

Nota preliminar sobre sistemática molecular gen-aloenzimática de algunas formas españolas y marroquíes del grupo *albicans* del género *Cataglyphis* (Hym., Formicidae)

Andrés de Haro¹, Cedric A. Collingwood² y Per Douwes³

1. Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i d'Ecologia. Laboratori de Zoologia. 08193 Bellaterra (Barcelona). Spain

2. North Carolina State University. Department of Zoology
Raleigh, NC27695-7617. USA

3. Lund University. Department of Zoology. S-223 62 Lund. Sweden

Resumen

Debido a las pocas diferencias morfológicas entre *Cataglyphis albicans* y *C. ibericus* del este de España y *C. albicans ruber* de Marruecos, hemos realizado estudios electroforéticos enzimáticos, con los resultados de que no hay diferencias entre esas poblaciones. Por ello deducimos que pertenecen al mismo taxón. Hasta que no hayamos concluido el estudio de *C. albicans* de África del norte, asumimos que en el este español sólo está presente *C. albicans*.

En Tarifa, la población que creíamos pertenecer a *C. albicans*, es un taxón diferente, cuyo valor debe ser confirmado por estudios morfológicos y biogeográficos, y análisis más extensos de variación aloenzimática.

Palabras clave: hormigas, *Cataglyphis albicans*, *C. ibericus*, *C. albicans ruber*, *C. viatica*, electroforesis aloenzimática, Marruecos, España.

Abstract. A preliminary note about allozyme molecular systematics of some spanish and Morocco forms of *albicans* group of the genus *Cataglyphis* (Hym., Formicidae)

Due to scarce morphological differences, if any, between *Cataglyphis albicans* and *C. ibericus* from the east of Spain and *C. albicans ruber* from Morocco, we have done allozyme electrophoretical studies, with the results that there are no differences between these populations. Consequently, we deduce that they belong to the same taxon. Until we study *C. albicans* from the north of Africa, we assume that in the east of Spain only *C. albicans* is present.

In Tarifa, the population which we assumed to belong to *C. albicans* is a different taxon, which value must be confirmed by morphological and biogeographical studies, and more extended analyses of allozyme variation.

Key words: Ants, *Cataglyphis albicans*, *Cataglyphis ibericus*, *Cataglyphis sp.*, *Cataglyphis albicans ruber*, *Cataglyphis viatica*, allozyme electrophoresis, Morocco, Spain.

Introducción

Las hormigas del género *Cataglyphis* constituyen un grupo de insectos básicamente de alimentación insectívora, de origen probablemente sahariano y que habitan las regiones secas y desérticas del Viejo Mundo. Se extienden por la península Ibérica, sur de Francia, Italia, los Balcanes, Grecia, Bulgaria, Asia Menor, Irán, Irak, Oriente Medio, Sudán, sur de Rusia, Asia Central, China, Pakistán e India.

Este género presenta en general y en la península Ibérica en particular, variaciones importantes de coloración sobre la que frecuentemente se basa la taxonomía, a veces con pocas o ninguna diferencia morfológica, habiéndose descrito numerosas subespecies, variedades o razas, con 118 taxones para la fauna mundial, de los cuales sólo 31 son a nivel específico (Tinaut y Plaza, 1989).

Está bien representado en la península Ibérica, donde ha podido evolucionar aislado del continente africano por el estrecho de Gibraltar, como mínimo durante unos 5 millones de años. La penetración magrebí se origina probablemente al final del Mioceno, en el Messiniense, en que por desecación del Mediterráneo, debido al cierre de los dos brazos bético-rifeños de comunicación atlántica, se estableció una vía de comunicación terrestre ibero-mauritánica, hace unos 6 millones de años. Esta comunicación se rompió después por el hundimiento gibraltareño del Plioceno y nueva penetración de las aguas atlánticas en la cuenca del Mediterráneo, (Ruggieri, 1967; Hsü, 1974).

