

Tesis Doctoral

# Recolección de cebos en hormigas urbanas: comportamiento de la hormiga *Linepithema humile*

Sola, Francisco Javier

2015-03-30

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://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 doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Sola, Francisco Javier. (2015-03-30). Recolección de cebos en hormigas urbanas: comportamiento de la hormiga *Linepithema humile*. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Sola, Francisco Javier. "Recolección de cebos en hormigas urbanas: comportamiento de la hormiga *Linepithema humile*". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2015-03-30.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES**

**Facultad de Ciencias Exactas y Naturales**

**Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental**

**Recolección de cebos en hormigas urbanas:  
Comportamiento de la hormiga *Linepithema humile***

Tesis presentada para optar por el título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el  
área de CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Licenciado Francisco Javier Sola**

Director de Tesis: Dra. Roxana B. Josens

Consejero de Estudios: Profesor Dr. Walter M. Farina

Grupo de Estudio de Insectos Sociales. IFIBYNE-CONICET. Departamento de Biodiversidad y  
Biología Experimental. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.  
Universidad de Buenos Aires.

Ciudad Autónoma de Buenos Aires 2015.

Fecha de defensa: 30/03/2015

## **Recolección de cebos en hormigas urbanas: Comportamiento de la hormiga *Linepithema humile***

### **Resumen**

La hormiga argentina, *Linepithema humile*, es una de las especies más estudiadas en todo el mundo por haber invadido todos los continentes generando perjuicio y desequilibrios en las faunas locales. Esta hormiga se encuentra también en ambientes antropizados dentro de su rango nativo, como la Ciudad de Buenos Aires. En esta tesis se evaluó el comportamiento de recolección de cebos artificiales en la hormiga argentina. En el laboratorio se estudió el comportamiento de ingestión de soluciones de sacarosa. Se ofrecieron soluciones de diferente concentración a hormigas individuales, a diferencia de otros estudios en esta especie, donde se focalizó en el comportamiento a escala grupal. Las concentraciones intermedias fueron las más consumidas y a mayor tasa de ingestión, mientras que las de mayor concentración demandaron extensos tiempos de ingestión llevándose la hormiga una carga de buche menor. Se estudiaron posteriormente las interacciones entre la recolectora y compañeras de colonia en función de la concentración de la solución ingerida por la primera. Se caracterizaron y cuantificaron los comportamientos desplegados, realización de trofalaxias (intercambio de alimento boca a boca), contactos, y caminatas con contoneo de gáster. Las concentraciones intermedias generaron una mayor proporción de trofalaxias y éstas ocurrieron con menor latencia. Por otro lado, las hormigas dadoras realizaron más contactos, sacudidas de cabeza y contoneos de gáster conforme aumentaba la concentración de la solución ingerida. Es la primera vez que se cuantifican estos comportamientos, asociados al reclutamiento en hormigas, para diferentes calidades de un recurso. Finalmente, se estudió el comportamiento recolector de hormigas individuales frente a cebos adicionados con tóxicos borados. Para ello se formularon soluciones de sacarosa de diferente concentración adicionadas con distintas concentraciones de borato de sodio por un lado, y ácido bórico por el otro. La hormiga argentina aceptó e ingirió el cebo con ácido bórico, mientras que el cebo con borato de sodio fue rechazado o consumido en bajos volúmenes. La sobrevida de los individuos reveló una eficacia reducida para el borato de sodio. Se realizaron además estudios a campo para describir la estructura poblacional de la hormiga argentina dentro de la Ciudad Universitaria (CU). Mediante pruebas de agresión, se detectaron diferentes supercolonias, cuya extensión podía alcanzar un área de hasta 11 hectáreas. Se evaluó la distribución dentro de CU mediante cebos alimentarios, colectas directas y trampas de caída. La hormiga argentina ha demostrado ser numéricamente y comportamentalmente dominante en algunos sitios, y ausente en otros. Se determinaron las especies presentes en zonas con y sin hormiga argentina. Sumadas a las especies encontradas en la CU y alrededores, mediante colectas realizadas en otros sitios de la CABA, se ha logrado registrar las especies presentes en la ciudad, llegando a determinar un total de 60 especies. Esperamos que nuestros estudios permitan un mayor entendimiento de la estrategia particular de una especie autóctona de fundamental importancia en la actualidad y así como del comportamiento de insectos sociales. Además, esperamos que los conocimientos generados tengan un potencial campo de aplicación en el mejoramiento de protocolos de control químico de hormigas urbanas.

Palabras clave: *Linepithema humile*, fisiología del comportamiento, hormigas urbanas, trofalaxia, cebos tóxicos.

**Bait foraging in urban ants:  
The behavior of the ant *Linepithema humile***

**Abstract**

The Argentine ant, *Linepithema humile*, is one of the most studied species worldwide, having invaded every continent causing damages and imbalances in local faunas. This ant is also found in anthropic environments within its native range, such as the City of Buenos Aires (CABA). In this thesis we assessed the foraging behavior to artificial baits in the Argentine Ant. The ingestion behavior of sucrose solutions was studied in the laboratory. Solutions of different concentrations were offered to individual ants, unlike other studies on this species, which focused on the behavior at the group level. Intermediate concentrations were more consumed and at increased ingestion rates, while at higher concentration intake times rose significantly, with ants taking smaller crop loads. Following this, we studied interactions between the foraging ant and nestmates depending on the concentration of the ingested solution by the former. The deployed behaviors were characterized and quantified, and included trophallaxis (exchanging food mouth to mouth), contacts, and gaster waggles. Intermediate concentrations generated a greater proportion of trophallaxis and with lower latency. On the other hand, with increasing concentration of the ingested solution, the donor ants presented more contacts, head shaking and gaster waggles. It is the first time that these behaviors, associated with recruiting ants, are quantified for different resource qualities. Finally, we studied the behavior of individual foraging ants towards boron-added toxic baits. For this purpose we presented ants with solutions of different sucrose concentration combined with various concentrations of sodium borate in some, and boric acid in others. The individual Argentine ants accepted and ingested the boric acid baits, while the sodium borate baits were rejected or consumed in low volumes. The resulting survival rate of the individuals showed a reduced efficacy for sodium borate. Field studies were conducted to describe the population structure of the Argentine Ant within University City Campus of Buenos Aires (CU). By means of aggression tests, different super colonies were identified, whose extension could reach an area up to 11 hectares. Distribution within CU was evaluated using food baits, direct sampling and pitfall traps. The Argentine ant has proved numerically and behaviorally dominant in some sites and absent in others. Species were identified in areas with and without Argentine ants. Adding, through sampling elsewhere in the CABA, to the species found in the CU has resulted in a total of 60 determined species present in the city. We hope that our studies will allow a better understanding of the particular strategy of an indigenous species of current fundamental importance, as well as the behavior of social insects in general. We also hope that the knowledge generated have a potential field of application in improving chemical control protocols for urban ants.

Keywords: *Linepithema humile*, behavioral physiology, urban ants, trophallaxis, toxic baits.

## **Agradecimientos**

En primer lugar quiero agradecer a Roxy, mi directora de tesis, que tuvo la paciencia de guiarme cuando yo no sabía para dónde ir. Gracias por hacerme llegar hasta acá.

Gracias a Walter por sus charlas estimulantes y simpatía.

A los chicos que estuvieron y están, primero amigos y segundo, compañeros de trabajo: Héctor, Walter, Roxy, Agus, Andrés, Sofí, Vane, Paula, Sol, Gonzalo, Gabi, Nahuel, Gigita, Caro, Anita, Ali, JuanPe, Diego y Cinthia. Tuve la suerte de estar acompañado por ustedes en este largo camino.

Los mates, consejos (dados y recibidos), cargadas, discusiones profesionales, consejos huertiles, partidos, todo lo compartido con ustedes es lo más importante que me llevo.

A las personas que me ayudaron con las tareas de identificación y genética les quiero agradecer profundamente. Al Dr. Mackay por ser tan generoso con su tiempo y conocimiento, compartiendo con nosotros el fruto de su trabajo. A la Dra. Patricia Mirol por hacerme sentir en casa en su laboratorio, enseñándome todo lo que yo estaba dispuesto a aprender, y teniendo buena onda cuando las cosas no salían, gracias. Finalmente a Nahuel Marchisio, quién colaboró con tareas de campo de esta Tesis, me alegro de haber podido compartir ese tiempo con alguien tan honesto y original. Sin ellos este trabajo no hubiese sido posible.

A mi familia, por divertirse con tener un biólogo bichólogo en la familia. Siempre me dieron su apoyo y respeto, aunque no lo entiendan del todo. Me quieren como soy, y yo a ellos.

Y a la persona más importante en mi vida, Euge, quién le da un nuevo significado a la palabra familia. Con vos comparto todo, esto también, para seguir creciendo juntos.

A mis abuelos, a través de su recuerdo sigo aprendiendo.

# ÍNDICE

<b>Introducción general.....</b>	<b>8</b>
1.1. Insectos sociales.....	8
1.1.1. Organización de la colonia .....	8
1.1.2. Recolección de alimento en insectos sociales .....	9
1.1.3. Flujo de información y motivación de las obreras forrajeras .....	10
1.2. Alimentación en hormigas .....	11
1.2.1. Recolección de cebos azucarados.....	11
1.2.2. Reclutamiento.....	12
1.3. Las hormigas como plaga .....	14
1.3.1. Hormigas invasoras .....	14
1.3.2. La hormiga argentina, <i>Linepithema humile</i> , como modelo .....	15
1.3.3. El control de hormigas mediante cebos tóxicos .....	16
1.4. La diversidad de hormigas urbanas.....	18
1.5. Objetivos generales.....	19
1.5.1. Objetivos particulares.....	19
<b>Ingestión y trofalaxia de soluciones azucaradas .....</b>	<b>20</b>
2.1. Introducción.....	20
2.1.1. Objetivos .....	22
2.2. Materiales y Métodos.....	22
2.2.1. Series experimentales .....	23
2.2.2. Análisis estadístico .....	30
2.3. Resultados.....	30
2.3.1. Efecto de la concentración de sacarosa en la ingestión individual .....	30
2.3.2. Efecto de la concentración de sacarosa en las interacciones grupales y trofalaxias .....	34
2.4. Discusión .....	39
2.4.1. Modulación de la ingestión individual .....	39

