



Digital supplementary material to

DRAKULA, M., BUELLESBACH, J. & SCHRADER, L. 2023: The role of cuticular hydrocarbons in intraspecific aggression in the invasive ant *Cardiocondyla obscurior*. – Myrmecological News 33: 187-196.

The content of this digital supplementary material was subject to the same scientific editorial processing as the article it accompanies. However, the authors are responsible for copyediting and layout.

Supplementary Material for “The role of cuticular hydrocarbons in intraspecific aggression in the invasive ant *Cardiocondyla obscurior*”

Maja DRAKULA, Jan BUELLESBACH, Lukas SCHRADER

Address(es) of author(s)

Lukas Schrader (contact author), Institute for Evolution and Biodiversity, University of Münster, Hüfferstraße 1, 48149 Münster, Germany. E-mail: Lukas.Schrader@wwu.de

Supplementary Table S1: Colonies of *C. obscurior* used for chemical analysis and behavioral assays. The table includes the Sample ID, GPS location of the collection area, location, as well as the total numbers of queens and workers used for chemical analysis and behavioral assays, and the respective values for the Principal Components (1 and 2) for each caste.

Sample ID	GPS	Location	Queen CHC pool size	Worker CHC pool size	# queens for behavioral assays	PC1 queens	PC2 queens	PC1 workers	PC2 workers
007	(-15.2634637,-39.0833540)	Una, Brazil	10	10	27	-2.6789	-5.8953	4.7953	2.5565
054	(-15.2861191,-39.0627775)	Una, Brazil	10	10	27	-5.6537	-4.5976	2.5419	4.1793
080	(-15.2207770,-39.0357294)	Una, Brazil	10	10	27	-7.6400	2.1357	5.0796	-0.0437
082	(-15.2222370,-39.0358943)	Una, Brazil	10	10	27	-1.3626	-3.6058	5.5701	0.7951
081	(-15.2217323,-39.0351846)	Una, Brazil	10	10	27	-3.1915	0.2676	5.2294	0.2939
013	(-14.7914687,-39.1872256)	Itabuna, Brazil	10	10	27	-4.9344	-0.8904	5.9074	-0.3913
014	(-14.7914464,-39.1872531)	Itabuna, Brazil	10	10	27	-4.8145	1.7505	3.4024	1.0415
015	(-14.7623629,-39.2327735)	Itabuna, Brazil	10	10	27	-4.4035	-4.0826	2.8816	-1.9577
025	(-14.7916513,-39.1866942)	Itabuna, Brazil	10	10	27	-7.8180	9.8260	5.5734	-0.9130
024	(-14.7917329,-39.1865088)	Itabuna, Brazil	10	10	27	-2.4150	-2.5309	3.9309	2.0621

Supplementary Table S2: Pairings and outcome of behavioral observation assays. The table shows for each behavioral observation the colony of origin of the trespassing queen and of the recipient workers, the queen treatment (alive, freeze-killed, hexane washed), the queen's population relative to the recipient colony (*different* Population, *same* Population, *own* Colony) and the observed aggression level.

