundings of Observatory), Bakuriani, Bogdanovka, Borjomi, Dmanisi, Goderdzi Pass, Gujareti, Kariani, surroundings of Khanchali Lake, surroundings of Saghamo Lake, surroundings of Trialeti, Tabatskuri, Tsalka, Zekari Pass (Ruzsky, 1902, 1905; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

103. *M. rugulosa* Nylander, 1849

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Kavtiskhevi surroundings of Jandara Lake (Jijilashvili, 1964b, 1968, 1973).

104. *M. scabrinodis* Nylander, 1846

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Gudamakari, Dedoplistskaro, Kobi, Kvishkheti, Larsi, Manglisi, Mleta, Pasaauri, Rustavi, surroundings of Digomi, surroundings of Iraga, surroundings of Sathkhenhesi, Tbilisi (Mushtaidi Garden), Tetrtskaro (Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968, 1974a); **W.G.:** Abasha, Katsoburi, riv. Rioni basin without exact locality (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Bakuriani, Borjomi Park, Dmanisi, Gujareti, Patara Tsemi, surroundings of Kariani, surroundings of Trialeti, Tsalka, Tskhratskaro, Vardzia, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

105. *M. schencki* Viereck, 1903

Distribution: **E.G.:** Ertatsminda, Omalo, Sakavre, Shatili (Jijilashvili, 1973; Seifert, 2003).

106. *M. sulcinodis* Nylander, 1846

Distribution: **E.G.:** Gudauri, Igoeti, Loshkineti, Pasaauri (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1973); **S.G.:** Gorelovka, North slope of Tskhratskaro, surroundings of Bogdanovka, surroundings of Khanchali Lake, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974a).

107. *M. turcica* Santschi, 1931

Distribution: **E.G.:** Mtskheta, Tbilisi (Seifert, 2002).

Genus *Myrmoxenus* Ruzsky, 1902

Subgenus *Myrmoxenus* Ruzsky, 1902

108. *M. (Myrmoxenus) tamarae* (Arnol'di, 1968)

Distribution: **S.G.:** Daba (Arnol'di, 1968).

Genus *Pheidole* Westwood, 1839

109. *P. pallidula* (Nylander, 1849)

Syn.: *Pheidole pallidula orientalis* Em.

Distribution: **E.G.:** Ateni gorge, Bolnisi, Dedoplistskaro, Dighomi, Grakali, Igoeti, Kavtiskhevi, Khashuri, Kojori, Mtskheta, Pantishara, Ratevani, Sartichala, Shavnabada, Shiraki (Kasristskali, Zilcha, Canyon Ole), Shulaveri, surroundings of Jandara Lake, surroundings of Khachini, surroundings of Magharo, surroundings of Mingechauri, surroundings of Satskhenhesi, Taribana, Tbilisi (Avchala, Mtatsminda park, Mushtaidi Garden, Tbilisi Botanical Garden, surroundings of Lisi Lake, surroundings of Tbilisi Sea, Varketili), Vashlovani Reserve (Nasonov, 1889; Ruzsky, 1902, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** surroundings of Batumi, surroundings of Kutaisi (Ruzsky, 1905, 1907); **S.G.:** Abastumani, Akhaltsikhe, Aspindza, Atskuri, Borjomi, Daba, Khertvisi, Likani, surroundings of Rustavi, Tsaghveri, Vardzia (Nasonov, 1889; Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Solenopsis* Westwood, 1840

110. *S. fugax* (Latreille, 1798)

Syn.: *Solenopsis fugax orientalis* Ruzs.; *Solenopsis orbula* Em. var. *latroides* Ruzs.

Distribution: **E.G.:** Dedoplistskaro, Dusheti, Ertatsminda, Igoeti, Kavtiskhevi, Kazreti, Lagodekhi Reserve, Manglisi, Pasaauri, Shiraki (Kasristskali, Shavimta), surroundings of Bolnisi, surroundings of Digomi, Tbilisi (Samgori, Tbilisi Botanical Garden, Mtatsminda Park, surroundings of Patara Lilo, surro

undings of Tbilisi Sea, Varketili), Udabno, Vashlovani Reserve (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1967b, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Anaria, Batumi, Bichvinta, Chakvi, Ingiri, Kutaisi (Ruzsky, 1905, 1907; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, along the bank of the riv. Borjomula, Aspindza, Atskuri, Chobiskhevi, Daba, Mzetamze, Sapara, surroundings of Dmanisi, Tadzrisi, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

111. *S. ilinei* Santschi, 1936

Syn.: *Solenopsis orbula oculata* Karaw.

