



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Tesis de Licenciatura

Ingestión de cebos azucarados ofrecidos en perlas de poliacrilamida a la hormiga argentina

Tesista: María Emilia Cabrera.

LU: 170/11. memiliacabrera@gmail.com.

Directora: Roxana Josens.

Laboratorio de Insectos Sociales

DBBE-FCEyN, UBA. IFIBYNE-CONICET, Argentina.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "María Emilia Cabrera".

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Roxana Josens".

Índice

<u>Resumen</u>	3
<u>Abstract</u>	4
<u>Introducción</u>	5
<u>Hormigas como insecto plaga</u>	5
<u>Recolección de alimento en hormigas</u>	6
<u>Cebos</u>	7
<u>Hidrogeles como dispensador de cebo</u>	9
<u>La hormiga argentina, <i>Linepithema humile</i></u>	9
<u>Objetivos:</u>	12
<u>Objetivo general</u>	12
<u>Objetivos específicos</u>	12
<u>Hipótesis asociadas a los objetivos específicos</u>	12
<u>Materiales y métodos</u>	13
<u>Lugar de trabajo</u>	13
<u>Animales utilizados</u>	13
<u>Series experimentales</u>	13
<u>Preparación de hidrogeles</u>	14
<u>Control de la concentración interna en el hidrogel</u>	14
<u>Dispositivo Experimental</u>	15
<u>Registros</u>	16
<u>Ánálisis estadísticos</u>	18
<u>Resultados</u>	19
<u>1. Ensayo de Concentraciones</u>	19
<u>2. Ensayo hidrogel vs. gota</u>	19
<u>3. Ensayo vida útil</u>	19
<u>Discusión</u>	23
<u>Referencias bibliográficas</u>	28

Resumen

Los cebos tóxicos azucarados han mostrado ser efectivos para el control de la hormiga argentina, *Linepithema humile*. Sin embargo, aún resulta complejo encontrar la forma de ofrecer el cebo en grandes extensiones, particularmente en las regiones donde es invasora. Las perlas de poliacrilamida embebidas en soluciones azucaradas son bien aceptadas como fuente de alimentación, y por lo tanto, una prometedora forma de suministrar el cebo, por ser accesible y de fácil aplicación. Además, son químicamente inertes, translúcidas, estables a diferentes pH y temperaturas, no son bioacumulables y no representan ningún riesgo humano ni ambiental. Para evaluar la eficiencia de estas perlas como potencial dispensador del cebo, se estudió el comportamiento individual de ingestión en distintas situaciones. 1) comparando distintas concentraciones de sacarosa embebidas en la perla de hidrogel. 2) comparando una misma solución ingerida desde una gota de líquido o desde el hidrogel; y 3) comparando la ingestión desde perlas con distinto tiempo de exposición al aire. En todos los casos, se cuantificaron variables del comportamiento de alimentación individual sobre una hormiga en una única visita de recolección (volumen, tiempo, y tasa de ingestión). Al ofrecer una solución de sacarosa (de concentración 20, 30, 40 o 50%p/p) embebida en el hidrogel, el volumen ingerido resultó tres veces mayor para concentraciones más diluidas (20 y 30%p/p) respecto a la más concentrada. Por lo tanto, se esperaría que resulte más eficiente utilizar soluciones de sacarosa de entre 20 y 30%p/p para embeber las perlas. Al comparar el comportamiento de alimentación individual de *L. humile* entre perlas embebidas en una solución de sacarosa 20%p/p y una gota de solución de igual concentración administrada *ad libitum*, el volumen de ingestión para la perla resultó ser un quinto del volumen de la misma solución *ad libitum*. Finalmente, se analizó la vida útil de las perlas una vez extraídas de la solución. Los resultados mostraron que en las condiciones de laboratorio ($T = 26^{\circ}\text{C}$, $\text{HR} = 56\%$) las perlas tuvieron una vida útil relativamente corta, ya que a las dos horas de estar expuestas al aire las hormigas prácticamente no podían ingerir nada pese a estar por largo tiempo intentándolo. Estos elementos en su conjunto prevén herramientas para utilizar adecuadamente las perlas en grandes extensiones, para el control de esta especie en áreas donde es invasora.

Title: Ingestion of sugary baits offered in polyacrylamide beads to the Argentine ant.

Abstract

Sugar water containing toxicants can be used as an effective treatment to control the Argentine ant, *Linepithema humile*. However, liquid treatments are not suitable over large areas, particularly for operative and environmental reasons. Polyacrylamide beads soaked in sugary solutions are well accepted as a food source by Argentine ant and therefore, a promising way of supplying the bait, as it is accessible and easy to apply. Besides, these beads are chemically inert, translucent, stable at different pH and temperatures and don't represent any human or environmental risks. To evaluate the efficiency of these beads as a potential bait delivery system, we assess the ability of ants to imbibe fluid in different scenarios: 1) Beads soaked in different sucrose concentration solutions; 2) Beads soaked in 20%w/w sucrose solution or a solution of the same concentration administrated *ad libitum*; 3) Beads soaked in 20%w/w sucrose solution and exposed to the environment air over certain periods of time. In each case, we quantified individual feeding variables (ingested volume, feeding time, intake rate). When offered beads soaked in different sucrose concentration solutions (20, 30, 40 or 50%w/w), crop load was greater for the diluted concentrations (20 and 30%w/w), reaching three times the amount ingested from the highest concentration. Therefore, we expect 20%w/w solution to be the most suitable concentration of sugar within beads for feeding uptake. As for the ability of ants to intake fluid from beads compared to a drop of the same solution, we found that crop load of ants feeding from beads was a fifth of the crop load obtained for the same solution (20%w/w) provided *ad libitum*. Lastly, we assessed the lifespan of the beads once they're taken out of the solution. Results showed that in laboratory conditions ($T = 26^{\circ}\text{C}$, $\text{RH} = 56\%$) beads have a relatively short lifespan given the fact that within two hours of exposure ants didn't seem to be able to intake any fluid even though they spent a long time trying to feed. These elements combined provide a good set of tools to properly administer these beads in large areas where the Argentine ant is an invasive species.

Introducción

Hormigas como insecto plaga

Las hormigas son insectos eusociales que están presentes en casi todos los hábitats terrestres, excepto en la Antártida, contando en la actualidad con más de 16000 especies válidas descriptas (<https://www.antweb.org/>; consultado en octubre 2024). Muchas especies de hormigas generan daños al hombre o a sus recursos, por lo cual son consideradas plagas; las hay tanto en ámbitos antropizados como naturales (Holway et al., 2002; Lach & Hooper-Bùi, 2009). Por ejemplo, las hormigas cortadoras de hojas son consideradas plagas de jardín, agrícolas o forestales, y las carpinteras, plagas estructurales ya que deterioran maderas estructurales, aislantes, cables, cimientos de construcciones, etc. En los ambientes urbanos algunas especies de hormigas pueden afectar directa o indirectamente al hombre invadiendo viviendas y demás construcciones (Dimarco et al., 2017; Josens et al., 2014). El efecto más evidente en estos ámbitos es el malestar y estrés que su presencia ocasiona. Algunas especies pueden afectar la salud por la acción de sus picaduras. Incluso, hay consenso en su potencial efecto como vectores mecánicos de agentes patógenos, particularmente, en centros de salud donde estos patógenos están muy presentes (Bueno & Fowler, 2021; Castro et al., 2015; Fowler et al., 1993; Josens et al., 2014; Moreira et al., 2005; Olaya-Masmela et al., 2005).

Hormigas invasoras

Muchas especies de hormigas plantean un importante problema global ya que son llevadas accidentalmente a regiones distantes de su rango nativo, donde logran prosperar, convirtiéndose así en especies invasoras. En estos sitios invadidos afectan profundamente a los ecosistemas naturales y antropizados. Más de 200 especies de hormigas han establecido poblaciones más allá de sus áreas de distribución nativas (Holway et al., 2002; Suarez et al., 2010). De éstas, 19 están incluidas en la base de datos de especies invasoras de la UICN, con cinco especies clasificadas entre las “100 peores especies exóticas invasoras” (Lowe et al., 2000).

Las hormigas invasoras afectan a las comunidades desplazando a las hormigas nativas (Porter & Savignano, 1990), subiendo en cascada los niveles tróficos y afectando incluso a vertebrados nativos, incluidos aves, reptiles y anfibios (Alvarez-Blanco et al., 2017; Alvarez-Blanco et al., 2021; Cole et al., 1992; Suarez et al., 2005). Estas invasiones perturban funciones del ecosistema alterando la dinámica de la red trófica, modificando ciclo de nutrientes y disminución de los servicios de polinización (Angulo et al., 2011;

Hansen & Müller, 2009; Sanders et al., 2003). En consecuencia, mucho dinero y esfuerzo es invertido en su manejo (Angulo et al., 2022; Hoffmann et al., 2016).

Los métodos de control de hormigas tradicionales más comúnmente usados liberan gran cantidad de insecticida al ambiente, como ser aerosoles, polvos, líquidos concentrados, emulsionables o floables. Por lo tanto, resultan muy contaminantes e inespecíficos. Es por esto que son desaconsejados desde una perspectiva de un manejo integrado de plagas y son inadmisibles para ambientes naturales con alto valor en biodiversidad o conservación. Por otro lado, como las hormigas son insectos sociales, los métodos mencionados no resultan tan eficientes como lo son para el control de insectos no sociales. La mayoría de las especies de hormigas que se combate a nivel global, viven en colonias muy numerosas ubicadas en nidos que no siempre son de fácil localización. Como insectos sociales, poseen una organización social compleja con una mayoría de individuos estériles, las obreras, que realizan las tareas relacionadas con el crecimiento y mantenimiento de la colonia, y unos pocos individuos reproductores (reinas y machos). En general, la mayoría de las obreras y los reproductores no salen del nido. Por lo tanto, no pueden estar directamente expuestos a los insecticidas de contacto.

Recolección de alimento en hormigas

Solo un porcentaje bajo de las obreras de una colonia realizan tareas de recolección de alimento. Por lo tanto, este grupo debe proveer de alimento a toda la colonia. Es así, que las decisiones individuales que toma una forrajera (o recolectora) en la fuente de alimento deben ajustarse a las necesidades que la colonia presente en cada momento particular, a fin de optimizar la recolección (Detrain & Deneubourg, 2002; Hölldobler & Wilson, 1990; Josens & Roces, 2000; Mailleux et al., 2010a; Mailleux et al., 2006; Mailleux et al., 2010b). El proceso de recolección se inicia con el descubrimiento de una fuente de alimento. En la mayoría de las especies plaga y en todas las invasoras, se continúa con el reclutamiento de otras obreras a través de diferentes vías de comunicación (química, vibratoria, táctil, etc.) (Bonabeau et al., 1998; Collignon et al., 2012), y el traslado del recurso hacia el nido.

Una vez establecido un grupo de forrajeras que explota un recurso dado, cada individuo describe ciclos de recolección (Holldobler y Wilson 1990). Este ciclo involucra dos sitios, la fuente y la colonia. El alimento es recolectado en la fuente y es transportado hacia el nido. En el nido, la obrera realiza distintos contactos con compañeras de la

colonia (contactos antenales, trofalácticos, etc.), descarga el recurso transportado, y regresa a la fuente de alimento donde recomienza el ciclo.