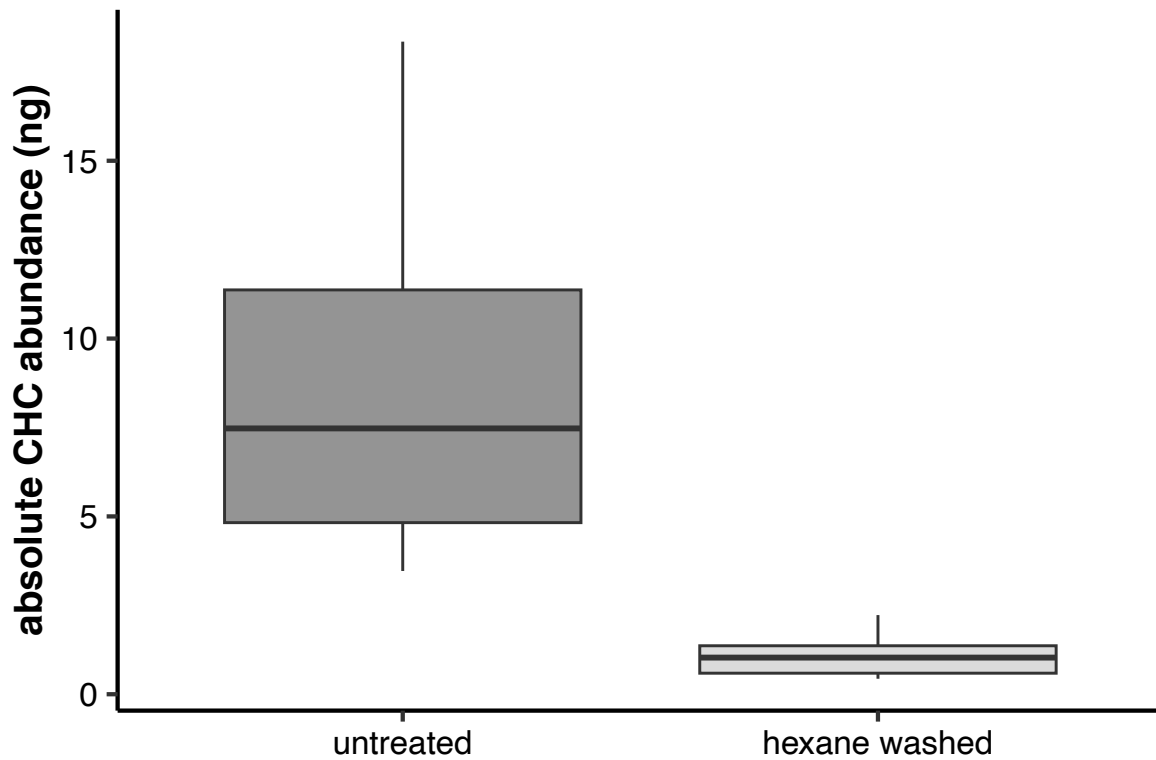
Intruder Queen Colony	Recipient Worker Colony	Queen Treatment	Population	Aggression
Ita 013	Una 054	alive	different	5
Ita 013	Ita 015	alive	same	1
Ita 013	Una 080	alive	different	4
Ita 013	Una 007	alive	different	3
Ita 013	Ita 013	alive	own	5
Ita 013	Ita 013	alive	own	3
Ita 013	Ita 024	alive	same	4
Ita 013	Ita 013	alive	own	4
Ita 013	Ita 025	alive	same	3
Ita 014	Una 080	alive	different	4
Ita 014	Ita 013	alive	same	4
Ita 014	Una 054	alive	different	4
Ita 014	Una 082	alive	different	4
Ita 014	Ita 014	alive	own	4
Ita 014	Ita 014	alive	own	1
Ita 014	Ita 025	alive	same	4
Ita 014	Ita 014	alive	own	3
Ita 014	Ita 015	alive	same	2
Ita 015	Una 082	alive	different	4
Ita 015	Ita 024	alive	same	4
Ita 015	Una 007	alive	different	4
Ita 015	Una 081	alive	different	2
Ita 015	Ita 015	alive	own	2
Ita 015	Ita 015	alive	own	3
Ita 015	Ita 013	alive	same	3
Ita 015	Ita 015	alive	own	2
Ita 015	Ita 014	alive	same	2
Ita 024	Una 007	alive	different	2
Ita 024	Ita 025	alive	same	2
Ita 024	Una 081	alive	different	1
Ita 024	Una 054	alive	different	4
Ita 024	Ita 024	alive	own	3
Ita 024	Ita 024	alive	own	1
Ita 024	Ita 014	alive	same	4
Ita 024	Ita 024	alive	own	5
Ita 024	Ita 013	alive	same	2
Ita 025	Una 081	alive	different	1
Ita 025	Ita 014	alive	same	4
Ita 025	Una 082	alive	different	1
Ita 025	Una 080	alive	different	4
Ita 025	Ita 025	alive	own	4
Ita 025	Ita 025	alive	own	4
Ita 025	Ita 015	alive	same	3
Ita 025	Ita 025	alive	own	2
Ita 025	Ita 024	alive	same	3
Una 007	Ita 024	alive	different	1
Una 007	Una 081	alive	same	5
Una 007	Ita 014	alive	different	5
Una 007	Ita 013	alive	different	4
Una 007	Una 007	alive	own	2