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Karsani, Shiraki (Kasristskali, Pantishara), surroundings of Dighomi, Tbilisi (Mtatsminda plateau, Tbilisi Botanical Garden) (Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968).

Genus *Stenamamma* Westwood, 1839

112. *S. westwoodii* Westwood, 1839

Distribution: **E.G.:** Kojori, Saguramo, Zedazeni (Jijilashvili, 1968); **S.G.:** Bakuriani, Baniskhevi, Borjomi, Chitakhevhesi, Dmanisi, surroundings of Gomareti, Tsaghveri (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Strongylognathus* Mayr, 1853

113. *S. rehbinderi* Forel, 1904

Distribution: **W.G.:** Akhali Atoni, Batumi, Bjinevi (Forel, 1904, Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b).

114. *S. testaceus* (Schenck, 1852)

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Samgori) (Jijilashvili, 1964a, b, 1966); **S.G.:** Tsaghveri, Tsalka (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Temnothorax* Mayr, 1861

115. *T. affinis* (Mayr, 1855)

Syn.: *Leptothorax affinis* Mayr

Distribution: **E.G.:** Pasanauri, Tbilisi (Mushtaidi Garden) (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b); **W.G.:** Baghdadi, Kodori gorge, Kutaisi (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b).

116. *T. alpinus* (Ruzsky, 1902)

Distribution: **W.G.:** Mamisoni Pass (Ruzsky, 1905); **E.G.:** Gudauri (Ruzsky, 1905).

117. *T. brauneri* (Ruzsky, 1905)

Distribution: **W.G.:** Baghdadi, Surebi (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Zekari Pass (Ruzsky, 1905).

118. *T. corticalis* (Schenck, 1852)

Distribution: **S.G.:** Baniskhevi, Mzetamze, Tsaghveri (Jijilashvili, 1997a).

119. *T. exilis* (Emery, 1869)

Distribution: **E.G.:** Manglisi, Pasanauri (Ruzsky, 1905).

120. *T. korbi* (Emery, 1924)

Distribution: **E.G.:** Karsani, Kojori, Nichbisi, surroundings of Gokhnari, Tbilisi (Mtatsminda Park, Tbilisi Botanical Garden), Tetrtskaro (Jijilashvili, 1968, 1973, 1974a); **S.G.:** Tskhratskaro (Jijilashvili, 1974a).

121. *T. melnikovi* (Ruzsky, 1905)

Distribution: **S.G.:** Akhaltsikhe, Sapara (Jijilashvili, 1974a).

122. *T. nadigi* (Kutter, 1925)

Syn.: *Leptothorax caucasicus* Arn.

Distribution: **E.G.:** Kojori (Arnol'di, 1977).