Cuando se trata de un alimento líquido, las hormigas lo transportan dentro del buche. El buche es una porción del intestino especializada en transportar líquido (Fig. 1). Desde donde la hormiga lo puede regurgitar, compartiéndolo con compañeras de colonia mediante contactos boca a boca, conocidos como trofaliaxia. Cuando los individuos son reclutados a una fuente de alimento, se dirigen a la misma con el buche prácticamente vacío (Beutler, 1950; Brandstetter et al., 1988; Roces & Blatt, 1999).

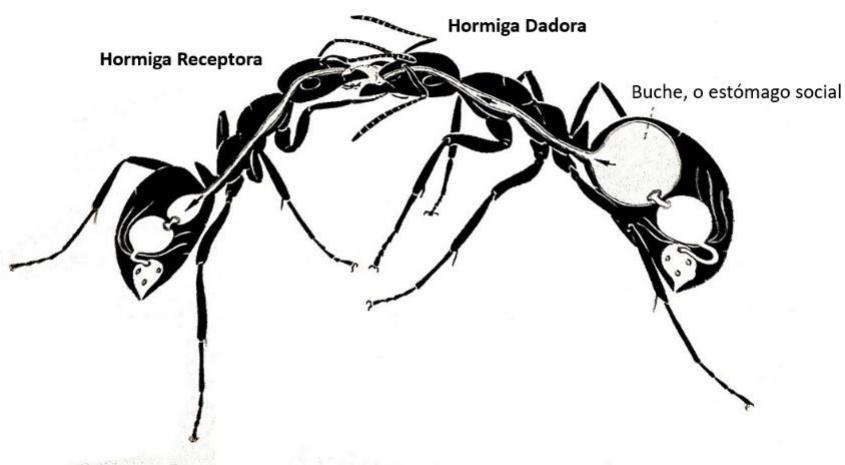


Figura 1: Trofaliaxia entre dos hormigas: la Dadora con su bueche lleno regurgita el alimento líquido para entregárselo boca a boca a la Receptora. (Imagen de Hölldobler y Wilson, 1990).

Las características de la fuente de alimento y su ubicación, así como del estado de la colonia (nutricional, sanitario, tamaño y distribución de edades, etc.) afectarán los diferentes comportamientos individuales y determinarán las distintas estrategias sociales de recolección (Hölldobler & Wilson, 1990; Seeley, 1995; Wilson, 1971).

Cebos

Un cebo es algo que atrae a un organismo particular con el objeto de atraparlo o de hacer que ingiera otra sustancia adicionada al mismo, que sola no ingeriría. Para el control de varias especies se utilizan sustancias atractantes. En general, las cosas que atraen a un animal son búsqueda de refugio, pareja o alimento. Como las hormigas viven en colonias dentro de un nido, y las obreras son estériles, a las hormigas solamente se las puede atraer con alimento. Así, una de las formas de control más recomendada para las hormigas por ser específico, eficiente y a la vez amigable con el ambiente, es ofrecer un alimento (cebo) adicionado con un compuesto letal (Rust & Su, 2012). Los cebos para

hormigas se comercializan en diversas formas dependiendo la especie blanco, el país, entre otros factores; los hay líquidos, granulados o en gel. Dependiendo del tipo de hormiga que se quiera combatir y sus hábitos alimentarios serán las características del cebo. Así, para las hormigas cortadoras de hojas se utilizan cebos sólidos, en forma de gránulos o pellets, mientras que, para la mayoría de las especies de hormigas urbanas o las invasoras, se utilizan cebos líquidos o en gel.

Las hormigas recolectan este cebo tóxico y lo transportan al nido tal como hacen con cualquier alimento. De ese modo, no es necesario ubicar o acceder a los nidos ya que el tóxico llega al nido transportado por las propias hormigas, y es distribuido entre todos los individuos de la colonia, aún a los que no salen del nido. Es por eso que los cebos deben ser atractivos para la especie blanco, y el tóxico a utilizar tiene que tener un efecto letal retardado. Es imprescindible que el tiempo en generar su efecto letal sea suficiente para que las recolectoras transporten grandes cantidades del cebo al nido, que recluten a otras recolectoras y que el cebo se pueda distribuir dentro del nido antes de generar mortalidad (Rust et al., 2004). Para esta estrategia de control químico donde el tóxico llega al nido por medio de las obreras, resulta fundamental entender qué características del cebo (riqueza, disponibilidad, flujo de entrega, concentración del tóxico) promueven una mayor ingestión y distribución del mismo.

Los cebos sólidos presentan una forma de dispersión operativamente más fácil que los líquidos. Los cebos líquidos requieren de dispensadores que suelen ser de plástico y requieren ser limpiados y recargados (Choe et al., 2010; Nelson & Daane, 2007; Song et al., 2015). Esto, para grandes extensiones, implica una gran desventaja de los cebos líquidos frente a los sólidos. Sin embargo, las especies nectívoras suelen preferir cebos líquidos por sobre matrices sólidas o geles (Hoffmann et al., 2010; Rust et al., 2000; Silverman & Brightwell, 2008). Por otro lado, cuando las hormigas ingieren ciertos geles muy espesos en cada visita a la fuente ingieren muy poca cantidad con tiempos de ingestión extremadamente largos debido a la alta viscosidad que estos presentan (Josens et al., 2017; Lois-Milevicich et al., 2021). Además, la velocidad o flujo de entrega con el que las hormigas pueden obtener recursos afectará la toma de decisiones, afectando la aceptación, carga de buche y tiempos de ingestión (Medan & Josens, 2005; Schilman & Roces, 2003).

En ese sentido, los cebos líquidos son los más eficientes por cuanto que, en poco tiempo, una hormiga puede ingerir gran cantidad y regresar al nido, lo cual determina cargas de buche máximas y ciclos de recolección más cortos, lo que potencia el reclutamiento y el ingreso de tóxico al nido.

Hidrogeles como dispensador de cebos líquidos

Ante este dilema entre la preferencia de las hormigas por los cebos líquidos pero la dificultad operativa que estos ofrecen, particularmente para grandes extensiones, distintas alternativas se han estudiado. En el 2012, una nueva forma de dispensar un cebo líquido fue utilizada por primera vez: una matriz de poliacrilamida (hidrogel) embebida con una solución de sacarosa conteniendo un tóxico (Boser et al. 2014). Los hidrogeles son polímeros de poliacrilamida súper absorbentes que pueden absorber hasta 350 veces su peso en agua y son utilizados en agricultura y jardinería para mantener la humedad en los suelos. Este procedimiento fue ingenioso en tanto que permitió administrar un alimento líquido como si fuera un sólido para que sea ingerido por las hormigas. Esto facilitaría en gran medida la distribución de cebos tóxicos en aéreas extensas. Además, el compuesto tóxico no consumido permanece contenido dentro de la matriz luego de que los hidrogeles se deshidratan, minimizando la exposición ambiental adicional. Esta forma de presentación de cebo probó ser eficaz ante la hormiga argentina *Linepithema humile*, además de otras especies como *Anoplolepis gracilipes* y *Wasmannia auropunctata* (Krushelnicky, 2020), y otras especies invasoras (Hoffmann, com. pers.). La hormiga argentina ha sido una de las más probadas en su respuesta a los cebos tóxicos embebidos en hidrogeles, tanto en condiciones de laboratorio como a campo en diversas locaciones (Boser et al., 2014; Buczkowski et al., 2014a; Buczkowski et al., 2014b; Rust et al., 2015; Tay et al., 2017a; Tay et al., 2017b). Por lo tanto, esta forma de dispensar el cebo resulta muy promisoria y seguramente tendrá un rol importante en el futuro, especialmente en los programas de erradicación de hormigas invasoras en aéreas naturales protegidas.

La hormiga argentina, *Linepithema humile*

La llamada “hormiga argentina”, *Linepithema humile* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae), se ha convertido en una de las especies invasoras a escala mundial con mayor impacto. Está incluida en la lista de las 100 especies exóticas invasoras más dañinas del mundo (Global Invasive Species Database 2020). Ha sido introducida accidentalmente en todos los continentes excepto en la Antártida (Fig. 2), en algunos casos hace más de cien años (Newell, 1908; Silverman & Brightwell, 2008).

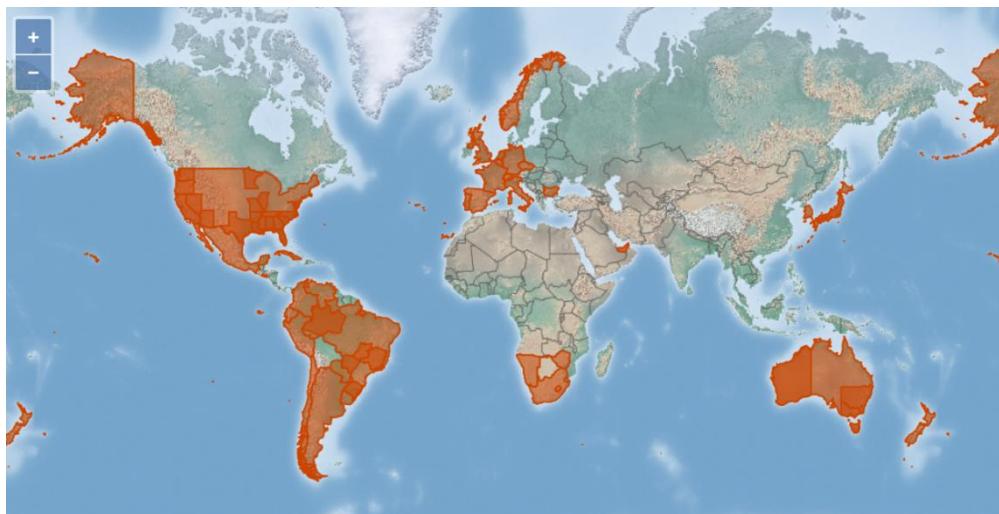


Figura 2: Mapa de distribución de *L. humile* basados en especímenes de colecciones del Museo de Historia Natural del Condado de Los Ángeles (LACM), California, EE.UU.; Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN), Buenos Aires, Arg.; Museu de Zoologia da Univ. São Paulo (MZSP), SP, Brasil; Dep. de Agricultura y Servicios al Consumidor de Florida, Tallahassee, Florida; Museo de Entomología, Departamento de Agricultura de Oregon; y The Field Museum, Chicago, Illinois, EE.UU. (Gómez & Abril, 2022).

Como invasora, produce perjuicios en ambientes naturales, agrícolas, y urbanos. Tiene gran impacto ecológico pudiendo desplazar a especies nativas o generar una disminución de otras especies de hormigas (Erickson, 1971; Human & Gordon, 1996; Kennedy, 1998; Ward, 1987) u otros invertebrados (Cole et al., 1992; Holway, 1998). Incluso en ecosistemas naturales impacta directa o indirectamente en otros organismos incluyendo vertebrados (Alvarez-Blanco et al., 2017; Alvarez-Blanco et al., 2021; Suarez & Case, 2002).

La hormiga argentina es omnívora, pero se la considera nectívora ya que las soluciones azucaradas son parte fundamental de su dieta (Markin, 1970), y las obtienen fundamentalmente de exudados de hemípteros (pulgones, cochinillas. Fig. 3 A), o de nectarios extraflorales. Las proteínas las obtiene de otros animales, insectos, cadáveres de vertebrados, etc.

