

Tesis de Licenciatura

Detección de estímulos de color por la abeja Apis mellifera : uso de las diferentes regiones del ojo compuesto

Zaccardi, Guillermo H.

Tesis presentada para obtener el grado de Licenciado en Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis de licenciatura de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Six-Year Bachelor's Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Zaccardi, Guillermo H.. () . Detección de estímulos de color por la abeja Apis mellifera : uso de las diferentes regiones del ojo compuesto. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000647_Zaccardi

Cita tipo Chicago:

Zaccardi, Guillermo H.. "Detección de estímulos de color por la abeja Apis mellifera : uso de las diferentes regiones del ojo compuesto". Tesis de Licenciado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires..

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000647_Zaccardi

EXACTAS
UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Tesis de Licenciatura

Título: Detección de estímulos de color por la abeja *Apis mellifera*: uso de las diferentes regiones del ojo compuesto



Autor: Guillermo H. Zaccardi

Director: Dr. Martin Giurfa

Nº 0647

Lugar de trabajo: Campo experimental del laboratorio de Fisiología de insectos (Insectos Sociales)

Agradecimientos

Quiero agradecer profundamente a mi director Dr. Martín Giurfa por la gran oportunidad que me dio de trabajar con él, por jugarse por mí y porque sos una maza.

Al Dr. Josué A. Nuñez, por todas las enseñanzas que me dio (incluso las que salieron sin intención), por mostrarme la biología como lo que es: el estudio de la vida.

Al Prof. Dr. Randolph Menzel (Berlín, Alemania), por la oportunidad brindada de trabajar en su laboratorio y haber sido un inicio de todo esto.

Al Dr. Robert Brandt (Berlín, Alemania) porque... y bueno, Roberto, porque sos un hiper-Maestro. (Master).

Al Dr. Claudio Lazzari, porque sos un maestro y porque vos sabes qué sería de este trabajo sin tu "colaboración" (o qué no sería).

Al Dr. Walter Farina, por aguantarme en el convento y por prestarme el mate (en realidad a tu mate lo tengo yo el que usas vos era una cacerolita que yo tenía para la cría de sapos).

A el Fer Grosclaude por el apoyo moral brindado... y otros apoyos.

A Frodo por ayudarme en mas de una... y por la amistad! qué tanto!

A Alicia la Lorenza (Ahora me vas a revelar el maldito rollo?!!!!)

A mis compañeros de laboratorio Pato, Paola, Roxi, Luciano, Rodrigo, también a los de arriba Carolina, Yuli, el Gabo y el Negro.

A Adriana F. Souto y a Angeles Albarracin porque mas de una vez me salvaron las papas del fuego y por evitar la igualdad: $Tiempo\ Carrera\ de\ Guille = 2 \times (Tiempo\ Carrera\ normal)$ y por mil cosas más.
(Esta dedicatoria merece ser encuadrada).

A Octavio, Mordi y Normita, gente de primera. (Lo único malo es que hacen muchas cosas).

A la Dr. Pat Folgarait (te thank you por every thing)

Al Dr. Hernan Picard (no a Hernan no... sí a Hernan sí!!!, en esta cabeza se hace lo que yo digo...!!).

A mis compañeros de banda Arielito y Rodri, por contribuir en gran medida al saludable estado mental que vivo.

Al Tano, Andrés y Arnold (oro en polvo).

A mis amigos de la faquia Pablito, Fernando Rui Selmo, Lucas, Mariano Loza y Luciano.

A Natalie Hempel y Silke Stach, such nice girls.

A Lorena Eleonora, A. (yo soy mas maza pero bueno.... si no te pones nerviosita...)

A mis hermanos de Chivilcoy Gaston Amaro, Roman Zunino, y Marcelo Ellena.

A Mi padre y madre Carlos (ese es mi papá) y Mirta (esa es mi mamá)

A mis hermanos de sangre Diana, Emilio y Elisa.

A Homer Simpson

A Laura Gomez, mi amor. (Qué mas puedo decir de vos corazón)

Indice

	Página
Resumen.....	5
1. Introducción.....	7
1.1. Los fotorreceptores de la abeja <i>Apis mellifera</i>	8
1.2. El sistema nuronal antagonista de la visión de colores.....	10
1.3. El espacio perceptual de colores de la abeja <i>Apis mellifera</i>	13
1.4. Un modelo para la vision de colores de la abeja <i>Apis mellifera</i>	15
1.5. La visión acromática de la abeja <i>Apis mellifera</i>	16
1.6. La detección de las flores por el sistema visual de la abeja <i>Apis mellifera</i>	18
1.7. La regionalización de las performances visuales en el ojo compuesto de la abeja y otros insectos.....	20
1.8. Objetivos.....	22
2. Materiales y métodos.....	23
2.1. Dispositivo.....	23
2.2. Estímulos.....	26
2.3. Parámetros espectrales.....	27
2.4. Procedimiento.....	30
2.5. Videoregistros.....	33
2.6. Estadística.....	34
3. Resultados.....	35
4. Discusión.....	43
5. Referencias.....	55

Resumen:

Abejas *Apis mellifera ligustica* fueron entrenadas a colectar solución azucarada en un dispositivo de dos brazos paralelos. Dentro de este aparato las abejas debían aprender a detectar en uno de los brazos la presencia de un estímulo de color circular recompensado sobre un fondo gris neutro. El otro brazo presentaba sólo el frondo gris y no era recompensado. Los colores ensayados presentaron diferentes características espectrales tales como contraste cromático, contrastes específicos para cada uno de los tres fotorreceptores del ojo compuesto de la abeja, y contraste de intensidad. Se varió el ángulo visual que cada estímulo de color ensayado subtendía al ojo de la abeja con el fin de encontrar el ángulo mínimo en el cual la detección aún es posible (60% de elecciones correctas). En una primera serie de experimentos se probó como variaba la eficacia de la detección cuando el estímulo era presentado en los planos ventral, dorsal y frontal. Para esto se utilizó un color que tenía todos los contrastes. La eficiencia en la detección varió según la región del ojo compuesto involucrada: el α_{\min} fue $4^\circ \pm 0.5$ para la zona frontal, $7^\circ \pm 0.5$ para la zona ventral, y $8^\circ \pm 0.6$ para la zona dorsal. También se filmaron las trayectorias de las abejas cuando decidían entre los brazos del aparato. Digitalizando luego estas trayectorias se comprobó que las abejas inclinaban su cuerpo cuando el objetivo era presentado en el plano dorsal. No ocurrió lo mismo cuando el estímulo fue presentado en el plano ventral. Se concluyó que en este aparato no es posible visualizar la detección dorsal ya sea porque el dispositivo no es adecuado para tal fin o porque la misma no ocurre naturalmente. De aquí en más estudiamos la detección de colores mediante la zona ventral. En una segunda serie de experimentos se utilizaron colores que tenían suprimidos los contrastes específicos para cada fotorreceptor. No todos los estímulos fueron igualmente bien aprendidos.

El α_{\min} para la detección de un estímulo de color varió dependiendo de la presencia o ausencia de estos contrastes. La supresión del contraste ultravioleta no afectó la performance de detección; en este caso α_{\min} fue $6^\circ \pm 0.5$ y comparable con el obtenido para la detección ventral del estímulo que presenta todos los contrastes. Contrariamente, la supresión de los contrastes azul y verde afectó significativamente la detección; en estos dos casos se obtuvieron valores de α_{\min} de $10^\circ \pm 0.1$ y $17^\circ \pm 3$, respectivamente. Así, de los dos contrastes, el contraste para el fotorreceptor verde parece tener una mayor contribución en la detección ventral de un estímulo de color ya que su supresión lleva a un empeoramiento más drástico (α_{\min} mayor) de la performance. Se discuten las implicaciones ecológicas y evolutivas de tales resultados.

1. Introducción

La abeja *Apis mellifera* es un modelo habitual para el estudio de la visión de colores y de comportamientos relacionados con la orientación visual (von Frisch 1967; Menzel 1979; Wehner 1981; Srinivasan 1994; Giurfa & Menzel 1997). A pesar que las abejas obreras pasan gran parte de su vida en la oscuridad de la colmena cumpliendo funciones de nodrizas (Winston 1987), en las últimas etapas de su vida cumplen funciones de búsqueda de alimento (polietismo de castas; ver Winston 1987), para lo cual deben explotar en sus vuelos de recolección numerosas fuentes de información sensorial, entre ellas la visual. La información visual juega un papel preponderante en la vida de las abejas recolectoras de alimento. En los vuelos de recolección de alimento las obreras obtienen polen y néctar de las flores (néctar como fuente de carbohidratos y polen como fuente de proteínas), a la vez que canalizan el proceso de polinización floral. No es casual, entonces, que las flores presenten gran variedad de colores y otros tipos de información visual (formas, simetría, información acromática) que permiten por un lado la detección e identificación de las fuentes de alimento, y la discriminación, mediante procesos de aprendizaje, de las fuentes con recompensa de otras especies competidoras (Menzel 1985; Chittka & Menzel 1992; Menzel et al. 1993; Dafni et al. 1997).

De este modo, tanto las flores como los polinizadores, se benefician por el uso de las señales de color: las primeras se diferencian del fondo de vegetación sobre el cual aparecen, facilitando así su detección, explotación y consiguiente polinización, y los segundos optimizan la búsqueda de recompensa asociada a tales señales (Menzel 1985).

Las consideraciones anteriores implican, obviamente, que las abejas, así como otros polinizadores, puede percibir los colores de las flores. En efecto, la abeja *A.*

mellifera es un modelo tradicional para el estudio de la visión tricromática de colores (von Frisch 1967; Daumer 1956). Karl von Frisch (1914) fue el primero en demostrar que las abejas poseen visión de colores al comprobar que eran capaces de ser entrenadas a una cartulina de un color dado que luego distinguían perfectamente de cartulinas grises similares en formato y que presentaban distintas intensidades, algunas de ellas idénticas a la del color entrenado. Así, von Frisch pudo establecer que uno de los pre requisitos fundamentales de la visión de colores se cumplía para las abejas: la capacidad de discriminar un color dado, independientemente de la información acromática de intensidad. Pudo además establecer que el rango visual de las abejas se halla corrido hacia longitudes de onda menores con respecto al de los seres humanos: las abejas ven el ultravioleta (de aquí en más UV) que es imperceptible normalmente para los seres humanos; más no ven colores en la gama del rojo (a partir de 650 nm; sin embargo ver Chittka & Waser 1997). Así, su espectro visual abarca desde los 300 nm (UV) hasta los 650 nm (von Frisch 1967; Daumer 1956; Chittka & Menzel 1992).

Las abejas, tal como los seres humanos, poseen visión tricromática (Daumer 1956). Esto significa que pueden igualar una luz única de una longitud de onda dada a una mezcla apropiada de los tres colores primarios (UV, azul y verde en el caso de las abejas; azul, verde y rojo, en el caso de los humanos), de manera tal que ambos no sean discriminables.

1.1 Los fotorreceptores de la abeja *A. mellifera*

Cada uno de los 5500 omatídos del ojo compuesto de una abeja presenta 9 células fotorreceptoras (Gribakin 1969, Menzel y Blakers 1976 Menzel et al. 1986). En la zona frontal estas 9 células son de tres tipos, cada uno de estos tipos tiene un máximo de absorción en una zona del espectro visual de la abeja. Estos picos están

dados por variaciones en la molécula proteica de opsina que integra el pigmento visual, la rodopsina (= retinal + opsina). Tres son máximamente sensibles al UV (λ máx. = 344 nm), dos máximamente sensibles al azul (λ máx. = 436 nm), y cuatro máximamente sensibles al verde (λ máx. = 556 nm) (Menzel et al. 1986; Menzel & Backhaus 1991). Es decir que se reconocen tres tipos de fotorreceptores, un fotorreceptor de longitudes de onda cortas (también llamado fotorreceptor UV debido a la ubicación de su pico de sensibilidad máxima), un fotorreceptor de longitudes de onda intermedias (también llamado fotorreceptor azul) y un fotorreceptor de longitudes de onda mayores (también llamado fotorreceptor verde) (Fig. 1).

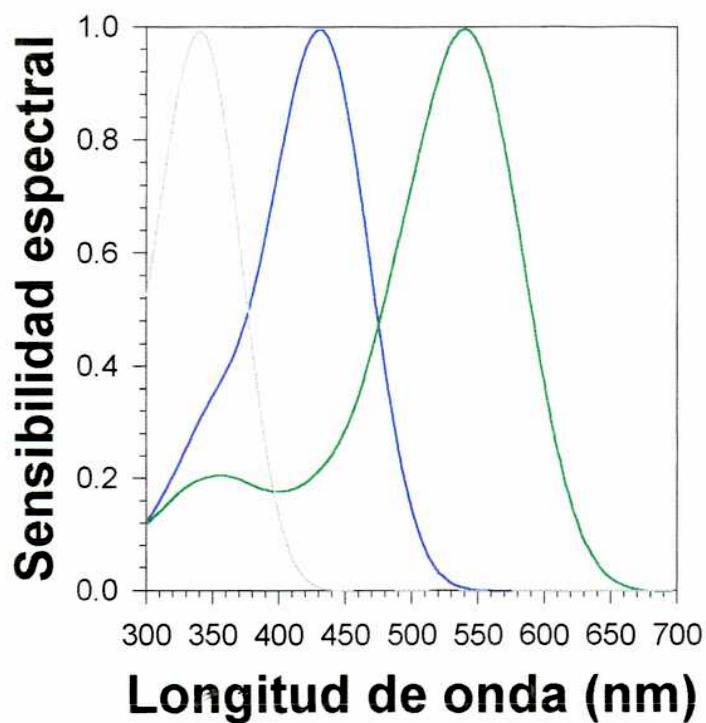


Figura 1: Sensibilidad espectral de los tres tipos de fotorreceptores del ojo compuesto de la abeja *Apis mellifera*. Se distinguen un fotorreceptor de longitudes de onda cortas (λ máx. = 344 nm), un fotorreceptor de longitudes de onda intermedias (λ máx. = 436 nm) y un fotorreceptor de longitudes de onda mayores (λ máx. = 556 nm).