Una 007	Una 007	alive	own	2
Una 007	Una 080	alive	same	4
Una 007	Una 007	alive	own	2
Una 007	Una 054	alive	same	1
Una 054	Ita 013	alive	different	5
Una 054	Una 082	alive	same	1
Una 054	Ita 025	alive	different	2
Una 054	Ita 024	alive	different	1
Una 054	Una 054	alive	own	1
Una 054	Una 054	alive	own	1
Una 054	Una 007	alive	same	2
Una 054	Una 054	alive	own	2
Una 054	Una 081	alive	same	1
Una 080	Ita 014	alive	different	2
Una 080	Una 054	alive	same	2
Una 080	Ita 013	alive	different	1
Una 080	Ita 015	alive	different	1
Una 080	Una 080	alive	own	1
Una 080	Una 080	alive	own	4
Una 080	Una 081	alive	same	1
Una 080	Una 080	alive	own	1
Una 080	Una 082	alive	same	2
Una 081	Ita 025	alive	different	2
Una 081	Una 080	alive	same	2
Una 081	Ita 015	alive	different	1
Una 081	Ita 014	alive	different	1
Una 081	Una 081	alive	own	2
Una 081	Una 081	alive	own	1
Una 081	Una 082	alive	same	1
Una 081	Una 081	alive	own	2
Una 081	Una 007	alive	same	2
Una 082	Ita 015	alive	different	1
Una 082	Una 007	alive	same	1
Una 082	Ita 024	alive	different	1
Una 082	Ita 025	alive	different	1
Una 082	Una 082	alive	own	1
Una 082	Una 082	alive	own	1
Una 082	Una 054	alive	same	1
Una 082	Una 082	alive	own	1
Una 082	Una 080	alive	same	1
Ita 013	Una 054	freeze-killed	different	4
Ita 013	Ita 013	freeze-killed	own	1
Ita 013	Una 007	freeze-killed	different	4
Ita 013	Una 080	freeze-killed	different	2
Ita 013	Ita 015	freeze-killed	same	2
Ita 013	Ita 024	freeze-killed	same	2
Ita 013	Ita 025	freeze-killed	same	4
Ita 013	Ita 013	freeze-killed	own	4
Ita 013	Ita 013	freeze-killed	own	2
Ita 014	Una 080	freeze-killed	different	2
Ita 014	Ita 014	freeze-killed	own	2
Ita 014	Una 082	freeze-killed	different	3
Ita 014	Una 054	freeze-killed	different	4
Ita 014	Ita 013	freeze-killed	same	2
Ita 014	Ita 025	freeze-killed	same	4
Ita 014	Ita 015	freeze-killed	same	2
Ita 014	Ita 014	freeze-killed	own	4
Ita 014	Ita 014	freeze-killed	own	3
Ita 015	Una 082	freeze-killed	different	1
Ita 015	Ita 015	freeze-killed	own	2