123. *T. nigriceps* (Mayr, 1855)
Distribution: **E.G.:** Manglisi (Ruzsky, 1905).
124. *T. nigrilus* (Emery, 1878)
Distribution: **W.G.:** Batumi, Kutaisi, Oni (Ruzsky, 1905); **S.G.:** Zekari Pass (Ruzsky, 1905).
125. *T. nylanderi* (Foerster, 1850)
Distribution: **E.G.:** Algeti, Bolnisi, Ertatsminda, Kojori, Khrami gorge, Lagodekhi Reserve, Manglisi, surroundings of Khachini, surroundings of Kianeti, Tetrtskaro (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967b, 1973, 1974a); **S.G.:** Abastumani, Akhaldaba, Akhaltsikhe, Baniskhevi, Borjomi Park, Chitakhevhesi, Daba, Dviri, Kariani, Mzetamze, surroundings of Gomareti, surroundings of Patara Dmanisi, surroundings of Sapara, Tsaghveri, Tskhratskaro, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).
126. *T. parvulus* (Schenck, 1852)
Distribution: **E.G.:** Kavtiskhevi, Kiketi, Manglisi, Saguramo, Shulaveri, Tbilisi (Mtatsminda park), Tskneti, Tsodoreti, Zedazeni (Jijilashvili, 1964b, 1966, 1968).
127. *T. recedens* (Nylander, 1856)
Syn.: *Leptothorax (Temnothorax) rogeri* Em.
Distribution: **E.G.:** surroundings of Mtskheta (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b); **W.G.:** surroundings of Kutaisi (Ruzsky, 1905, 1907); **S.G.:** Borjomi (Ruzsky, 1905).
128. *T. satunini* (Ruzsky, 1902)
Distribution: **E.G.:** Gardabani, Rustavi (Jijilashvili, 1968).
129. *T. tamarae* (Radchenko, 1993)
Distribution: **S.G.:** Tsaghveri (Radchenko, 1993).
130. *T. tuberum* (Fabricius, 1775)
Distribution: **E.G.:** Kavtiskhevi, surroundings of Bolnisi, Tbilisi (Mtatsminda plateau, Tbilisi Botanical Garden) (Jijilashvili, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Akhali Atoni, Batumi (Ruzsky, 1905).
131. *T. unifasciatus* (Latreille, 1798)
Syn.: *Leptothorax tuberum unifasciatus* (Latr.) var. *anoplogynus* Em.
Distribution: **E.G.:** Kavtiskhevi, Kiketi, Lagodekhi Reserve, Manglisi, Poladauri, surroundings of Bolnisi, surroundings of Mtskheta, surroundings of Ratevani, surroundings of Tetrtskaro, Zedazeni (Ruzsky, 1905; Karavaev, 1926; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1967b, 1968, 1974a); **W.G.:** Alakhadze, Anaklia, Asechka, Baghdati, Bichvinta, Bjinevi, Chakvistavi, Gagra, Khobi, Kutaisi, Lidzava, Poti, riv. Tekhura and Rioni, without exact locality, Sakara, Senaki, surroundings of Achishesi, Tsaishi, Zugdidi Botanical Garden (Ruzsky, 1905, 1907; Karavaev, 1926; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Akhaldaba, Borjomi Park, Chitakhevhesi, Chobiskhevi, Daba, Kimotesubani, Tsaghveri, Zekari pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

Genus *Tetramorium* Mayr, 1855

132. *T. caespitum* (Linnaeus, 1758)
Distribution: **E.G.:** Eldari Lowland, Dedoplistskaro, Dighomi, Dusheti, Ertatsminda, Gardabani, Gori, Gudamakari, Igoeti, Iraga, Karsani, Kavtiskhevi, Kazbegi, Kazreti, Khrami gorge, Kobi, Kojori, Lagodekhi Reserve, Larsi, Loshkineti, Magharo, Manglisi, Mleta, Mtskheta, Pasaauri, Patara Lilo, Poladauri, riv. Iori gorge, Rustavi, Sadakhlo, Saguramo, Samshvilde, Sartichala, Satskhenhesi, Shiraki (Canyon Ole, Kasris-tskali, Zilcha), Shulaveri, Skra, slopes of Mt. Kvernaki, surroundings of Digomi, surroundings of Gori, surroundings of Kianeti, surroundings of Kumisi Lake, surroundings of Ratevani, surroundings of Tandzia, surroundings of Tetrtskaro, Taribana, Tbilisi (Avchala, Dendropark, Lisi lake, Mtatsminda park, Mushtaidi Garden, Samgori, Shavnabada, surroundings of Turtle Lake, surroundings of Tbilisi, surroundings of Tbilisi Sea, Tbilisi Botanical Garden, Varketili, Vaziani), Tiriponi field, Tkemlovani, Tkviavi, Udabno, Vashlovani Reserve, Zedazeni (Nasonov, 1889; Forel, 1904; Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1966, 1967b, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Ajameti, Akhali Atoni, Alakhadze, Anaklia, Anaria, Bank of the riv. Chanistskali, Bank of the riv. Pichora, Batumi, Bichvinta, Chakvi, Chaladidi, Darcheli, Eshera, Gagra, Gali, Grigoreti, Gumbra, Ingiri, Kakhaveri, Khelvachauri, Khobi, Kutaisi, Ochamchire, Poti, Sakara,