En el procesamiento de las señales de color por los fotorreceptores, existe una fluctuación debida a los ruidos surgidos en la absorción fotónica y en su transducción a señales eléctricas. Si dos objetos son tan parecidos en sus reflexiones espectrales que sólo difieren dentro del rango de fluctuación mencionado, el sistema nervioso no será capaz de discriminar los dos objetos y el animal confundirá los dos colores. Así, cada color presenta una "zona gris" o "zona de incertidumbre" dentro de la cual la diferenciaciónpectral por el sistema nervioso no es posible. De acuerdo a esto, dos colores serán mejor diferenciados en la medida que un mayor numero de zonas de incertidumbre los separe.

La diferenciación de colores se relaciona con la resolución del sistema de visión de colores. En las abejas, la resolución de este sistema fue medida originalmente por von Helversen (1972) en experimentos diseñados para medir los umbrales de discriminación de luces espectrales de distinta longitud de onda pero de igual brillo. La discriminación de colores fue sensiblemente mejor para el violeta (440 nm) y para el verde-azulado (490 nm); esto es, las abejas pueden discriminar perfectamente estos dos colores de otros corridos en tan solo 8 nm (hacia arriba o hacia abajo) en longitud de onda.

1.2 El sistema neuronal antagonista de la visión de colores

La información provista por la excitación de los fotorreceptores no constituye, en todo caso, el estadio en el cual el sistema nervioso codifica los colores. Tal como en el caso de los primates y otros vertebrados con visión de colores (Livingstone & Hubel 1984), los tres tipos de fotorreceptores envían su información a dos tipos de neuronas antagonistas de color que se hallan en el cerebro. En la abeja estas neuronas se hallan en la medula proximal y en la lóbula (Hertel 1980; Kien & Menzel 1977). Estas neuronas son de codificaciónpectral tónica y funcionan de acuerdo

a un principio "oponente", es decir responden con signo opuesto a las diferentes entradas de los tres tipos de fotorreceptores (**Fig. 2a**).

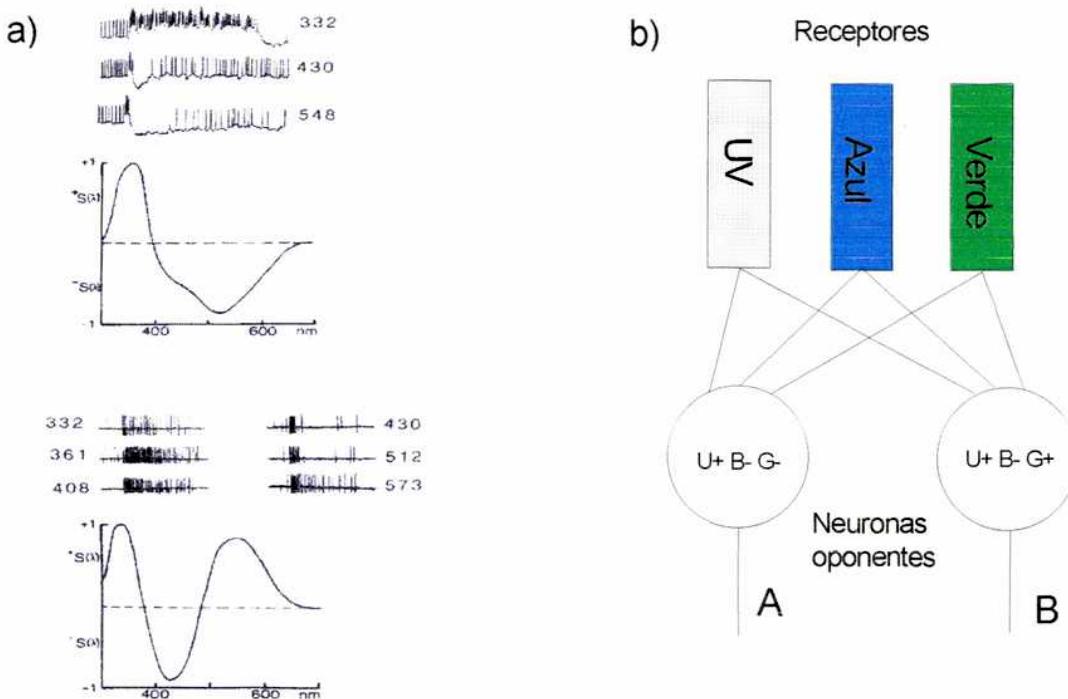


Figura 2a Registros electrofisiológicos de las neuronas oponentes. Estos registros se obtuvieron iluminando el ojo compuesto (los fotorreceptores) de la abeja *A. mellifera* con luces monocromáticas y registrando la respuesta de la neurona oponente. Obsérvese en el registro superior (correspondiente a la neurona A en la **figura 2b**) que al iluminar con una luz de 332 nm. se observa una alta tasa de disparos. Longitudes de onda intermedias y mayores (430, 548 nm) inhiben la respuesta neuronal. La neurona de tipo B funciona contraponiendo la entrada del receptor de ondas intermedias a las de los receptores de onda corta y larga. **Figura 2b.** Esquema de las interacciones entre de los receptores y las neuronas oponentes. Se puede ver el signo de la entrada de cada receptor. Así tenemos una neurona oponente que responde excitatoriamente al UV e inhibitoriamente al azul y verde (A), la otra neurona responde excitatoriamente al azul e inhibitoriamente al verde y al UV.

Tal como en el caso de vertebrados con visión de color, un tipo neuronal opone la información del fotorreceptor de longitudes de onda corta a la suma de informaciones de los fotorreceptores de longitudes de onda intermedia y larga; es el denominado tipo UV vs. Azul-Verde (en primates, tipo Azul vs. Verde-Rojo o Azul vs. Amarillo). Es decir que este tipo presenta una respuesta excitatoria ante el UV e inhibitoria ante el azul y/o el verde o viceversa. El otro tipo opone la información del fotorreceptor de longitudes de onda intermedias a la correspondiente a la suma de los fotorreceptores de onda corta y larga. Se trata del tipo Azul vs. UV-Verde (en primates, tipo Verde vs. Azul - Rojo o Verde vs. Púrpura) (**Fig. 2b**). En este caso se observa una respuesta excitatoria ante el azul e inhibitoria ante el UV y/o el verde o viceversa. De este modo, el color resulta codificado a nivel del cerebro de la abeja en términos de las excitaciones de estos dos tipos neuronales. En ese sentido, el principio funcional es idéntico al de los seres humanos.

La diferencia esencial entre la abeja y el ser humano, en lo que respecta a la visión de colores, consiste en que en los seres humanos un tercer tipo de neuronas acompaña a los dos tipos de neuronas oponentes: el tipo Blanco-Negro. En este caso, la información de los tres tipos de fotorreceptores se adiciona simple e indiscriminadamente en este tipo neuronal, estableciendo así la base fisiológica para un canal acromático de intensidad. Mediante este canal, se distingue el blanco del negro, pasando por las diferentes gradaciones de gris, de acuerdo al nivel que alcance la suma de excitaciones de los tres tipos de fotorreceptores; blanco resulta de la suma de excitaciones máximas y negro de la suma de excitaciones mínimas. Los grises representan sumas de niveles intermedios de excitación. Tal tipo de neurona "aditiva" no ha sido encontrado en el caso de la abeja (Menzel & Backhaus 1991). Del mismo modo, otro tipo oponente posible, el tipo Verde vs. UV-Azul tampoco ha sido encontrado. La visión de colores de la abeja parece no presentar

una dimensión acromática, es decir que las abejas discriminan colores independientemente de variaciones en su intensidad (sin embargo ver más abajo la sección 1.5. *La visión acromática de la abeja A. mellifera*). La visión de colores del ser humano incluye necesariamente la dimensión acromática de la intensidad (o brillo). Para nosotros, un color se caracteriza no sólo por su tono y saturación, sino también por su brillo. Para las abeja, solo "tono" y "saturación" serían determinantes del color.

1.3 El espacio perceptual de colores de la abeja A. mellifera

De lo anterior se deduce que una representación realista del espacio perceptual de colores de la abeja *A. mellifera* está basada en sólo dos escalas que representan, a su vez, las excitaciones de los dos tipos de neuronas antagonistas. (Backhaus 1991; 1993). Backhaus y Menzel (1987) sugirieron que estas neuronas antagonistas recibían entradas, de distinto signo y peso, de los tres tipos fotorreceptores. Estos coeficientes fueron calculados basándose en la evidencia comportamental de elección de colores (Kreissl 1985) y se propuso entonces que la escala A era igual a:

$$-9.86 E_{uv} + 7.70 E_a + 2.16 E_v$$

Y la escala B igual a:

$$-5.17 E_{uv} + 20.25 E_a - 15.08 E_v$$

Siendo E la excitación de los fotorreceptores UV (uv), Azul (a) y verde (v). Así, la escala A corresponde al proceso espectral antagonista UV vs. Azul-Verde y la escala B al proceso espectral; antagonista Azul vs. UV-Verde. El espacio

antagonista de colores resultante que permite representar fehacientemente las distancias perceptuales espectrales se representa en la **Fig. 3**.

En este espacio de colores, denominado espacio COC ("Colour Opponent Coding Space"; Backhaus 1991; 1993), cada color tiene un locus único definido por las excitaciones de los dos tipos neuronales antagonistas. La distancia entre dos loci se relaciona directamente con la capacidad de discriminación de esos dos colores por la abeja. Dado que los fotorreceptores se adaptan necesariamente al fondo sobre el cual los colores son presentados (Laughlin 1981), la percepción de colores es siempre relativa a este fondo de adaptación.

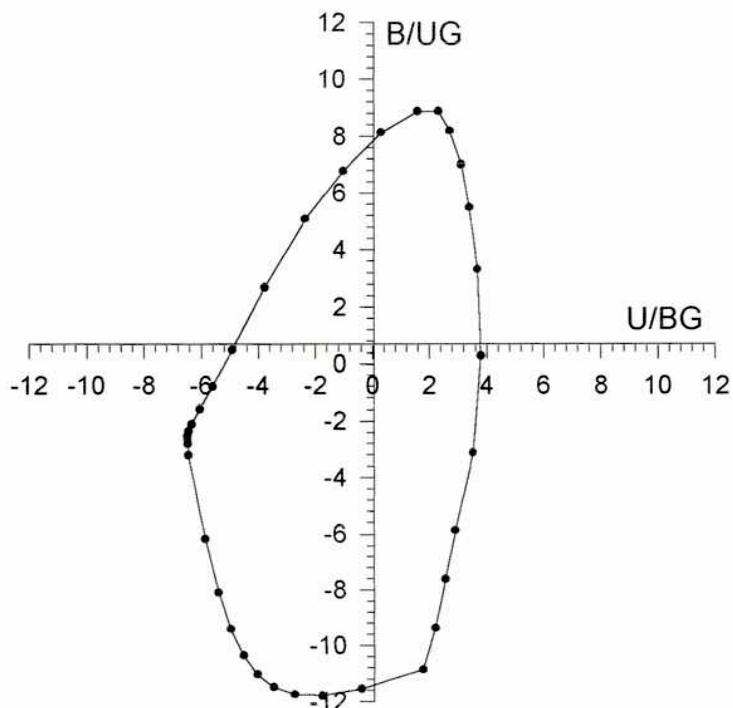


Figura 3 El espacio de color COC ("Color Opponent Coding") de la abeja *Apis mellifera*. En este gráfico quedan definidos por la curva de puntos negros todos los colores que la abeja *A. mellifera* puede ver. Las dos escalas representan los valores de excitación de los procesos oponentes U/BG y B/UG.

El proceso de adaptación es tal que los fotorreceptores responden a un nivel de 50% respecto de su respuesta máxima posible cuando son expuestos a la luz

reflejada por el fondo (Laughlin 1981; Backhaus & Menzel 1987). De este modo, el centro del espacio COC (el punto de coordenadas [0,0]) está dado por el fondo de adaptación.

1.4 Un modelo para la visión de colores de la abeja *A. mellifera*

La información presentada en los ítems anteriores puede resumirse en un modelo sencillo (Brandt & Vorobyev 1997) que describe los diferentes pasos involucrados en la visión de colores de las abejas (**Fig. 4**).

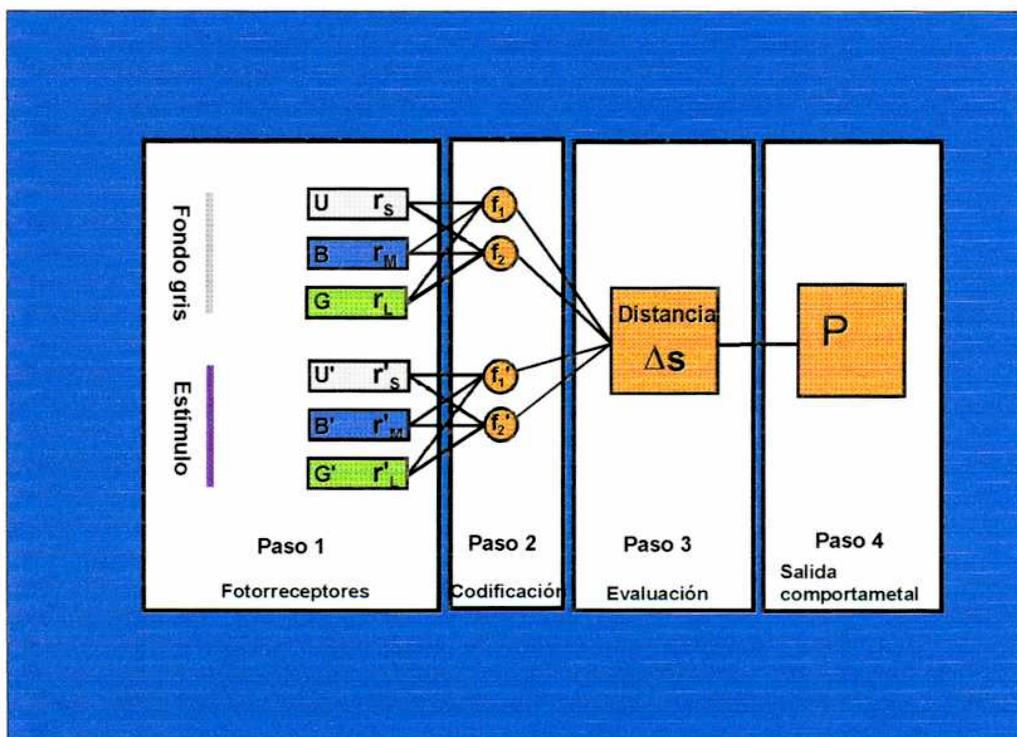


Figura 4 Diagrama esquemático de los distintos pasos postulados para describir la discriminación de colores en la abeja *A. mellifera*. **Paso 1:** dos estímulos (estímulo y fondo gris inducen la absorción de cuantos en los fotorreceptores sensibles al UV, azul y verde, y son transducidos para dar las señales $\{r_s, r_m, r_l\}$ y $\{r'_s, r'_m, r'_l\}$, respectivamente. **Paso 2:** codificación neural de las señales de los fotorreceptores por dos codificadores oponentes (neuronas oponentes). Estas salidas son $\{f_1, f_2\}$ y $\{f'_1, f'_2\}$, respectivamente. **Paso 3:** comparación de las señales correspondientes al fondo y al estímulo. La salida de este paso es la evaluación de la

distanzia perceptual ΔS entre el fondo y el estímulo. **Paso 4:** respuesta comportamental (medida como probabilidad de elección entre dos estímulos o entre estímulo y fondo solo).