2.4.2. Modulación de las interacciones grupales y trofalaxias .....	41
<b>Ingestión de cebos tóxicos.....</b>	<b>44</b>
3.1. Introducción.....	44
3.1.1. Objetivos .....	47
3.2. Materiales y Métodos.....	47
3.2.1. Series experimentales .....	48
3.2.1.1. Comparación entre borato de sodio y ácido bórico .....	48
3.2.1.2. Borato de sodio y concentración de sacarosa .....	49
3.2.1.3. Comparación de tóxicos y el efecto de la concentración de sacarosa.....	49
3.2.4. Análisis estadístico .....	49
3.3. Resultados.....	50
3.3.1. Comparación entre borato de sodio y ácido bórico .....	50
3.3.2. Borato de sodio y concentración de sacarosa .....	52
3.3.3. Comparación de tóxicos y el efecto de la concentración de sacarosa.....	52
3.4. Discusión .....	56
<b>Supercolonias urbanas de La hormiga argentina.....</b>	<b>58</b>
4.1. Introducción.....	58
4.1.1. Objetivos .....	59
4.2. Materiales y Métodos.....	60
4.2.1. Área de muestreo.....	60
4.2.2. Ensayos de agresión y distribución de supercolonias.....	61
4.2.3. Muestreo genético .....	62
4.2.4. Determinación de barreras artificiales .....	63
4.2.5. Análisis estadísticos .....	64
4.3. Resultados.....	64
4.3.1. Ensayos de agresión y distribución de supercolonias.....	64
4.3.2. Muestreo genético .....	66
4.3.3. Determinación de barreras artificiales .....	68
4.4. Discusión .....	69
<b>Diversidad de hormigas de La Ciudad Univeristaria.....</b>	<b>72</b>
5.1. Introducción.....	72
5.1.1. Objetivos .....	74

5.2. Materiales y Métodos.....	75
5.2.1. Muestreo de hormigas .....	75
5.2.2. Dominancia comportamental y ecológica .....	76
5.3. Resultados.....	77
5.3.1. Muestreo de hormigas .....	77
5.3.2. Lista de especies de CABA .....	81
<b><i>melanocephalum (Fabricius, 1793)</i> .....</b>	<b>81</b>
5.3.3. Dominancia comportamental.....	83
5.4. Discusión .....	85
<b>Discusión general .....</b>	<b>87</b>
Conclusiones.....	87
6.1. Modulación del comportamiento recolector .....	88
6.2. Cebos Tóxicos.....	91
6.3. Diversidad de hormigas Urbanas .....	93
6.4. Implicancias .....	94
<b>Bibliografía .....</b>	<b>95</b>
<b>Anexo.....</b>	<b>107</b>
A1. Muestreos Genéticos.....	107
A1.1. Extracción, amplificación y secuenciación.....	107
A1.2. Análisis estadístico .....	108
A1.3. Resultados .....	108
A2. Bibliografía utilizada para la identificación de especies de hormigas. ....	115

# INTRODUCCIÓN GENERAL

## 1.1. INSECTOS SOCIALES.

Con aproximadamente un millón de especies distintas, los insectos presentan gran diversidad de estrategias de vida (Chapman, 2009). Una de las más exitosas, juzgando por el porcentaje que integra de la biomasa total animal, es la eusocialidad (Hölldobler y Wilson, 1990). Dentro de los insectos eusociales encontramos las hormigas, con casi 16000 especies descritas ([www.antweb.org](http://www.antweb.org)), uno de los grupos de animales terrestres más importantes del planeta en términos de ecología y biomasa.

### 1.1.1. Organización de la colonia

Los insectos sociales más reconocidos son las termitas y los himenópteros. Estos últimos comprenden avispas, abejas y hormigas. La familia de las hormigas, Formicidae es, junto con las termitas, uno de los pocos taxa puramente eusociales. La eusocialidad implica que la sociedad tiene una división de la tarea reproductiva, cuidado cooperativo de la cría y superposición de generaciones (Wilson, 1971). Todas las especies de hormigas presentan casta reproductiva y casta obrera; la casta reproductiva está compuesta por reinas y machos, cuya función principal es la reproducción, mientras que la casta obrera está compuesta por la mayoría de los individuos de la colonia, fisiológicamente o funcionalmente estériles, encargadas de realizar todas las demás tareas. Las tareas incluyen el cuidado de la cría, la construcción, mantenimiento y defensa del nido, y finalmente la recolección de recursos para la colonia (Hölldobler y Wilson, 1990).

Aunque la colonia actúa como una unidad funcional, la organización de ésta es descentralizada; su coordinación se basa en las decisiones individuales mediadas y moduladas por un eficiente sistema de comunicación entre los individuos (Seeley, 1989; Hölldobler y Wilson, 2008; O'Donnell y Bulova, 2007). Las obreras se organizan sin una dominancia jerarquizada al realizar tareas en forma cooperativa, y las respuestas colectivas emergen del conjunto de las decisiones que cada individuo toma en respuesta a interacciones con otros individuos o con el medio ambiente.

### **1.1.2. Recolección de alimento en insectos sociales**

Las hormigas son recolectoras de lugar central, no se alimentan en el lugar donde encuentran el alimento sino que lo trasladan a un lugar determinado, de anidamiento (Orians y Pearson, 1979). La recolección de alimento la realizan solo un subconjunto de obreras, las forrajeras o recolectoras. Cada obrera forrajera realiza sucesivos *ciclos recolectores* en los que se dirige desde el nido hacia una fuente de alimento, carga parte del alimento encontrado y regresa nuevamente al nido. Allí, la obrera generalmente realiza contactos con sus compañeras, descarga el recurso transportado y se dirige nuevamente a la fuente, iniciando otro ciclo recolector (Hölldobler y Wilson, 1990).

Algunas especies realizan la recolección de recursos en forma individual y solitaria, mientras que otras la realizan en forma de grupos cooperativos. En este último caso, asociado a la recolección existen comportamientos que le permiten a la forrajera o recolectora indicar la posición del recurso y reclutar otros individuos hacia él (Wilson, 1971). Dependiendo de la especie en cuestión estos comportamientos de reclutamiento pueden variar enormemente. Uno de los comportamientos de reclutamiento más conspicuos en insectos sociales es la danza de contoneo de la abeja doméstica *Apis mellifera* (von Frisch, 1967); en él, las abejas que vuelven de una fuente de alimento realizan una “danza” que codifica características de la fuente, principalmente riqueza y posición. Este es uno de los comportamientos de reclutamiento más sofisticados que se conocen, pero todos los insectos sociales que realizan recolección grupal tienen algún canal de comunicación por el cual transferir información sobre la presencia de una fuente de alimento.

### **1.1.3. Flujo de información y motivación de las obreras forrajeras**

Como dijimos, la organización del grupo cooperativo de forrajeras se basa en las decisiones tomadas por los individuos en respuesta a los estímulos del medio ambiente y la información local obtenida de compañeras de nido (Wilson, 1971; Hölldobler y Wilson, 1990; Seeley, 1995; Breed et al., 1996; Mailleux et al., 2000; Gordon, 2007). Los canales de comunicación que participan en el reclutamiento pueden ser de distinta naturaleza: táctiles, químicos, vibracionales, despliegues conspicuos como la danza de las abejas, o el intercambio de alimento boca a boca (trofalaxia), entre otros. Todos ellos son modulados por las propiedades de los recursos involucrados, así como también por las necesidades de la colonia por esos recursos (Cammaerts y Cammaerts, 1980; Waddington, 1982; Traniello, 1983; Beckers et al., 1992; Roces y Núñez, 1993; Farina, 1996; Mailleux et al., 2000; Sanders y Gordon, 2002; Portha et al., 2002; Cassil, 2003; Goyret y Farina, 2003; Le Breton y Fourcassié, 2004; Mc Cabe et al., 2006). Estas interacciones permiten el intercambio de información entre las obreras, por ejemplo, recolectoras desempleadas o inactivas en el nido pueden saber acerca de los recursos disponibles, y las recolectoras activas, sobre fuentes alternativas o de las necesidades actuales de la colonia (Hölldobler y Wilson, 1990; Núñez, 1982; Seeley, 1989; Farina, 2000; Gil y Farina, 2002).

Las decisiones individuales que toma una forrajera en la fuente de alimento deben ajustarse a las necesidades del resto de la colonia a fin de optimizar la recolección (Hölldobler y Wilson, 1998; Detrain y Deneubourg, 2002). Además de la información de las forrajeras que vuelven al nido, las obreras reciben información sobre el estado del nido, como la presencia de cría y la demanda de alimento que genera o el tamaño de la colonia (Cassill y Tschinkel, 1999a). Considerando esto, las interacciones que se establecen entre los individuos de una colonia pueden modificar el comportamiento subsiguiente en base a la información que recibieron afectando el valor relativo de un recurso y la motivación por recolectarlo (Howard y Tschinkel, 1980; Cassill y Tschinkel, 1999b; Dussutour y Simpson, 2008). Finalmente, las características y/o ubicación de la fuente de alimento también afectarán el comportamiento durante la recolección (Wilson, 1971; Hölldobler y Wilson, 1990; Seeley, 1995; Breed et al., 1996; Mailleux et al., 2000).

Resumiendo, en términos generales, el comportamiento de recolección que desarrolla una obrera en la fuente de alimento dependerá fundamentalmente del valor que ese recurso represente, lo cual no solo está determinado por la riqueza en términos absolutos, sino que está directamente ligado a la necesidad que se tiene del mismo y a la experiencia previa del animal, lo que en conjunto determinará su motivación recolectora.

## **1.2. ALIMENTACIÓN EN HORMIGAS**

Existe una gran diversidad de hábitos alimentarios en hormigas: en términos generales pueden ser nectívoras, granívoras, fungívoras, predadoras, carroñeras u omnívoras (Hölldobler y Wilson, 1990; Lach et al., 2010). Sin embargo, la dieta y el balance nutricional también pueden variar dentro de una especie de acuerdo al entorno ecológico (Davidson, 1997; Dussutour y Simpson, 2008; Kay, 2002; 2004; Lach et al., 2010).

La mayoría de las hormigas puede recolectar soluciones azucaradas de manera oportunista, pero aquellas que se especializan en ese alimento son llamadas hormigas nectívoras. Éstas pueden coleccionar néctar directamente de plantas a través de nectarios florales y extraflorales, así como a través del cuidado de fitófagos succionadores (pulgonos, cochinillas, etc.), cuyas excreciones son ricas en hidratos de carbono (Hölldobler y Wilson, 1990).

### **1.2.1. Recolección de cebos azucarados**

Como se ha mencionado, muchas especies de hormigas están altamente especializadas en la recolección de solución azucarada, como es el caso de la hormiga argentina *Linepithema humile*, foco de esta Tesis (Newell y Barber, 1913).

La riqueza de una fuente de néctar está relacionada con su concentración de azúcar, el flujo o tasa de producción del mismo y viscosidad, entre otros factores. Estas características afectarán la calidad percibida por una hormiga nectívora, y modularán a su vez las variables comportamentales de alimentación (aceptación, tiempo de ingestión, carga

de buche, etc.) (Josens et al., 1998; Paul y Roces, 2003; Schilman y Roces, 2003; Medan y Josens, 2005).