Sataplia, Surebi, surroundings of Achishesi, surroundings of Inkiti Lake, Sviri, Tsalenjikha, Zestafoni, Zugdidi Botanical Garden (Forel, 1904; Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Abastumani, Adigeni, Akhalkalaki, Aspindza, Atskuri, Bakuriani, Borjomi, surroundings of Dmanisi, Goderdzi Pass, Kariani, Likani, Sapara, surroundings of Akhaltsikhe, surroundings of Bogdanovka, surroundings of Gorelovka, surroundings of Ghoghasheni, surroundings of Khertvisi, Tsalka, Trialeti, Vardzia, Zekari Pass (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1967a, 1974a).

133. *T. densopilosum* Radchenko et Arakelian, 1990

Distribution: **W.G.:** Ochamchire (Radchenko et Arakelian, 1990).

134. *T. ferox* Ruzsky, 1903

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Kavtiskhevi, Sadakhlo, Sartichala, Shiraki (Kasristskali), Lochini gorge, Rustavi, Udabno, Tbilisi (Dendropark, Varketili, surroundings of Turtle Lake, surroundings of Tbilisi Sea) (Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968); **W.G.:** Bichvinta, Gumbra, Ochamchire, surroundings of Inkiti Lake (Jijilashvili, 1974b).

135. *T. forte* Forel, 1904

Syn.: *Tetramorium taurocaucasicum* Arn.

Distribution: **W.G.:** Ajameti, Anaklia, Chakvistavi, Kobuleti, Sataplia, Vani, Zugdidi-Telmani (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1974b).

136. *T. punicum* (Smith, F., 1861)

Distribution: **E.G.:** Tbilisi (Jijilashvili, 1964a, b, 1966).

137. *T. semilaeve* André, 1883

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Iraga, Khrami gorge, Lochini gorge, Sadakhlo, Saguramo, Shulaveri, surroundings of Dighomi, surroundings of Gori, surroundings of Tetrtskaro, Tbilisi (Mtatsminda park, surroundings of Lisi Lake, surroundings of Tbilisi Sea, Tbilisi Botanical Garden, Varketili), Vashlovani Reserve, Zedazeni (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1968, 1973, 1974a); **W.G.:** Ajameti, Anaklia, Anaria, Asechka, Batumi, Bichvinta, Chaladidi, Chiatara, Rgani, Sakara, Zestaponi (Ruzsky, 1905, 1907; Jijilashvili, 1974b); **S.G.:** Akhaltsikhe, Aspindza, Atskuri, Daba, Dviri, Mzetamze, Rustavi, surroundings of Adigeni, surroundings of Kariani, surroundings of Khertvisi, surroundings of Tsalka, Tba, Tsaghveri (Jijilashvili, 1967a, 1974a).

138. *T. syriacum* Emery, 1924

Distribution: **E.G.:** Kavtiskhevi, Patara Lilo, Sadakhlo, Sartichala, Shiraki (Kasristskali, Ole gorge, Shavimta, Zilcha), Tbilisi (Dendropark, Mtatsminda park, Samgori, surroundings of Lisi Lake, surroundings of Tbilisi Sea, surroundings of Turtle Lake, Varketili), Udabno (Jijilashvili, 1964a, b, 1966, 1968).

Subfamily *Ponerinae* Lepeletier de Saint-Fargeau, 1835

Genus *Cryptopone* Emery, 1893

139. *C. ochracea* (Mayr, 1855)

Distribution: **W.G.:** Batumi (Jijilashvili, 1974b).

Genus *Hypoponera* Santschi, 1938

140. *H. eduardi* (Forel, 1894)

Distribution: **W.G.:** Batumi, Chakvi, Chakvistavi (Jijilashvili, 1974b).

Genus *Pachycondyla* Smith, F., 1858

141. *P. nigrita* (Emery, 1895)

Distribution: **W.G.:** Alachadze, Senaki (Jijilashvili, 1974b).

142. *P. coarctata* (Latreille, 1802)

Syn.: *Ponera lucida* Em.