Agosti (1990), ha hecho una reclasificación del género a nivel mundial y considera que el grupo *albicans* es muy confuso (*comunic. in litt.* 1993). Tinaut y Plaza (1989), hacen una revisión del subgénero *Cataglyphis* en la península Ibérica, aclarando en parte la situación taxonómica del grupo *albicans*. Dicen, citando a Emery (1906), que *Cataglyphis albicans* es un taxón laberíntico, cuyo tipo ha desaparecido y la localidad tipo no está clara, aunque Emery afirma que la forma típica de la especie está en Argelia y Túnez. Estos autores consideran que hasta que no se delimite el valor y las características de *C. albicans*, sólo debemos considerar para nuestra fauna dos especies de este grupo: *C. ibericus* y *C. rosenhaueri*, separadas ambas por el color, y añaden que quedaría por determinar las diferencias entre diversas poblaciones de *C. ibericus*, con lo que quizá se podría establecer la presencia cierta de *C. albicans* en nuestro país.

Situación taxonómica del grupo *albicans* en la península Ibérica

Los taxones reconocidos son los siguientes:

1. *C. albicans* (Roger, 1859), descrita de África del Norte sin otra especificación geográfica. Citada por De Haro y Collingwood (1977, 1988) en el sur de España. Los ejemplares del noreste y centro de España tienen cuerpo oscuro y cabeza rojiza y han sido considerados por estos autores (1991 y 1992) como pertenecientes a *C. ibericus*, mientras que los meridionales, de cabeza oscura, han sido considerados como *C. albicans*.
2. *C. ibericus*, descrita como *C. albicans ssp. ibericus* (Emery, 1906), de España y Portugal (*sic*).

3. *C. rosenhaueri*, separada por su coloración rojiza en la cabeza y el torax, pero no por su morfología, de la forma anterior. Descrita del sur de España como *C. albicans ruber* (Forel, 1903) var. *rosenhaueri* (Emery, 1906).
4. *C. viaticoides* es una forma de cabeza y tórax de color rojo, descrita de Beyrouth (Líbano), como *C. albicans* var. *viaticoides* (André, 1881). Tinaut y Plaza (1989) ponen en duda su existencia en nuestra Península. Collingwood y Yarrow (1969) la citan en Granada, Menjíbar (Jaén) y Ronda (Málaga), mientras que De Haro y Collingwood (1977) la citan en Écija-Carmona (Sevilla) en Rocío-Almonte (Huelva) y en Villafranco del Guadalquivir (Sevilla), Tinaut (1981) la cita en Sierra Nevada (Granada) y Serrano (1985), en Sabiote (Jaén).

En el presente trabajo intentamos clarificar la posición taxonómica de las formas ibéricas de color oscuro del grupo, o sea, de *C. albicans* y *C. ibericus* y, dada la dificultad de separar morfológicamente ambos taxones, hacemos un estudio molecular gen-enzimático para analizar la variación genética detectable electroforéticamente entre varias poblaciones de la península Ibérica. A efectos comparativos, estudiamos la forma marroquí del mismo grupo, *C. ruber*, descrita como *C. albicans* r. *ruber* (Forel, 1903) y, como especie externa, *C. viatica* (Fabricius, 1787), del grupo *bicolor* (Agosti, 1990), también marroquí.

Material y métodos

En mayo de 1993 realizamos una expedición por el litoral mediterráneo español y marroquí, tomando muestras de poblaciones en varias localidades, figura 1. Tarifa, cuya población de hormigas se tomó a unos 10 kilómetros al oeste del estrecho de Gibraltar, está ya situada al principio del litoral atlántico, en una zona que se muestra como de gran interés biogeográfico. En Marruecos no encontramos *C. albicans*, debido probablemente al tiempo lluvioso de días anteriores. En cambio, sí encontramos una forma del mismo grupo, *C. ruber*, que nos llamó la atención por su tamaño y semejanza morfológica con la que considerábamos *C. ibericus* del noreste de España, así como el carácter etológico del transporte social (De Haro y Collingwood, 1994).

Las poblaciones analizadas y las formas recogidas han sido las siguientes, tabla 1:

1. Bellaterra (Barcelona), *C. ibericus*, nido levantado en bosque de *Pinus halepensis*.
2. Cabo de Gata (Almería), *C. albicans*, zona arenosa cerca de las salinas.
3. Ermita de Torre García (Almería), *C. albicans*, zona arenosa cerca de la playa.
4. Fortuna (Murcia), *C. albicans*, en camino en bosque de *Pinus halepensis*.
5. Tarifa (Cádiz), *C. albicans*, camino de suelo duro cerca de la playa, a unos 10 kilómetros al oeste del estrecho de Gibraltar.
6. Cabo Negro (Marruecos), *C. ruber*, zona de monte bajo con palmito, *Chamaerops humilis*.
7. Martil (Marruecos), *C. ruber*, en zona arenosa cerca de la playa.
8. Oued Lau (Marruecos), *C. viatica*, en arena de la playa.