Por el impacto que tiene como invasora a nivel global, esta especie ha sido extensamente estudiada respecto a sus preferencias y respuestas ante cebos diversos y con distintos compuesto tóxicos adicionados. La mayoría de estos estudios se realizaron con subnínulos o colonias enteras (Klotz et al., 2000; Nyamukondwa & Addison, 2011; Rust et al., 2004; Rust et al., 2015; Silverman & Brightwell, 2008; Silverman & Roulston, 2001). Muy pocos estudios se focalizaron en el comportamiento a nivel individual en esta especie (Hooper-Bùi & Rust, 2001; Silverman & Roulston, 2001), y la mayoría son del Laboratorio de Insectos Sociales de la FCEN, UBA (Falibene & Josens, 2012; Moauro & Josens, 2023;

Sola et al., 2013; Sola & Josens, 2016). Quizás, debido a la dificultosa manipulación dado su pequeño tamaño (3-4 mm), lo cual hace que las observaciones y mediciones individuales sean engorrosas o requieran condiciones experimentales particulares.

La recolección de la colonia como un todo se basa en la toma de decisiones de cada individuo y en los canales de comunicación entre los miembros de la colonia. Es por ello, que para el control por cebos líquidos es clave entender la toma de decisiones de la hormiga que encuentra el cebo, ya que cuanto más cebo ingiera, cuanto menos tiempo le tome esa ingesta (cuanto más rápido pueda ingerir), implicará una mayor entrada del cebo tóxico al nido. De lo que resulta una mayor efectividad del tratamiento de control.

Hasta el momento de iniciar esta tesis, nada se conocía sobre la respuesta individual de la hormiga argentina en relación a los cebos ofrecidos en hidrogeles (Fig. 3 B). En este marco, la comprensión del comportamiento individual de la hormiga recolectora frente a estas nuevas tecnologías de dispensar el cebo líquido, resultan fundamentales para poder realizar los ajustes necesarios para su utilización. Por lo cual, su estudio fue nuestro objetivo principal.

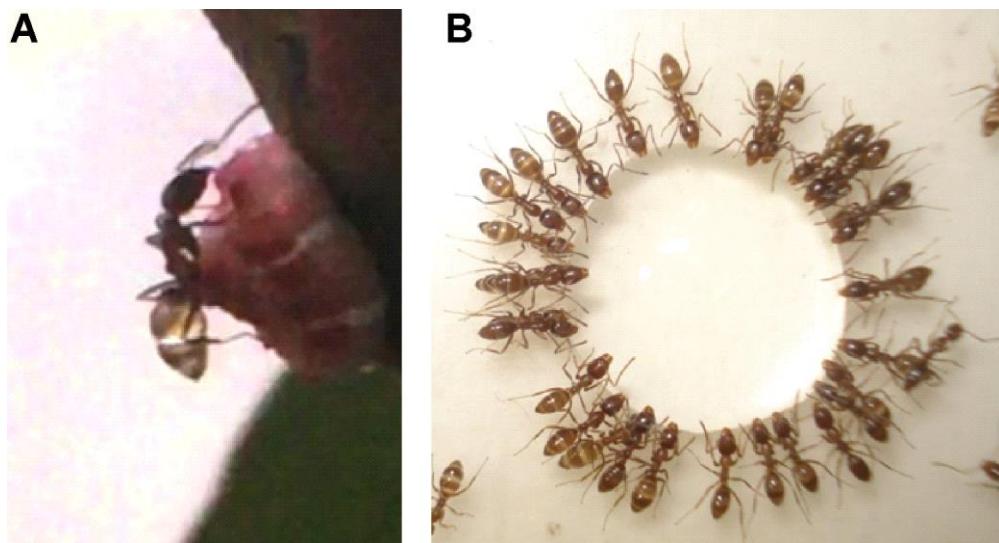


Figura 3: A) Vista lateral de *L. humile* alimentándose de una cochinilla (posiblemente *Ceroplastes grandis*). B) Obreras de *L. humile* alimentándose de media esfera de hidrogel embebida en solución 20% p/p de sacarosa.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar el comportamiento de alimentación individual de la hormiga argentina (*Linepithema humile*) al ingerir una solución de sacarosa a partir de perlas de hidrogel.

Objetivos específicos

1. Se estudiará cómo afecta la concentración de sacarosa de la solución contenida en el hidrogel al comportamiento de ingestión.
2. Se estudiará en qué magnitud la matriz de hidrogel impone restricciones en la disponibilidad de la solución que contiene embebida, para lo cual se comparará el comportamiento de ingestión de una solución de sacarosa 20%p/p ofrecida como gota *ad libitum* o contenida en el hidrogel.
3. Finalmente, se estudiará la vida útil de la perla de hidrogel, esto es, durante cuánto tiempo una hormiga puede ingerir la solución contenida una vez que el hidrogel es expuesto al aire. Para ello, se analizará el comportamiento de alimentación individual de una hormiga al ingerir una solución de sacarosa (20%p/p) a partir de hidrogel retirado de su baño de inmersión y dejado en exposición al aire durante distintos tiempos.

Hipótesis asociadas a los objetivos específicos

1. Considerando el comportamiento de la hormiga argentina al ingerir soluciones de diferente concentración de sacarosa a partir de gotas (Sola & Jopens, 2016), se propone que al ingerir una solución a través de hidrogel, las hormigas podrán obtener las soluciones diluidas con mayor facilidad, esto es a mayor tasa de ingestión e ingerirán un volumen mayor de las soluciones más diluidas.
2. La solución contenida en la matriz del hidrogel está menos disponible si se compara con una gota, lo cual se traduce como una menor tasa de ingestión y menor carga de buche (menor volumen ingerido).
3. La vida útil del hidrogel disminuye a lo largo del tiempo. Por lo cual, el líquido contenido va dejando de estar disponible paulatinamente ofreciendo más dificultad a la hormiga para ingerirlo. Así, la hormiga ingerirá a una menor tasa de ingestión y un volumen menor conforme aumente el tiempo de exposición del hidrogel al ambiente.

Materiales y métodos

Lugar de trabajo

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Insectos Sociales (DBBE-FCEN-UBA; IFIBYNE– CONICET) ubicado en el Campo Experimental de Ciudad Universitaria de la Universidad de Buenos Aires ($34^{\circ} 32' S$, $58^{\circ} 26' O$). Todos los ensayos se realizaron entre verano y otoño de 2017.

Animales utilizados

Se trabajó con colonias de *L. humile* capturadas en distintos puntos de Ciudad Universitaria y mantenidas en laboratorio durante al menos dos meses antes de los registros.

Cada colonia contenía aproximadamente 4000–5000 obreras y al menos una reina. Las colonias se mantuvieron en contenedores de plástico ($30 \times 50 \times 30$ cm, ancho \times largo \times alto) con sus paredes laterales pintadas con fluon para evitar la fuga. Las colonias se mantuvieron en un ambiente de temperatura controlada $25 (\pm 2)^{\circ}C$ bajo un ciclo natural de luz/oscuridad. Las hormigas fueron alimentadas diariamente con agua con miel y tres veces por semana con cucarachas frescas (*Blaptica dubia*) o carne molida. El agua se proporcionó *ad libitum*. No hubo restricción de alimento requerido para los experimentos, ya que pese a disponer de alimento en el nido todas las hormigas aceptaban las soluciones ofrecidas en los registros.

Series experimentales

1. **Concentraciones:** Se ofreció una porción de hidrogel embebido en una de cuatro soluciones de sacarosa (20, 30, 40, o 50%p/p). Se realizaron treinta réplicas, esto es 30 hormigas, para cada una de las cuatro soluciones ($N = 120$).
2. **Hidrogel vs. gota:** Se ofreció una solución de sacarosa 20%p/p en una de las dos formas a comparar: embebida en hidrogel o bien como una gota *ad libitum*. Se realizaron treinta réplicas para cada uno de los dos tratamientos ($N = 60$).
3. **Vida útil:** Se ofreció una solución de sacarosa 20%p/p embebida en hidrogel, el cual fue mantenido al aire en condiciones ambiente de laboratorio (temperatura $26 (\pm 1)^{\circ}C$ y humedad relativa de $56 (\pm 6)\%$) durante diferentes tiempos: 0, 30, 60, 90, o 120 minutos. Se realizaron dieciocho réplicas para cada una de los cinco tratamientos ($N = 90$).

Preparación de hidrogeles

Se sumergieron las perlas de hidrogel (Magic Water Beads, NFL Enterprises; transparentes, 2 a 2,5 mm de diámetro, deshidratados) en una de cuatro concentraciones de sacarosa (20, 30, 40 o 50%p/p), según el experimento, en un matraz en un refrigerador a 8 °C durante 48 horas. Las soluciones de sacarosa se prepararon justo antes de la inmersión de las perlas con azúcar común y agua de la canilla. Se utilizó un volumen suficientemente grande de solución como para que las perlas queden totalmente cubiertas incluso cuando estuvieran hidratadas. Justo antes de cada prueba se retiraba una perla del baño para evitar cualquier efecto de evaporación ambiental y se cortaba una sección (3x3x3mm) de un hidrogel hidratado. La pieza se dejaba durante 1-2 minutos para que alcanzara la temperatura ambiente y luego se colocaba en la arena de alimentación (Fig. 4). Para cada hormiga se utilizaba una pieza nueva. Una perla de hidrogel hidratada podía cortarse en unos 15 cubos. Si al final del día de registros, sobraban piezas de la perla cortada, eran desecharadas. Esto es, cada día de registros se utilizaba una perla nueva.

Control de la concentración interna en el hidrogel

Para verificar que el interior de la perla de hidrogel tuviera la misma concentración que el exterior, se realizó el siguiente experimento: se dejaron hidratar perlas en agua y soluciones de sacarosa de diferente concentración (20, 30, 40 y 50%p/p) (3 perlas por solución). Luego de 96 horas se cortaron finas rebanadas de las perlas de hidrogel. Una rebanada del interior se fraccionó en pedazos menores y se los colocó en un refractómetro para medir la concentración.

Como resultado de este experimento, encontramos que las concentraciones dentro de las perlas coincidían con las concentraciones de las soluciones en las que se sumergieron (Tabla 1).

Tabla 1: Registros del refractómetro al colocar pequeños pedacitos de hidrogel del interior de la perla luego de haber sido embebidas en agua o una solución de sacarosa 20, 30, 40 o 50% p/p.

		Concentración de sacarosa				
		0% (agua)	20% (p/p)	30% (p/p)	40% (p/p)	50% (p/p)
Concentración interna	a	0,2	20,2	31	40	50,5
	b		20,1	30	39,5	50,5
	c		20,1	30,5	40,5	49,5

De esta manera se pudo verificar que al ingresar la solución dentro de la matriz de hidrogel lo hace en forma homogénea, descartando cualquier proceso que pudiera generar un gradiente o diferencias de concentraciones entre los diferentes pedazos a utilizar.

Dispositivo Experimental

El dispositivo constaba de un vaso de plástico en posición invertida con sus paredes exteriores pintadas con fluon para evitar que las hormigas se trepen. El vaso contaba con un pequeño orificio, donde se insertaba un palillo de madera (escarbadores) clavado perpendicularmente que sobresalía generando un puente de acceso (2x50mm. Fig. 4). Al final tenía una pequeña arena de recolección (aproximadamente 3x5mm), la cual constaba de un plástico pegado sobre el palillo. Sobre ese plástico se colocaba el alimento a ofrecer (porción de la perla de hidrogel o gota de solución azucarada dependiendo del experimento). Sobre el escarbadores había una pequeña ventana por donde asomaba el hidrogel. Al estar el alimento sobre la superficie plana pegada al escarbadores, se evitaba que hubiera contacto entre el hidrogel o el líquido y la madera del escarbadores, impidiendo así que esta pudiera absorber la solución.