Focalizándose en el comportamiento individual, diversos estudios han abordado la ingestión de soluciones azucaradas y el reclutamiento asociado en distintas especies de hormigas (Paul et al., 2002; Paul y Roces, 2003; Schilman y Roces, 2003, 2006; Mailleux et al., 2000, 2010). En el caso de la hormiga argentina, *L. humile*, las preferencias por soluciones de sacarosa de diferentes concentraciones se han estudiado en grupos, subnidos o colonias enteras, (Baker et al., 1985; Silverman y Roulston, 2001; Silverman y Brightwell, 2008), pero no el comportamiento de ingestión a nivel del individuo. Esto es quizás debido a su pequeño tamaño, aproximadamente 3-4 milímetros, lo que hace que las observaciones y mediciones individuales sean difíciles, requieran filmaciones y condiciones experimentales particulares. El estudio de la hormiga argentina en esta escala individual podría dar indicios de cómo las reglas de decisión que la recolectora toma afectan y/o determinan la recolección a una escala mayor, a nivel de la colonia (Mailleux et al., 2010).

### **1.2.2. Reclutamiento**

Cuando el alimento recolectado es líquido, a excepción de algunos casos, la obrera recolectora lo transporta dentro del buche y lo entrega directamente a otro miembro de la colonia. Para ello, regurgita una gota del alimento líquido, exponiéndola entre sus mandíbulas de donde toman una o varias de sus compañeras de nido. Este intercambio boca a boca de alimento líquido se conoce como trofalaxia y es uno de los comportamientos asociados al reclutamiento más conspicuo y extendido dentro de los himenópteros sociales nectívoros.

Este acto de regurgitación (de la dadora) e ingestión (de la receptora) permite descargar el buche de la dadora, para volver a la fuente reiniciando otro ciclo de recolección, y la distribución del alimento, pero también la transferencia de información entre los individuos involucrados en los contactos trofalácticos. Mientras la dadora puede adquirir cierta información de los requerimientos del nido (Mc Cabe et al., 2006; Camazine, 1993), la receptora lo hará sobre las características del recurso (Cassill y Tschinkel, 1995;

Cassill, 2003). Además, la trofalaxia juega un papel importante en el reconocimiento de congéneres y en el mantenimiento de la integración de colonias (Soroker et al., 1995; Boulay et al., 1999).

Además de la conocida “feromona de camino” que muchas especies presentan (rev. Hölldobler y Wilson, 1990), el reclutamiento puede involucrar señales o despliegues motores en diferentes especies de hormigas, como estridulación, golpes de cuerpo, vibraciones, golpeteos antenales, caminatas rápidas, contoneos y compartir alimento (Wilson, 1962; Szlep-Fessel, 1970; Hölldobler, 1971, 1985; Traniello, 1977; Markl y Hölldobler, 1978; Cammaerts y Cammaerts, 1980; Traniello, 1983; Baroni Urbani et al. 1988; Beckers et al., 1992; Roces y Núñez, 1993; De Biseau y Pasteels, 1994; Stuart y Moffett, 1994; Roces y Hölldobler, 1996; Mailleux et al., 2000; Liefke et al., 2001; Sanders y Gordon, 2002; Portha et al., 2002; Cassil, 2003; Le Breton y Fourcassié, 2004).

Hölldobler (1971) describe el comportamiento de las forrajeras de *Camponotus socius* al regresar al nido: cuando estas hormigas encuentran una compañera de nido pueden realizar sacudidas o meneos de cabeza sobre la cabeza de la hormiga receptora. Esto desencadena la salida del nido de la receptora en busca del recurso "publicitado". A su vez, Szlep y Jacobi (1967) describen el comportamiento de reclutamiento de *Monomorium* spp. y *Tapinoma* spp. al regresar al nido después de ingerir soluciones de sacarosa. Estas hormigas exhiben despliegues motores asociado al reclutamiento, y relacionan su intensidad con la calidad de la fuente de alimento. En *Pheidole pallidula*, las forrajeras realizan caminatas rápidas, anteneos, sacudidas de cuerpo y saltos para estimular a sus compañeras de nido a seguirlas a la fuente de alimento (Szlep-Fessel, 1970); en la hormiga *Formica fusca*, alternan sacudidas con ofrecimientos de comida regurgitada antes de conducir a sus compañeras de nido a la fuente (Möglich y Hölldobler, 1975). En la hormiga de fuego, *Solenopsis invicta*, se describieron varios comportamientos de reclutamiento: marcado de camino; anteneo: golpeteos rápidos de antenas sobre cabezas, tórax o gáster; caminata acelerada; sacudidas de cabeza o cabeceos (Cassill, 2003). Se encontró además que varios de estos comportamientos se modulan con la concentración del néctar ingerido por la scout (Cassill, 2003). Se sabe que la hormiga argentina presenta también comportamientos de reclutamiento (Van Vorhis Key y Baker, 1986), pero poco se conoce

en forma cuantitativa de este tipo de comportamiento en la hormiga argentina y su modulación en relación a la riqueza del recurso recolectado.

### **1.3. LAS HORMIGAS COMO PLAGA**

Debido a sus abundancias y roles como depredadores, herbívoros, comensales y removedores de suelo, las hormigas generan un fuerte impacto en los ambientes donde se encuentran (Hölldobler y Wilson, 1990). Muchas especies de hormigas generan daños al hombre o a sus recursos, por lo cual son consideradas plagas y se las combate de diversas formas. Así, las hormigas cortadoras de hojas son consideradas plagas de jardín, agrícolas o forestales, y las carpinteras, plagas estructurales. En los ambientes urbanos algunas especies de hormigas pueden afectar directa o indirectamente al hombre invadiendo sus viviendas y sitios de trabajo, además del malestar y estrés emocional que esto ocasiona pueden afectar la salud por la acción directa de sus picaduras e indirectamente por actuar como vectores mecánicos de agentes patógenos (Fowler et al., 1990; Fowler et al., 1993; Olaya y Chacón, 2001; Robinson, 1996; Clarke et al., 2008).

#### **1.3.1. Hormigas invasoras**

Las hormigas invasoras constituyen una amenaza crucial para la biodiversidad, la agricultura y otros intereses humanos. Holway y colaboradores (2002) califican dichas invasiones como un fenómeno destructivo, tanto en ecosistemas insulares como continentales, no solo por el desplazamiento o destrucción de organismos autóctonos, sino por las disrupciones que suscitan en las relaciones planta-animal y en el funcionamiento general de los ecosistemas (Sarty et al., 2007).

Las hormigas invasoras comparten una serie de características (Passera, 1994): 1) suelen tener afinidad por ambientes perturbados, antropizados e inestables. 2) presentan baja agresión entre colonias distintas, lo cual permite desarrollar supercolonias, abarcando grandes áreas. 3) muestran elevada agresividad hacia otras especies de hormigas. 4) tienen varias reinas por colonia (poliginia) y la cópula suele realizarse dentro del nido (no se han observado vuelos nupciales). Las reinas viven un período relativamente corto, entre 29 y 57

semanas, dependiendo de la especie. 5) la colonia puede dividirse, separándose algunas reinas y obreras para formar otro nido (gemación o *budding*). 6) suelen ser monomórficas (sin diferencias en las proporciones corporales y en los tamaños entre las obreras). 7) las obreras suelen ser de tamaño reducido (1 – 3,5 mm).

### **1.3.2. La hormiga argentina, *Linepithema humile*, como modelo**

En este siglo, la llamada “hormiga argentina”, *Linepithema humile* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae), se ha convertido en una plaga a escala mundial, produciendo perjuicios en ambientes agrícolas por su asociación a homópteros, y en ambientes urbanos, como molestia dentro del hogar. Se ha introducido en todos los continentes excepto en la Antártida, en algunos casos hace más de cien años (Newell, 1908; Silverman y Brightwell, 2008). Como tal, es una de las especies plaga de hormigas más estudiadas en el mundo (Passera, 1994; Gordon y Heller, 2014).

En poblaciones introducidas, sus colonias se estructuran como *supercolonias* ya que poseen numerosos nidos interconectados por caminos y cooperativos (organización unicolonial), sin la presencia de agresión entre individuos separados hasta por kilómetros (Tsutsui et al., 2000). Tanto reinas como obreras se mueven libremente entre diferentes nidos (Newel y Barber, 1913). Esta pérdida de agresividad intraespecífica entre colonias es considerada como un elemento fundamental para alcanzar las altas densidades y superioridad numérica en donde fue introducida (Holway, 1998, 1999; Suarez et al., 1998). En el rango de invasión, en climas secos su presencia está fuertemente ligada a las zonas urbanizadas (Ward, 1987; Carpinter et al., 2003; Fitzgerald et al, 2012; Gordon y Heller, 2014), probablemente debido a la disponibilidad de agua que afecta y limita la distribución de esta especie (Ward, 1987; Schilman et al., 2005; Menke y Holway, 2006). Por el contrario, cuando invade regiones de climas húmedos, puede encontrarse lejos de zonas urbanas (Krushelnycky et al., 2005). Su presencia generalmente está asociada a una disminución de la diversidad de la mirmecofauna (Erickson, 1971; Human y Gordon, 1996; Kennedy, 1998) y un cambio en la proporción de los demás invertebrados (Cole et al., 1992; Holway, 1998).

Pocos trabajos han evaluado la organización que esta especie presenta en su rango local, donde puede ser unicolonial y multicolonial (Tabla 1.1) (Heller, 2004; Heller et al., 2008; Pedersen et al., 2006), y prácticamente no se ha estudiado su organización en el ambiente urbano dentro de su lugar de origen. Además, otros trabajos han estudiado su impacto en la ecología local de ambientes introducidos (Human y Gordon, 1997) y sus comportamientos de alimentación y reclutamiento (Newell y Barber, 1913; Markin, 1968; Markin, 1970a; 1970b; Van Vorhis Key y Baker, 1986; Abril et al., 2007). Estos comportamientos son particularmente importantes para los propósitos de manejo cuando se utilizan cebos alimenticios como agente de control.

**Tabla 1.1:** Definiciones de términos poblacionales utilizados en esta Tesis (modificado de Pedersen et al. 2006).

<b>Término</b>	<b>Definición</b>
<b>Nido</b>	La estructura física habitada por una colonia, consistiendo generalmente de cámaras y galerías.
<b>Compañera de nido</b>	Individuos habitando un mismo nido.
<b>Colonia</b>	Grupo de individuos que tienen interacciones cooperativas. Una colonia puede estar compuesta por un solo nido o varios conectados por intercambio de individuos.
<b>Supercolonia</b>	Una colonia que contienen tantos nidos que las interacciones cooperativas son imposibles entre nidos distantes. Sin barreras comportamentales (agresión) dentro de la supercolonia.
<b>Multicolonial</b>	Población de colonias mutuamente agresivas y genéticamente diferentes.
<b>Unicolonial</b>	Población formada por múltiples supercolonia.

### **1.3.3. El control de hormigas mediante cebos tóxicos**

Los cambios cuantitativos y reversibles en la respuesta comportamental individual de ingestión frente a una solución azucarada dependen tanto de las necesidades nutricionales del nido, como de las características de la solución ofrecida (Mc Farland, 1971; Josens et al., 1998; Josens y Roces, 2000). La dificultad en controlar hormigas en general, y la hormiga argentina en particular, es lograr que todos los individuos de una colonia o nido ingieran o tengan contacto con un tóxico. Esto se da porque solo una

fracción del nido (las obreras recolectoras) sale al exterior a forrajear. Enmarcando esto en el control químico de hormigas a nivel domiciliario, se traduce que la motivación de una obrera afectará la aceptación o el rechazo de un cebo, cuánto ingerir, si retornar por más, si reclutar más individuos, etc. (Mailleux et al., 2000; 2005; 2010). Es por ello, que el estudio de estas variables comportamentales constituye el eje central de nuestras investigaciones.