Distribution: **E.G.:** Gardabani, Karsani, Khrami gorge, Kojori, Lagodekhi Reserve, Shulaveri, Tbilisi (Mtatsminda plateau, Tbilisi Botanical Garden, Mushtaidi Garden), Tetrtskaro (Ruzsky, 1905; Jijilashvili, 1964b, 1967b, 1966, 1968, 1974a); **W.G.:** Alakhadze, Asechka, Batumi, Bichvinta Reserve, Chakvistavi, Kutaisi, Ozurgeti (Ruzsky, 1902, 1905, 1907; Karavaiev, 1926; Jijilashvili, 1974b). **S.G.:** Surroundings of Dmanisi (Jijilashvili, 1974a).

References

1. **Arnol'di K. V.** 1964. Higher and specialized representatives of the ant genus *Cataglyphis* (Hymenoptera, Formicidae) in the fauna of the USSR. *Zool. Zh.*, **4** (43): 1800-1815 (in Russian).
2. **Arnol'di K. V.** 1968. Important additions to the myrmecofauna (Hymenoptera, Formicidae) of the USSR and descriptions of new forms. *Zool. Zh.*, **12** (47): 1800-1822 (in Russian).
3. **Arnol'di K. V.** 1977. Survey of harvester ants of the genus *Messor* (Hymenoptera, Formicidae) of the fauna of the USSR. *Zool. Zh.*, **5** (56): 1637-1648 (in Russian).
4. **Arnol'di K. V.** 1977. New and little known species of ants of the genus *Leptothorax* Mayr (Hymenoptera, Formicidae) of the European part of the USSR and Caucasus. *Entomol. Obozr.*, **56**: 198-204 (in Russian).
5. **Dlussky G. M.** 1964. The ants of the subgenus *Coptoformica* of the genus *Formica* (Hymenoptera, Formicidae) of the USSR. *Zool. Zh.*, **7** (43): 1026-1040 (in Russian).
6. **Dlussky G. M.** 1969. Ants of the genus *Proformica* Ruzs. of the USSR and contiguous countries (Hymenoptera, Formicidae). *Zool. Zh.*, **2** (48): 218-232 (in Russian).
7. **Forel A.** 1904. Miscellanea myrmécologiques. *Rev. Suisse Zool.*, **12**: 1-52.
8. **Jijilashvili T.** 1964 a. Contribution to the ant species complex (*Formicidae*) of the steppes zone of Western Georgia. *Bull. Acad. Sci. Georg.*, **33** (3): 663-666 (in Russian).
9. **Jijilashvili T.** 1964 b. Ecological-faunistic characteristic of the ant fauna of the steppes zone of Georgia. *Bull. Acad. Sci. Georg.*, **34** (3): 651-657 (in Russian).
10. **Jijilashvili T.** 1966. Contribution to the ant fauna of the steppes zone of Georgia. In.: *Material on the fauna of Georgia, part I*, Metsniereba, Tbilisi, 59-77 (in Russian).
11. **Jijilashvili T.** 1967 a. Material on the ant fauna of the Borjomi-Bakuriani forests. In.: *Material on the fauna of Georgia, part II*, Metsniereba, Tbilisi, 50-70 (in Russian).
12. **Jijilashvili T.** 1967 b. Contribution to the ant Fauna (Hymenoptera - Formicidae) of the Lagodekhi Reserve. *Bull. Acad. Sci. Georg.*, **37** (1), 173-175 (in Georgian).
13. **Jijilashvili T.** 1968. Ants (Hymenoptera, Formicidae). In.: *Surroundings zone fauna of Tbilisi*, Metsniereba, Tbilisi, 126-137 (in Georgian).
14. **Jijilashvili T.** 1973. Contribution to the ant fauna (Hymenoptera - Formicidae) of the Kartli region. In.: *Material on the fauna of Georgia, part III*, Metsniereba, Tbilisi, 177-185 (in Georgian).
15. **Jijilashvili T.** 1974 a. Material on the ant fauna (Hymenoptera, Formicidae) of Samtskhe-Trialeti and Javakheti . In.: *Material on the fauna of Georgia, part IV*, Metsniereba, Tbilisi, 191-220 (in Russian).
16. **Jijilashvili T.** 1974 b. Ecological-faunistic investigation of the ant fauna (Hymenoptera, Formicidae) of Colchic Lowland. In.: *Material on the fauna of Georgia, part IV*, Metsniereba, Tbilisi, 221-241 (in Russian).
17. **Karavaiev V.** 1926. Beiträge zur Ameisenfauna des Kaukasus, nebst einigen Bemerkungen über andere palaearktische Formen. (Schluss). *Konowia*, **5**: 187-199.
18. **Karavaiev V.** 1929. Myrmekologische Fragmente. II. *Zb. Prats Zool. Muz.*, **7**: 205-220.
19. **Nasonov N. V.** 1889. Contribution to the natural history of the ants primarily of Russia. 1. Contribution to the ant fauna of Russia. *Izv. Imp. Obshch. Lyubit. Estestvozn. Antropol. Etnogr. Imp. Mosk. Univ.*, **58**: 1-78 (in Russian).
20. **Radchenko A., Arakelian G.** 1990. Ants of the *Tetramorium ferox* Ruzsky group (Hymenoptera, Formicidae) from the Crimea and Caucasus. *Biol. Zh. Arm.*, **43**: 371-378.
21. **Radchenko A.** 1993. New species of ants of the genus *Leptothorax* (Hymenoptera, Formicidae) from the southern and eastern Palearctic. *Zh. Ukr. Entomol. Tov.*, **2**: 23-34.
22. **Ruzsky M.** 1902. Material on the ant fauna of the Caucasus and the Crimea. *Protok. Obshch. Estestvoispyt. Imp. Kazan. Univ.*, **206**: 1-33 (in Russian).