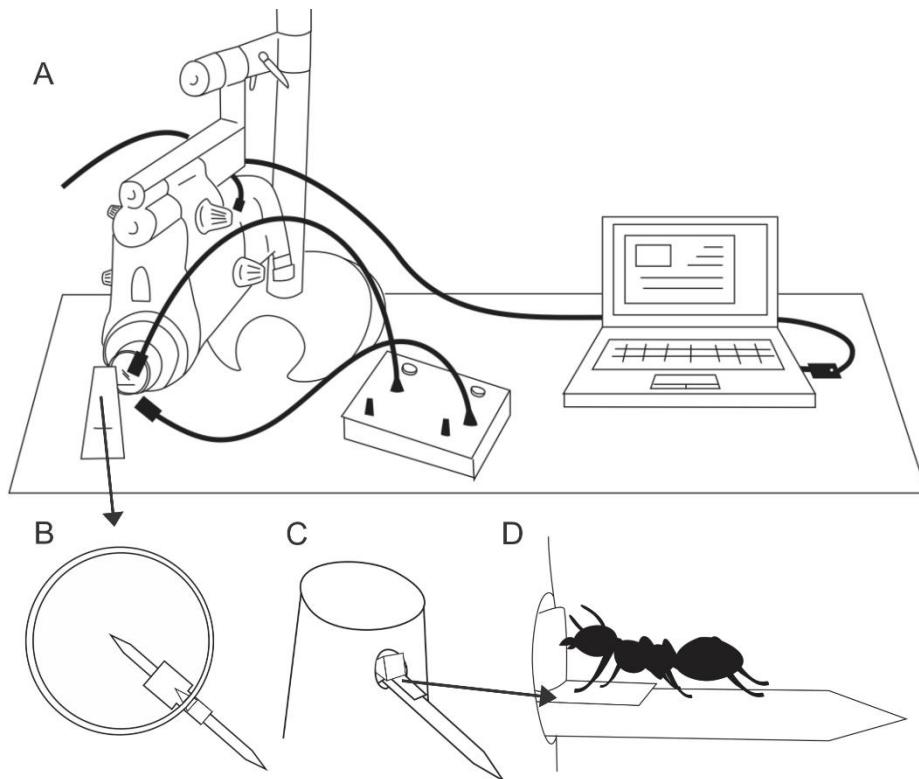


Figura 4: **A)** Esquema del dispositivo. **B)** Vista superior del dispositivo, donde se ven las paredes del vaso y en su interior la plataforma para colocar el alimento que asomaba por una ventana. **C)** Vista exterior con el puente de madera perpendicular que terminaba en una pequeña arena de recolección de plástico. **D)** Aumento del sector punteado en **C**, donde se aprecia a la hormiga parada y la posición del hidrogel.

El dispositivo estaba montado asociado a una lupa de aumento $\times 25$ (Leica MZ8), con una cámara Leica ICA), conectado a un convertidor de señal analógica a digital para almacenar el video en una computadora (Fig. 4 A). La lupa se colocó de modo de ofrecer una vista lateral de la hormiga mientras ingería el alimento.

Registros

Para cada registro, se tomaba una hormiga de la colonia, dejándola subir sola a un palillo y llevándola suavemente hasta la punta del puente más lejana del extremo inserto en la pared lateral del vaso (Fig. 5 A). De ahí en más, se dejaba que la hormiga caminara libremente por el escarbadienes hacia la arena de recolección, donde encontraba el alimento e ingería sin ser perturbada. Cada hormiga era filmada lateralmente en la proximidad del alimento (Sola et al., 2013; Sola & Josens, 2016).

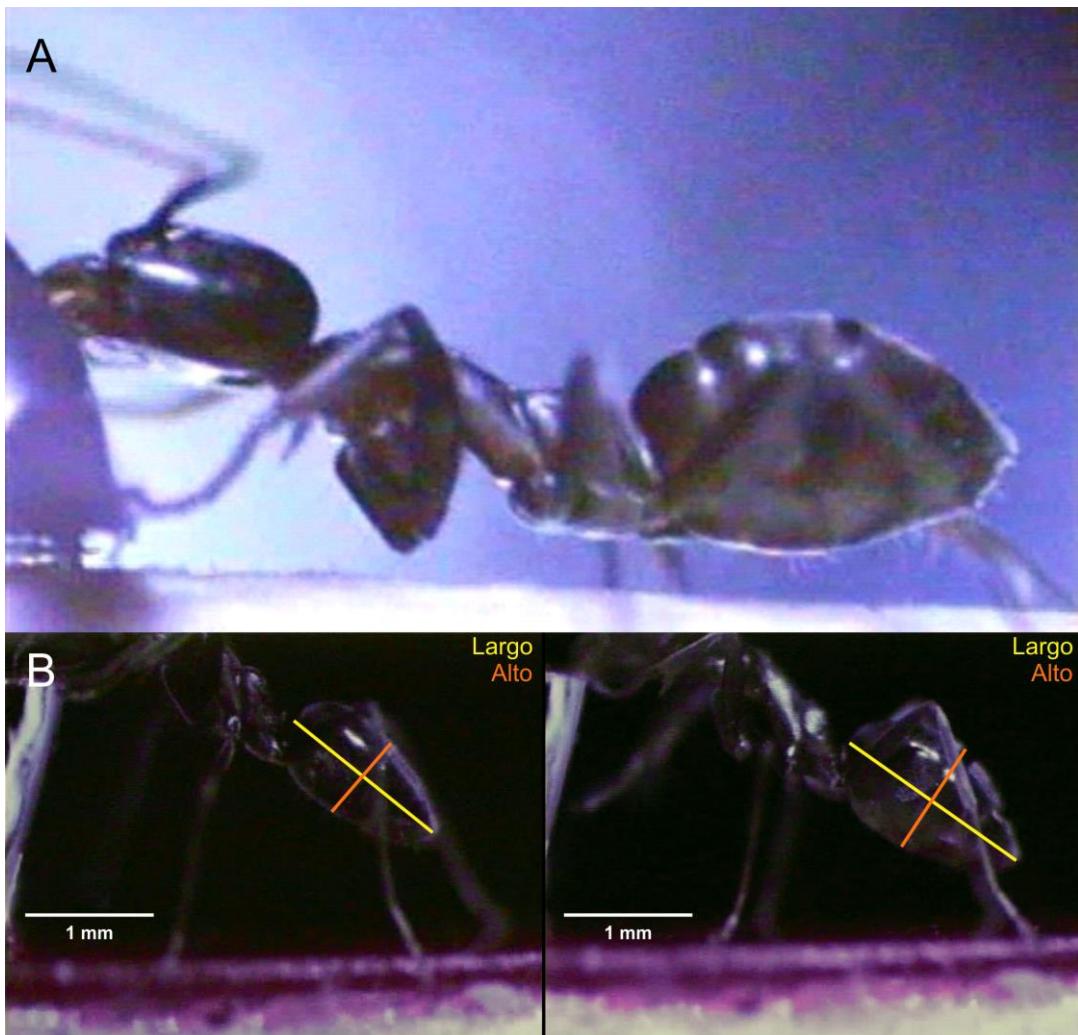


Figura 5: A) Vista lateral un ejemplar de *L. humile* alimentándose (imagen tomada de video). B) Medición del gáster antes de la alimentación (izquierda) y después de la alimentación (derecha).

El video se encendía antes de poner la hormiga en el palillo y se apagaba cuando la alimentación terminaba (típicamente menos de 5 min). Cada hormiga era utilizada solo una vez. Después de cada ensayo, se desechaba la comida y la hormiga, y la superficie de plástico se limpiaba con algodón húmedo limpio y luego se secaba.

Para garantizar que no hubiera sesgo por la hora del día, etc., los diferentes tratamientos a comparar en cada experimento se presentaban en un orden pseudo-aleatorio aumentando el n de cada tratamiento en forma pareja. De este modo, todos los tratamientos fueron registrados en todos los horarios (de 10:00 a 16:00) y días de toma de datos. Con excepción de la serie experimental **Vida útil** para la cual los tratamientos fueron presentados en forma secuencial, ya que los hidrogeles eran retirados de la solución a la vez y se iban registrando los datos a medida que se iban cumpliendo los tiempos de exposición.

A partir de cada video, se registró el *tiempo de ingestión* (s) como el tiempo total que la hormiga tenía en contacto sus piezas bucales con el alimento ofrecido. Si la hormiga dejaba de alimentarse por algún motivo (por ejemplo, caminaba sobre el palillo, permanecía inmóvil o intentaba trepar por la pared del vaso), este tiempo se consideraba como *tiempo de pausa* (s), pero solo si la hormiga volvía a alimentarse. Eso implica que el tiempo de pausa, fue el tiempo entre dos eventos de alimentación.

El *volumen ingerido* (μL) de solución se estimó como la diferencia en el volumen del gáster antes y después de la alimentación. Se approximó la forma del gáster a un elipsoide para calcular su volumen. Se midió la longitud y la altura del gáster directamente de los videos; el ancho del gáster (no visible desde la vista lateral) se estimó a partir de la relación ancho:largo=1.0:1.1 determinada para *L. humile* (Fig. 5 B) (Sola et al., 2013; Sola & Josens, 2016; Zufall et al., 1991).

Finalmente, a partir de estas dos variables, se calculó la *tasa de ingestión* (nL/min) como el cociente entre el *volumen ingerido* y el *tiempo de ingestión*.

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron en R v 3.6.2 (R Core Team 2019). La mayoría de los variables se analizaron usando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, usando el test de Dunn como prueba *post hoc* en los casos de significancia positiva entre los tratamientos. Para las variables en donde la homocedasticidad no se cumplió se corrió un modelo GLS aplicando una función de varianza constante y se usó el paquete “nlme” (José Pinheiro) para realizar el análisis, con significancia entre tratamientos determinada *post hoc* utilizando la prueba de Tukey.

Resultados

1. Concentraciones

El volumen ingerido varió significativamente e inversamente al aumento de la concentración de la solución azucarada ($H = 99.7$, $df = 3$, $P < 0.001$). Las hormigas que se alimentaron de las dos soluciones más diluidas (20 y 30% p/p) ingirieron aproximadamente tres veces el volumen de las que se alimentaron de la solución más concentrada (50% p/p) (Fig. 6 A). El tiempo de ingestión disminuyó significativamente con el aumento de la concentración ($F = 7.33$, $df = 3$, $P < 0.0001$; Fig. 6 B), siendo mayor para las hormigas alimentándose de las dos soluciones más diluidas (20 y 30% p/p). La tasa de ingestión para la solución más concentrada fue cuatro veces más lenta que para las otras tres concentraciones, las cuales no difirieron significativamente entre sí ($F = 36.69$, $df = 3$, $P < 0.0001$; Fig. 6 C).

2. Hidrogel vs. gota

Las hormigas que se alimentaron de la gota consumieron hasta cinco veces más líquido que las que se alimentaron del hidrogel ($F = 13852.30$, $df = 1$, $P < 0.0001$; Fig. 7 A). El tiempo de ingestión fue casi el doble para las hormigas alimentándose de la gota que del hidrogel ($F = 193.61$, $df = 1$, $P < 0.0001$; Fig. 7 B). Las hormigas alimentándose de una gota rara vez paraban, mientras que las hormigas alimentándose del hidrogel realizaron varias pausas largas entre eventos de ingestión. La tasa de ingestión de las hormigas alimentándose de la gota fue casi tres veces mayor que para las que se alimentaron del hidrogel ($F = 463.94$, $df = 1$, $P < 0.0001$; Fig. 7 C).