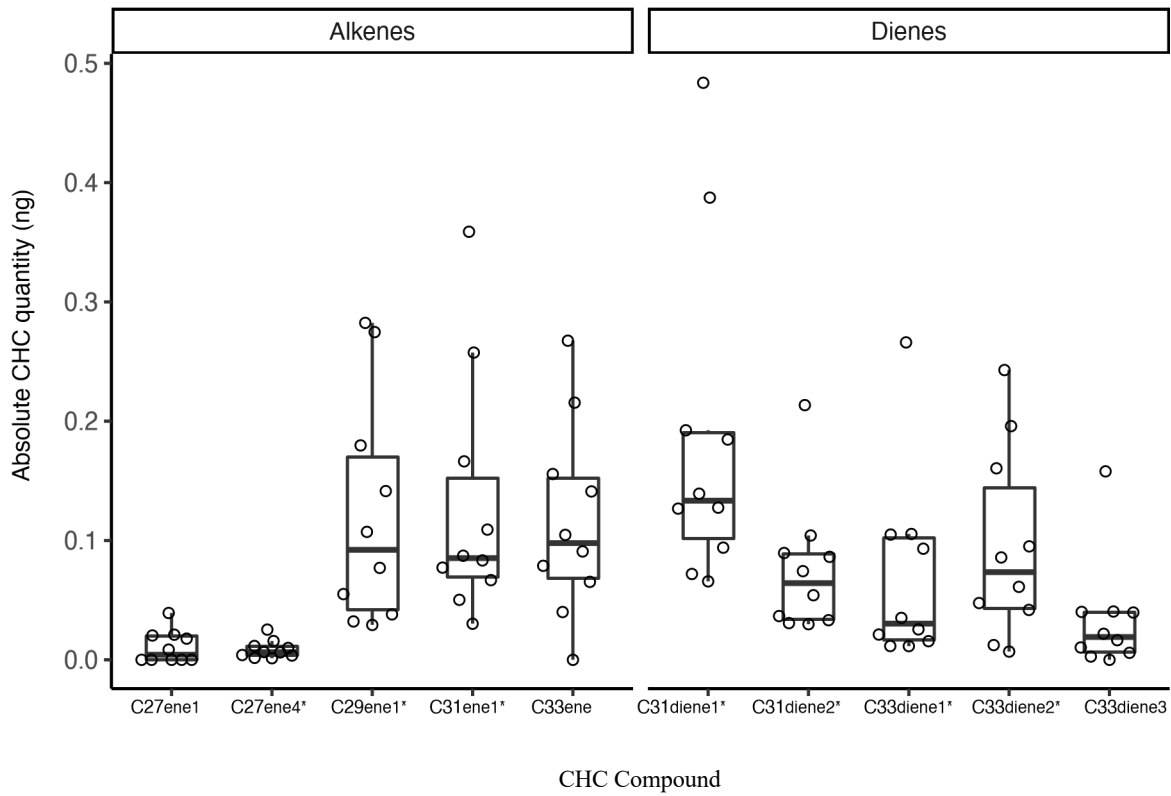
Ita 015	Una 081	freeze-killed	different	2
Ita 015	Una 007	freeze-killed	different	5
Ita 015	Ita 024	freeze-killed	same	4
Ita 015	Ita 013	freeze-killed	same	5
Ita 015	Ita 014	freeze-killed	same	4
Ita 015	Ita 015	freeze-killed	own	2
Ita 015	Ita 015	freeze-killed	own	4
Ita 024	Una 007	freeze-killed	different	4
Ita 024	Ita 024	freeze-killed	own	4
Ita 024	Una 054	freeze-killed	different	1
Ita 024	Una 081	freeze-killed	different	4
Ita 024	Ita 025	freeze-killed	same	4
Ita 024	Ita 014	freeze-killed	same	4
Ita 024	Ita 013	freeze-killed	same	4
Ita 024	Ita 024	freeze-killed	own	2
Ita 024	Ita 024	freeze-killed	own	2
Ita 025	Una 081	freeze-killed	different	2
Ita 025	Ita 025	freeze-killed	own	4
Ita 025	Una 080	freeze-killed	different	2
Ita 025	Una 082	freeze-killed	different	2
Ita 025	Ita 014	freeze-killed	same	4
Ita 025	Ita 015	freeze-killed	same	1
Ita 025	Ita 024	freeze-killed	same	3
Ita 025	Ita 025	freeze-killed	own	4
Ita 025	Ita 025	freeze-killed	own	5
Una 007	Ita 024	freeze-killed	different	2
Una 007	Una 007	freeze-killed	own	4
Una 007	Ita 013	freeze-killed	different	1
Una 007	Ita 014	freeze-killed	different	4
Una 007	Una 081	freeze-killed	same	4
Una 007	Una 080	freeze-killed	same	4
Una 007	Una 054	freeze-killed	same	1
Una 007	Una 007	freeze-killed	own	1
Una 007	Una 007	freeze-killed	own	4
Una 054	Ita 013	freeze-killed	different	3
Una 054	Una 054	freeze-killed	own	4
Una 054	Ita 024	freeze-killed	different	3
Una 054	Ita 025	freeze-killed	different	1
Una 054	Una 082	freeze-killed	same	4
Una 054	Una 007	freeze-killed	same	2
Una 054	Una 081	freeze-killed	same	1
Una 054	Una 054	freeze-killed	own	1
Una 054	Una 054	freeze-killed	own	4
Una 080	Ita 014	freeze-killed	different	2
Una 080	Una 080	freeze-killed	own	2
Una 080	Ita 015	freeze-killed	different	4
Una 080	Ita 013	freeze-killed	different	1
Una 080	Una 054	freeze-killed	same	2
Una 080	Una 081	freeze-killed	same	1
Una 080	Una 082	freeze-killed	same	2
Una 080	Una 080	freeze-killed	own	1
Una 080	Una 080	freeze-killed	own	2
Una 081	Ita 025	freeze-killed	different	4
Una 081	Una 081	freeze-killed	own	2
Una 081	Ita 014	freeze-killed	different	2
Una 081	Ita 015	freeze-killed	different	2
Una 081	Una 080	freeze-killed	same	2
Una 081	Una 082	freeze-killed	same	1
Una 081	Una 007	freeze-killed	same	1
Una 081	Una 081	freeze-killed	own	1