23. **Ruzsky, M.** 1905. The ants of Russia. (Formicariae Imperii Rossici). Systematics, geography and data on the biology of Russian ants. Part I. *Tr. Obshch. Estestvoispyt. Imp. Kazan. Univ.*, **38** (4-6): 1-800 (in Russian).
24. **Ruzsky M.** 1907. The ants of Russia. (Formicariae Imperii Rossici). Systematics, geography and data on the biology of Russian ants. Part II. *Tr. Obshch. Estestvoispyt. Imp. Kazan. Univ.*, **40** (4): 1-122 + 3 (in Russian).
25. **Seifert B.** 1987. *Myrmica georgica* n. sp., a new ant from Transcaucasia and North Kazakhstan (U.S.S.R.) (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae). *Reichenbachia*, **24**: 183-187.
26. **Seifert B.** 1990. Supplementation to the revision of the European species of the ant subgenus *Chthonolasius*. *Doriana*, **6** (271): 1-13.
27. **Seifert B.** 1992. A taxonomic revision of the Palaearctic members of the ant subgenus *Lasius* s. str. (Hymenoptera, Formicidae) *Abh. Ber. Naturkundemus. Görlitz*, **66**: 1-67.
28. **Seifert B.** 2000. A taxonomic revision of the ant subgenus *Coptoformica* Mueller, 1923 (Hymenoptera: Formicidae). *Zoosystema*, **22** (3): 517-568.
29. **Seifert, B.** 2002. A taxonomic revision of the *Formica cinerea* group (Hymenoptera: Formicidae). *Abh. Ber. Naturkundemus. Görlitz*, **74** (2): 245-272.
30. **Seifert B.** 2002. The "type" of *Myrmica bessarabica* Nasonov 1889 and the identity of *Myrmica salina* Ruzsky 1905 (Hymenoptera: Formicidae, Myrmicinae). *Mitt. Münch. Entomol. Ges.*, **92**: 93-100.
31. **Seifert B.** 2003. The ant genus *Cardiocondyla* (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) - a taxonomic revision of the *C. elegans*, *C. bulgarica*, *C. batesii*, *C. nuda*, *C. shuckardi*, *C. stambuloffii*, *C. wroughtonii*, *C. emeryi* and *C. minutior* species groups. *Ann. Naturhist. Mus. Wien. B. Bot. Zool.*, **104** (B): 203-338.
32. **Seifert B.** 2003. The Palaearctic members of the *Myrmica schencki* group with description of a new species (Hymenoptera: Formicidae). *Beitr. Entomol.*, **53**: 141-159.