3. Vida útil

El volumen ingerido disminuyó significativamente a medida que aumentó el tiempo de exposición al ambiente ($F = 1620.97$, $df = 4$, $P < 0.0001$; Fig. 8 A). Llegando al extremo donde las hormigas que se alimentaron de los hidrogeles expuestos al aire por 120 minutos casi no consumieron nada de líquido. Sin embargo, el tiempo de ingestión incrementó significativamente con el tiempo de exposición ($H = 55.53$, $df = 4$, $P < 0.0001$; Fig. 8 B), siendo el doble a los 30 minutos de exposición. El tiempo de pausa no difirió significativamente con el tiempo de exposición ($H = 3.97$, $df = 4$, $P = 0.41$). La tasa de ingestión disminuyó significativamente con el aumento del tiempo de exposición, siendo casi cero a los 120 minutos ($F = 504.73$, $df = 4$, $P < 0.0001$; Fig. 8 C).

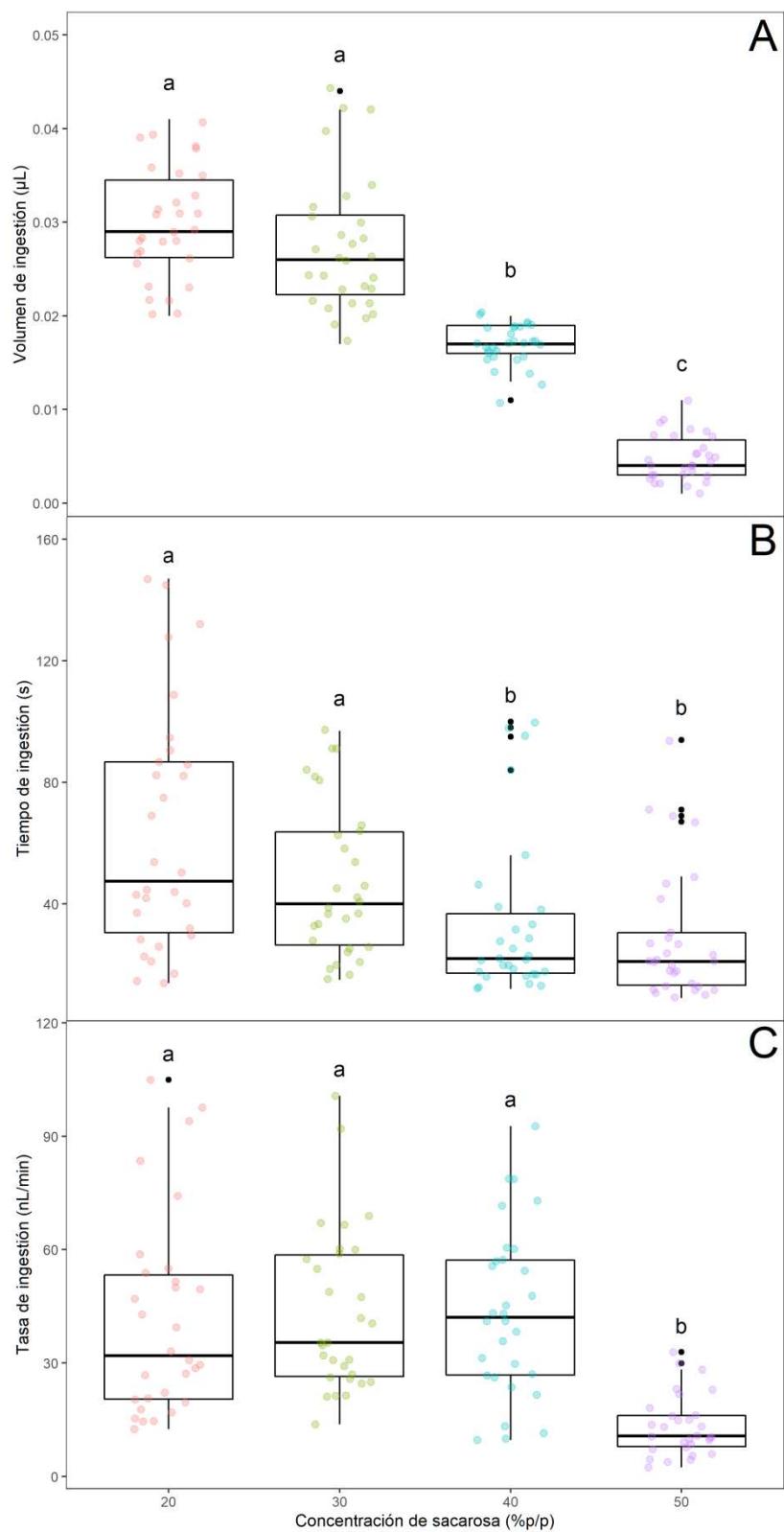


Fig. 6: Variables de alimentación individual de hormigas que ingieren soluciones de distintas concentraciones (20, 30, 40, 50% p/p) embebidas en hidrogel. **A)** Volumen ingerido estimado (μ L). **B)** Tiempo de ingestión (s). **C)** Tasa de ingestión (nL/min). Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey, $P<0,05$). N =120.

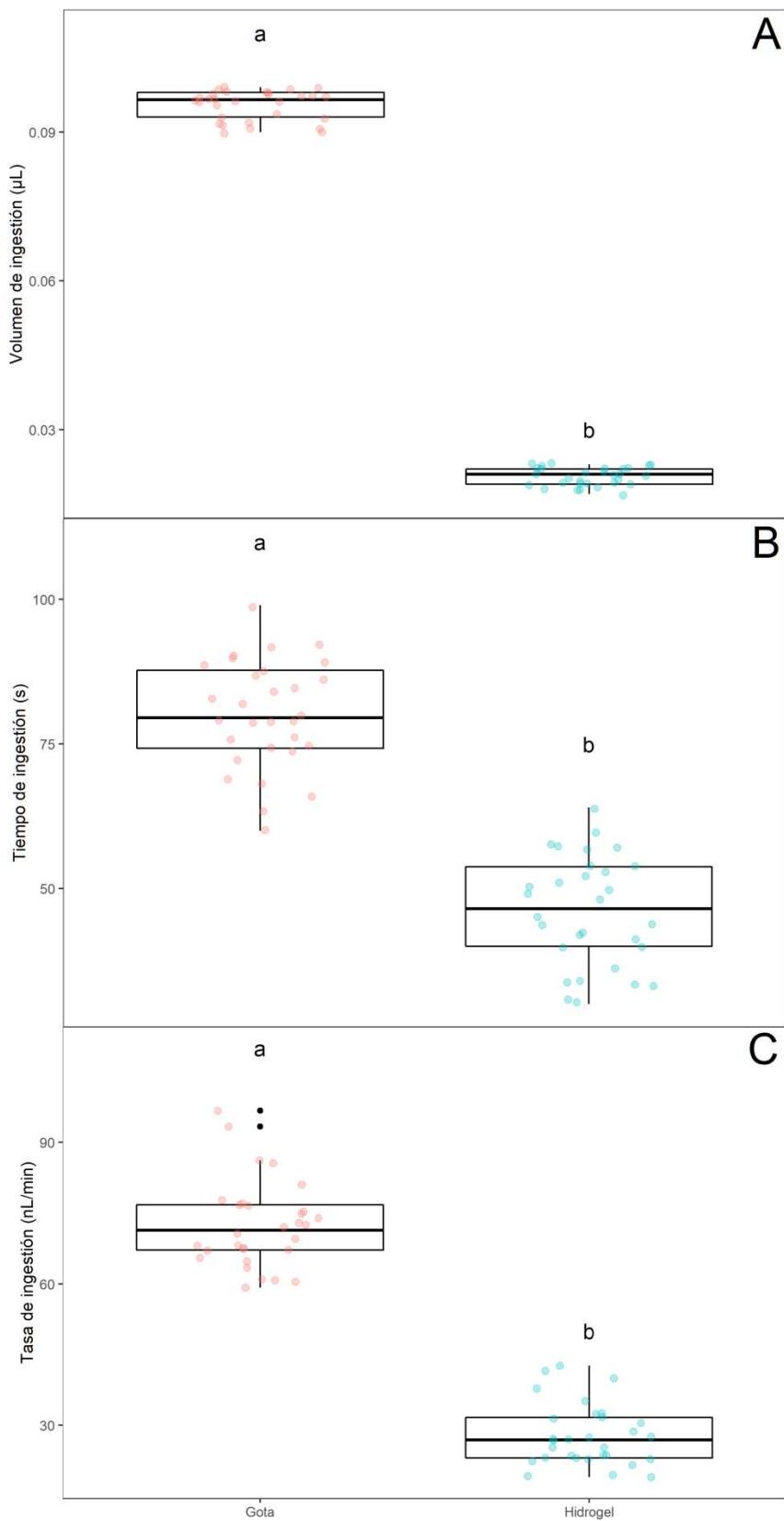


Fig. 7: Variables de alimentación individual de hormigas que ingieren una solución de sacarosa al 20%p/p de una gota de líquido *ad libitum* o de un hidrogel. **A)** Volumen ingerido estimado (μL). **B)** Tiempo de alimentación (s). **C)** Tasa de ingestión (nL/min). Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Dunn, $P<0.05$). $N=60$.