El primer paso consiste en la transducción de la energía de los estímulos de color en excitación de los tres tipos de fotorreceptores UV, azul y verde (*Primer Estadio* o *Estadio de los Fotorreceptores*). Tal como se explicó arriba, los fotorreceptores se adaptan a la luz reflejada por el fondo sobre el cual se presentan los estímulos de color de fondo.

El *Segundo Estadio* está provisto por los dos tipos de neuronas espectrales antagonistas en el cerebro de la abeja (*Estadio de Codificación Neuronal Oponente*). Este estadio determina que la codificación de colores en la abeja sea bidimensional.

Las señales correspondientes a diferentes estímulos de color (o a un estímulo de color y su fondo de presentación) son comparadas en un *Tercer Estadio* o *Estadio de Evaluación*. Esta comparación incluye el cómputo de la diferencia perceptual entre las señales del Segundo Estadio. Así, la salida de este estadio es la distanzia perceptual ΔS entre estímulos que es calculada de acuerdo a un modelo métrico particular (en el caso de las abejas se usa el modelo métrico de bloques de ciudad, "City Block metric"; Backhaus 1991).

Finalmente, la salida final del sistema de discriminación de colores es el *Cuarto Estadio* o *Respuesta Comportamental de Elección*. La misma es medida como la probabilidad P de elección de uno de los estímulos presentados en la comparación. P depende exclusivamente de ΔS .

1.5 La visión acromática de la abeja *A. mellifera*

Un canal acromático correspondiente a la percepción de brillo o intensidad no ha sido encontrado en la abeja *A. mellifera*. Tal dimensión, que corresponde a la

suma de excitaciones producida en los tres tipos de fotorreceptores (es decir, a la suma total de cuantos de luz absorbidos por la retina), tampoco desempeña papel alguno en el comportamiento de discriminación de colores (Backhaus 1991; Giurfa 1991; Chittka et al. 1992; Brandt & Vorobyev 1997; Giurfa et al. 1997). Sin embargo, nótese que en la **Fig. 4** es posible definir otro tipo de canal de visión acromático: el de las vias aisladas de un único tipo de fotorreceptor. Dado que un pre requisito fundamental de la visión de colores es la interacción oponente de *al menos dos tipos diferentes de fotorreceptores*, las señales que lleguen al cerebro a través de un único tipo de fotorreceptor son necesariamente acromáticas. La excitación de un único tipo de fotorreceptor, aislada y procesada en forma independiente de la excitación generada en los otros dos tipos de fotorreceptores, constituye una señal acromática. Se definen así los denominados *contrastos específicos para un tipo de fotorreceptor*. Se trata del número de cuantos absorbidos por un tipo de fotorreceptor (UV, azul o verde) que mira a un estímulo dado, relativo al número de cuantos absorbidos por ese mismo tipo de fotorreceptor que mira al fondo de presentación (Giurfa et al. 1997). Obviamente este tipo de contraste puede ser definido para los tres tipos de fotorreceptores. Tenemos de este modo los denominados "*contrastos azul, verde, y UV*".

Tales señales son sumamente importantes en los comportamientos de orientación visual de muchos insectos. Por ejemplo, la orientación y navegación espacial de las abejas por medio del uso de la luz polarizada presente en la bóveda celeste está mediada exclusivamente por el fotorreceptor UV (Wehner & Rossel 1985). La información de luz polarizada es percibida como modulaciones de intensidad de luz UV (Wehner 1989). Del mismo modo, la percepción de movimiento en muchos insectos está mediada exclusivamente por el fotorreceptor verde (Kaiser & Liske 1974; Lehrer 1987; 1993). En este caso, el contraste generado en este tipo

de fotorreceptor por un estímulo y su fondo ("contraste verde" Srinivasan & Lehrer 1984) es la señal que permite percibir el movimiento. Se usa en tareas tales como la estabilización del vuelo (Lehrer et al. 1985; Lehrer 1990), la estimación de distancias y elevaciones (Lehrer et al. 1988; Srinivasan et al. 1989) y la detección de bordes para aterrizar (Lehrer et al. 1990; Lehrer & Srinivasan 1993).

Es posible concluir entonces que en la visión de las abejas y de numerosos insectos existen canales acromáticos determinados por las vías únicas de los tres tipos de fotorreceptores aislados. No existe sin embargo un canal aditivo donde las señales de los tres tipos se añaden indiscriminadamente (canal de brillo o intensidad). Del mismo modo, cabe remarcar que si bien la visión acromática existe en los insectos, ésta está estrictamente separada de la visión de colores. Son dos canales diferentes, independientes y que muchas veces son usados en contextos comportamentales diferentes.

1.6 La detección de las flores por el sistema visual de la abeja *A. mellifera*

Los colores florales han sido considerados tradicionalmente como señales de "larga distancia" para los polinizadores (Frisch 1967, p 521; Kevan y Baker 1983; Chittka y Menzel 1992). Claramente aquellas flores que resulten más conspicuas y visibles a grandes distancias deberían tener una mayor ventaja adaptativa. Pero ¿qué significa "grandes distancias"? Kugler (1933) liberó abejorros en una habitación iluminada con luz difusa, y trató de determinar la distancia a la que estos abejorros detectaban un estímulo negro artificial de un diámetro conocido. Su resultado mostró que a medida que se incrementaba el diámetro del disco, también se incrementaba la distancia desde la cual era detectado. Este resultado, en principio trivial, muestra que el parámetro a tener en cuenta no es ni la distancia al estímulo ni el diámetro del objeto a detectar, sino una variable donde ambas

informaciones se combinan: el ángulo visual subtendido por el objeto a detectar (Giurfa et al. 1996). Así, un objeto puede ser detectado cuando subtiende un ángulo visual igual o mayor que un ángulo límite α_{\min} . Estímulos que presenten el mismo ángulo subtendido influirán de la misma manera en el comportamiento de un animal, independientemente del diámetro del estímulo y de la distancia entre estímulo e individuo.

En la abeja *A. mellifera* se encontró que α_{\min} depende de dos parámetros fundamentales: a) el contraste cromático (la diferencia cromática entre un estímulo y su fondo) y b) el contraste acromático para el fotorreceptor verde ("contraste verde"; ver más arriba). En particular Giurfa et al. (1996) demostraron que α_{\min} es 15° para estímulos que presentan contraste cromático exclusivamente y 5° para estímulos que además de contraste cromático presentan la señal acromática del contraste verde. En otras palabras, estímulos que sólo se diferencian en términos cromáticos del fondo de presentación son peor detectados (α_{\min} mayor; las abejas deben acercarse más a los estímulos para poder detectarlos) que aquellos que, además de la diferencia cromática presentan una diferencia acromática para el fotorreceptor verde (α_{\min} menor; las abejas pueden detectar al estímulo en cuestión desde mayores distancias). La supresión de cualquiera de los otros dos contrastes específicos referidos a los otros dos tipos de fotorreceptores existentes (UV y azul) no afecta en lo más mínimo la performance de detección de las abejas. En otras palabras, sólo el contraste verde extiende el rango de detección de un estímulo visual.

Giurfa et al. (1997) demostraron además que ambas señales son usadas en forma alternativa dependiendo del ángulo visual subtendido por el estímulo de color. A ángulos visuales pequeños (alrededor de 5°), las abejas se guían exclusivamente por el contraste verde y no por el contraste cromático, incluso pueden aprender un

valor dado de contraste verde y diferenciarlo de valores mayores o menores (Giurfa et al. 1997). De este modo, a ángulos visuales pequeños, las abejas pueden elegir y decidir entre diferentes estímulos visuales en base a la información acromática provista por el contraste verde. A ángulos visuales mayores (a partir de 15°) las abejas se guían exclusivamente por la información cromática y no por el contraste verde. Sin embargo, nuevos resultados de Hempel et al. (1999) indican que, aún en ángulos visuales mayores (30°), las abejas pueden usar el contraste verde siempre y cuando éste sea muy grande (como el que se origina en el caso de estímulos negros sobre un fondo blanco).

Giurfa & Vorobyev (1998) caracterizaron además el rango angular en el cual los detectores acromáticos que usan el contraste verde son activos: de 5° a 15°. Del mismo modo sugirieron mediante un modelo específico que describe bien la performance comportamental que los detectores visuales en cuestión presentan una organización de tipo centro-entorno (centre-surround organisation) tal que se activan en el centro con estímulos de diámetro de 7° y se inhiben en el caso de una estimulación periférica del entorno (centre ON - surround OFF).

1.7 La regionalización de las performances visuales en el ojo compuesto de la abeja y otros insectos

Los resultados arriba citados están referidos a la zona frontal del ojo compuesto dado que los experimentos que llevaron a estas conclusiones fueron realizados presentando a las abejas estímulos colocados en el plano vertical. Una pregunta que surge es: ¿todo el ojo compuesto se comporta de la misma manera, o existen diferencias en distintas zonas del mismo? La pregunta es relevante ya que en su actividad de vuelo la abeja enfrenta situaciones en las cuales el objetivo floral puede aparecer en diferentes lugares de la retina (ventral o dorsal, por ejemplo).

¿Cómo varía (si varía) la eficacia de la detección en esos casos? Se sabe que otras tareas visuales, como la discriminación y reconocimiento de formas, colores y movimiento, muestran una clara organización y especialización de acuerdo a las diferentes áreas del ojo compuesto. La discriminación de colores se puede dar tanto en la zona frontal (Giurfa et al. 1996; 1997; 1998; Wehner 1981; Lehrer 1988), la ventral (Giger & Srinivasan 1997) y en la lateral (Lehrer 1990) más no en la dorsal (Giger y Srinivasan 1997). La discriminación de formas se lleva a cabo mediante la parte frontal, particularmente la región fronto ventral (Wehner 1972, Lehrer 1997) y la lateral más no mediante la ventral y la dorsal (Giger & Srinivasan 1997). La discriminación de frecuencias espaciales puede realizarse bien en las zonas frontal (Wehner 1981) y en la zona fronto ventral (Anderson 1977, Lehrer 1997).

En la zona frontal (Lehrer et al. 1985) y ventral (Lehrer y Srinivasan 1993) los bordes de los estímulos generan un comportamiento de “scanning” (estabilización de la imagen en vuelo) (Lehrer et al. 1985). En las zonas frontal y ventral los bordes sirven también para discriminar los objetos del fondo (ej. flores de la tierra) (Zhang y Srinivasan 1994).

La estimación de la distancia basada en la velocidad de traslación de la imagen (paralaje) está bien desarrollada en las tres zonas (ventral frontal y lateral) (Lehrer et al. 1988; Srinivasan et al. 1991; Lehrer 1994; Lehrer y Collet 1994).

Con todo esto, podría esperarse que la detección de estímulos de color también presente una cierta regionalización en el ojo compuesto de la abeja. Ésa es precisamente la pregunta de nuestro trabajo.

1.8 Objetivos

- 1) Determinar si las zonas ventral, dorsal y frontal del ojo compuesto de la abeja *A mellifera* se comportan de igual manera en la detección de estímulos de colores.
- 2) Establecer dentro de qué rango de ángulos visuales operan las diferentes zonas del ojo compuesto.
- 3) Determinar el rol específico de las diferentes claves visuales (contrastos de color y contrastos específicos para los fotorreceptores) en la tarea de detección de colores.

2 Materiales y métodos

Se utilizaron abejas *Apis mellifera ligustica* de una colmena situada a 30 m del lugar experimental. Las abejas fueron entrenadas a venir hasta el dispositivo empleado mediante el clásico método de entrenamiento instaurado por von Frisch (1967). El mismo consiste en situar en la piquera de la colmena un platillo con solución azucarada diluida (20% p/p), esperar que un cierto número de abejas tome de la misma, e ir transportando el platillo a distancias crecientes desde la colmena al lugar experimental. Así, las abejas aprenden a volar hasta el lugar definido por el experimentador. Un grupo de estas abejas es luego entrenado a entrar al dispositivo experimental, ofreciéndoles en el mismo solución azucarada de mayor concentración (50% p/p). Una vez allí, son marcadas individualmente mediante puntos de color en el tórax y/o abdomen (von Frisch 1967) lo cual permite identificarlas fácilmente aún en vuelo. De este modo, estas abejas trabajan básicamente en el dispositivo en cuestión, mientras que en el platillo dispuesto en las cercanías, un grupo de abejas no marcadas está siempre disponible para uso posterior. Sólo se utilizó una abeja marcada por experimento, siendo las demás confinadas en una jaula. Una vez finalizada la serie de ensayos con la abeja experimental elegida, ésta era eliminada para evitar que siguiera retornando al dispositivo, para que no interfiriera con otros individuos, y una nueva abeja marcada era estudiada.

2.1 Dispositivo

El dispositivo utilizado en este trabajo es un laberinto de brazos paralelos, construido en madera y cubierto por un plexiglas especial, transparente al componente UV de la luz diurna (**Fig. 5a**). Esto último resulta fundamental para todo

experimento que pretenda estudiar la visión de los organismos con sensibilidad en dicho rango ya que el plexiglas normal actúa como filtro selectivo, que no deja pasar la parte del espectro que corresponde al UV. Por consiguiente, el color que el experimentador cree ofrecer no es el que el animal realmente ve, llevando a errores groseros de interpretación acerca de la percepción y proceso de las señales visuales.