Hemos tomado ejemplares fijados en alcohol de 70 °C para su estudio morfológico y otros conservados vivos para su estudio molecular. Las obreras han sido tomadas desplazándose sobre el suelo, por medio de un aspirador entomológico o a mano, según la dificultad de captura. Por la forma de captura, es indeterminado el número de nidos a los que pertenecen las obreras de una misma localidad, aunque la mayoría sean probablemente del mismo nido.

Las obreras, en número variable, pero nunca menos de 80, eran introducidas sobre el terreno, en una caja de plástico de 2 x 8 x 14 cm, con numerosos orificios en el techo y provista de un tubo de 6 x 0.8cm con agua renovada diariamente. Un algodón con miel e insectos troceados constituían la dieta de las hormigas, renovada cada 3 días durante la expedición.

En Barcelona fueron congeladas en nitrógeno líquido y conservadas en congelador a -80 °C. El transporte hasta Lund (Suecia), se hizo introduciéndolas en un criostato de mano de vapor de nitrógeno, MVE Cryogenics, tipo SC 4/3, de 4.31 de nitrógeno líquido. En Lund se volvieron a conservar en congelador a -80 °C.

Se analizaron de 7 a 9 individuos por población, excepto para aGPD, donde se analizaron de 2 a 7 individuos. Las obreras, sin el gáster, fueron homogeneizadas individualmente en 60 microlitros de agua desionizada. El homogeneizado fue absorbido en rectángulos de papel de filtro e insertado en uno o dos geles. Se resolvieron seis sistemas enzimáticos en geles horizontales de almidón.

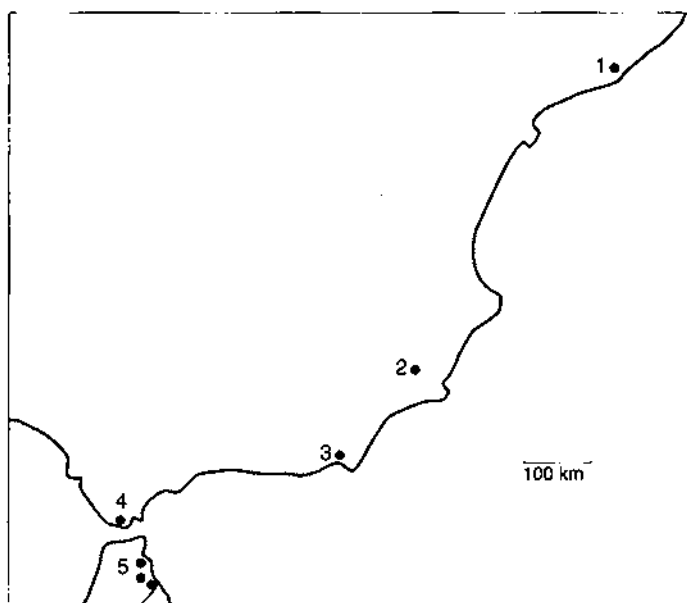


Figura 1. Localidades prospectadas. 1: Bellaterra (Barcelona); 2: Fortuna (Murcia); 3: Almería; 4: Tarifa (Cádiz); 5: Marruecos (de norte a sur, Cabo Negro, Martil, Oued Lau).

aGPD (a-glucosafosfato deshidrogenasa), IDH (isocítrico deshidrogenasa), ME (enzima málico), MDH (malato deshidrogenasa) y PGI (fosfoglucosa isomerasa) se resolvieron en un tampón Tris citrato (gel pH 8.4 / cubeta pH 7.1), (Varvio-Aho & Pamilo, 1980) y PGM (fosfoglucomutasa) en tampón Tris-maleic-EDTA (gel 7.4 / cubeta 7.4). Se utilizaron técnicas de tinción estándar para todos los enzimas.

La elección de estos enzimas se basó en observaciones realizadas en estudios de alozimas sobre hormigas del género *Leptothorax*, (Douwes & Stille, no publicado).

Los alelos se designan por cifras que indican la movilidad de los correspondientes alozimas con relación al alelo más común, que se ha designado 100.