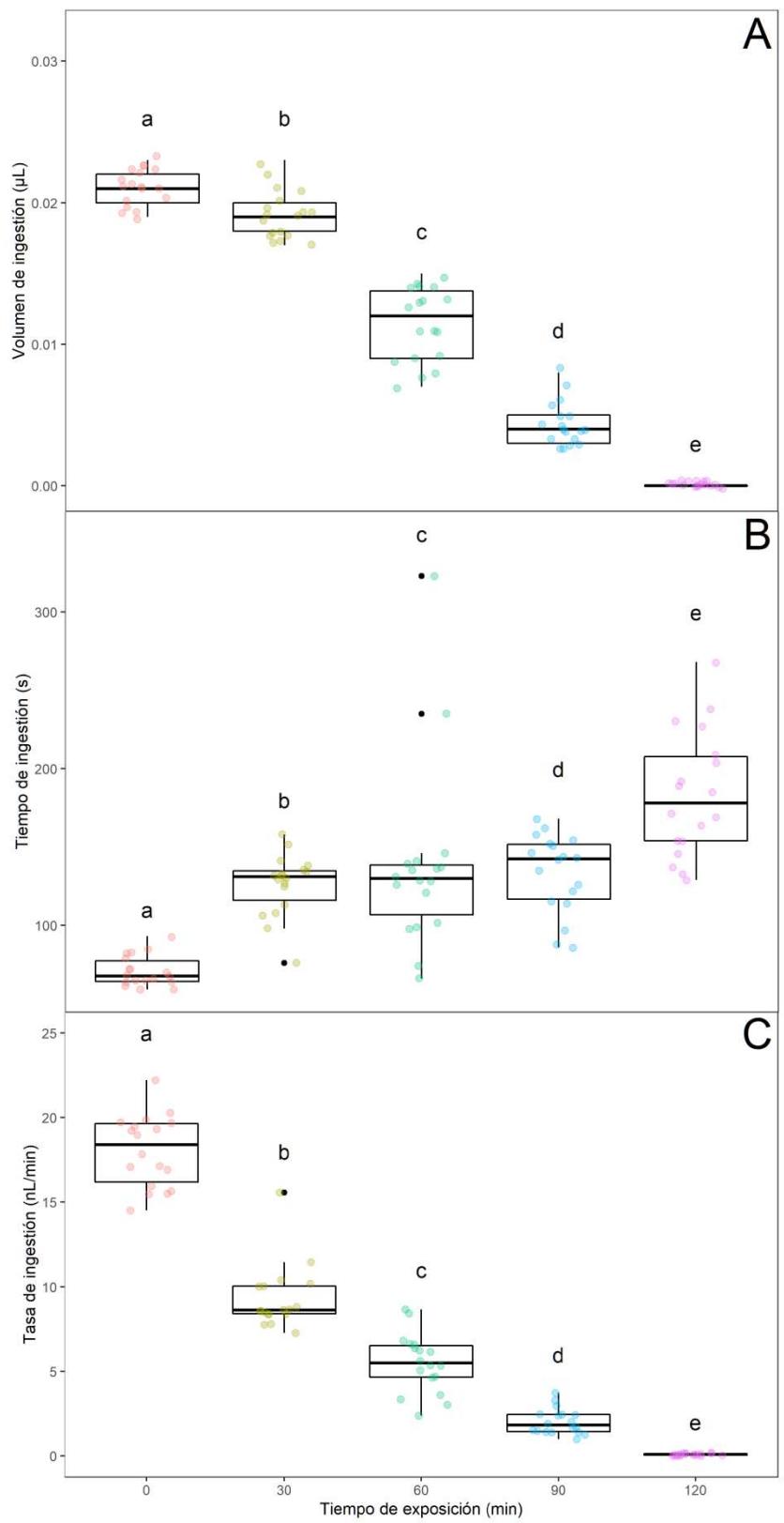


Fig. 8: Variables de alimentación individual de hormigas que ingieren una solución de sacarosa 20% p/p embebida en un hidrogel luego de estar expuesto al ambiente durante diferentes tiempos (0, 30, 60, 90, y 120 minutos). **A)** Volumen ingerido (μL). **B)** Tiempo de ingestión (s). **C)** Tasa de ingestión (nL/min). Letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Dunn, $P<0,05$). $N=90$.

Discusión

Los experimentos realizados brindan información nueva sobre la funcionalidad de los hidrogeles para dispensar alimento líquido para que sea ingerido por la hormiga *L. humile*. Si bien, en el presente estudio no se ha utilizado ningún compuesto letal, se espera que estos datos resulten de utilidad para ser considerados en las estrategias de control de hormigas por cebos tóxicos líquidos. Se cuantificaron por primera vez, diferentes variables comportamentales sobre obreras de *L. humile* en forma individual tomando líquido a partir de hidrogeles. Se demostró que el aumento de la concentración de la solución azucarada disminuye el tiempo de ingestión y la cantidad de líquido ingerido. Se confirmó que la alimentación a través del hidrogel restringe en cierta medida la velocidad de ingestión respecto a lo que es ingerir líquido libre, fuera de una matriz. Las hormigas ingirieron menos líquido del hidrogel que de una gota y estuvieron menos tiempo alimentándose. Finalmente, se demostró que, para las condiciones de laboratorio utilizadas, la vida útil del hidrogel resultó breve; durante las dos horas del estudio, el volumen y la tasa de ingestión disminuyeron a medida que se deshidrataban los hidrogeles, aumentando el tiempo de ingestión.

El comportamiento de alimentación sobre hidrogeles conteniendo diferentes concentraciones de solución azucarada mostró algunos resultados similares y otros distintos en comparación a la alimentación directa a partir de gotas. El volumen de ingestión en hidrogeles disminuyó con el incremento de la concentración de sacarosa, consistente con los resultados de *L. humile* y otras especies de hormigas al alimentarse de gotas (Detrain & Prieur, 2014; Josens et al., 1998; Sola & Josens, 2016). Sin embargo, las hormigas alimentándose de hidrogeles pasaron menos tiempo con el aumento de la concentración de sacarosa. Esto fue inesperado porque al alimentarse de gotas, *L. humile* aumenta el tiempo de alimentación con el incremento de la concentración de sacarosa (Sola & Josens, 2016) al igual que otras especies de hormigas (Bonser et al., 1998; Josens et al., 1998). La tasa de ingestión se mantuvo constante hasta una concentración de 40%p/p, luego de lo cual comienza a disminuir. Esto es consistente con los estudios publicados sobre otras especies de hormigas que se alimentan de fuentes *ad libitum* que muestran que las tasas de ingesta comienzan a disminuir cuando la concentración de sacarosa está entre 30 y 50%p/p (Ávila Núñez et al., 2011; Josens et al., 1998; Paul & Roces, 2003).

Por lo tanto, los hidrogeles que contienen 20-30%p/p de sacarosa parecen apropiados para usar con *L. humile*. Estas concentraciones ofrecen una combinación de

altas tasas de ingestión, tiempos de ingesta breves, y las mayores cargas de buche alcanzadas.

Como era de esperar, las hormigas pueden ingerir a mayor velocidad al consumir una solución directamente de la gota de líquido que a través del hidrogel. El volumen consumido por las hormigas fue mayor cuando se alimentaba del líquido que al hacerlo del hidrogel. Estos factores implicarían una desventaja a la hora de comparar el líquido en un dispensador respecto a la utilización de hidrogeles. Sin embargo, el tiempo de ingestión que *L. humile* mostró fue menor. Si en condiciones naturales ambos tipos de fuente resultaran igualmente atractivas, el hecho de acortar las visitas, podría compensar de algún modo las menores cargas de buche alcanzadas, ya que los ciclos de recolección serían más cortos dando lugar a mayor reclutamiento, por ejemplo. En un estudio reciente realizado a campo, se evaluó el reclutamiento de *L. humile* a varias fuentes de alimento, incluyendo formulaciones de cebos de hidrogel que contenían azúcar e insecticidas (tiometoxam, clotianidina), agua azucarada, agua de la canilla, un cebo comercial de fipronil en pasta y un *snack* saborizado (Sunamura et al., 2024). Los cebos de hidrogel y el agua azucarada tuvieron iguales niveles de reclutamiento de *L. humile*, independientemente de las concentraciones de azúcar e insecticida. Los niveles de reclutamiento de los cebos de hidrogel también fueron iguales o superiores a los del cebo de pasta comercial (Sunamura et al., 2024). Esto revela que, pese a la mayor dificultad para ingerir la solución desde la matriz del hidrogel, resultan igualmente atractivos.

El análisis preliminar sobre las concentraciones en el interior de la perla de hidrogel hidratado, para evaluar cómo migra la solución, mostró valores equivalentes a la solución utilizada para el baño. Esto es, las moléculas permanecen en solución y así migran a través de la matriz. Un resultado similar se encontró al medir la concentración de tiometoxam, sin mostrar diferencias significativas entre la superficie y el interior de la perla (Rust et al., 2015). Esto permite cortar las perlas para su mejor aprovechamiento en los ensayos, particularmente en laboratorio.

La vida útil de los hidrogeles ha diferido mucho entre investigaciones publicadas para experimentos de laboratorio y de campo, y se ha encontrado una gran discrepancia también en este estudio. Reportes previos revelaban que los hidrogeles se deshidratan en unas 8 horas (Buczkowski et al., 2014a), más lentamente a medida que la humedad relativa o la humedad del sustrato aumentan, y más rápidamente con una alta concentración de sacarosa (Rust et al., 2015; Tay et al., 2017b). En nuestro estudio, la cantidad de tiempo que un hidrogel estuvo expuesto al ambiente influenció negativamente a la ingestión. A las 2 horas de exposición al aire en las condiciones del

laboratorio, a 26 (± 1)°C y 56 (± 6)% HR, las hormigas intentaron alimentarse durante un largo tiempo, pero prácticamente nada de la solución resultó ingerida. Otros estudios, al ofrecer hidrogeles con diferentes tiempos de exposición al aire a colonias de laboratorio, informaron una disminución en la visita de hormigas a medida que los hidrogeles envejecían (Buczkowski et al., 2014a; Rust et al., 2015). Por ejemplo, Krushelnnycky (2020) descubrió que la atracción de las hormigas por los hidrogeles en el campo generalmente disminuía después de 30 minutos, probablemente como consecuencia de la deshidratación del hidrogel. Dichos hidrogeles perdieron más del 50% de su agua dentro de 1h de exposición total al sol. En un ensayo de cafetería donde se ofreció a una colonia de *L. humile* simultáneamente hidrogeles con distinto grado de desecación, las hormigas rechazaron los hidrogeles que habían perdido el 50 y el 75% de humedad. Visitando mayoritariamente el recién hecho o el que solo había perdido el 25% de humedad (Tay et al., 2017b). Por el contrario, en este estudio en laboratorio se vio que, aunque a los 120min las hormigas no tuvieron éxito en ingerir mucho líquido, seguían intentando alimentarse. Cabe aclarar que en nuestro estudio no tenían otra opción en el puente, la insistencia que mostraron, que interpretamos como que les resultaba atractiva, probablemente se pierda frente a otras fuentes de alimento más accesibles.

Hasta la fecha, las pruebas de aplicaciones de hidrogeles en el campo a gran escala han utilizado soluciones azucaradas de 30%p/p (Boser et al., 2014) y 25%p/p (Buczkowski et al., 2014b; Krushelnnycky, 2019; McCalla et al., 2020), basadas en la información de las preferencias evaluadas en soluciones ofrecidas como líquido. Así, nuestros hallazgos que las soluciones de sacarosa al 20-30%p/p maximizan la ingesta, avalan estos protocolos. Exactamente qué concentración usar probablemente dependerá de la situación. En zonas de mayor aporte natural de hidratos de carbono, posiblemente se necesite concentraciones más altas de sacarosa para atraer forrajeras a los hidrogeles sobre otras fuentes de carbohidratos. En zonas muy cálidas y de pocas precipitaciones, tal vez, convengan soluciones muy diluidas para demorar la concentración por evaporación.

La vida útil del hidrogel para entregar la solución que registramos en nuestro estudio fue más corta que la deshidratación de hidrogel reportada en otros estudios, tanto en condiciones de laboratorio como bajo el sol (Buczkowski et al., 2014a; Rust et al., 2015), o usando hidrogeles de alginato (Tay et al., 2017b). Sin embargo, en nuestro trabajo y a diferencia de los mencionados, no medimos la pérdida de líquido de hidrogel, solo el comportamiento individual de las hormigas y por lo tanto no se puede hacer una comparación directa con la deshidratación de otros estudios. Existe la posibilidad que los hidrogeles utilizados en nuestro estudio hayan estado menos hidratados desde el

principio, o que algún factor no controlado, además de la temperatura ambiente y humedad relativa, (por ejemplo, el flujo de aire de la habitación) podría haber deshidratado muy rápidamente los hidrogeles. La persistencia de las hormigas de alimentarse es consistente con la respuesta de las hormigas cuando detectan azúcar (Falibene & Josens, 2012; Rossi et al., 2020). En última instancia, las variaciones de temperatura, humedad, exposición al sol, e incluso el tamaño y la forma del hidrogel pueden influir en la accesibilidad del líquido y así, el comportamiento de recolección de alimento de las hormigas.