En ambientes urbanos las hormigas se combaten con diferentes sustancias tóxicas. Se han planteado diversos métodos de administración de tóxicos en hormigas, pero algunos métodos convencionales no son apropiados para estos insectos sociales, ya que los únicos individuos que salen del nido son obreras infértiles, mientras que la mayoría de las obreras y los reproductores prácticamente no lo hacen, por lo que no son necesariamente alcanzados por los venenos esparcidos en el domicilio. Por ello, es recomendable que sean las propias hormigas las que introduzcan un tóxico al nido, mediante la utilización de cebos alimentarios, evitando la aplicación indiscriminada de sustancias tóxicas (Stringer et al., 1964; Silverman y Brightwell, 2008). Las obreras forrajeras no buscan pareja, ni refugio, solo alimento (Hölldobler y Wilson, 1990; Rodrigues, 2006), por lo cual el cebo attractante debe ser alimentario; las soluciones azucaradas resultan un cebo adecuado para muchas especies de hormigas urbanas, siendo los cebos líquidos los más adecuados para las hormigas nectívoras (Gibson y Scott, 1989).

Si concebimos una estrategia de control químico introduciendo el tóxico al nido por medio de las obreras, resulta fundamental entender qué características del cebo (riqueza, disponibilidad, flujo, concentración del tóxico) promueven una mayor distribución del mismo. Diversos estudios han abordado la ingestión de cebos tóxicos (Hooper-Bui y Rust, 2001; O'Brien y Hooper-Bui, 2005), aunque la aceptación y el consumo de cebos tóxicos es generalmente analizado a nivel grupal o de la colonia toda (Klotz et al., 2000; Silverman y Roulston, 2001; Rust et al., 2004; Nyamukondiwa y Addison, 2011).

El ácido bórico y el borato de sodio (pesticidas de baja toxicidad para mamíferos) son dos sustancias administradas en forma oral intensamente estudiadas en hormigas (Klotz y Moss, 1996, Klotz et al., 1997; 1998; 2002; 2007; Hooper-Bui y Rust, 2000; Fernandez y Josens, 2001; Ulloa-Chacón y Jaramillo, 2003; O'Brien y Hooper-Bui, 2005; Daane et al., 2006). En particular, los trabajos realizados en *Camponotus mus* mostraron una

supervivencia inversamente proporcional a la concentración de ácido bórico presente en la solución de sacarosa ingerida (Fernandez y Josens, 2001). Sin embargo, la presencia de un tóxico disuelto en una solución azucarada puede actuar como fago-repelente, provocando que la concentración del ingrediente activo en el cebo se relacione inversamente con la cantidad de cebo consumido (Klotz et al., 1997; Fernandez y Josens, 2001).

#### **1.4. LA DIVERSIDAD DE HORMIGAS URBANAS**

La importancia de las hormigas urbanas es foco de estudio y de programas de control en distintos países desde hace décadas (Fowler et al., 1990, Fowler et al., 1993; Bueno y Fowler, 1994; Bueno, 1997; Olaya y Chacón, 2001; Chacón de Ulloa, 2003). Las hormigas pueden encontrarse en cualquier hábitat del mundo, excluyendo Islandia, Groenlandia y la Antártida (Hölldobler y Wilson, 1990), y dentro de esa distribución mundial, los ambientes urbanos también están incluidos (Klotz et al., 1995; Chacón de Ulloa, 2003; Yamaguchi, 2004; Chacón de Ulloa, et al. 2006; Pecarevic et al., 2010).

Como se ha mencionado previamente, en los ambientes urbanos algunas especies de hormigas pueden afectar al hombre invadiendo sus viviendas y sitios de trabajo, donde contaminan alimentos y causan malestar y estrés emocional; y de manera directa, pueden afectar la salud por la acción de sus picaduras y por actuar como vectores mecánicos de agentes patógenos (Robinson, 1996; Rodovalho et al., 2007). Se ha detectado que las hormigas son capaces de ocasionar daños en cabinas de electricidad, centrales telefónicas y aparatos electrodomésticos como refrigeradores, televisores, videos, equipos de sonido y computadoras (Vinson y Mackay, 1990; Mackay et al., 1992; Bueno, 1997).

Las hormigas urbanas en particular se han convertido en los últimos años en un objeto de estudio ya que muchas especies coinciden con las especies invasoras, las cuales se han extendido en su rango y han aumentado su impacto sobre la vida silvestre local durante el último siglo. Estas hormigas constituyen un subconjunto de las hormigas que se encuentran localmente en las zonas naturales; sin embargo, sus proporciones son modificadas por las condiciones que se encuentran en los entornos urbanos y las habilidades de estas especies para adaptarse a ellos.

## **1.5. OBJETIVOS GENERALES**

Este trabajo de tesis puede dividirse en dos grandes partes, una centrada en el comportamiento individual, y la otra en la estructura poblacional de la hormiga argentina, *Linepithema humile*, como modelo de hormiga urbana. Así, el primer objetivo fue estudiar el comportamiento de recolección de cebos azucarados, focalizándonos en aspectos relativos a la regulación de la ingestión, al comportamiento individual, y a las interacciones con sus compañeras de colonia típicamente involucradas en el reclutamiento.

El segundo objetivo general de esta Tesis fue determinar la estructura poblacional y dominancia de la hormiga argentina en un ambiente antropizado en su rango nativo, caracterizando las dominancias relativas entre las especies presentes.

### **1.5.1. Objetivos particulares**

- 1- Estudiar el comportamiento de ingestión individual e interacciones grupales de la hormiga argentina en relación a la concentración de sacarosa de un cebo alimentario.
- 2- Analizar el comportamiento de ingestión de la hormiga argentina hacia cebos adicionados con dos tóxicos derivados del boro: ácido bórico o borato de sodio.
- 3- Evaluar la estructura poblacional que presentan las colonias de *L. humile* en un ambiente antropizado dentro de su rango de origen: la Ciudad Universitaria de Buenos Aires. Asimismo, se evaluó el área de ocupación de las colonias, y algunos posibles límites físicos –propios del ambiente urbano- para su distribución.
- 4- Se presentan datos preliminares de un estudio cuyo objetivo fue evaluar la diversidad de especies presentes en sitios con y sin hormiga argentina, y sus dominancias relativas, dentro de la mencionada área de estudio. Producto de estos estudios, se presenta además una lista de especies encontradas dentro de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

# INGESTIÓN Y TROFALAXIA DE SOLUCIONES AZUCARADAS

## 2.1. INTRODUCCIÓN

La división del trabajo que presentan los insectos sociales separa en primer término a los individuos reproductores de aquellos que no cumplirán esa función. Dentro de este último grupo, se desempeñan aquellas tareas involucradas en el crecimiento, mantenimiento y defensa del nido. Las tareas desarrolladas fuera del nido, como la obtención de los recursos, es llevada a cabo solo por un subconjunto de obreras de mayor edad, las recolectoras. Por lo tanto, el desafío para las recolectoras es obtener alimentos que satisfagan tanto sus propias necesidades nutricionales, como las de toda la colonia. Esta tarea se organiza sobre la base de las decisiones individuales de las hormigas forrajeras en respuesta a los estímulos del medio ambiente (calidad y disponibilidad de recursos) y de otras compañeras de nido (interacciones) (Howard y Tschinkel, 1980; Cassill y Tschinkel, 1999; Josens y Roces, 2000; Cassill, 2003; Detrain y Deneubourg, 2008; Dussutour y Simpson, 2008).

Para los insectos nectívoros, una medida de la calidad de un recurso está asociada a la concentración de azúcar del néctar. Tal es el caso de las hormigas llamadas nectívoras, que se alimentan de soluciones azucaradas como parte importante de su dieta. La concentración de sacarosa ha demostrado ser una variable importante en los ensayos de laboratorio para determinar la aceptación y las cargas de buche de cebos en hormigas (Josens et al., 1998; Schilman y Roces, 2006; Dussutour y Simpson, 2008); así como también la velocidad a la que se ingiere la solución -tasa de ingestión- (Josens et al, 1998;

Paul y Roces, 2003). La viscosidad de una solución de sacarosa aumenta exponencialmente con el aumento de la concentración de sacarosa; por lo tanto, mientras que el incremento en la viscosidad de soluciones de baja concentración no tiene ningún efecto en la tasa de ingestión, en concentraciones más altas la viscosidad de la solución es un factor limitante para mantener la velocidad de ingestión. Así, las soluciones más concentradas tienen un mayor contenido energético, pero debido a su viscosidad, se ingieren más lentamente que las soluciones más diluidas. Esta disminución en la velocidad de ingestión para soluciones de alta viscosidad se encontró en la mayoría de los estudios sobre la alimentación de néctar en diferentes especies de insectos, y también lo predicen los modelos teóricos basados en la ecuación de Hagen-Poiseuille (Kingsolver y Daniel, 1979; Heynemann, 1983; Roubik y Buchmann, 1984; Harder, 1986; Josens y Farina, 2001). Las hormigas carpinteras han mostrado tener la capacidad de variar la velocidad de ingestión -dentro de ciertos límites impuestos por la viscosidad- respondiendo a la motivación por recolectar (Josens y Roces, 2000). Por lo tanto, una hormiga recolectora en la fuente de alimento decide la cantidad de solución ingerida, el tiempo dedicado a ingerir y la tasa de ingestión.

Como las hormigas son insectos sociales, aunque los individuos son responsables de evaluar el valor de una fuente de alimento y tomar decisiones, sus comportamientos individuales afectan y son afectados por las interacciones con el grupo o la colonia (Wilson, 1971; Hölldobler y Wilson, 1990; Breed et al., 1996; Mailleux et al., 2000; Gordon, 2007). Después de recolectar un recurso, una hormiga puede variar la velocidad de caminata de acuerdo a lo experimentado en la fuente de alimento (Mailleux et al., 2000) o lo experimentado en interacciones previas con compañeras de colonia (Roces y Núñez, 1993), y reclutar o no a otras compañeras de nido (Detrain y Deneubourg, 2008). Así, las interacciones y los comportamientos que se despliegan en el marco del reclutamiento, de algún modo interconectan el nivel individual de toma de decisiones con la organización a nivel social de la recolección. Durante la trofalaxia, una obrera transfiere parte del alimento contenido en su buche a una o más compañeras del mismo nido mediante contacto boca a boca. Esta situación permite que la receptora pueda adquirir información quimiosensorial de la fuente que visitó su compañera (McCabe et al., 2006; Provecho y Josens, 2009). El reclutamiento se da cuando una hormiga induce a sus compañeras de nido a abandonarlo y dirigirse a recolectar en una fuente de alimento que la primera hormiga visitó (Hölldobler y

Wilson, 1990). Estas interacciones entre hormigas presentan señales multicomponentes, es decir, presentan componentes de diversa modalidad sensorial combinando estimulaciones olfativas, gustativas, vibratorias y táctiles (Hölldobler y Wilson, 1990; Hölldobler, 1999). En el caso de las especies que realizan *reclutamiento masivo*, como la hormiga argentina, se ha encontrado que los despliegues químicos son eficaces y suficientes para desencadenar la salida del nido de forrajeras potenciales (Newell y Barber, 1913; Markin, 1968; Markin, 1970a, 1970b; Abril et al., 2007). Sin embargo, se ha demostrado también que la presencia de despliegues motores aumentan la potencia de reclutamiento de las señales feromonales (Van Vorhis Key y Baker, 1986). Esto también se ha descrito para otras especies de hormigas de los géneros *Monomorium* y *Tapinoma* (Sudd, 1957; Szlep y Jacobi, 1967), *Pheidole* (Szlep-Fessel, 1970), *Camponotus* y *Pachycondyla* (Hölldobler, 1999). En este trabajo se muestra cómo estos despliegues se modulan según la concentración de sacarosa de la fuente en la hormiga argentina.