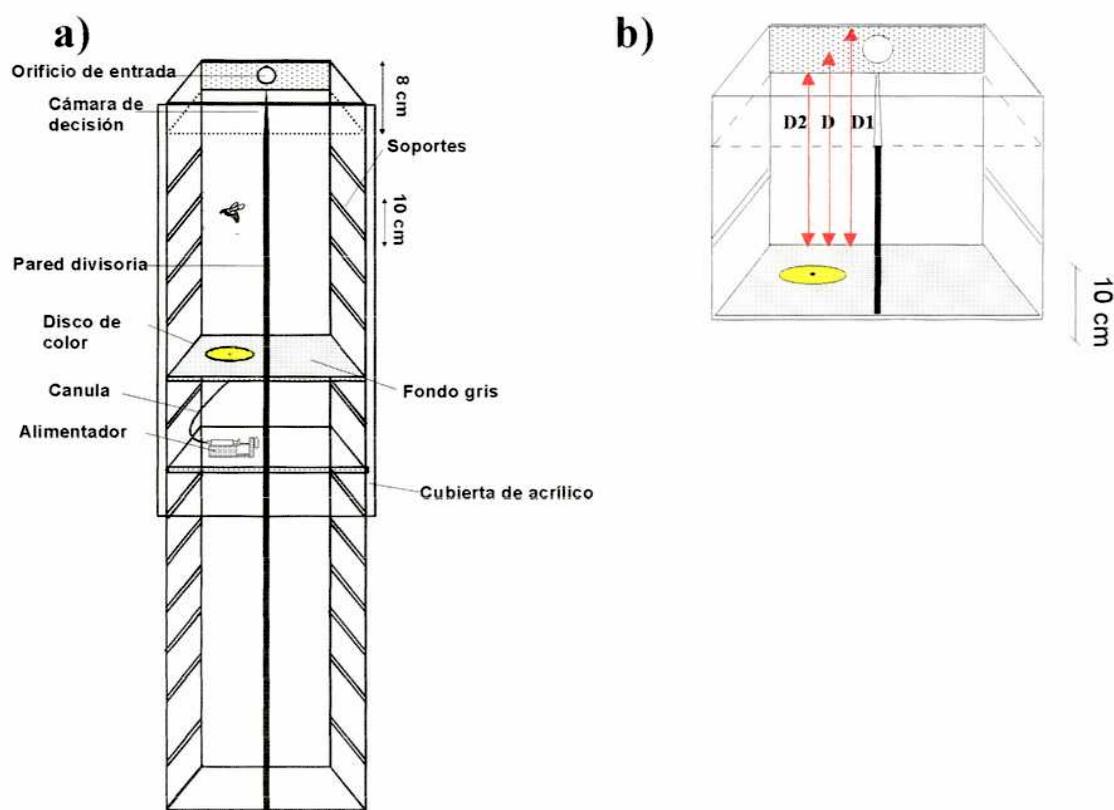


Figura 5a Esquema del dispositivo utilizado. **Figura 5b** Detalle de la cámara de decisión.

El aparato fue puesto fuera del laboratorio, en los jardines del campo experimental de Ciudad Universitaria, de modo tal que era iluminado por luz natural. La ubicación del aparato en los jardines se mantuvo constante a lo largo de los experimentos. Del mismo modo la intensidad de luz dentro del aparato fue

mantenida constante dentro de lo realizable. Con este fin, la intensidad lumínica total fue medida usando un fotómetro con una función de eficiencia espectral de luminancia estandarizada (Graseby Optronics, System S351). Los experimentos se llevaron a cabo toda vez que la intensidad de la luz se hallaba por encima de 2000 lux. Cabe destacar que dentro de los rangos de intensidad por nosotros elegidos, variaciones de intensidad lumínica no afectan la percepción de color por parte de las abejas (Menzel & Rose 1978) ya que las mismas poseen, igual que los seres humanos, "constancia de color" es decir la capacidad de percibir un color como tal independientemente de la intensidad de luz reinante (Neumeyer 1981).

El aparato media 1.80 m. de alto y tenía una madera divisora en el medio que daba origen a los dos brazos paralelos. En las paredes laterales del dispositivo una serie de ranuras, separadas por 10 cm, permitía intercalar en cada brazo una pared de fondo (20 x 20 cm) de PVC cuya posición y distancia al punto de entrada podía cambiarse de acuerdo a las necesidades del experimento. La pared de fondo estaba totalmente cubierta por un papel fondo gris neutro. En el centro de cada pared un orificio de 0.5 mm permitía el acceso de las abejas a la solución de azucarada dispensada por medio de una cánula conectada a una jeringa con solución 50% (p/p) de sacarosa operada a mano. Tanto la cánula como la jeringa no eran visibles para la abeja experimental que entraba al dispositivo. En uno de los brazos un estímulo de color, presentado en forma de disco de 8 cm de diámetro en el centro de la pared de fondo, era recompensado con solución azucarada. El brazo alternativo presentaba sólo el fondo gris sin recompensa alguna.

El aparato podía disponerse vertical u horizontalmente. Para estudiar la detección en el plano ventral del ojo compuesto, el aparato se colocaba vertical con la entrada en la parte superior (**Fig. 5a**). De esta manera, las abejas entraban al dispositivo desde arriba, y veían el estímulo ventralmente. Para estudiar la

detección en el plano dorsal el aparato era colocado vertical nuevamente, pero invertido 180°, de manera que la entrada se encontraba en la parte inferior. Las abejas que entraban al aparato debían ver, en principio, el estímulo con la zona dorsal. La detección frontal (Giurfa et al. 1996) se midió también con este aparato a modo de control, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos por Giurfa et al. (1996) y Giurfa & Vorobyev (1998) para esta tarea. Con este fin el aparato fue puesto en posición horizontal y la eficiencia de la detección fue medida.

2.2 Estímulos

Diferentes estímulos de color fueron usados a fin de probar la incidencia de diferentes parámetros espectrales sobre la eficacia de detección. Estos colores fueron obtenidos de cartulinas pigmentadas, colorimétricamente estandarizadas y de uso habitual en la investigación de la visión de colores en humanos y otros animales. Las cartulinas empleadas fueron las de denominaciones HKS-3N, HKS-8N, HKS-41N, HKS-82N, (K+E Stuttgart, Stuttgart-Feuerbach, Alemania) y corresponden, en términos de la nomenclatura de color humana, a un amarillo intenso, naranja, azul oscuro y marrón, respectivamente. El papel gris empleado como fondo de presentación fue obtenido de una cartulina HKS-92N y es acromático para las abejas dado que presenta un espectro de reflección relativamente parejo a lo largo de todo su rango visual.

El espectro de reflección de los estímulos fue medido con un fotómetro flash (SR01 Gröbel UV Elektroniks, resolución 1nm) y calibrado contra un estándar blanco de BaSo₄. La **Fig. 6** muestra las curvas de reflección espectral de los estímulos (discos de color) que debían ser detectados y del fondo gris contra el cual eran presentados. Del mismo modo, se presenta el espacio COC de color de la abeja *A. mellifera* (Backhaus 1991, 1993; ver Introducción) y la ubicación de los

diferentes estímulos en el mismo. El centro de coordenadas del espacio COC está dado por el fondo de adaptación de los fotorreceptores, es decir por el fondo gris, relativo al cual las abejas deben detectar los diferentes colores presentados.

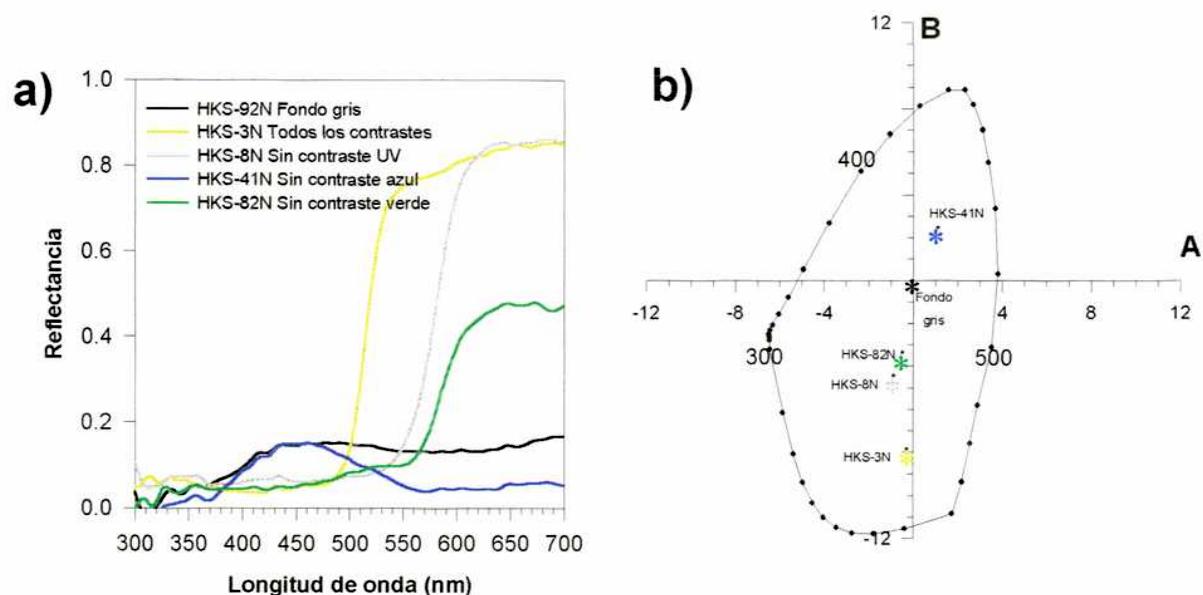


Figura 6a Reflectancia espectral de los estímulos utilizados. **Figura 6b** Posición que ocupa cada estímulo en el espacio de color COC.

2.3 Parámetros espectrales

Los parámetros espectrales medidos para cada estímulo fueron el *contraste cromático*, *contraste de intensidad* y los *contrastos específicos para un tipo de fotorreceptor* (ver Introducción). Estos son los parámetros que median las diferentes tareas visuales de la abeja *A. mellifera* (Giurfa et al. 1997).

El *contraste específico para un tipo de fotorreceptor* q_i se calcula a partir de los cuantos de luz que absorbe el tipo de fotorreceptor considerado (UV, azul o verde) al ser estimulado por un objeto dado, normalizados a los cuantos absorbidos por el mismo tipo de fotorreceptor al ser estimulado por la luz reflejada por el fondo de presentación, en este caso el fondo gris:

$$q_i = \frac{\int_{300}^{700} I(\lambda)R(\lambda)S_i(\lambda)d\lambda}{\int_{300}^{700} I(\lambda)B(\lambda)S_i(\lambda)d\lambda}$$

$i = UV, Azul, Verde$

Siendo $I(\lambda)$ la distribución de intensidad espectral de la luz incidente (función D65 luz normal), $R(\lambda)$ la reflección espectral del estímulo considerado, $B(\lambda)$ la reflección espectral del fondo gris y $S_i(\lambda)$ la sensibilidad espectral del fotorreceptor i (Menzel & Backhaus 1991).

El *contraste de intensidad* (I) generado por un estímulo contra el fondo gris fue calculado como la suma de los cuantos absorbidos por los tres tipos de fotorreceptores que miran al estímulo en cuestión, normalizada a la suma de cuantos absorbidos por los tres tipos de fotorreceptores que miran al fondo gris (ecuación).

$$I = \sum_i q_i$$

$i = UV, Azul, Verde$

Para cuantificar las diferencias cromáticas, se utilizó el espacio COC (Backhaus 1991; ver Introducción). En dicho espacio las coordenadas cromáticas A y B de cada estímulo fueron determinadas como:

$$A = \sum_{i=UV,a,v} a_i \frac{q_i}{q_i + 1}, \quad B = \sum_{i=UV,a,v} b_i \frac{q_i}{q_i + 1}$$

Con $a_i = \{-9.86, 7.70, 2.16\}$ y $b_i = \{-5.17, 20.25, -15.08\}$; donde i corresponde a los receptores UV, Azul, Verde.

La distancia perceptual P entre dos estímulos S_1 y S_2 fue calculada como la suma de las diferencias absolutas en las coordenadas cromáticas A y B [métrica City Block; ver Backhaus (1991), (1993)]:

$$P(S1, S2) = |A_{S1} - A_{S2}| + |B_{S1} - B_{S2}|$$

La **Tabla 1** resume los valores obtenidos de estos diferentes parámetros para los distintos estímulos de color empleados. Se puede apreciar que los colores ensayados tenían diferentes distancias perceptuales respecto del fondo gris (diferentes contrastes cromáticos) así como también distintos valores de contraste de intensidad y de contraste para los tres tipos de fotorreceptores específicos. Todos los estímulos eran cromáticos para las abejas, puesto que sus diferencias perceptuales respecto del fondo eran suficientes para hacerlos discriminables (intervalo: desde 3.4 a 8.3 unidades COC).

Color del estímulo	Coordenadas cromáticas		Contraste Cromático (Unidades COC)	Contraste receptor específico (Cuantos absorbidos relativos al fondo gris)			Intensidad (Suma de los cuantos absorbidos)
	A	B		UV	B	G	
Fondo gris	0	0	0	1	1	1	3
HKS-8N, Naranja para un observador humano)	-0.9	-4.5	5.4	1	0.6	1.6	3.2
HKS-41N, Azul oscuro para un observador humano	1.1	2.4	3.5	0.6	1	0.7	2.3
HKS-82N, Marrón para un observador humano	-0.5	-3.5	4	0.6	0.4	1	2
HKS-3N, Amarillo para un observador humano	-0.3	-8	8.3	0.8	0.5	4.1	5.4

Tabla 1 Parámetros espectrales de los estímulos usados. En la columna 2 se muestra el grado de excitación que cada estímulo genera en cada una de las neuronas oponentes. La columna 3 muestra la distancia perceptual al fondo gris de presentación. Esta columna es la que da idea de la diferencia cromática que cada estímulo posee respecto al fondo gris. Todos nuestros estímulos poseen contraste cromático puesto que todos difieren del fondo gris. La columna 4 muestra los contrastes acromáticos específicos para cada fotorreceptor. Nótese que HKS-8N no presenta contraste UV, HKS-41N no presenta contraste azul y HKS-82N no presenta contraste verde. La columna 5 muestra la intensidad total de los estímulos (sumatoria de los cuantos absorbidos en los tres fotorreceptores).