La implicancia general de la ingesta de líquido en relación con la vida útil del hidrogel es que el tiempo de aplicación es crítico porque las hormigas necesitan tener el tiempo adecuado para alimentarse de los hidrogeles. También es importante elegir con criterio el momento de la dispersión del hidrogel, ya que depende de las condiciones del medio ambiente y la actividad de las hormigas. Por ejemplo, en ambientes calurosos, como el norte de Australia, se realizan tratamientos contra la hormiga zancona, *Anoplolepis gracilipes* (Hoffmann & Saul, 2010), dispersando los hidrogeles conteniendo el cebo tóxico al final de la tarde. Es en ese horario que baja la temperatura y así los hidrogeles están frescos cuando *A. gracilipes* empieza a buscar alimento. Además, los hidrogeles quedan aún frescos por la noche para que las obreras puedan alimentarse cuando su actividad es mayor. Por el contrario, los tratamientos con hidrogel para *L. humile* se han realizado a lo largo del día en ambientes templados más fríos donde las hormigas están activas durante el día y los hidrogeles no se deshidratan rápidamente (Hoffmann et al., 2009). *L. humile* rara vez visita hidrogeles colocados al sol directo, es una especie que suele frecuentar áreas con sombra, por lo cual conviene arrojar las perlas en estos sitios sombreados (Cabrera et al., 2021). Esto no solo disminuye el acceso y consumo por parte de especies no-blancas, sino que prolongaría la vida útil de las perlas de hidrogel.

De este modo, los hidrogeles emergen como una herramienta versátil y eficaz para la administración de cebos líquidos sin necesidad de dispositivos adicionales, facilitando su uso en el campo y minimizando el riesgo de afectar a insectos benéficos, como las abejas (Hoffmann, 2023). Además, el interés por su aplicación para administrar cebos tóxicos se ha extendido en los últimos años a diversas especies, entre ellas otras hormigas invasoras (Mercer et al., 2024*; Sunamura et al., 2022), hormigas cortadoras (Duarte et al., 2024), avispas (Choe et al., 2018; Rust et al., 2017), e incluso mosquitos (Ayub et al., 2023; Piazzoni et al., 2022).

El uso de hidrogeles en el control de plagas, incluyendo la hormiga argentina, ofrece una alternativa de bajo costo y alta eficacia, capaz de proporcionar tratamientos exhaustivos y sostenibles. Este estudio aporta evidencia adicional sobre su capacidad para administrar soluciones azucaradas de manera eficiente, abriendo nuevas oportunidades para su implementación en programas de control integrado de plagas, especialmente en grandes extensiones, ya sea ecosistemas naturales o agroecosistemas.

Referencias bibliográficas

- Alvarez-Blanco P, Caut S, Cerdá X & Angulo E (2017) Native predators living in invaded areas: responses of terrestrial amphibian species to an Argentine ant invasion. *Oecologia* 185: 95-106. doi:10.1007/s00442-017-3929-x.
- Alvarez-Blanco P, Cerdá X, Hefetz A, Boulay R, Bertó-Moran A, Díaz-Paniagua C, Lenoir A, Billen J, Liedtke HC, Chauhan KR, Bhagavathy G & Angulo E (2021) Effects of the Argentine ant venom on terrestrial amphibians. *Conservation Biology* 35: 216-226. doi:doi.org/10.1111/cobi.13604.
- Angulo E, Caut S & Cerdá X (2011) Scavenging in Mediterranean ecosystems: effect of the invasive Argentine ant. *Biological Invasions* 13: 1183-1194. doi:10.1007/s10530-011-9953-6.
- Angulo E, Hoffmann BD, Ballesteros-Mejia L, Taheri A, Balzani P, Bang A, Renault D, Cordonnier M, Bellard C, Diagne C, Ahmed DA, Watari Y & Courchamp F (2022) Economic costs of invasive alien ants worldwide. *Biological Invasions* 24: 2041-2060. doi:10.1007/s10530-022-02791-w.
- Ávila Núñez JL, Naya M, Calcagno-Pissarelli MP & Otero LD (2011) Behaviour of *Odontomachus chelifer* (Latreille) (Formicidae: Ponerinae) feeding on sugary liquids. *Journal of Insect Behavior* 24: 220-229. doi:10.1007/s10905-010-9249-1.
- Ayub NM, Kassim NFA, Sabar S, Webb CE, Xiang KZ & Hashim NA (2023) An efficient and biodegradable alginate-gelatin hydrogel beads as bait against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *International Journal of Biological Macromolecules* 224: 1460-1470. doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.10.233.
- Beutler R (1950) Zeit und Raum im Leben der Sammelbiene. *Naturwissenschaften* 5: 102-105.
- Bonabeau E, Theraulaz G & Deneubourg JL (1998) Group and mass recruitment in ant colonies: The influence of contact rates. *Journal of Theoretical Biology* 195: 157-166. doi:10.1006/jtbi.1998.0789.
- Bonser R, Wright PJ, Bament S & Chukwu UO (1998) Optimal patch use by foraging workers of *Lasius fuliginosus*, *L. niger* and *Myrmica ruginodis*. *Ecological Entomology* 23: 15-21. doi:doi:10.1046/j.1365-2311.1998.00103.x.
- Boser CL, Hanna C, Faulkner KR, Cory C, Randall JM & Morrison SA (2014) Argentine ant management in conservation areas: results of a pilot study. *Monographs of the Western North American Naturalist* 7: 518-530. doi:10.3398/042.007.0140.
- Brandstetter M, Crailsheim K & Heran H (1988) Provisioning of food in the honeybee before foraging. *Biona-report* 6: 129-148.
- Buczkowski G, Roper E & Chin D (2014a) Polyacrylamide hydrogels: an effective tool for delivering liquid baits to pest ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology* 107: 748-757. doi:10.1603/EC13508.
- Buczkowski G, Roper E, Chin D, Mothapo N & Wossler T (2014b) Hydrogel baits with low-dose thiamethoxam for sustainable Argentine ant management in commercial orchards. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 153: 183-190. doi:doi:10.1111/eea.12239.
- Bueno OC & Fowler HG (2021) Exotic ants and native ant fauna of Brazilian hospitals: Exotic Ants (ed. CRC Press, pp. 191-198.
- Cabrera ME, Rivas Fontan I, Hoffmann BD & Josens R (2021) Laboratory and field insights into the dynamics and behavior of Argentine ants, *Linepithema humile*, feeding from hydrogels. *Pest Management Science* 85: 161-177. doi:10.1002/ps.6368.

- Castro MMd, Prezoto HHS, Fernandes EF, Bueno OC & Prezoto F (2015) The ant fauna of hospitals: advancements in public health and research priorities in Brazil. *Revista Brasileira de Entomologia* 59: 77-83.
doi:10.1016/j.rbe.2015.02.011.
- Choe D-H, Campbell K, Hoddle MS, Kabashima J, Dimson M & Rust MK (2018) Evaluation of a hydrogel matrix for baiting western yellowjacket (Vespidae: Hymenoptera). *Journal of Economic Entomology* 111: 1799-1805.
doi:10.1093/jee/toy139.
- Choe D-H, Vetter RS & Rust MK (2010) Development of virtual bait stations to control Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae) in environmentally sensitive habitats. *Journal of Economic Entomology* 103: 1761-1769.
doi:10.1603/ec10154.
- Cole FR, Medeiros AC, Loope LL & Zuehlke WW (1992) Effects of the Argentine ant on arthropod fauna of Hawaiian high-elevation shrubland. *Ecology* 73: 1313-1322.
- Collignon B, Deneubourg JL & Detrain C (2012) Leader-based and self-organized communication: Modelling group-mass recruitment in ants. *Journal of Theoretical Biology* 313: 79-86. doi:10.1016/j.jtbi.2012.07.025.
- Detrain C & Deneubourg JL (2002) Complexity of environment and parsimony of decision rules in insect societies. *Biological Bulletin* 202: 268-274.
doi:10.2307/1543478.
- Detrain C & Prieur J (2014) Sensitivity and feeding efficiency of the black garden ant *Lasius niger* to sugar resources. *J Insect Physiol* 64: 74-80.
doi:10.1016/j.jinsphys.2014.03.010.
- Dimarco RD, Masciocchi M & Corley JC (2017) Managing nuisance social insects in urban environments: an overview. *International Journal of Pest Management* 63: 251-265. doi:10.1080/09670874.2017.1329566.
- Duarte VGO, Leite V, Constantino VRL, Fernandes FL, Silva RC, Tronto J & Danúbia A C Nobre GFC (2024) Alginate-kaolinite beads incorporated with agrochemicals: new baits for leaf-cutting ants control. PREPRINT (Version 1) available at Research Square doi:10.21203/rs.3.rs-4331320/v1.
- Erickson JM (1971) The displacement of native ant species by the introduced Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* Mayr. *Psyche* 78: 257-266.
- Falibene A & Josens R (2012) Sucrose acceptance threshold: a way to measure sugar perception in ants. *Insectes Sociaux* 59: 75-80. doi:10.1007/s00040-011-0190-x.
- Fowler HG, Bueno OC, Sadatsune T & Montelli AC (1993) Ants as potential vectors of pathogens in hospitals in the state of São Paulo, Brazil. *Insect Sci. Applic.* 14: 367-370.
- Gómez C & Abril S (2022) *Linepithema humile* (Argentine ant). CABI Compendium. doi:10.1079/cabicompendium.30839.
- Hansen DM & Müller CB (2009) Invasive ants disrupt gecko pollination and seed dispersal of the endangered plant *Roussea simplex* in Mauritius. *Biotropica* 41: 202-208. doi:doi.org/10.1111/j.1744-7429.2008.00473.x.
- Hoffmann BD (2023) Honey bees are not attracted to multiple new ant bait matrices containing sugar. *Bull Entomol Res* 113: 190-195.
doi:10.1017/S0007485322000451.
- Hoffmann BD, Abbott KL & Davis P (2010) Invasive ant management: Ant Ecology (ed. by L Lach, CL Parr & KL Abbott) Oxford University Press, New York, USA, pp. 287 - 304.
- Hoffmann BD, Luque GM, Bellard C, Holmes ND & Donlan CJ (2016) Improving invasive ant eradication as a conservation tool: A review. *Biological Conservation* 198: 37-49. doi:10.1016/j.biocon.2016.03.036.
- Hoffmann BD & Saul W-C (2010) Yellow crazy ant (*Anoplolepis gracilipes*) invasions within undisturbed mainland Australian habitats: no support for