Una 081	Una 081	freeze-killed	own	1
Una 082	Ita 015	freeze-killed	different	1
Una 082	Una 082	freeze-killed	own	1
Una 082	Ita 025	freeze-killed	different	1
Una 082	Ita 024	freeze-killed	different	1
Una 082	Una 007	freeze-killed	same	1
Una 082	Una 054	freeze-killed	same	1
Una 082	Una 080	freeze-killed	same	1
Una 082	Una 082	freeze-killed	own	1
Una 082	Una 082	freeze-killed	own	4
Ita 013	Una 054	hexane washed	different	4
Ita 013	Ita 015	hexane washed	same	1
Ita 013	Una 080	hexane washed	different	4
Ita 013	Ita 013	hexane washed	own	4
Ita 013	Ita 013	hexane washed	own	3
Ita 013	Ita 024	hexane washed	same	2
Ita 013	Ita 013	hexane washed	own	4
Ita 013	Ita 025	hexane washed	same	4
Ita 013	Una 007	hexane washed	different	4
Ita 014	Una 080	hexane washed	different	5
Ita 014	Ita 013	hexane washed	same	2
Ita 014	Una 054	hexane washed	different	4
Ita 014	Ita 014	hexane washed	own	5
Ita 014	Ita 014	hexane washed	own	4
Ita 014	Ita 025	hexane washed	same	4
Ita 014	Ita 014	hexane washed	own	4
Ita 014	Ita 015	hexane washed	same	2
Ita 014	Una 082	hexane washed	different	4
Ita 015	Una 082	hexane washed	different	2
Ita 015	Ita 024	hexane washed	same	5
Ita 015	Una 007	hexane washed	different	4
Ita 015	Ita 015	hexane washed	own	4
Ita 015	Ita 015	hexane washed	own	3
Ita 015	Ita 013	hexane washed	same	2
Ita 015	Ita 015	hexane washed	own	2
Ita 015	Ita 014	hexane washed	same	4
Ita 015	Una 081	hexane washed	different	1
Ita 024	Una 007	hexane washed	different	5
Ita 024	Ita 025	hexane washed	same	4
Ita 024	Una 081	hexane washed	different	4
Ita 024	Ita 024	hexane washed	own	2
Ita 024	Ita 024	hexane washed	own	2
Ita 024	Ita 014	hexane washed	same	4
Ita 024	Ita 024	hexane washed	own	4
Ita 024	Ita 013	hexane washed	same	3
Ita 024	Una 054	hexane washed	different	2
Ita 025	Una 081	hexane washed	different	3
Ita 025	Ita 014	hexane washed	same	2
Ita 025	Una 082	hexane washed	different	3
Ita 025	Ita 025	hexane washed	own	4
Ita 025	Ita 025	hexane washed	own	4
Ita 025	Ita 015	hexane washed	same	2
Ita 025	Ita 025	hexane washed	own	2
Ita 025	Ita 024	hexane washed	same	3
Ita 025	Una 080	hexane washed	different	3
Una 007	Ita 024	hexane washed	different	1
Una 007	Una 081	hexane washed	same	4
Una 007	Ita 014	hexane washed	different	1
Una 007	Una 007	hexane washed	own	4
Una 007	Una 007	hexane washed	own	2