2.4 Procedimiento

El objetivo de nuestros experimentos es encontrar el ángulo visual mínimo que un estímulo de color debe subtender para ser detectado. Con este fin, el ángulo subtendido por diferentes estímulos de color fue variado progresivamente,

cambiando la distancia de los mismos al punto de decisión de las abejas. Dado que las abejas deben elegir entre la presencia del estímulo en un brazo del dispositivo y su ausencia en el otro (ver arriba), a partir de un cierto ángulo visual reducido, en el cual la detección deja de ser posible, elegirán ambos brazos aleatoriamente.

Cada experimento comenzó entrenando un grupo de 4-5 abejas marcadas a entrar al aparato a colectar solución azucarada sobre el estímulo recompensado. De éstas, sólo una permanecía siendo el resto enjaulado. Así, sólo una abeja por vez era admitida en el aparato. La abeja experimental entraba al aparato a través de un agujero circular de 5 cm de diámetro y tenía entonces acceso a una pequeña cámara de decisión (8 cm de largo) desde la cual las dos paredes finales de ambos brazos eran visibles. Como se explicó al describir el aparato, en uno de los brazos un disco de color de 8 cm de diámetro fue presentado contra el fondo gris. La abeja que entraba a este brazo recibía una recompensa de solución azucarada cuando aterrizaba en el disco de color. El brazo alternativo mostraba el fondo gris solo y no ofrecía recompensa. Por lo tanto cada abeja era entrenada a distinguir entre la presencia o ausencia del disco de color (paradigma de detección). Ambos brazos eran intercambiados de manera pseudoaleatoria luego de una o dos visitas consecutivas recompensadas, para asegurarse que las abejas no asociaran la recompensa con uno de los brazos en particular. Las abejas sólo podían ver el disco de color en el momento en que entraban al aparato y volaban en la cámara de decisión.

Definimos el punto de decisión como el punto que se encuentra en el centro de la cámara de decisión. El ángulo visual α subtendido por el estímulo recompensado se define como:

$$\alpha = 2 \arctan(D / 2d)$$

donde D es el diámetro del estímulo (en este caso 8 cm) y d la distancia al estímulo (variable). Los valores de α presentados corresponden a la distancia del estímulo al punto de decisión arriba definido (**Fig. 5b**). Puesto que las abejas podían elegir uno u otro brazo desde la distancia máxima d_1 o desde la mínima d_2 , que representan los límites de la cámara de decisión, cada ángulo α se encuentra acotado por un margen de error establecido por los ángulos α_1 y α_2 calculados a partir de estas dos distancias d_1 y d_2 , respectivamente. Por lo tanto, $\alpha_1 < \alpha < \alpha_2$.

El ángulo visual mínimo detectable α_{\min} fue definido como el ángulo en el cual las abejas aún detectan al estímulo con una probabilidad $P_0 = 0.6$.

Cada abeja experimental iniciaba el experimento con el estímulo de color a una distancia control que podía ser 14 o 24 cm, es decir con el estímulo subtendiendo un ángulo visual grande de 32° o 19°, respectivamente. Si la abeja atravesaba la línea imaginaria que separa la cámara de decisión de los brazos se consideraba que había realizado una elección. En cada visita al aparato, sólo la primera elección de los brazos era registrada, para evitar la posibilidad que la segunda elección pudiera ser influenciada por el resultado de la primera. Cada vez que la abeja elegía el brazo con el disco entrenado, era recompensada y la elección era contada como correcta. Si la abeja elegía el brazo sin el estímulo, la elección era contada como incorrecta y la abeja era inmediatamente "castigada", sacándola del aparato y forzándola a volver entrar y elegir. La abeja entraba nuevamente al aparato y podía elegir correctamente o no, pero esta elección ya no era registrada.

El ángulo visual subtendido por el disco de color fue variado cambiando la distancia de las paredes finales al punto de decisión, hasta encontrar una distancia (i.e. un ángulo visual) a la cual el estímulo ya no era detectable, y las elecciones se distribuían al azar entre los dos brazos.

El criterio para definir que la abeja aprendía la presencia del disco de color a cada valor de ángulo visual fue que el porcentaje de elecciones correctas (i.e. elecciones del brazo con el disco de color) debía ser superior al 60%. Porcentajes de elecciones correctas superiores al 60% son habitualmente alcanzados luego de 10-20 elecciones en el caso de los estímulos de color (Menzel 1985, Giurfa et al. 1996). Las elecciones eran registradas hasta que se alcanzaba un nivel de significancia del 5% a favor del brazo positivo, o hasta un máximo de 30 elecciones.

Los discos de color fueron frecuentemente reemplazados por discos nuevos para evitar la orientación guiada por posibles marcas olfatorias. Es de destacar, además, que la información olfatoria juega un papel importante en las decisiones de las abejas sólo a cortas distancias (en el rango de 5 cm aproximadamente; ver Von Frisch 1967; Greggers & Mauelshagen 1997). Por ende, considerando que la distancia mínima al estímulo fue siempre de tres a cinco veces superior, difícilmente pudieron las abejas utilizar la información olfativa para sus elecciones.

2.5 Videoregistros

Una cámara conectada a un video-grabador fue utilizada para registrar los vuelos de las abejas que entraban al laberinto cuando éste era colocado en posición vertical. De este modo los vuelos de elección en el contexto de la detección ventral y dorsal fueron registrados y posteriormente digitalizados para determinar, mediante el análisis de la variación angular del eje longitudinal del cuerpo, si las abejas realmente usaban la región dorsal o ventral al realizar sus elecciones.

La filmación se realizó a 25 cuadros/s (50 medios cuadros/s). Las filmaciones fueron analizadas en el Institut für Neurobiologie de la Freie Universität de Berlin, mediante programas de digitalización apropiados. El análisis consistió en determinar cuadro por cuadro la orientación del eje longitudinal del cuerpo de las

abejas con respecto a la vertical cuando deciden entre los brazos del laberinto. Puesto que la decisión era tomada cuando las abejas entraban a la cámara de decisión y veían ambas paredes finales simultáneamente, las medidas del ángulo definido por el eje del cuerpo y la vertical fueron restringidas a aquellas posiciones dentro de la cámara de decisión.

2.6 Estadística

Un test binomial fue utilizado para juzgar la significancia de la performance de detección (Zar 1985). Para el análisis de la variación de la posición angular del eje longitudinal del cuerpo de las abejas durante el vuelo de elección en la cámara de decisión se realizó un ANOVA de medidas repetidas, dado que los mismos individuos son evaluados en el tiempo.

3. Resultados

El primer paso fue estudiar la performance de detección en las diferentes regiones del ojo compuesto de la abeja usando un estímulo claramente detectable. Con este fin, se empleó un disco de cartulina HKS-3N (amarillo intenso para un observador humano; ver Materiales y Métodos; sección 2). Este estímulo presentaba el mayor contraste cromático y el mayor contraste acromático para el fotorreceptor verde (**Tabla 1**), dos características que lo hacen fácilmente detectable cuando es presentado frontalmente (Giurfa et al. 1996).

Dicho estímulo fue presentado ventral, dorsal y frontalmente. La performance de detección en estos tres planos fue estudiada con tres grupos diferentes de abejas. Los resultados se muestran en la **Fig. 7**.

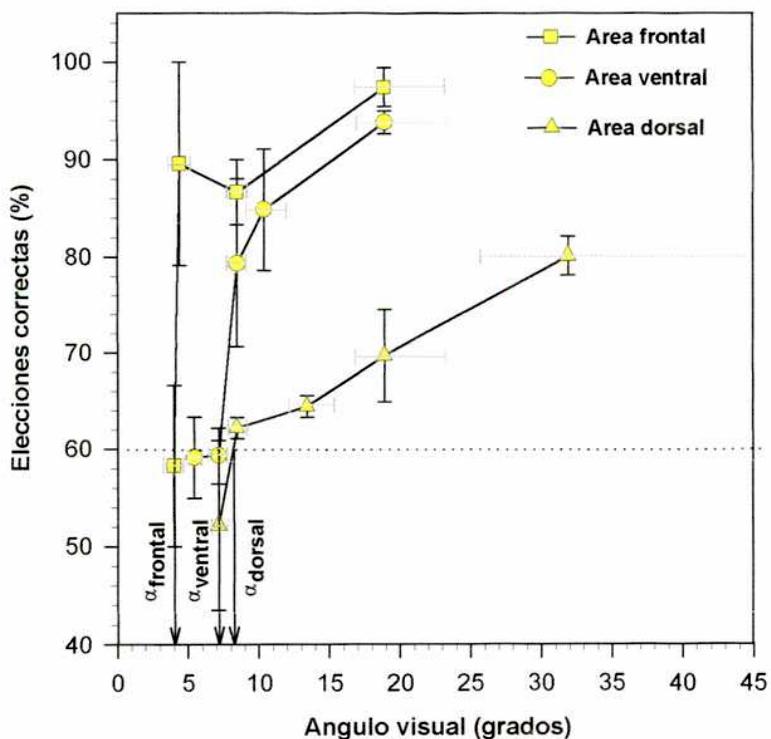


Figura 7 Resultados obtenidos (% Elecciones correctas) con un estímulo que posee todos los contrastes (HKS-3N; amarillo para el observador humano), y fue presentado en los tres planos (ventral, dorsal y frontal).

El ángulo visual mínimo al cual las abejas detectan el estímulo con una probabilidad de 0.6 (Giurfa et al. 1996; ver Materiales y Métodos) puede ser leído de esta figura para las tres situaciones experimentales. La eficiencia de la detección varió según la región del ojo compuesto involucrada: α_{\min} fue $4^\circ \pm 0.5$ para la zona frontal, $7^\circ \pm 0.5$ para la zona ventral, y $8^\circ \pm 0.6$ para la zona dorsal.

El valor de α_{\min} encontrado para la detección frontal ($4^\circ \pm 0.5$) es comparable con el valor de $5^\circ \pm 0.5$ hallado por Giurfa et al (1996) para la misma tarea usando el mismo estímulo (HKS-3N) en un dispositivo ligeramente diferente (laberinto en Y). Las curvas de detección de las regiones ventral y frontal del ojo compuesto difirieron significativamente respecto a su α_{\min} pero son similares en lo que respecta a su forma. Ambas tienen el aspecto de "funciones escalonadas" ("*step functions*"), es decir, la probabilidad de detección cambia abruptamente cuando el ángulo visual se halla cerca del α_{\min} . Tal aspecto no se encuentra en el caso de la curva de detección de la región dorsal. En este caso las abejas tuvieron más dificultades en resolver la tarea planteada y alcanzaron por ende un nivel más bajo de elecciones correctas a lo largo de todo el rango de ángulos visuales ensayados.

A fin de estudiar más detenidamente las diferencias en la performance de detección dependiendo de la zona específica del ojo compuesto, analizamos las videogramas que mostraban a las abejas durante las elecciones en el laberinto. En particular, digitalizamos las trayectorias en la cámara de decisión en el momento de elegir el brazo correcto del laberinto.

La **Fig. 8** muestra un ejemplo representativo de las trayectorias de las abejas en el caso de la detección ventral y la dorsal. Se observa que la orientación del eje longitudinal del cuerpo con respecto a la vertical varía significativamente entre

ambas situaciones experimentales. La **Fig. 9** presenta un análisis cuantitativo de esta variación.

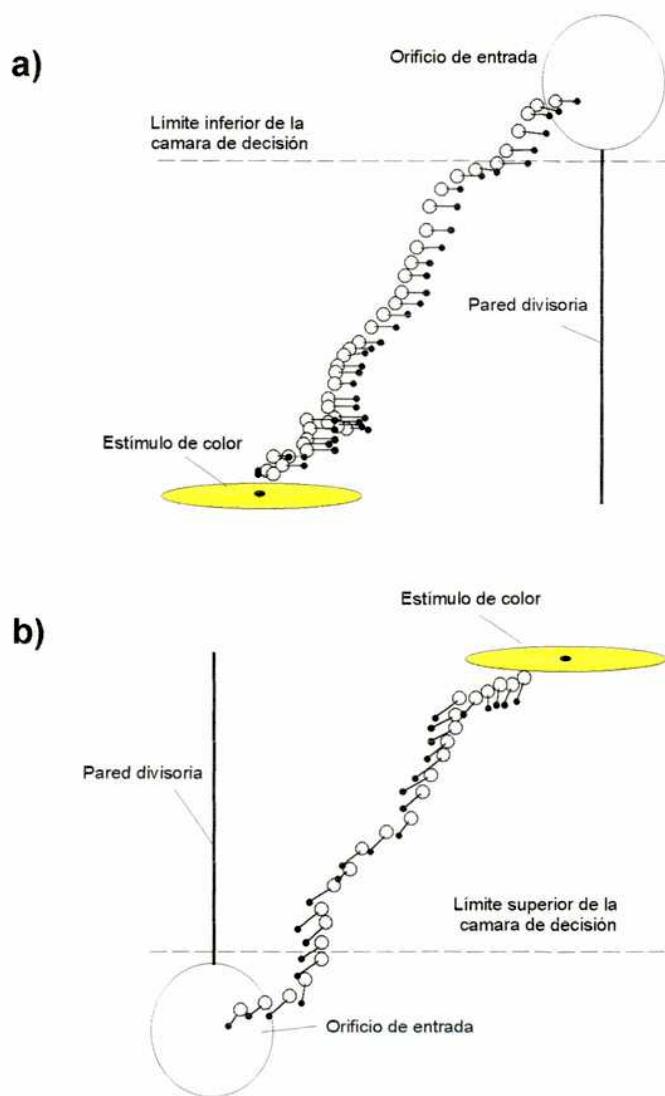


Figura 8 Ejemplos representativos de las trayectorias de distintas abejas cuando el estímulo fue presentado en el plano Ventral (**8a**), y dorsal (**8b**). Puede apreciarse como en la figura (**8b**) hay una tendencia a variar el ángulo del cuerpo de manera de ver el estímulo con la zona frontal. Esto no ocurre en el ejemplo (**8a**) (estímulo en posición ventral).