### **2.1.1. Objetivos**

El objetivo de este capítulo fue determinar el efecto de la calidad de los recursos en el comportamiento de la hormiga *Linepithema humile*. Particularmente, de qué modo la concentración de una solución de sacarosa modula la toma de decisiones y las variables comportamentales relativas a la ingestión de la hormiga argentina, estudiado en forma individual, y las interacciones desde el punto de vista de la hormiga dadora.

## **2.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron 4 colonias de hormigas de la especie *L. humile* recolectadas en Capital Federal (34° 32' S, 58° 26' O). Cada colonia, compuesta por 2000 a 4000 obreras y varias reinas, fue trasladada al laboratorio y mantenida en un nido artificial que consistió de un contenedor de plástico (30 x 50 x 30 cm) con la base cubierta de yeso y las paredes pintadas con flúon para evitar el escape de los insectos. Dentro de los contenedores se colocó una pila de placas de acrílico separadas entre sí mediante espaciadores de madera que las hormigas tomaron rápidamente como nido. Las colonias fueron mantenidas durante 1 año

en condiciones aproximadamente constantes de temperatura ( $23 \pm 3$  °C) y bajo un ciclo natural de luz/oscuridad. Las hormigas se podían desplazar libremente dentro del contenedor, teniendo libre acceso a una fuente de agua. Entre experimentos, las hormigas fueron alimentadas diariamente con solución de miel diluida como fuente de hidratos de carbono, e insectos frescos (*Blaptica dubia*) cortados, atún o pollo como fuentes proteicas.

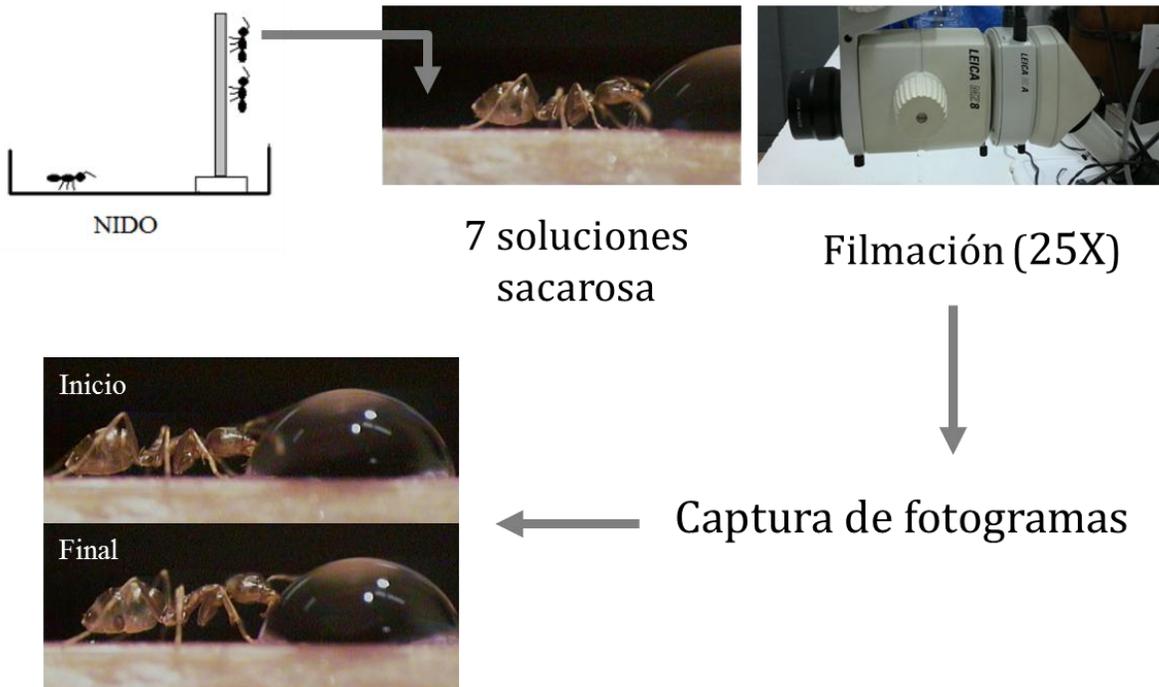
Durante los experimentos, en donde las hormigas debían tener cierto nivel de ayuno de carbohidratos, las colonias fueron previamente sometidas a un período de ayuno de hidratos de carbono de 72 a 96 h para asegurar la motivación para alimentarse, durante ese tiempo solo fueron provistas de agua y proteínas. En cada día de toma de datos, todos los tratamientos se registraron de manera uniforme a lo largo de las horas del día en una secuencia pseudo-aleatoria, y esto se repitió en varios días para lograr un tamaño de muestra suficiente. El período de privación de azúcares para alcanzar el ayuno varió para cada colonia experimental debido a que existen otros factores, más allá del tiempo desde la última ingesta, que afectan el comportamiento alimentario en hormigas, como ser la presencia de cría o el tamaño de la colonia (Sudd y Sudd, 1985; Howard y Tschinkel, 1980; Dussutour y Simpson, 2008; FJS obs. pers.).

### **2.2.1. Series experimentales**

Los días de registros se iniciaron separando de un nido de laboratorio unas 40 hormigas y dejándolas reposar durante quince minutos antes de que comenzara el experimento. Como las obreras de *L. humile* son monomórficas, todas las hormigas experimentales eran de un tamaño similar. De a una, a cada hormiga se le permitió el acceso a un puente (2 x 50 mm), en cuyo extremo se encontraba una gota (~10 µl) de la solución a ofrecer en cada caso. Este volumen constituyó una fuente *ad libitum* para esta especie ya que su carga de buche oscila entre 0,1 a 0,5 µl (FJS, obs. per.).

Para medir la carga de buche individual, se filmó a cada hormiga en vista lateral mientras ingería, usando un microscopio estereoscópico con cámara equipada (Leica MZ8-magnificación 25X-con una cámara Leica ICA, Fig. 2.1). La cantidad de solución ingerida se estimó por la diferencias en el volumen del gáster antes y después de la alimentación

(Mailleux et al., 2000). La estrechez del puente nos permitió filmar las hormigas de lado, y mantener las obreras perpendiculares a la cámara y a la distancia focal del microscopio, mientras éstas bebían de la gota ofrecida.



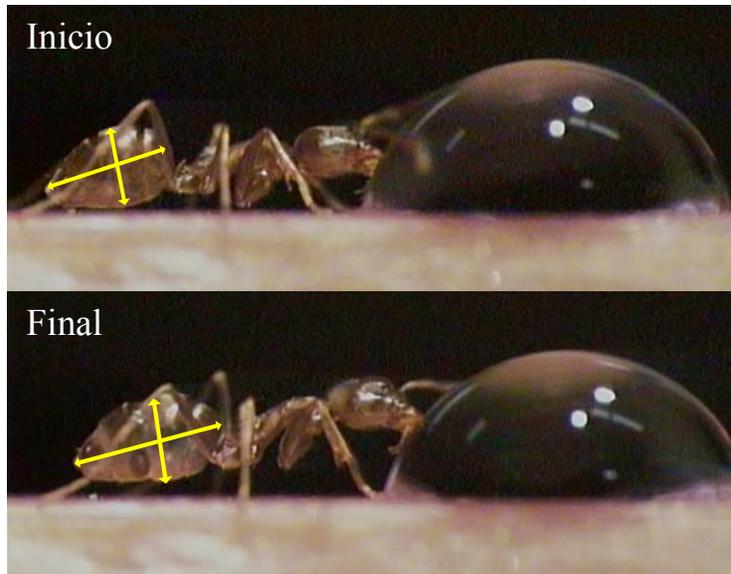
**Fig. 2.1:** Registro de ingestión individual.

Al colocar la cámara lateralmente, pudimos medir la longitud máxima y el alto máximo del gáster directamente. El ancho del abdomen no resulta accesible en estas imágenes laterales. Por lo cual, con el objetivo de estimar la relación entre este eje y el alto en vista lateral, realizamos mediciones preliminares en 40 hormigas alimentadas en iguales condiciones, pero filmadas lateralmente y desde arriba, antes y después de alimentarse. Se encontró que la relación ancho:alto fue 1:1.1 para gásteres tanto vacíos como llenos. Por lo tanto, se aproximó al abdomen a un elipsoide para calcular el volumen del gáster de cada recolectora antes ( $V_i$ ) y después de beber ( $V_f$ ), obteniendo el volumen de solución ingerida ( $\mu\text{L}$ ) por la diferencia ( $V_{\text{ing}} = V_f - V_i$ ). La fórmula utilizada fue:

$$V = \frac{4}{3} \pi * (\text{alto}/2) * (\text{ancho}/2) * (\text{largo}/2)$$

Los semiejes del gáster para alto y largo fueron tomados directamente y el semieje del ancho fue estimado a partir del alto; el alto del gáster fue 1.1 veces el ancho.

**Fig. 2.2:** Medidas de alto y largo de gáster antes y después de la ingesta, utilizadas para la medición de carga de buche.



Se tomaron, además, otras variables del comportamiento de alimentación a partir de los videos, como la cantidad y duración de pausas y tiempo de ingestión; este último definido como el tiempo durante el cual las mandíbulas de la hormiga estaban en contacto con la solución.