- biotic resistance hypothesis. *Biological Invasions* 12: 3093-3108. doi:10.1007/s10530-010-9701-3.
- Hölldobler B & Wilson EO (1990) *The Ants*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Holway DA (1998) Effect of Argentine ant invasions on ground-dwelling arthropods in northern California riparian woodlands. *Oecologia* 116: 252-258. doi:10.1007/s004420050586.
- Holway DA, Lach L, Suarez AV, Tsutsui ND & Case TJ (2002) The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33: 181-233. doi:10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150444.
- Hooper-Bùi LM & Rust MK (2001) An oral bioassay for the toxicity of hydramethylnon to individual workers and queens of Argentine ants, *Linepithema humile*. *Pest Management Science* 57: 1011-1016. doi:10.1002/ps.378.
- Human KG & Gordon DM (1996) Exploitation and interference competition between the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant species. *Oecologia* 105: 405-412. doi:10.1007/bf00328744.
- Josens R, Farina WM & Roces F (1998) Nectar feeding by the ant *Camponotus mus*: intake rate and crop filling as a function of sucrose concentration. *J Insect Physiol* 44: 579-585. doi:10.1016/s0022-1910(98)00053-5.
- Josens R & Roces F (2000) Foraging in the ant *Camponotus mus*: nectar-intake rate and crop filling depend on colony starvation. *J Insect Physiol* 46: 1103-1110. doi:10.1016/S0022-1910(99)00220-6.
- Josens R, Sola F, Lois-Milevicich J & Mackay W (2017) Urban ants of the city of Buenos Aires, Argentina: species survey and practical control. *International Journal of Pest Management* 63: 213-223. doi:10.1080/09670874.2016.1239035.
- Josens R, Sola FJ, Marchisio N, Di Renzo MA & Giacometti A (2014) Knowing the enemy: ant behavior and control in a pediatric hospital of Buenos Aires. *SpringerPlus* 3: 229. doi:10.1186/2193-1801-3-229.
- Kennedy TA (1998) Patterns of an invasion by Argentine ants (*Linepithema humile*) in a riparian corridor and its effects on ant diversity. *The American Midland Naturalist* 140: 343-350.
- Klotz JH, Greenberg L, Amrhein C & Rust MK (2000) Toxicity and repellency of borate-sucrose water baits to Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology* 93: 1256-1258. doi:10.1603/0022-0493-93.4.1256.
- Krushelnicky P (2020) Evaluation of water-storing granules as a promising new baiting tool for the control of invasive ants in Hawaii. Report of Year 1 Activities to the Hawaii Invasive Species Council.
- Krushelnicky PD (2019) Evaluation of water-storing granules as a promising new baiting tool for the control of invasive ants in Hawaii: Report of Year 1 Activities to the Hawaii Invasive Species Council (ed. University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii, p. 40 pp).
- Lach L & Hooper-Bùi LM (2009) Consequences of Ant Invasions: Ant Ecology (ed. by L Lach, C Parr & K Abbot) Oxford University Press, UK.
- Lois-Milevicich J, Schilman PE & Josens R (2021) Viscosity as a key factor in decision making of nectar feeding ants. *J Insect Physiol* 128: 104164. doi:10.1016/j.jinsphys.2020.104164.
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S & De Poorter M (2000) 100 of the World's Worst Invasive Alien Species A Selection from the Global Invasive Species Database. The Invasive Species Specialist Group (ISSG; SSC; IUCN), Auckland, New Zealand.
- Mailleux A-C, Buffin A, Detrain C & Deneubourg J-L (2010a) Recruiter or recruit: who boosts the recruitment in starved nests in mass foraging ants? *Anim Behav* 79: 31-35. doi:10.1016/j.anbehav.2009.09.027.

- Mailleux A-C, Detrain C & Deneubourg J-L (2006) Starvation drives a threshold triggering communication. *Journal of Experimental Biology* 209: 4224-4229. doi:10.1242/jeb.02461.
- Mailleux A-C, Devigne C, Deneubourg J-L & Detrain C (2010b) Impact of Starvation on *Lasius niger*' Exploration. *Ethology* 116: 248-256. doi:10.1111/j.1439-0310.2009.01736.x.
- Markin GP (1970) Food distribution within laboratory colonies of the argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Insectes Sociaux* 17: 127-157. doi:10.1007/BF02223074.
- McCalla KA, Tay J-W, Mulchandani A, Choe D-H & Hoddle MS (2020) Biodegradable alginate hydrogel bait delivery system effectively controls high-density populations of Argentine ant in commercial citrus. *Journal of Pest Science* 93: 1031-1042. doi:10.1007/s10340-019-01175-9.
- Medan V & Josens R (2005) Nectar foraging behaviour is affected by ant body size in *Camponotus mus*. *J Insect Physiol* 51: 853-860. doi:10.1016/j.jinsphys.2005.03.016.
- Mercer N, Haviland DR & Daane KM (2024*) Mealybug, *Planococcus ficus*, suppression through pavement ant, *Tetramorium immigrans*, management using polyacrylamide hydrogel baits in vineyards. . Preprint available at SSRN. doi:<https://ssrn.com/abstract=4924755>.
- Moauro M & Josens R (2023) Differential feeding responses in two species of nectivorous ants: Understanding bait palatability preferences of Argentine ants. *Journal of Applied Entomology* 147: 520-529. doi:10.1111/jen.13126.
- Moreira DDO, Morais Vd, Vieira-da-Motta O, Campos-Farinha AEdC & Tonhasca Jr A (2005) Ants as carriers of antibiotic-resistant bacteria in hospitals. *Neotropical Entomology* 34. doi:10.1590/S1519-566X2005000600017.
- Nelson EH & Daane KM (2007) Improving liquid bait programs for Argentine ant control: bait station density. *Environ Entomol* 36: 1475-1484. doi:10.1603/0046-225x(2007)36[1475:ilbpfa]2.0.co;2.
- Newell W (1908) Notes on the Habits of the Argentine or "New Orleans" Ant, *Iridomyrmex humilis* Mayr. *Journal of Economic Entomology* 1: 21-34. doi:10.1093/jee/1.1.21.
- Nyamukondwa C & Addison P (2011) Preference of foraging ants (Hymenoptera: Formicidae) for bait toxicants in South African vineyards. *Crop Protection* 30: 1034-1038. doi:10.1016/j.cropro.2011.03.014.
- Olaya-Masmela LA, Chacon de Ulloa P & Payan A (2005) Hormigas (Hymenoptera: Formicidae) en centros hospitalarios del Valle del Cauca como vectores de patogenos nosocomiales. *Revista Colombiana de Entomología* 31: 183-187.
- Paul J & Roces F (2003) Fluid intake rates in ants correlate with their feeding habits. *J Insect Physiol* 49: 347-357.
- Piazzoni M, Negri A, Brambilla E, Giussani L, Pitton S, Caccia S, Epis S, Bandi C, Locarno S & Lenardi C (2022) Biodegradable floating hydrogel baits as larvicide delivery systems against mosquitoes. *Soft Matter* 18: 6443-6452. doi:10.1039/D2SM00889K.
- Porter SD & Savignano DA (1990) Invasion of polygynous fire ants decimates native ants and disrupts arthropod community. *Ecology* 71: 2095-2106. doi:doi.org/10.2307/1938623.
- Roces F & Blatt J (1999) Haemolymph sugars and the control of the proventriculus in the honey bee *Apis mellifera*. *J Insect Physiol* 45: 221-229.
- Rossi N, Pereyra M, Moauro MA, Giurfa M, d'Ettorre P & Josens R (2020) Trail pheromone modulates subjective reward evaluation in Argentine ants. *The Journal of Experimental Biology* 223: jeb230532. doi:10.1242/jeb.230532.
- Rust MK, Choe D-H, Wilson-Rankin E, Campbell K, Kabashima J & Dimson M (2017) Controlling yellow jackets with fipronil-based protein baits in urban

- recreational areas. International Journal of Pest Management 63: 234-241. doi:10.1080/09670874.2016.1227883.
- Rust MK, Reierson DA & Klotz JH (2004) Delayed toxicity as a critical factor in the efficacy of aqueous baits for controlling Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology 97: 1017-1024. doi:10.1093/jee/97.3.1017.
- Rust MK, Reierson DA, Paine E & Blum LJ (2000) Seasonal activity and bait preferences of the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Agricultural and Urban Entomology 17: 201-212.
- Rust MK, Soeprono A, Wright S, Greenberg L, Choe D-H, Boser CL, Cory C & Hanna C (2015) Laboratory and field evaluations of polyacrylamide hydrogel baits against Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology 108: 1228-1236. doi:10.1093/jee/tov044.
- Rust MK & Su N-Y (2012) Managing social insects of urban importance. Annual Review of Entomology 57: 355-375. doi:10.1146/annurev-ento-120710-100634.
- Sanders NJ, Gotelli NJ, Heller NE & Gordon DM (2003) Community disassembly by an invasive species. Proceedings of the National Academy of Sciences 100: 2474-2477.
- Schilman PE & Roces F (2003) Assessment of nectar flow rate and memory for patch quality in the ant *Camponotus rufipes*. Anim Behav 66: 687-693.
- Seeley TD (1995) The wisdom of the hive - The social physiology of honey bee colonies. Harvard University Press, London.
- Silverman J & Brightwell RJ (2008) The Argentine ant: challenges in managing an invasive unicolonial pest. Annual Review of Entomology 53: 231-252. doi:10.1146/annurev.ento.53.103106.093450.
- Silverman J & Roulston TaH (2001) Acceptance and intake of gel and liquid sucrose compositions by the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology 94: 511-515, 515.
- Sola F, Falibene A & Josens R (2013) Asymmetrical behavioral response towards two boron toxicants depends on the ant species (Hymenoptera: Formicidae). Journal of Economic Entomology 106: 929-938. doi:10.1603/EC12246.
- Sola FJ & Josens R (2016) Feeding behavior and social interactions of the Argentine ant *Linepithema humile* change with sucrose concentration. Bull Entomol Res 106: 522-529. doi:10.1017/S0007485316000201.
- Song J, Benson EP, Zungoli PA, Gerard P & Scott SW (2015) Using the DAS-ELISA test to establish an effective distance between bait stations for control of *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae) in natural areas. Journal of Economic Entomology 108: 1961-1971. doi:10.1093/jee/tov152.
- Suarez AV & Case TJ (2002) Bottom-up effects on persistence of a specialist predator: ant invasions and horned lizards. Ecological Applications 12: 291-298. doi:doi:10.1890/1051-0761(2002)012[0291:BUEOPO]2.0.CO;2.
- Suarez AV, McGlynn TP & Tsutsui ND (2010) Biogeographic and Taxonomic Patterns of Introduced Ants: Ant Ecology (ed. by L Lach, C Parr & K Abbott) Oxford University Press, pp. 233-244.
- Suarez AV, Yeh P & Case TJ (2005) Impacts of Argentine ants on avian nesting success. Insectes Sociaux 52: 378-382. doi:10.1007/s00040-005-0824-y.
- Sunamura E, Terayama M, Fujimaki R, Ono T, Buczkowski G & Eguchi K (2022) Development of an effective hydrogel bait and an assessment of community-wide management targeting the invasive white-footed ant, *Technomyrmex brunneus*. Pest Management Science 78: 4083-4091. doi:10.1002/ps.7027.
- Sunamura E, Yamahara M, Kasai H, Hayasaka D, Suehiro W, Terayama M & Eguchi K (2024) Comparison of Argentine ant *Linepithema humile*

- (Hymenoptera: Formicidae) recruitment to hydrogel baits and other food sources. *Applied Entomology and Zoology* 59: 71-76. doi:10.1007/s13355-023-00846-5.
- Tay J-W, Hoddle MS, Ashok M & Choe D-H (2017a) Use of an alginate hydrogel to deliver aqueous bait to manage an invasive ant pest in residential settings: Proceedings of the Ninth International Conference on Urban Pests (ed. by MP Davies, C Pfeiffer & WH Robinson) Pureprint Group, Crowson House, Uckfield, Birmingham, UK, pp. 265-269.
- Tay J-W, Hoddle MS, Mulchandani A & Choe D-H (2017b) Development of an alginate hydrogel to deliver aqueous bait for pest ant management. *Pest Management Science* 73: 2028-2038. doi:10.1002/ps.4616.
- Ward P (1987) Distribution of the introduced Argentine ant (*Iridomyrmex humilis*) in natural habitats of the lower Sacramento Valley and its effects on the indigenous ant fauna. *Hilgardia* 55: 1-16. doi:10.3733/hilg.v55n02p016.
- Wilson EO (1971) *The Insect Societies*. Harvard University Press, Cambridge.
- Zufall F, Firestein S & Shepherd GM (1991) Single channel recordings of a cyclic nucleotide gated, odour sensitive channel in isolated salamander olfactory receptor neurones. *Journal of Physiology* 438: 223.