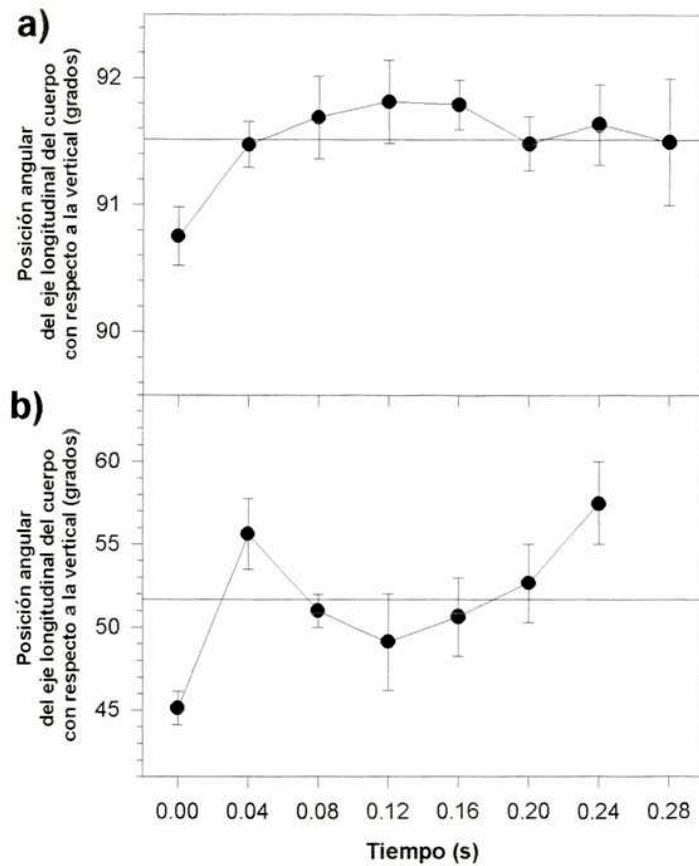


Figura 9 Variación de la posición angular del eje longitudinal del cuerpo de las abejas cuando el estímulo fue presentado en los planos ventral (9a) y dorsal (9b). Los valores angulares están referidos a la vertical (0°). Cuando el estímulo es presentado en el plano dorsal la posición media del eje corporal es 51° . Cuando es presentado en el plano ventral, la posición media es 91.5° . Las líneas horizontales indican el valor medio en cada caso.

Cuando el estímulo fue presentado ventralmente, el eje longitudinal del cuerpo de la abeja se mantuvo horizontal y constante a lo largo de toda la trayectoria dentro de la cámara de decisión (y también *a posteriori*). Ningún cambio significativo en la posición angular del eje longitudinal pudo observarse a lo largo de las posiciones en la cámara de decisión (**Fig. 9a**; Anova para medidas repetidas: $F=0.45$; $df=7.7$; NS). El ángulo medio del eje longitudinal fue de $91.5^\circ \pm 0.1$ (media + E.S.; $n=8$; ver línea horizontal en la **Fig. 9a**). De este modo, el disco de color se proyectó

exclusivamente en la región ventral del ojo compuesto de la abeja. Las elecciones registradas en esta situación se basan pues en una detección ventral exclusiva.

Cuando el estímulo fue presentado dorsalmente, las abejas inclinaron el eje longitudinal de su cuerpo y lo mantuvieron constante en esa posición a lo largo de toda la trayectoria dentro de la cámara de decisión (**Fig. 9b**). Ningún cambio significativo en la posición angular del eje longitudinal del cuerpo pudo observarse a lo largo de las posiciones medidas (Anova para medidas repetidas: $F=0.89$; $df=6.6$; NS). El ángulo medio del eje longitudinal fue de $50.9^\circ \pm 0.9$ (media + E. S.; $n=6$; ver línea horizontal en la **Fig. 9b**). Estos resultados indican que cuando el estímulo fue presentado dorsalmente las abejas no utilizaron la región dorsal del ojo compuesto para la detección, sino que elevaron el eje longitudinal del cuerpo de modo a proyectar el estímulo sobre la zona fronto-dorsal. Así, a diferencia de la detección ventral que ocurre indefectiblemente, no es posible encontrar una detección dorsal "pura", en el dispositivo usado.

Este resultado indica que nuestro dispositivo experimental es apropiado para estudiar las características de la detección ventral más no las de la detección dorsal, ya sea porque la misma no ocurre naturalmente o porque el aparato no permite visualizarla y/o acotarla. Esta conclusión se ve reafirmada por la dificultad misma de la tarea medida en términos de la proporción de abejas que efectivamente aprendieron a detectar el estímulo a la distancia control primera, relativa al total de abejas entrenadas con ese estímulo (AbAp/AbTot; **Tabla 2**). El porcentaje de abejas que aprendieron fue sólo 50% para la detección dorsal mientras que fue 76% y 71% para las detecciones ventral y frontal, respectivamente.

Color	AbAp/AbTot
HKS-3N, Todos los contrastes. (ventral). Distancia. Control 20 cm.	16/21 (76.19%)
HKS-3N, Todos los contrastes. (frontal). Distancia. Control 20 cm.	5/7 (71.43%)
HKS-3N, Todos los contrastes. (dorsal). Distancia. Control 10 cm.	5/10 (50%)
HKS-8N, Sin contraste UV. (ventral). Distancia. Control 20 cm.	8/10 (80%)
HKS-82N, Sin contraste verde. (ventral). Distancia. Control 10 cm.	12/15 (80%)
HKS-41N, Sin contraste azul. (ventral). Distancia. Control 10 cm.	7/23 (30.44%)

Tabla 2 Cantidad de abejas que efectivamente aprendieron a detectar cada estímulo relativo a la cantidad de abejas totales entrenadas.

Por ende, nos concentraremos de aquí en más en la detección ventral que sí puede ser bien caracterizada.

Diferentes grupos de abejas fueron entrenados en el paradigma de detección ventral con los diferentes estímulos de color presentados en la **Tabla 1** (HKS-8N, HKS-41N, HKS-82N: naranja, azul oscuro y marrón para un observador humano, respectivamente; ver Materiales y Métodos, sección 2). El objetivo fue determinar cómo los diferentes parámetros espectrales (ver Materiales y Métodos; sección 3) afectan la detección ventral.

No todos los estímulos fueron igualmente bien aprendidos. La **Tabla 2** muestra claramente que las abejas tuvieron dificultades en aprender el estímulo carente de contraste azul aun en la distancia control (HKS-41N). La detección de los demás

colores no presentó tal problema a esta distancia. Es decir que la supresión de los contrastes UV (HKS-8N) y verde (HKS-82N) no afecta el aprendizaje de la presencia de estos estímulos a ángulos subtendidos mayores.

El ángulo visual mínimo (α_{\min}) para la detección de un estímulo de color varió dependiendo de la presencia o ausencia de contraste para los tres tipos de fotorreceptores específicos (**Fig. 10**).

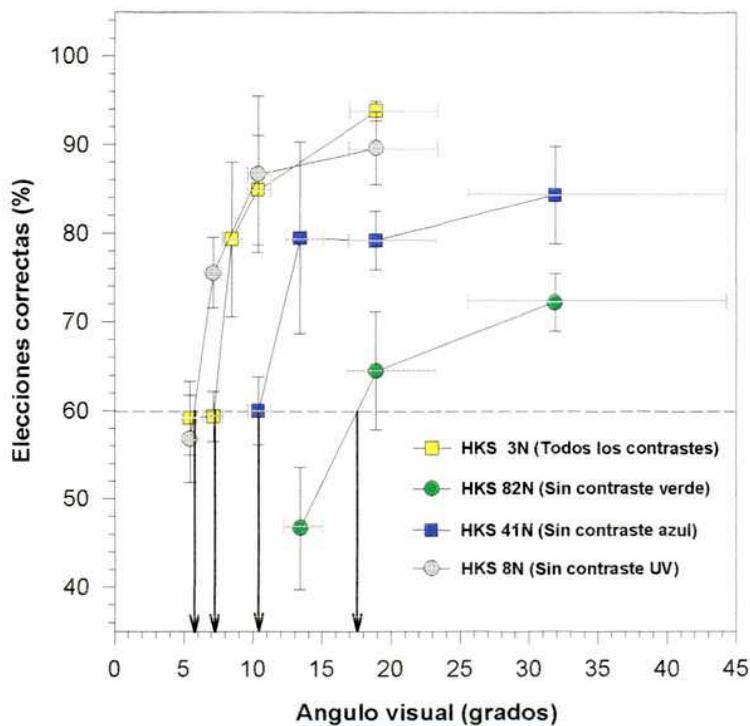


Figura 10 Performances visuales de las abejas cuando se utilizaron distintos estímulos en el plano ventral. Estos estímulos carecían de los contrastes específicos UV HKS-8N, azul HKS4-1N y verde HKS-82N. A modo de comparación se presenta la curva ventral de la **fig 7** para el estímulo que presenta todos los contrastes HKS-3N.

La supresión del contraste UV mediante el estímulo HKS-8N no afectó la performance de detección; en este caso α_{\min} fue $6^{\circ} \pm 0.5$ y por lo tanto comparable con el obtenido para la detección ventral del estímulo que presenta todos los

contrastos específicos (HKS-3N: $7^\circ \pm 0.5$; ver arriba). Contrariamente la supresión de los contrastes azul y verde afectó significativamente la detección; en estos dos casos se obtuvieron valores de α_{\min} de $10^\circ \pm 0.1$ y $17^\circ \pm 3$, respectivamente. Así, de los dos contrastes, el contraste para el fotorreceptor verde parece tener una mayor contribución en la detección ventral de un estímulo de color ya que su supresión lleva a un empeoramiento más drástico (α_{\min} mayor) de la performance.

Parámetros tales como el contraste de intensidad y el contraste cromático pueden ser descartados como determinantes del resultado obtenido. Un examen del contraste de intensidad no muestra correlación alguna con el comportamiento de las abejas: HKS-8N, un estímulo que casi no posee contraste de intensidad con respecto al fondo gris usado (ver **Tabla 1**), resultó en una curva de detección similar a la obtenida con HKS-3N el cual presenta un alto contraste de intensidad. De la misma forma, HKS-41N y HKS-82N tenían prácticamente el mismo contraste de intensidad y resultaron, sin embargo, en diferentes valores de α_{\min} . Tampoco hubo correlación entre la performance de detección y el contraste cromático. Por ejemplo, HKS-82N, el estímulo que fue peor detectado (por carecer de contraste específico para el fotorreceptor verde), presentaba un importante contraste cromático.

4. Discusión

4.1. Eficiencia de la detección de colores de acuerdo a las distintas zonas del ojo compuesto

Este trabajo demuestra que la eficiencia de la detección de estímulos de color en la abeja *A. mellifera* varía según la región del ojo compuesto involucrada; α_{\min} es $4^\circ \pm 0.5$ para la zona frontal, $7^\circ \pm 0.5$ para la zona ventral, y $8^\circ \pm 0.6$ para la zona dorsal.

El α_{\min} de 4° para la zona frontal coincide con el de 5° hallado por Giurfa et al. (1996), quienes utilizaron el mismo estímulo de color (HKS-3N) en un aparato diferente (laberinto en Y). En ese trabajo se ensayaron también estímulos de menor diámetro, los cuales fueron detectados a una distancia menor, pero con un α_{\min} constante. Dos condiciones experimentales distintas y un mismo resultado indican que el aparato utilizado en nuestro trabajo funciona bien y que, en principio, no hay artefactos introducidos por el uso de este dispositivo.

El α_{\min} alcanzado cuando se evaluó la zona ventral fue de $7^\circ \pm 0.5$. La detección es peor, entonces, cuando la abeja utiliza sólo la zona ventral de los ojos compuestos en comparación con la zona frontal.

Estos resultados muestran que muchas de las argumentaciones que han postulado una especialización (no demostrada) de la región ventral del ojo compuesto para la detección de estímulos florales no son necesariamente ciertas (Lehrer 1997, 1998). La esencia de estas ideas consiste en afirmar que para un insecto en vuelo sobre un prado, los estímulos florales aparecen esencialmente en el plano ventral del ojo compuesto por lo cual determinadas especializaciones comportamentales (ya que no anatómicas y/o fisiológicas) serían esperables (ver

Introducción). No es el caso, al menos, de la detección de estímulos de color. La performance ventral es claramente inferior a la llevada a cabo por el área frontal. Probablemente otros parámetros visuales sean más importantes para detectar visualmente la presencia de un estímulo floral en el plano ventral. Por ejemplo, la información de movimiento generada por el desplazamiento relativo del objeto en cuestión en la retina del animal (paralaje) es una clave fundamental que muchos insectos explotan para localizar objetos (Lehrer et al. 1988; Srinivasan et al. 1989). Mediante el uso de estos detectores de movimiento, las abejas podrían detectar ventralmente la presencia de flores, sin necesidad de resolver espacialmente con fineza su ángulo visual.

Los resultados referidos a la eficiencia de la detección en la zona dorsal del ojo compuesto deben relativizarse ya que, a diferencia de la detección ventral que ocurre indefectiblemente, los registros de las trayectorias de vuelo de las abejas muestran que no es posible encontrar una detección dorsal "pura", al menos en el dispositivo usado. En la detección "dorsal" interviene un importante componente frontal ya que las abejas inclinan su cuerpo $50^\circ \pm 9$ con respecto a la vertical al ser ensayadas en un paradigma de detección dorsal. La detección que ocurre cuando un estímulo es presentado ventralmente es, en cambio, puramente ventral. El ángulo que forma el eje longitudinal del cuerpo con la vertical en esta situación es $91.5^\circ \pm 0.1$.

Por otro lado, puede también observarse que la curva de detección obtenida cuando la abeja utiliza la región supuestamente dorsal tiene un perfil distinto si la comparamos con las curvas de detección obtenidas de las zonas ventral y frontal (**Fig. 7**). Estas últimas presentan una caída abrupta ("step function") a partir del ángulo límite, lo cual corresponde a un fenómeno de tipo umbral; más allá de α_{\min} la detección no es posible. La curva de detección dorsal, en cambio, nunca alcanza un

nivel elevado de respuestas correctas y presenta una variación más gradual con el ángulo subtendido por el estímulo de color. Además, el porcentaje de abejas exitosas en esta tarea fue significativamente menor (50%; ver **Tabla 2**).