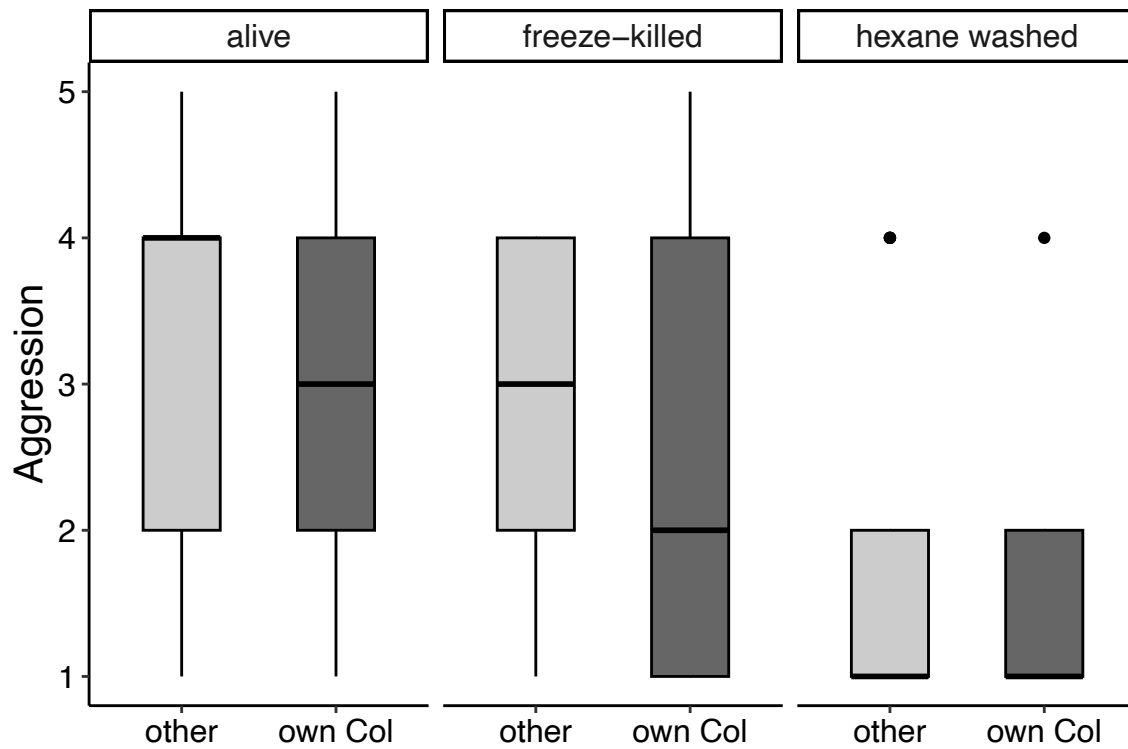
Una 007	Una 080	hexane washed	same	2
Una 007	Una 007	hexane washed	own	4
Una 007	Una 054	hexane washed	same	1
Una 007	Ita 013	hexane washed	different	2
Una 054	Ita 013	hexane washed	different	2
Una 054	Una 082	hexane washed	same	2
Una 054	Ita 025	hexane washed	different	2
Una 054	Una 054	hexane washed	own	2
Una 054	Una 054	hexane washed	own	2
Una 054	Una 007	hexane washed	same	1
Una 054	Una 054	hexane washed	own	2
Una 054	Una 081	hexane washed	same	2
Una 054	Ita 024	hexane washed	different	1
Una 080	Ita 014	hexane washed	different	2
Una 080	Una 054	hexane washed	same	4
Una 080	Ita 013	hexane washed	different	1
Una 080	Una 080	hexane washed	own	1
Una 080	Una 080	hexane washed	own	1
Una 080	Una 081	hexane washed	same	1
Una 080	Una 080	hexane washed	own	1
Una 080	Una 082	hexane washed	same	1
Una 080	Ita 015	hexane washed	different	1
Una 081	Ita 025	hexane washed	different	1
Una 081	Una 080	hexane washed	same	1
Una 081	Ita 015	hexane washed	different	2
Una 081	Una 081	hexane washed	own	1
Una 081	Una 081	hexane washed	own	2
Una 081	Una 082	hexane washed	same	1
Una 081	Una 081	hexane washed	own	1
Una 081	Una 007	hexane washed	same	1
Una 081	Ita 014	hexane washed	different	1
Una 082	Ita 015	hexane washed	different	1
Una 082	Una 007	hexane washed	same	1
Una 082	Ita 024	hexane washed	different	1
Una 082	Una 082	hexane washed	own	1
Una 082	Una 082	hexane washed	own	1
Una 082	Una 054	hexane washed	same	2
Una 082	Una 082	hexane washed	own	2
Una 082	Una 080	hexane washed	same	1
Una 082	Ita 025	hexane washed	different	1



Supplementary Figure S1: Comparison of absolute abundances (in ng) of total CHC amounts in the tested queens across ten replicates. Compared to untreated individuals, hexane washing treatment significantly decreased CHC abundances (91.6% of total CHCs removed, Wilcoxon signed-rank test: $p = 4.57e^{-05}$).



Supplementary Figure S2: Absolute quantity of the ten CHC compounds identified in alate queens but not workers of *Cardiocondyla obscurior*. Three of the five alkenes and four of the five dienes were detected in each of the ten analyzed queen samples (highlighted with an asterisk).



Supplementary Figure S3: Comparison of aggressive worker response against introduced alive, hexane washed and freeze-killed queens from a different colony compared to their own colony.