Resultados y discusión

Se han estudiado siete loci enzimáticos y en tres de ellos no hemos encontrado variación: MDH-1 (MDH anódico), IDH y PGM. En los cuatro loci variantes no hay variación intrapoblacional, excepto en Martil (Marruecos), donde aGPD es bialélico. *C. viatica* de Oued Lau (Marruecos), difiere claramente del resto de poblaciones, teniendo alelos únicos en aGPD, MDH-2 (MDH catódico), ME y PGI. Tabla 1.

Entre las poblaciones del grupo *albicans* hay una diferencia clara entre la población de Tarifa y el resto en PGI, tabla 1. Como se dijo anteriormente, todas las poblaciones del grupo *albicans* comparten el mismo alelo en aGPD y un segundo alelo ha aparecido en Martil, tabla 1.

El análisis aloenzimático es una herramienta poderosa en estudios taxonómicos de poblaciones simpátricas. Cuando se sospecha, a partir de datos morfológicos o de otra clase, que los individuos de una misma localidad podrían pertenecer a más de una especie, las frecuencias fenotípicas obtenidas por electroforesis enzimática puede dar una respuesta clara.

Tabla 1. Variación en PGI, MDH-2, ME y aGPD. Genotipos encontrados en *Cataglyphis albicans*, *Cataglyphis sp.*, *C. albicans ruber* y *C. viatica*. Los grupos *albicans* y *bicolor* están estrechamente relacionados filogenéticamente. No hay variaciones en MDH-1, IDH y PGM. (El número de poblaciones analizadas se dan dentro de los paréntesis.)

Taxones estudiados	Loci enzimáticos			
	PGI	MDH-2	ME	aGPD
<i>Cataglyphis albicans?</i>				
Barcelona (1)	100/100	100/100	100/100	100/100
Murcia (1)	100/100	100/100	100/100	—
Almería (2)	100/100	100/100	100/100	100/100
<i>Cataglyphis sp.</i>				
Tarifa (1)	189/189	100/100	100/100	100/100
<i>C. albicans ruber</i>				
Cabo Negro (Marruecos) (1)	100/100	100/100	100/100	100/100
Martil (Marruecos) (1)	100/100	100/100	100/100	90/100 100/100
<i>C. viatica</i> (grupo <i>bicolor</i>)				
Oued Lau (Marruecos) (1)	133/133	125/125	120/120	109/109

Cuando, como en este caso, se comparan poblaciones alopátridas, las conclusiones son menos evidentes. La interpretación taxonómica de las diferencias de frecuencias alélicas entre poblaciones depende mucho del nivel general de diferencias genéticas entre especies o taxones del grupo particular que se estudia. En el caso de *Cataglyphis* carecemos, por ahora, de esa información general. Tenemos que basarnos en los resultados de estudios alozimáticos en otras hormigas.

Dentro de las mirmécinas, el género *Leptothorax* ha sido muy ampliamente estudiado y el cuadro que emerge de esos estudios es que especies morfológicamente muy similares difieren al menos en un *locus*, teniendo alelos alternativos (Douwes & Stille, 1987, 1990; Heinze, 1989).

Resultados similares se obtuvieron de estudios sobre grupos de especies de morfología similar en hormigas ponérrinas y mirmécinas, aunque algún solapamiento encontrado entre especies se debió probablemente a intercambio genético entre ellas (Crozier, 1977; Ward, 1980).

Heinze (1991), en sus estudios sobre *Leptothorax* (*s. str.*) de las relaciones entre hormigas parásitas y sus hospedadores, halla que especies claramente distintas muestran alozimas idénticas. También Heinze (*comunic. pers.*) ha encontrado recientemente que una población del parásito *Doronomyrmex pacis* aparece fijada para un alelo en los Alpes alemanes y para otro en los Alpes franceses. Aunque esto parece más fácil que se dé en especies parásitas con pequeñas poblaciones aisladas.

Entre las formícinas, han sido estudiadas dos especies similares de *Lasius* y han podido ser diferenciadas sin ambigüedad en el único *locus* analizado (Pearson, 1983), también Boomsma *et al.* (1990). Un amplio número de especies de *Formica* han sido comparadas en varios *loci* enzimáticos (Pamilo *et al.* 1979, 1992).

Las consecuencias que podemos sacar de estos estudios son: 1) la variación alélica refleja sólo parcialmente las especies definidas morfológicamente, y 2) especies similares morfológicamente difieren en frecuencia alélica más bien que en tener alelos alternativos.