Estos hechos indican que la detección que ocurre cuando un estímulo de color es presentado dorsalmente respecto al eje longitudinal del cuerpo de una abeja en vuelo es, en realidad, realizada mediante el área frontodorsal del ojo compuesto y no mediante el área dorsal. Se puede concluir además que resulta difícil evaluar la eficacia del área dorsal en la detección de estímulos de color con este método, ya sea porque ésta no ocurre naturalmente o porque el dispositivo usado no permite acotarla. Podría pensarse que el área dorsal no es usada para la detección de estímulos de color sino que está especializada en la percepción de luz UV de la bóveda celeste para la navegación (Wehner 1989, 1994). Parte del área dorsal (el borde interno y superior del área dorsal) es denominada área POL (Wehner & Strasser 1985) e interviene en la detección y análisis de los vectores de luz polarizada que caracterizan a la bóveda celeste (Wehner & Rossel 1985). Estos vectores (los diferentes ángulos de polarización) son percibidos a modo de modulaciones específicas de la luz UV (Wehner 1989). Puede pensarse que el resto del área dorsal contribuye también a la navegación mediante una especialización espectral en el rango del ultravioleta. Independientemente de la luz polarizada en sí, un gradiente espectral informa a la abeja en qué parte de la bóveda se halla (Wehnwer & Rossel 1985). La luz UV no polarizada se asimila a cualquier región del meridiano antisolar. El área dorsal podría jugar un papel preponderante en La percepción de la luz ultravioleta no polarizada.

4.2 La importancia de los contrastes para los tres tipos de fotorreceptores específicos

El ángulo visual mínimo (α_{\min}) para la detección de un estímulo de color en el plano ventral varía dependiendo de la presencia o ausencia de contraste para los tres tipos de fotorreceptores específicos. La supresión del contraste ultravioleta mediante el estímulo HKS-8N no afecta la detección; en este caso α_{\min} fue $6^\circ \pm 0.5$ y por lo tanto comparable con el obtenido para la detección ventral del estímulo que presenta todos los contrastes específicos (HKS-3N: $7^\circ \pm 0.5$; ver arriba). Contrariamente la supresión de los contrastes azul y verde afecta significativamente la detección; en estos dos casos se obtienen valores de α_{\min} de $10^\circ \pm 0.1$ y $17^\circ \pm 3$, respectivamente.

De estos dos contrastes, el verde es claramente el más crítico: su supresión lleva a una peor detección, dado que las abejas necesitan acercarse más a los estímulos con el fin de detectarlos. Este resultado es consistente con los trabajos de Giurfa et al. (1996; 1997) y Giurfa & Vorobyev (1998) quienes postularon que la detección a ángulos visuales pequeños está mediada exclusivamente por detectores que operan en base a la información acromática del contraste verde (ver Introducción). Similar a lo encontrado para el área frontal, puede verse que el agregado de contraste verde permite extender el rango de detección ventral de $17^\circ \pm 3$ a $7^\circ \pm 0.5$. Es interesante notar que el rango de aumento es exactamente el mismo que el hallado para el área frontal: 10° . En el caso del área frontal, el α_{\min} para la información cromática sin contraste verde es 15° , y 5° si se agrega el contraste verde. Así, la detección ventral a ángulos visuales pequeños está mediada por detectores acromáticos de contraste verde. Estos detectores

presentarían una especialización angular tal que transmitirían las señales generadas por ángulos visuales pequeños.

Este resultado reafirma la importancia del canal acromático visual basado en el receptor verde. Este es en realidad el canal acromático más relevante en la visión de las abejas, como lo muestran numerosos resultados que muestran su incidencia en numerosas tareas que van desde la percepción de bordes, reacción optomotora, vuelo balanceado, estimación de distancias, etc. (ver Lehrer 1994 como review). Del mismo modo, es importante notar que, una vez más, se demuestra aquí que la intensidad como dimensión acromática (medida en términos de la suma de las excitaciones de los tres tipos de fotorreceptores) no es usada en este contexto por las abejas (Ver introducción). No hubo ninguna correlación entre el comportamiento de los insectos y este parámetro que constituye la dimensión acromática humana.

Por otro lado, nuestros resultados indican que, en menor grado, también el contraste azul es importante para la detección de estímulos de color en el área ventral. Este resultado es sumamente novedoso ya que en escasas ocasiones se ha encontrado que tal contraste juega un papel en alguna respuesta comportamental. Zhang et al. (1990) mostraron que en el seguimiento de objetos con movimiento pendular (similares a flores sobre un tallo móvil agitado por el viento), el contraste verde es fundamental, como se espera en toda tarea relacionada con la percepción de movimiento en los insectos, pero también lo es el contraste azul. Sin embargo, este resultado ha permanecido ignorado hasta ahora, y nadie (ni los propios autores) ha discutido su posible significado fisiológico y/o comportamental. Un hecho interesante al respecto es la cantidad de errores que las abejas cometieron cuando se ensayaron los distintos colores (**Tabla 2**). Aún a ángulos visuales grandes les resulta difícil aprender a detectar el estímulo que carece de contraste azul.

Recientemente, White y colaboradores (Cutler et al. 1995; Bennett et al. 1997) mostraron que la respuesta alimentaria de elección de estímulos de color por la mariposa *Manduca sexta* está mediada esencialmente por fotorreceptores máximamente sensibles en la región del azul (450 nm) (Cutler et al. 1995) y que se hallan mayoritariamente concentrados en la región ventral que es tricromática (Bennett et al. 1997). Si bien, contrariamente a *M. sexta*, no existe evidencia que muestre que la respuesta de elección de colores de abejas experimentadas se halla mediada por algún tipo de fotorreceptor en particular, sería interesante estudiar la topografía y distribución de los tres tipos de fotorreceptores a lo largo y ancho del ojo compuesto de *A. mellifera*. Se podría esperar que los fotorreceptores azules tengan una incidencia importante en la región ventral. Esto explicaría por qué la supresión del contraste azul dificulta la detección y el aprendizaje de estímulos de color que carecen de tal información.

Esta hipótesis debe ser probada por medio de técnicas de electrofisiología, pero los resultados de nuestro trabajo constituyen un indicio acerca de una posible asimetría entre las áreas frontal y ventral basada en una diferencia en la distribución de los fotorreceptores.

Otra posibilidad a tener en cuenta apunta, no a una asimetría en la periferia, es decir a nivel de los fotorreceptores, sino a nivel del procesamiento central de las señales acromáticas que provienen de la zona ventral; por ejemplo que la información acromática contraste azul tenga más peso en ésta región que en la frontal. Como en el caso anterior, estudios electrofisiológicos permitirían resolver este problema.

Dos conclusiones se desprenden entonces respecto de la incidencia del contraste azul en las tareas de detección: 1) La abeja utiliza el contraste azul como señal de reconocimiento en la zona ventral. 2) El "cuello de botella" se encuentra

relacionado con el número de fotorreceptores azules en esta área, o con alguna etapa posterior del procesamiento de la señal visual.

4.3. Especializaciones anatómicas en el ojo compuesto de la abeja *A. mellifera*

Puesto que los ojos compuestos de los insectos enfocan distintas zonas del espacio a un mismo tiempo no es sorprendente encontrarse con que cada una de estas regiones desempeñe eficazmente diferentes tareas que tienen que ver con la biología del insecto.

En lo que respecta a la óptica del ojo compuesto, los ojos de la mayoría de los insectos cazadores (mantidos, libélulas, avispas) tienen ángulos interomatidiales ($\Delta\phi$) menores de 1°. En todos los casos, los ángulos más chicos se encuentran en la zona que mira hacia delante. Estas zonas poseen una gran resolución espacial, característica que les confiere una gran eficacia en la caza (Land, 1997). En muchos dípteros y algunos otros ordenes, es el macho quien posee las regiones de gran agudeza. Estas son usadas para detectar y atrapar las hembras durante la copula (Land, 1997).

Abejas, mariposas y langostas son insectos herbívoros y/o polinizadores voladores que comparten un patrón característico de cambio en la densidad de los ejes interomatidiales y en su relación vertical-horizontal. En todo el ojo hay dos gradientes separados: el $\Delta\phi_h$ (ángulo interomatidial entre omatidios adyacentes en el eje horizontal) y el $\Delta\phi_v$ (ángulo interomatidial entre omatidios adyacentes en el eje vertical). $\Delta\phi_h$ es menor en la región frontal del ojo compuesto y se incrementa hacia atrás, hacia las regiones medias y laterales (Land 1997). $\Delta\phi_v$ es menor alrededor del ecuador y aumenta hacia los polos ventral y dorsal. Estos dos gradientes resultan en dos zonas de acuidad visual aumentada: 1) una zona de alta resolución en el campo visual frontal, y 2) una banda en el ecuador del ojo

La agudeza decreciente en sentido fronto-caudal puede pensarse como una adaptación, de esta manera el flujo de imágenes con que el animal se encuentra cuando vuela es una vista estacionaria directamente enfrente de él, y un campo de imágenes que se desplaza rápidamente a ambos lados; este campo sería percibido como una mancha borrosa particularmente cuando el animal vuela cerca de la vegetación. La agudeza visual aumentada alrededor del ecuador del ojo implica una resolución espacial aumentada en el plano vertical más no en el plano horizontal.

Es de notar, sin embargo, que a nivel anatómico y de acuerdo al diseño óptico del ojo compuesto de la abeja *A. Mellifera*, no se puede explicar la asimetría en los resultados de la detección ventral vs. dorsal que encontramos. Ambos polos son, en lo que hace a su diseño óptico, equivalentes, y no se puede entonces adscribir las diferencias comportamentales a diferencias en este aspecto. Por otro lado es posible que la diferencia hallada entre las zonas frontal y ventral (cuando utilizamos el estímulos con todos los contrastes HKS-3N. **Fig. 7**) sí sea explicada por la diferencia anatómica en la distribución y tamaño del diámetro de los omatidios en cada zona del ojo (los ángulos interomatidiales son mayores en los polos, esto significa que la resolución espacial es menor en el área ventral y dorsal comparada con la frontal), es decir que para excitar la misma cantidad de omatidios que en el área frontal, cuando la abeja utiliza el área ventral debe aproximarse más al estímulo (ángulo visual mayor).

4.4. Un contexto natural para la detección de colores

La visión de las abejas juega un papel preponderante durante la recolección de alimento en las flores (Menzel 1985; Giurfa & Menzel 1997). La abeja es un animal que se alimenta de néctar y polen, ambos productos fabricados por las flores. Cada abeja de una colonia forrajea sobre una sola especie de flor en sus

vuelos de recolección (Grant 1951). Dentro de las características que el animal evalúa para diferenciar esta flor de otras especies adyacentes se encuentran el color (señal cromática) y el contraste específico para el receptor verde (señal acromática) (Giurfa et al. 1996; 1997; Giurfa & Vorobyev 1998).

En la naturaleza, las plantas presentan sus estructuras florales en distintos planos, obligando a las abejas y demás polinizadores a utilizar distintas zonas de sus ojos compuestos en las tareas de recolección de alimento. En general, se ha observado que flores con simetría radial se presentan generalmente horizontales, obligando entonces a una detección ventral, mientras que las flores zigomórficas se presentan generalmente verticales, obligando así a una detección frontal (Menzel & Shmida 1993; Neal et al. 1998). Se ve entonces que la detección dorsal de estímulos florales es rara en un contexto natural, siendo la ventral y la frontal las más comunes. Sin embargo, es de notar que existen flores que presentan corolas pendulares (e.g. Campanulaceae) esto no implica, sin embargo, que usen la zona dorsal para detectar tales flores. Como nuestros resultados lo indican, tal detección podría ocurrir mediante la zona frontodorsal, o simplemente con la zona frontal puesto que una flor que pende bien puede ser vista con la zona frontal del insecto y no es necesario que el animal se aproxime exclusivamente por debajo utilizando la zona dorsal.

El color, medido como diferencia perceptual respecto al fondo de presentación, tiene prioridad sobre estímulos de otra modalidad como por ejemplo el olor (Giurfa & Núñez 1993; Giurfa et al. 1994). Cuando la diferencia perceptual entre los colores de flores artificiales recompensadas y no recompensadas era grande, las abejas no usaban la información olfativa de una feromona repelente que indica la ausencia de recompensa en las flores (Giurfa & Núñez 1992; Giurfa & Nuñez 1993). Sólo cuando la diferencia perceptual era reducida y los dos grupos de flores

eran prácticamente similares cromáticamente, las abejas usaban la información olfativa.

Se sabe que las abejas pueden, en un contexto de aprendizaje apetitivo, discriminar correctamente entre distintos estímulos propuestos basando su elección en características tales como su color. Tres visitas recompensadas a un estímulo de color alcanzan para que el animal diferencie ese color de otros por el resto de su vida (Menzel 1968). La información acromática requiere, en cambio, más actos de aprendizaje (Menzel et al. 1985). Las abejas pueden también aprender distintos grados de contraste verde y discriminar estímulos en base a esta diferencia acromática (Giurfa et al., 1997; Giurfa & Vorobyev 1998).

Los colores de las flores sobresalen y se diferencian del follaje del fondo así como también de hojas secas, piedras grises, y otros fondos inorgánicos (Chittka et al., 1994). En muchos casos estos fondos se agregan en la misma área central del espacio de color de la abeja mientras que los colores de las flores aparecen en regiones claramente distintas y periféricas del espacio de color.

Del mismo modo, numerosas especies de flores (especialmente las flores púrpuras y amarillas para el ojo humano) generan el contraste acromático verde respecto del fondo (Giurfa et al., en preparación). Así mismo, numerosas flores generan también contraste azul respecto del fondo (flores azules y violetas). Sólo no se encuentran grandes diferencias en la región del UV. Estas características de las flores naturales coinciden con nuestros resultados experimentales acerca de la incidencia de los diferentes tipos de contrastes acromáticos para los tres tipos de receptores específicos.

Sin embargo, debe evitarse todo argumento simplista acerca de una supuesta coadaptación entre las señales florales y la visión de las abejas. La evolución de las señales cromáticas es guiada por las capacidades sensoriales y perceptuales, la

habilidad de aprender dichas señales y las preferencias innatas de los animales que las reciben. Estas señales pueden a su vez influenciar la evolución de los receptores. Esta influencia mutua está modelada por la luz del hábitat en el cual se encuentran. La hipótesis que la visión de color en insectos constituye una adaptación a una clase particular de objetos, las flores de las Angiospermas, debe ser rechazada (Chittka, 1997): el conjunto de receptores UV – Azul - Verde se verifica en Crustacea e Insecta y en los ancestros comunes de estas clases (Chittka 1997). La visión tricromática de los insectos es indudablemente una característica adaptativa, pero a un conjunto de condiciones ambientales desconocidas.