#### **2.2.1.1. Efecto de la concentración de sacarosa en la ingestión individual**

Ofrecimos a cada hormiga una solución con una de las siguientes concentraciones de sacarosa: 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 60% y 70% (p/p). En todos los experimentos, a cada hormiga individual se le proporcionó una única solución, es decir, luego del registro, la hormiga fue descartada. Se utilizaron un total de 271 hormigas. A partir de éstas se compararon las siguientes variables entre tratamientos:

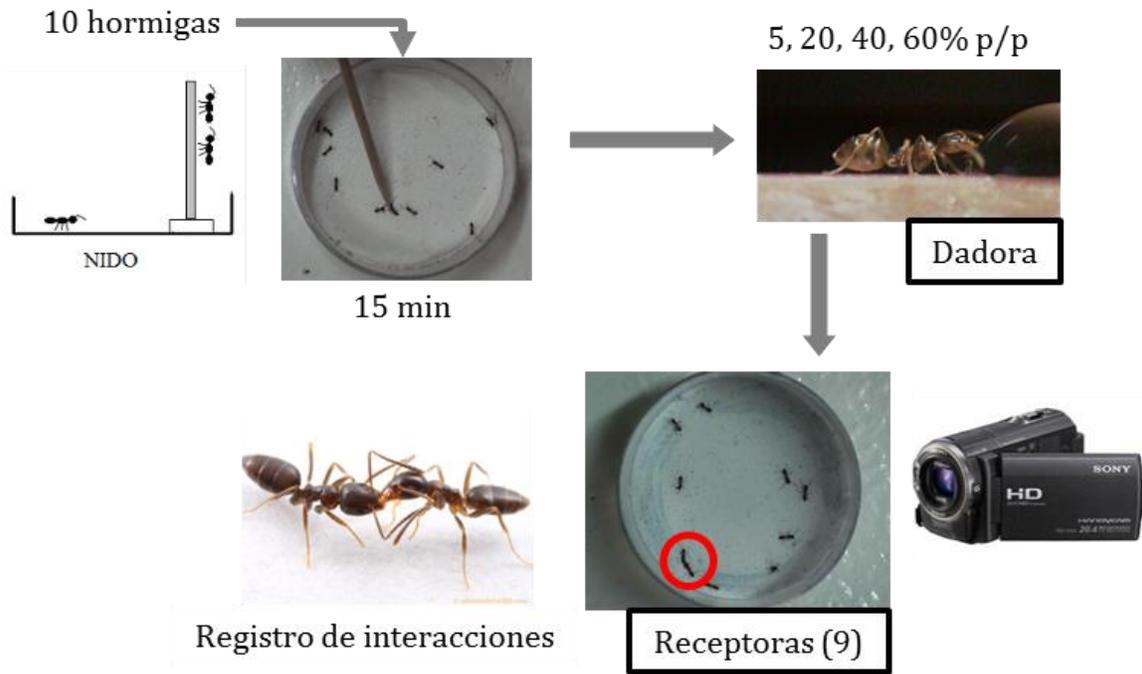
*Volúmenes de carga de buches:* Se midió el volumen ingerido por cada hormiga individual y se compararon las medias por tratamiento.

*Tiempo y tasa de ingestión:* Del total de 271 hormigas que ingirieron soluciones pudimos registrar la toma ininterrumpida de 164 individuos. A partir de estas grabaciones se midió el tiempo de alimentación total, el número de interrupciones y la duración acumulada de estas interrupciones. Se compararon estos valores entre los tratamientos de concentración de sacarosa. A partir de los volúmenes de alimentación y duraciones se calcularon las tasas de ingesta ( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) para las hormigas individuales y los valores comparados entre tratamientos.

### **2.2.1.2. Efecto de la concentración de sacarosa en las interacciones grupales y trofalaxia**

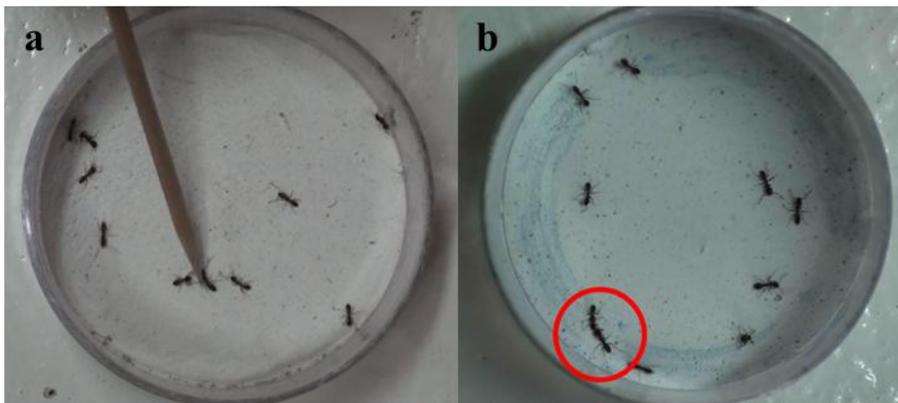
El objetivo de estos experimentos fue evaluar cómo la concentración de sacarosa de la solución ingerida modula las interacciones y trofalaxias (Tx) posteriores establecidas entre la dadora y otras compañeras de colonia. Debido al tiempo necesario para cada registro individual realizamos cuatro tratamientos de concentración de sacarosa: 5%, 20%, 40% y 60% p/p; se sabe que estas concentraciones afectan el comportamiento de la alimentación individual y las interacciones en otras especies (Josens y Roces, 2000; Falibene y Josens, 2008; Falibene et al., 2009; Szlep y Jacobi, 1967). En todos los experimentos, a cada hormiga individual se le proporcionó una única solución, descartándola después del registro.

Para el estudio de las interacciones entre las hormigas, se separaron grupos de diez hormigas del mismo nido en arenas de registro (Fig. 2.3). Las arenas consistieron en recipientes plásticos circulares (diámetro: 4,5 cm; altura: 2 cm) con los lados internos recubiertos con fluón y yeso de parís en el piso. Se filmaron desde arriba con una cámara digital (Sony Handycam HDR-SR11). Después de un tiempo de aclimatación de 15 minutos, se separó una de las diez hormigas, la "hormiga dadora", a la cual se le permitió el acceso a una arena de alimentación donde se encontraba una gota de una de las cuatro soluciones de sacarosa mencionadas.



**Fig. 2.3:** Secuencia de registro de interacciones y trofalaxia.

Una vez que la hormiga dadora terminaba de alimentarse era devuelta a la arena de observación, y se iniciaba la grabación, registrando la actividad de todas las hormigas presentes en la arena de registro (Fig. 2.4). El tiempo máximo de grabación fue de 300 segundos ya que todas las trofalaxias se observaron durante ese lapso de tiempo. Esto fue confirmado manteniendo en registros preliminares, varios grupos de hormigas en observación hasta 10 minutos para comprobar los casos de trofalaxia. Se cuantificaron varios comportamientos relativos a las interacciones trofalácticas, así como diferentes despliegues motores de las hormigas dadoras, detallados abajo.



**Fig. 2.4:** Arena de observación de interacciones y trofalaxias. **a)** depositando dadora de vuelta en la arena. **b)** trofalaxia entre dadora y receptora.

Se realizaron 60 registros de grupos de hormigas (15 por tratamiento). A partir de los videos se registraron las siguientes variables:

*Probabilidad de trofalaxia:* Proporción de hormigas que regurgitaron una gota de la solución ingerida realizando trofalaxia una vez que fueron reintroducidas en la arena de observación con las 9 hormigas restantes. En otras palabras, de la cantidad total de hormigas que aceptaron las diferentes soluciones de sacarosa ofrecidas, cuántas realizaron trofalaxia dentro de los primeros 300 segundos de ser colocada en la arena.

*Latencia de trofalaxia:* Tiempo desde que las hormigas dadoras fueron reintroducidas a la arena de observación hasta que regurgitaron ofreciendo entre sus mandíbulas una gota de la solución ingerida a otras hormigas en la arena. Este comportamiento condujo invariablemente a la trofalaxia entre la hormiga dadora y las hormigas restantes, receptoras. Se midió la duración de trofalaxia desde el punto de vista de la dadora, es decir, el tiempo que pasó la dadora en trofalaxia independientemente del número de receptoras involucradas.

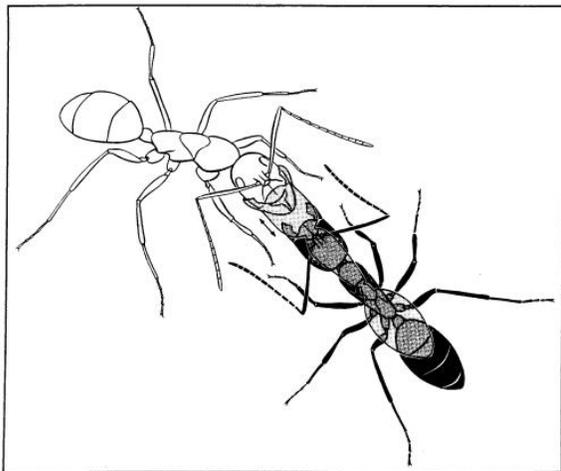
*Número de receptoras:* Se contó el número total de hormigas receptoras que realizaron trofalaxia con cada hormiga dadora, por tratamiento, durante los 300 segundos del tiempo de grabación.

*Comportamiento de las dadoras antes de ofrecer la gota:* Antes de la trofalaxia hemos observado y cuantificado diferentes despliegues motores (descritos más adelante) realizados por la hormiga dadora. Éstos se registraron en los primeros 30 segundos luego del retorno de la misma a la arena de observación; este plazo fue establecido debido a que muchas trofalaxias se produjeron en ese rango de tiempo. Además, se observó que los registros más largos no cambiaron los resultados y este intervalo de tiempo permitió una mayor homogeneidad en los tiempos de medición de estos despliegues motores por parte de la dadora. Los comportamientos se produjeron incluso si no ocurría trofalaxia dentro del período mencionado. Sin embargo, cabe hacer la salvedad que solo el período *previo* a la trofalaxia se podría definir como el período activo de la hormiga dadora. Esta distinción es necesaria ya que al presentar la gota, la

dadora se detiene y permanece inmóvil hasta que se acerca alguna receptora con la que establece el contacto trofaláctico (Cassill y Tschinkel, 1999; Cassill, 2003; FJS obs. pers.). En resumen, estos comportamientos fueron grabados hasta que la dadora comenzó a ofrecer su contenido de buche, tornándose estacionaria, o hasta 30 segundos desde el momento en que se colocó en la arena de grabación.

Se registraron tres tipos de despliegues motores. En dos de estos comportamientos participa necesariamente alguna receptora: *Contactos de cabeza* y *Sacudidas de cabeza*; el tercer comportamiento medido -*Contoneo de gáster*- lo realiza la dadora sola.

El *Contacto de cabeza* se computó cuando la hormiga dadora tocaba a otra hormiga *de frente*. Durante los contactos de cabeza podía darse que la hormiga dadora realizara un vigoroso movimiento, o sacudida longitudinal (Fig. 2.5) de su cabeza: *Sacudida de cabeza*. También se observó que la hormiga dadora podía realizar un meneo de la parte final del abdomen de un lado al otro al caminar, que hemos denominado *Contoneo de gáster*.



**Fig. 2.5:** Sacudida de cabeza en *Camponotus socius* (reproducido de Hölldobler 1971) similar a lo observado para *L. humile*. En este caso el despliegue motor está asociado al reclutamiento a un sitio de anidación.