Una conclusión de todos estos estudios sobre hormigas distintas sería que si dos poblaciones tienen alelos diferentes como mínimo en un *locus*, estas poblaciones deberían pertenecer a especies distintas. En nuestro estudio sobre *Cataglyphis*, ello significaría que la población de Tarifa, en la costa atlántica, pertenece a una especie distinta al resto de las poblaciones estudiadas del grupo *albicans*. Todas estas últimas, por el contrario, tendrían que ser consideradas como coespecíficas, basándonos en la evidencia de los datos. El significado de la ligera variación en aGPD es difícil dilucidar a causa de los pocos ejemplares analizados para ese aGPD y tuvimos dificultad de detectar las bandas delgadas; en cuanto a Murcia, sólo fueron analizados dos ejemplares y ninguno pudo ser detectado.

La más amplia diferencia hallada entre *C. viatica*, del grupo *bicolor* y el resto del grupo *albicans*, que entre la población de Tarifa y el resto de su grupo, se esperaba. *C. viatica* está morfológicamente diferenciada con claridad de las otras poblaciones, comparada con la escasa o nula variación interpoblacional de las formas restantes. Por ejemplo, en *Leptothorax*, miembros del subgénero *Leptothorax*, tienen probablemente alelos diferentes en todos los cinco *loci* examinados rutinariamente en unas 70 especies europeas, a los del subgénero

Myrafant, mientras que especies similares morfológicamente dentro de estos subgéneros difieren normalmente sólo en un *locus* (Douwes & Stille, no publicado; Heinze, 1989).

Las diferencias enzimáticas halladas en la población de Tarifa nos ha llevado a hacer en las obreras un análisis morfológico previo, con el resultado de que el escapo antenal es ligeramente más corto que la longitud de la cabeza, mientras que en el resto de las poblaciones tiene la misma longitud o es algo mayor. Así, para la población de Tarifa, los valores medios son: longitud cabeza 1.98, anchura cabeza 1.76, longitud escapo 1.865. Almería: longitud cabeza 1.86, anchura cabeza 1.78, longitud escapo 1.90. También los ejemplares de Tarifa tienen una pilosidad dorsal más abundante.

Conclusiones

Los resultados aloenzimáticos ponen de manifiesto que no hay diferencias entre las poblaciones de Almería, Murcia y Barcelona, las dos primeras consideradas anteriormente por nosotros como pertenecientes a *Cataglyphis albicans* y las de Barcelona, a *C. ibericus*. Por ello han de ser consideradas como pertenecientes al mismo taxón.

Dado que en Marruecos no hemos encontrado la forma oscura de *C. albicans*, y sí *C. albicans ruber*, cuyas poblaciones tampoco se diferencian electroforéticamente de las formas anteriores, tenemos que considerar provisionalmente, hasta que no estudiemos *C. albicans* de África, que en la franja oriental española sólo existe *C. albicans*.

Otro aspecto de interés es la presencia en Tarifa de una población tenida por nosotros como *C. albicans*, pero que ha de ser considerada como un taxón distinto, al diferenciarse enzimáticamente de las poblaciones españolas y marroquíes anteriores.

No obstante, para desechar la presencia posible de un polimorfismo intraespecífico en PGI no detectado por el muestreo, y para ver el alcance de la particularidad morfológica detectada en la menor longitud del escapo en relación con la longitud de la cabeza en la población de Tarifa, así como su pilosidad dorsal más abundante, se han de hacer prospecciones más extensas, con estudio de sexados. Estudios morfológicos y biogeográficos extensos nos mostrarán el alcance de esta diferenciación.

Si la diferencia encontrada en PGI se mantiene en el análisis de más poblaciones, también será una indicación fuerte de que la población de Tarifa es una especie distinta.

Agradecimientos

Damos las gracias a Jürgen Heinze por las observaciones realizadas con motivo de la lectura del manuscrito.

Bibliografía

Agosti, D. 1990. Review and reclassification of *Cataglyphis* (*Hym.*, *Formicidae*). *Journal of Natural History* 24: 1457-1505.