Conclusión

En este trabajo encontramos que las tres zonas del ojo compuesto de la abeja *A. mellifera* (ventral dorsal y frontal) no se comportan de igual manera en la detección de estímulos de color. La zona frontal es la más eficaz ($\alpha_{\min} = 4^\circ \pm 0.5$), le sigue la zona ventral ($\alpha_{\min} = 7^\circ \pm 0.5$) y finalmente, la zona dorsal ($\alpha_{\min} = 8^\circ \pm 0.6$). En este último caso, no es correcto hablar de una detección dorsal pura.

La detección de colores por las zonas ventral y frontal se afecta drásticamente si se suprime el contraste verde. La supresión del contraste azul afecta únicamente la detección por la zona ventral. Esta asimetría puede estar dada a nivel de los fotorreceptores (cantidad de fotorreceptores en cada zona), pero otra posibilidad sería que hay diferencias a nivel del procesamiento central de las señales acromáticas. Por otro lado el contraste UV no afecta la detección en las regiones ventral y frontal.

Analizando los espectros de reflección de distintas flores se observa que éstas presentan un contraste cromático respecto del fondo, así como también, por lo general, contrastes azul y verde. Este coincidiría con los resultados por nosotros

obtenidos acerca de la importancia de los contrastes azul y verde en la tarea de detección de colores. Sin embargo debe evitarse todo argumento simplista acerca de una coadaptación entre las señales florales y la visión de las abejas. La hipótesis que la visión de color en insectos constituye una adaptación a una clase particular de objetos, las flores de las Angiospermas, debe ser rechazada (Chittka, 1997). La visión tricromática de los insectos es indudablemente una característica adaptativa, pero a un conjunto de condiciones ambientales desconocidas. Probablemente fueron las flores las que, mediante sus señales visuales, explotaron las características del sistema visual de las abejas.

Referencias

- Anderson A. M. (1977) Parameters determining the attractiveness of stripe patterns in the honey bee. *Anim. Behav.* 25, 80–87.
- Backhaus W. (1991) Colour opponent coding in the visual system of the honeybee. *Vision Res.* 31:1381-1397.
- Backhaus W. (1993) Colour vision and colour choice behaviour of the honeybee. *Apidologie* 24:309-331.
- Backhaus W. & Menzel R. (1987) Colour distance derived from a receptor model of colour vision in the honeybee. *Biol. Cyb.* 55:321-331.
- Bennett R.R., White R.H. & Meadows J. (1997) Regional Specialization in the eye of the sphingid moth *Manduca sexta*. Blue sensitivity of the ventral retina. *Visual Neuroscience*. 14: 523-526.
- Brandt R. & Vorobyev M. (1997) Metric analysis of increment threshold spectral sensitivity in the honeybee. *Vision Res.* 37: 425-439.
- Chittka L. (1997) Bee colour vision is optimal for coding flower colour, but flower colours are not optimal for being coded-Why?. *Isr. J. Plant Sci.* Vol. 45 pp: 115-127.
- Chittka L. & Menzel R. (1992) The evolutionary adaptation of flower colours and the insect pollinators' colour vision. *J Comp Physiol A* 171: 171-181.
- Chittka L. & Waser N.M. (1997) Why red flowers are not invisible to bees? *Isr. J. Plant Sci.* Vol. 45: 169-183.
- Chittka L., Shmida A., Troje N. & Menzel R. (1994) Ultraviolet as a component of flower reflections, and the colour perception of Hymenoptera. *Vision Res.* 34:1489-1508.

- Chittka L., Beier W., Hertel H., Steinmann E. & Menzel R. (1992) Opponent coding is a universal strategy to evaluate the photoreceptor inputs in Hymenoptera. *J Comp Physiol A* 170: 545-563.
- Cutler D.E., Bennett R.R, Stevenson R.D. & White R.H. (1995) Feeding behavior in the nocturnal moth *Manduca sexta* is mediated mainly by blue receptors, but are they located in the retina? *The Journal of Experimental Biology.* 198: 1909-1917.
- Dafni A., Lehrer M. & Kevan P. (1997) Flower spatial parameters and insect spatial vision. *Biol Rev.*: 239-282.
- Daumer K. (1956) Reizmetrische Untersuchungen des Farbensehens der Bienen. *Z vergl Physiol* 38, 413-478.
- Frisch K. v. (1914) Der Farbensinn und Formensinn der Biene. *Zool Jahrb Abt Allg Zool Physiol* 35: 1-188.
- Frisch K. v. (1967) The dance language and orientation of bees, Cambridge:Harvard Univ.Press.
- Giger A. D. & Srinivasan M. V. (1997) Honeybee vision: analysis of orientation and colour in the lateral, dorsal and ventral fields of view. *J. Exp. Biol.* 200, 1271–1280.
- Giurfa M. (1991) Colour generalization and choice behaviour of the honeybee *Apis mellifera ligustica*. *J.Insect Physiol.* 37 (1): 41-44.
- Giurfa M. and Núñez J. A. (1992) Honeybees mark with scent and reject recently visited flowers. *Oecologia* 89: 113-117.
- Giurfa M. & Núñez J. A. (1993) Visual modulation of a scent-marking activity in the honeybee *Apis mellifera*. *L. Naturwiss.* 80: 376-379.

- Giurfa M. & Menzel R. (1997) Insect visual perception: complex ability of simple nervous system. *Curr. Op. Neurobio.* 7: 505-513.
- Giurfa M. & Vorobyev M. (1998) The angular range of achromatic target detection by honeybee. *J Comp Physiol. A* 183: 101-110.
- Giurfa M., Núñez J. A., & W. Backhaus (1994) Odour and colour information in the foraging choice behaviour of the honeybee. *J.Comp.Physiol.[A]* 175: 773-779.
- Giurfa M., Vorobyeb M., Kevan P. & Menzel R. (1996) Detection of coloured stimuli by honeybees: minimum visual angles and receptor specific contrasts. *J Comp Physiol. A* 178: 699-709.
- Giurfa M., Vorobyev M., Brandt R. Posner B. & Menzel R.(1997) The detection and recognition of colour stimuli by honeybee: Alternative use of achromatic and chromatic signals. *J Comp Physiol. A* 180: 235-243.
- Grant V.(1951) The fertilization of flowers. *Scientific American* 12:1-6.
- Greggers U. & Maelshagen J. (1997) Matching behaviour of honeybees in a multiple-choice situation: The differential effect of environmental stimuli on the choice process. *Anim. Learn Behav.* 25 (4):458-472.
- Gribakin F.G. (1969) Cellular basis of colour vision in the honeybee. *Nature* 233: 639-641.
- Helversen O. v. (1972) Zur spektralen Unterschiedsempfindlichkeit der Honigbiene. *J. Comp. Physiol.* 80, 439-472.
- Hempel N., Vorobyev M., Brandt R. & Giurfa M. (1999) Honeybees can detect UV-reflecting white targets: experimental evidence for limitations of colour vision models. Enviado a *J. Exp. Biol.*

- Hertel H. (1980) Chromatic properties of identified interneurons in the optic lobes of the bee. *J Comp Physiol* 137: 215-231.
- Kaiser W. & Liske E. (1974) Die optomotorische Reaktionen von fixiert fliegenden Bienen bei Reizung mit Spektrallichtern. *J. Comp. Physiol.* 89: 391-408.
- Kevan P. G. & Baker H. G. (1983) Insects as flowers visitors and pollinators. *Ann Rev Entomol.* 28: 407-453.
- Kien J. Menzel R. (1977) Chromatic properties of interneurons in the optic lobes of the bee. Narrow band and colour opponent neurones. *J Comp Physiol* 113: 35-53.
- Kreissl. S. (1985) Farbenunterscheidung von Bienen in dualen und multiplen Testanordnungen (auswertung von Daten auch unter Berücksichtigung eigener Experimente). *Tesis de Licenciatura Freie Universität, Berlin Alemania.*
- Kugler H. (1933) Blütenökologische Untersuchungen mit Hummeln VI. *Planta, Arch wiss Bot* 19:781-789.
- Land M. F. (1989) Variations in the structure and design of compound eyes. En: Stavenga D.G. & Hardie R., eds. *Facets of vision*. Springer, Berlin, pp. 90-111.
- Land M. F. (1997) The resolution of insect compound eyes. *Isr. Plant Sci.* 45: 79-91.
- Laughlin S. B. (1981) Neural principles in the peripheral visual systems of invertebrates. En: *Vision in invertebrates (Handbook of Sensory Physiology Vol. VII/6B)*, edited by H. Autrum, Berlin-Heidelberg-New York:Springer, p. 133-280.
- Lehrer M. (1987) To be or not to be a colour-seeing bee?. *Isr. J. Entomol.* 21: 51-76.
- Lehrer M. (1990) How bees use peripheral eye region to localise a frontally positioned target. *J. Comp. Physiol. A* 167: 173-185.

- Lehrer M. (1993) Parallel processing of motion, shape and colour in the visual system of the bee. En: Wiese K. et al. (eds.) *Sensory systems of arthropods*. Birkhäuser, Basel pp. 226-272.
- Lehrer M. (1994) Spatial vision in the honeybee: The use of different cues in different tasks. *Vision Res.* 34, 2363–2385.
- Lehrer M. (1997) Honeybee's use of spatial parameters for flower discrimination. *Israel J. Plant Sci.* 45, 159–169.
- Lehrer M. (1998) Looking all around: honeybees cues in different eye regions. *J. Exper. Biol.* 201: 3275-3292
- Lehrer M. & Srinivasan M. V. (1993) Object-ground discrimination in bees: Why do they land on edges? *J. comp. Physiol. A* 173, 23–32.
- Lehrer M. & Collett T. S. (1994) Approaching and departing bees learn different cues to the distance of a landmark. *J. comp. Physiol. A* 175, 171–177.
- Lehrer M., Wehner R. & Srinivasan M.V. (1985) Visual scanning behaviour in honeybee. *J. Comp. Physiol. A* 157: 405-415.
- Lehrer M., Srinivasan M.V., Zhang S.W. & Horridge G.A. (1988) Motion cues provide the bee's visual world with a thir dimension. *Nature (London)* 332: 356-357.
- Livingstone M. S. & Hubel D. H. (1984) Anatomy and physiology of a color system in the primate visual cortex. *J.Neurosci.* 4:309-357.
- Menzel R. (1968) Das Gedächtnis der Honigbiene für Spektralfarben. I. Kurzzeitiges und langzeitiges Behalten. *Z vergl Physiol* 60:82-102.
- Menzel R. (1979) Spectral sensitivity and colour vision in invertebrates En: Autrum H (ed.) *Invertebrate photoreceptors*. Springer Berlin Heidelberg New York (Handbook of Sensory Physiology Vol. VII/6A: 503-580).

- Menzel R. (1985) Learning in honeybee in an ecological and behavioural context En *Experimental Behavioural Ecology* (edited by B Hölldobler & M. Lindauer). Fortsch. Zool. Vol. 31, 55-74, Fischer, Stuttgart.
- Menzel R. & Blakers M. (1976) Colour receptors in the bee eye morphology and spectral sensitivity. J. Comp. Physiol. 108: 11-33.
- Menzel R. & Rose R. (1978) Colour vision of honeybees at natural low light intensities. Biol. Bull. 155:456.
- Menzel R. & Backhaus W. (1991) Colour vision in insects. En: Gouras P., ed. *Vision and Visual Dysfunction. The perception of colour*. Macmillian Press, London, pp. 262-288
- Menzel R. & Shmida A. (1993) The ecology of flower colours and the natural colour vision of insects pollinators: the Israeli flora as a study case. Biol. Rev 68: 81-120.
- Menzel R., Greggers U & Hammer M. (1993) Functional organization of appetitive learning and memory in a generalist pollinator, the Honey Bee. En: *Insect learning: Ecological and evolutionary perspectives*, edited by D. Papaj and A. C. Lewis, New York:Chapman & Hall. pp: 79-125.
- Menzel R., Ventura D.F., Hertel H., de Souza J.M. & Greggers U. (1986) Spectral sensitivity of photoreceptors in insect compound eyes: comparison of species and methods. J. Comp. Physiol. A 158: 165-177.
- Neal P., Dafni A., & Giurfa M. (1998) Floral symmetry and its role in plant pollinator systems: Terminology, distribution and hypotheses. *Annu.Rev.Ecol.System.* in press.

- Neumeyer C. (1981) Chromatic adaptation in the honeybee: successive colour contrast and colour constancy. *J. Comp. Physiol.* 144:543-553.
- Srinivasan M. V. (1994) Pattern recognition in the honeybee: recent progress. *J. Insect Physiol.* 40: 183-194.
- Srinivasan M.V. & Lehrer M. (1984) Temporal acuity of honeybee vision: behavioural studies using moving stimuli. *J. Comp. Physiol.* 155: 297-312.
- Srinivasan M.V., Lehrer M., Zhang S.W. & Horridge G.A. (1989) How honeybee measure their distance from objects of unknown size. *J. Comp. Physiol. A* 165: 605-613.
- Srinivasan M. V., Lehrer M., Kirchner W. & Zhang S. W. (1991) Range perception through apparent image speed in freely flying honeybees. *Visual Neurosci.* 6, 519–536.
- Wehner R. (1972a) Dorsoventral asymmetry in the visual field of the bee, *Apis mellifica*. *J. comp. Physiol.* 77, 256–277.
- Wehner R. (1981) Spatial vision in arthropods. En: Autrum, H. (ed.) *Invertebrate photoreceptors*. Springer Berlin Heidelberg New York (Handbook of Sensory Physiology Vol. VII/6C: 287-616).
- Wehner R. (1989) Neurobiology of polarization vision. *TINS* 12:353-359.
- Wehner R. (1994). The polarisation-vision project: championing organismic biology. *Fortschr. Zool.* 39, 104-143.
- Wehner R. & Rossel S. (1985) The bee's celestial compass: a case study in behavioural neurobiology. En: Hölldobler B. Lindauer M. (eds.) *Experimental behavioural ecology and socio-biology*. Fischer, Stuttgart: 11-54.

- Wehner R. & Strasser S. (1985). The POL area of honeybee's eye: behavioural evidence. *Physiol. Ent* 10, 337-349.
- Winston M.L. (1987) *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University press, Cambridge, Massachusetts.
- Zar J.H. (1985) *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey. pp718.
- Zhang S. W. & Srinivasan M. V. (1994) Prior experience enhances pattern discrimination in insect vision. *Nature* 368, 330–332.
- Zhang S. W., Xiang W., Zili L., & Srinivasan M. V.(1990) Visual tracking of moving targets by freely flying honeybees. *Vis.Neurosci.* 4: 379-386.