Para todos los despliegues motores descritos en el párrafo anterior, se midió la proporción de las hormigas que realizaron cada uno de estos comportamientos respecto del total de dadoras. Las instancias de contacto de cabeza y sacudida de cabeza se contaron como eventos únicos, y luego se dividieron por el tiempo activo para presentarlos como tasas. El índice de contoneo de gáster se midió como la proporción de tiempo de caminata que presentó el movimiento de contoneo del gáster respecto del tiempo total de caminata.

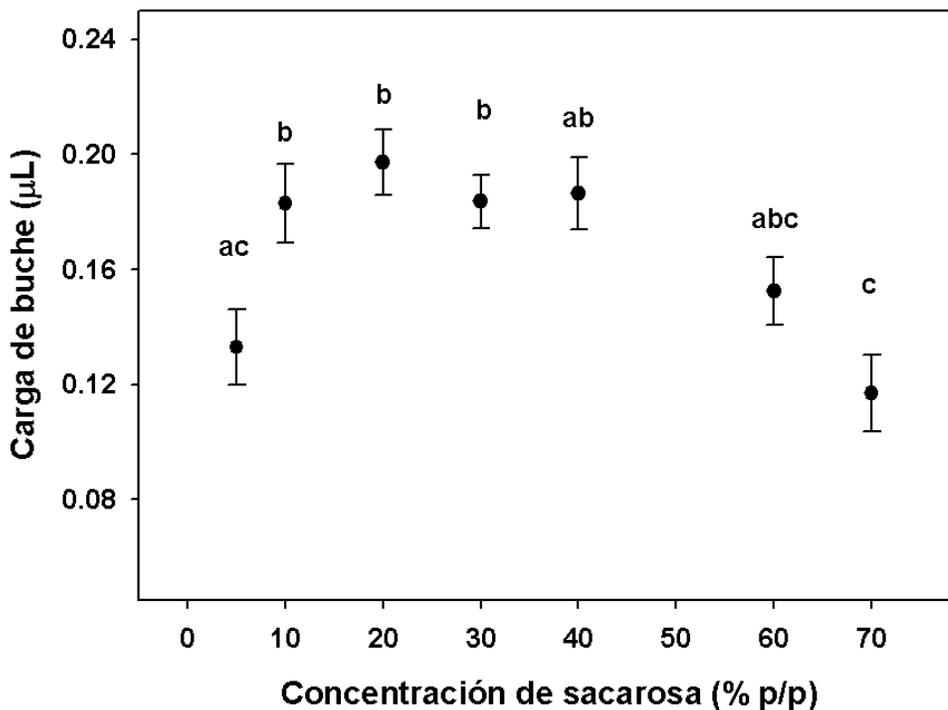
### **2.2.2. Análisis estadístico**

Se analizaron las variables de alimentación mediante de análisis de varianza de un factor (ANOVA), o mediante Kruskal-Wallis cuando no se cumplían los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. En los casos de diferencias significativas se aplicaron contrastes a posteriori mediante comparaciones de Tukey (ANOVA), o comparaciones post-hoc de dos colas (Kruskal-Wallis). Las proporciones para las diferentes soluciones se compararon mediante Pruebas de G con  $\alpha$  corregido al realizar comparaciones por pares. El nivel de significación general utilizado fue de 5% en todos los experimentos.

## **2.3. RESULTADOS**

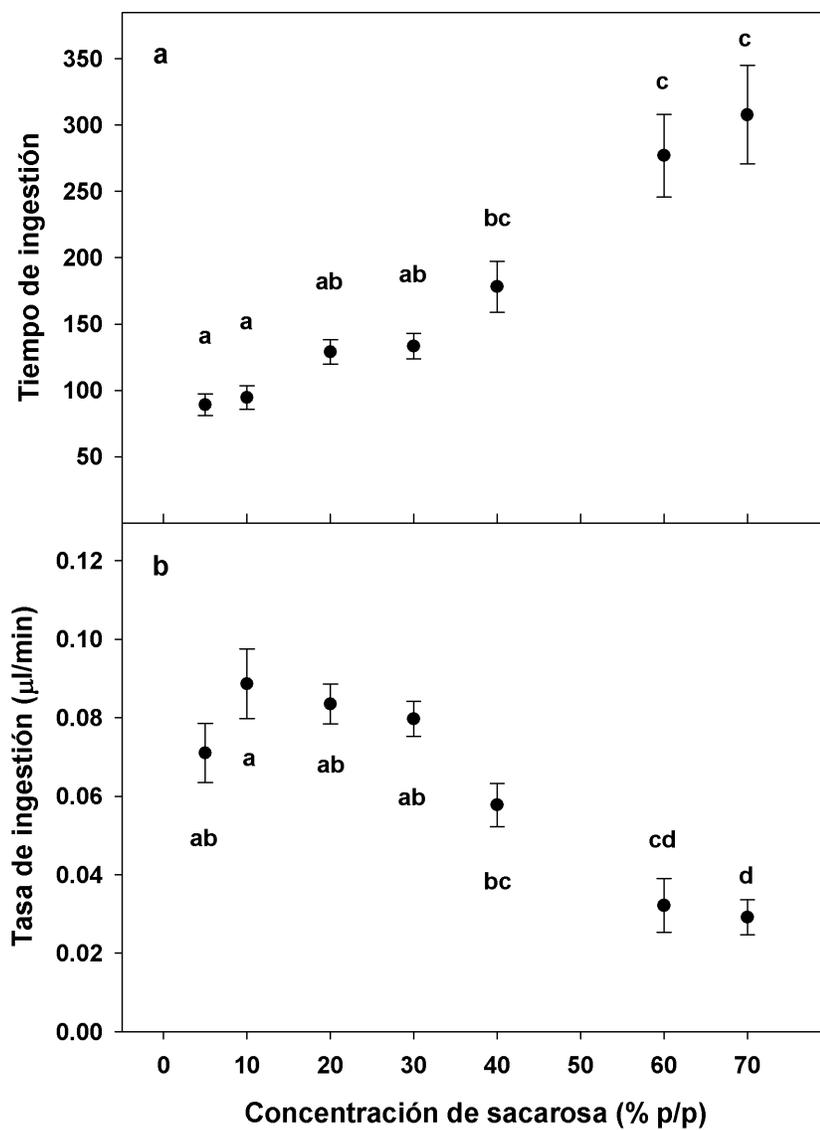
### **2.3.1. Efecto de la concentración de sacarosa en la ingestión individual**

Las hormigas *L. humile* mostraron diferente comportamiento de alimentación de acuerdo a la concentración de sacarosa de la solución ofrecida. La media de las cargas de buche variaron de manera significativa entre 0,11  $\mu$ l y 0,20  $\mu$ l para las diferentes soluciones de sacarosa ofrecidas (ANOVA:  $F_{6, 271} = 5,51$ ;  $p < 0,0001$ , Fig. 2.6). Las cargas de buche fueron mayores para concentraciones intermedias (10%, 20%, 30% p/p) que para las concentraciones bajas (5%) y altas (70%), que mostraron cargas más pequeñas, indicativas de cargas de buche parciales. Los valores de volumen más altos registrados en este experimento fueron alrededor de 0,39  $\mu$ l, cerca de los valores para cargas máximas de buche observadas para esta especie (datos no mostrados).



**Fig. 2.6:** Carga de buche ( $\mu\text{L}$ ) en función de la concentración de sacarosa (media  $\pm$  SE), para forrajeras en una fuente *ad libitum*. Las concentraciones intermedias (10% - 20% - 30%) presentaron volúmenes superiores a las concentraciones bajas (5%) y altas (70%). Puntos que no comparten letra, difieren significativamente (Tukey,  $p < 0,05$ ). N total = 271.

A diferencia de las cargas de buche, las cuales presentan un máximo intermedio, el tiempo de alimentación aumentó linealmente con la concentración de sacarosa ( $y = 51.51 + 3.54x$ , ANOVA  $F_{6,164} = 94,31$ ;  $p < 0,0001$ ; Fig. 2.7a). Los tiempos de ingestión para las concentraciones de sacarosa altas difirieron significativamente de los tiempos para las concentraciones más bajas (Kruskal-Wallis:  $H_{6,164} = 65,95$ ;  $p < 0,0001$ ).

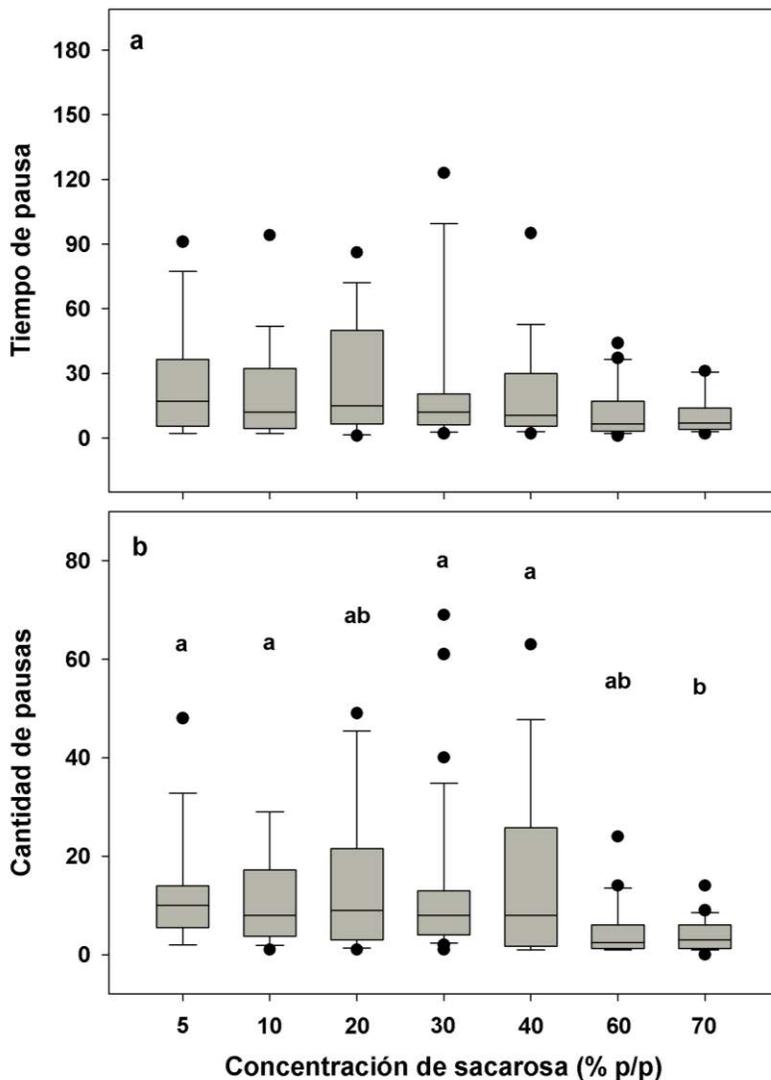


**Fig. 2.7:** a) Tiempo de ingestión (seg, media  $\pm$  SE) y b) Tasa de ingestión ( $\mu$ l/min, media  $\pm$  SE) en función de la concentración de sacarosa. Los tiempos de ingestión aumentaron con la concentración. La tasa de ingestión fue más alta para las concentraciones bajas e intermedias, disminuyendo a partir de la concentración de 40% de sacarosa. En cada panel, puntos que no comparten letras difieren significativamente (a) K-W comparaciones de a pares, (b) Tukey,  $p < 0,05$ ). N total= 164.