- Boomsma, J.J.; Brouwer, A.H.; Loon, A.J. van. 1990. A new polygynous *Lasius* species (*Hym., Formicidae*) from Central Europe. II. Allozymatic confirmation of species status and social structure. *Insectes Soc.* 37: 363-375.
- Collingwood, C.A.; Yarrow, I.H.H. 1969. A survey of Iberian Formicidae. *Eos* 44: 53-101.
- Crozier, R.H. 1977. Genetic differentiation between populations of the ant *Aphaenogaster rudis* in the southeastern United States. *Genetica* 47: 17-36.
- Douwes, P.; Stille, B. 1987. The use of enzyme electrophoresis in *Leptothorax* classification. En: *Chemistry and Biology of Social Insects*. J. Eder; H. Rembold. eds. Munich, Peperny, p. 29-30.
- 1990. Hybridization and variation in the *Leptothorax tuberum* group (*Hym., Formicidae*). *Z. zool. Syst. Evolut.-forsch.* 29: 165-175.
- Emery, C. 1906. Rissenga critica della specie paleartiche del genere *Myrmecocystus*. Memoria della Reale Accademia delle Scienze dell'Istituto di Biologia. Classe di Scienze Fisiche, Bologna 3(6): 47-61.
- Forel, A. 1903. Mélanges entomologiques, biologiques et autres. *Annales de la Société Entomologique de Belgique* 47: 249-268.
- Haro, A. de; Collingwood, C.A. 1977. Prospección mirmecológica por Andalucía. *Boletín de la Estación Central de Ecología* 6(12): 85-90.
- 1988. Prospección mirmecológica por las Sierras de Aitana-Alfaro y los Cabos de La Nao-San Antonio (Alicante) y su comparación con la fauna balear y de Córcega-Cerdeña. *Orsis* 3: 165-172.
- 1991. Prospección mirmecológica en la Cordillera Ibérica. *Orsis* 6: 109-126.
- 1992. Actas V Congreso Ibérico de Entomología. Supl. 3 ao Bolm. Soc. Portug. Entomol., vol. I: 96-104.
- 1994. Prospección mirmecológica por el litoral mediterráneo de Marruecos (Cabo Negro, Martil, Oued Lau), y su comparación con la zona meridional ibérica. *Orsis* 9: 99-106.
- Heinze, J. 1989. A Biochemical Approach Toward the Systematics of the *Leptothorax muscorum* Group in North America (*Hym., Formicidae*). *Biochemical Systematics and Ecology* 17: 595-601.
- 1991. Biochemical studies on the relationship between socially parasitic ants and their hosts. *Biochem. Syst. Ecol.* 19: 195-206.
- Hsü, K.J. 1974. The Miocene Desiccation of the Mediterranean and its Climatological and Zoogeographical Implications. *Naturwissenschaften* 61: 137-142.
- Pamilo, P.; Vepsäläinen, K.; Rosengren, R.; Varvio-Aho, S.; Pisarski, B. 1979. Population genetics of *Formica* ants II. Genic differentiation between species. *Ann. Ent. Fenn.* 45: 65-76.
- Pamilo, P.; Chautems, D.; Cherix, D. 1992. Genetic differentiation of disjunct populations of the ants *Formica aquilonra* and *Formica lugubris* in Europe. *Insectes Sociaux* 39: 15-29.
- Pearson, B. 1983. The classification of morphologically intermediate ants in the *Lasius alienus/Lasius niger* taxon. *Ins. Soc.* 30: 100-105.
- Ruggieri, G. 1967. The Miocene and later evolution of the Mediterranean Sea. En: *Aspects of Tethyan Biogeography*. C.G. Adams; D.V. Ager (eds). Systematics Association Publication 7: 283-290.
- Serrano, J.M. 1985. Sucesión ecológica en comunidades de hormigas. Tesis Doctoral. Madrid.
- Tinaut, J.A. 1981. Estudio de los Formicoides de Sierra Nevada. Tesis Doctoral. Granada.
- Tinaut, J.A.; Plaza, J.L. 1989. Situación taxonómica del género *Cataglyphis* Förster, 1850 en la península Ibérica I. Las especies del subgénero *Cataglyphis* Förster (*Hym., Formicidae*). *Eos* 65(1): 189-199.

- Varvio-Aho, S.; Parnilo, P. 1980. A new buffer system with wide applications. *Isozyme Bull.* 13: 114.
- Ward, P.S. 1980. Genetic variation and population differentiation in the *Rhytidoponera impressa* group, a species complex of ponerine ants (*Hym., Formicidae*). *Evolution* 34: 1060-1076.

Manuscrito recibido en mayo de 1994