Respecto a la velocidad de ingestión, las tasas mostraron valores similares para las concentraciones más bajas, de 5 a 30% p/p, a partir de las cuales comenzó a disminuir conforme aumenta la concentración (Fig. 2.7b. ANOVA:  $F_{6, 164} = 16,77$ ;  $p < 0,0001$ ). La concentración más diluida, 5% p/p, mostró una tendencia a presentar una tasa de ingestión

menor a la encontrada para valores intermedios. Si bien no presenta diferencias significativas, puede estar reflejando una menor motivación por ingerir una solución con tan bajo contenido energético, tal como se demostró con hormigas carpinteras (Josens y Roces, 2000).

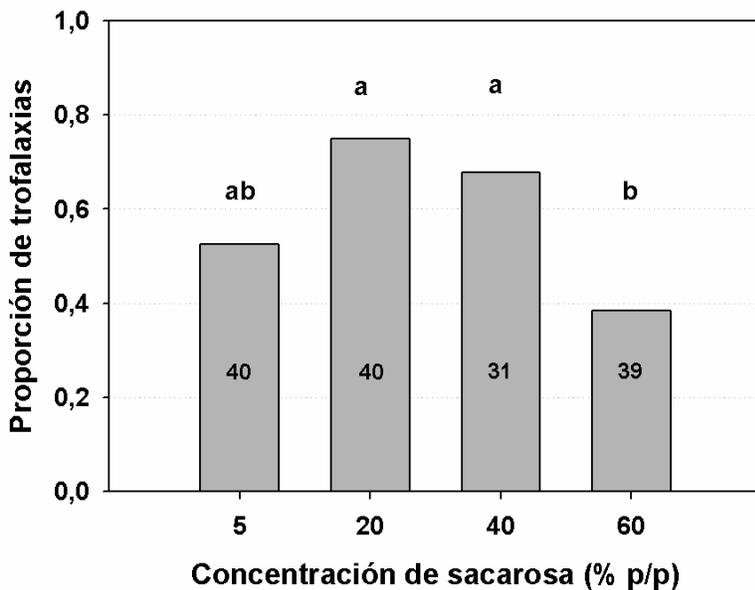
Por último, se compararon las duraciones y cantidades de pausas para las hormigas de diferentes tratamientos (Fig. 2.8). Las duraciones no mostraron diferencias entre tratamientos ( $H_{6,142} = 9,56$ ;  $p = 0,145$ ), aunque fueron muy variables entre individuos. Las cantidades de pausa mostraron diferencias significativas ( $H_{6,164} = 16,46$ ;  $p = 0,011$ ), en particular la concentración de 70%, para la cual se observaron menos interrupciones.



### 2.3.2. Efecto de la concentración de sacarosa en las interacciones grupales y trofalaxias

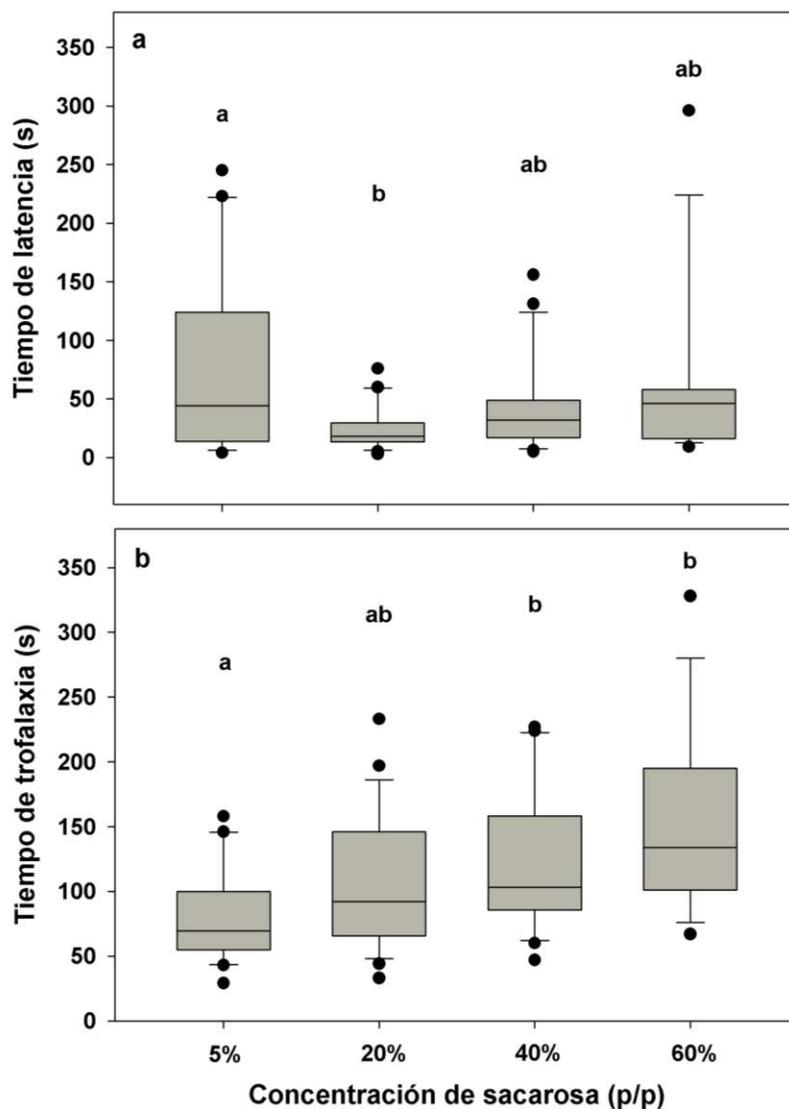
Del total de 151 hormigas que ingirieron la solución solo 85 ofrecieron una gota regurgitada entre sus mandíbulas cuando fueron colocadas en la arena de observación con compañeras de nido. La dadora solo ofreció comida regurgitada una vez por período de observación. En estos experimentos, todos los ofrecimientos de las dadoras resultaron en trofalaxia.

Encontramos que las hormigas que habían ingerido concentraciones de sacarosa intermedias, de 20% y 40% p/p, tenían más probabilidades de ofrecer la gota entre sus mandíbulas a las otras hormigas en la arena. Las concentraciones de sacarosa alta (60% p/p) y baja (5% p/p) mostraron una menor proporción de realización de trofalaxia. La proporción de trofalaxias de los grupos de 20% y 40% p/p difirieron significativamente de la del grupo de 60% p/p (prueba de G:  $G = 12,836$ ;  $p = 0,005$ . Fig. 2.9).



**Fig. 2.9:** Proporción de hormigas dadoras que hacen trofalaxia. Las concentraciones intermedias de 20% y 40% p/p de sacarosa mostraron mayores proporciones de trofalaxia, significativamente más que para 60%. Hay también una tendencia a disminuir para la concentración de 5%. Letras compartidas indican que no hay diferencias entre los tratamientos (K-W comparaciones de a pares,  $p < 0,05$ ).

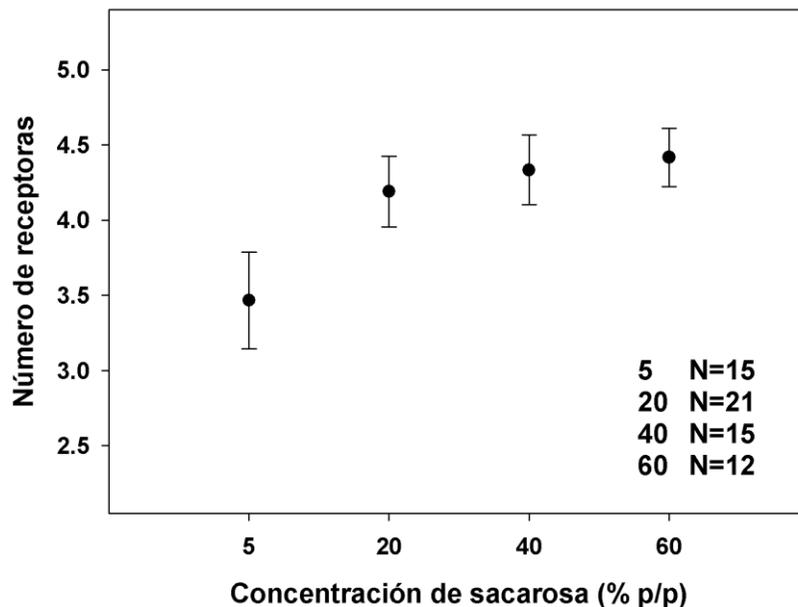
En cuanto a la latencia, el tiempo hasta la exposición de la gota, nos limitamos a un tiempo máximo de grabación de 300 segundos; este periodo incluyó 84 de los 85 casos de trofalaxia. La concentración de sacarosa también afectó la latencia de trofalaxia; las hormigas dadoras del grupo de 20% p/p de sacarosa fueron las primeras en ofrecer la solución ingerida. Se encontraron diferencias significativas entre este grupo y el grupo de 5% p/p de sacarosa (prueba de Kruskal-Wallis:  $H_{3,85} = 9,519$ ;  $p = 0,0231$ . Fig.. 2.10a.).



**Fig 2.10:** **a)** Tiempo de latencia de trofalaxia (seg, media  $\pm$ SE) y **b)** Duración de trofalaxia (seg, media  $\pm$ SE) en función de la concentración de sacarosa. Puntos negros representan outliers. La latencia mostró un valor mínimo en 20% p/p. La duración de trofalaxia aumentó con la concentración de sacarosa. En ambos paneles, cajas que no comparten letra tienen diferencias significativas (K-W comparaciones de a pares,  $p < 0,05$ ) N: 5%: 20, 20%: 29, 40%: 21, 60%: 15.

La duración de la trofalaxia aumentó con la concentración de sacarosa, similar a lo que se obtuvo para la ingestión individual. La duración para la concentración más baja (5% p/p de sacarosa) fue significativamente más corta que para las más altas concentraciones de 40% y 60% p/p (prueba de Kruskal-Wallis:  $H_{3,85} = 15,582$ ;  $p = 0,0014$ , Fig. 2.10b.).

Una vez que la dadora ofrecía la gota regurgitada, varias hormigas receptoras se acercaban e iniciaban la trofalaxia. Estas hormigas receptoras frecuentemente aceptaban e ingerían simultáneamente la solución ofrecida por la hormiga dadora. En estos ensayos se registraron hasta 6 hormigas receptoras a la vez. El número total de receptoras se contó para los últimos registros. El número de receptoras mostró una tendencia a aumentar con el incremento de la concentración de sacarosa principalmente focalizada en el menor valor encontrado para la solución más diluida, pero sin llegar a resultar significativas estas diferencias ( $H_{3,63} = 4,983$ ;  $p = 0,1730$ . Fig. 2.11).

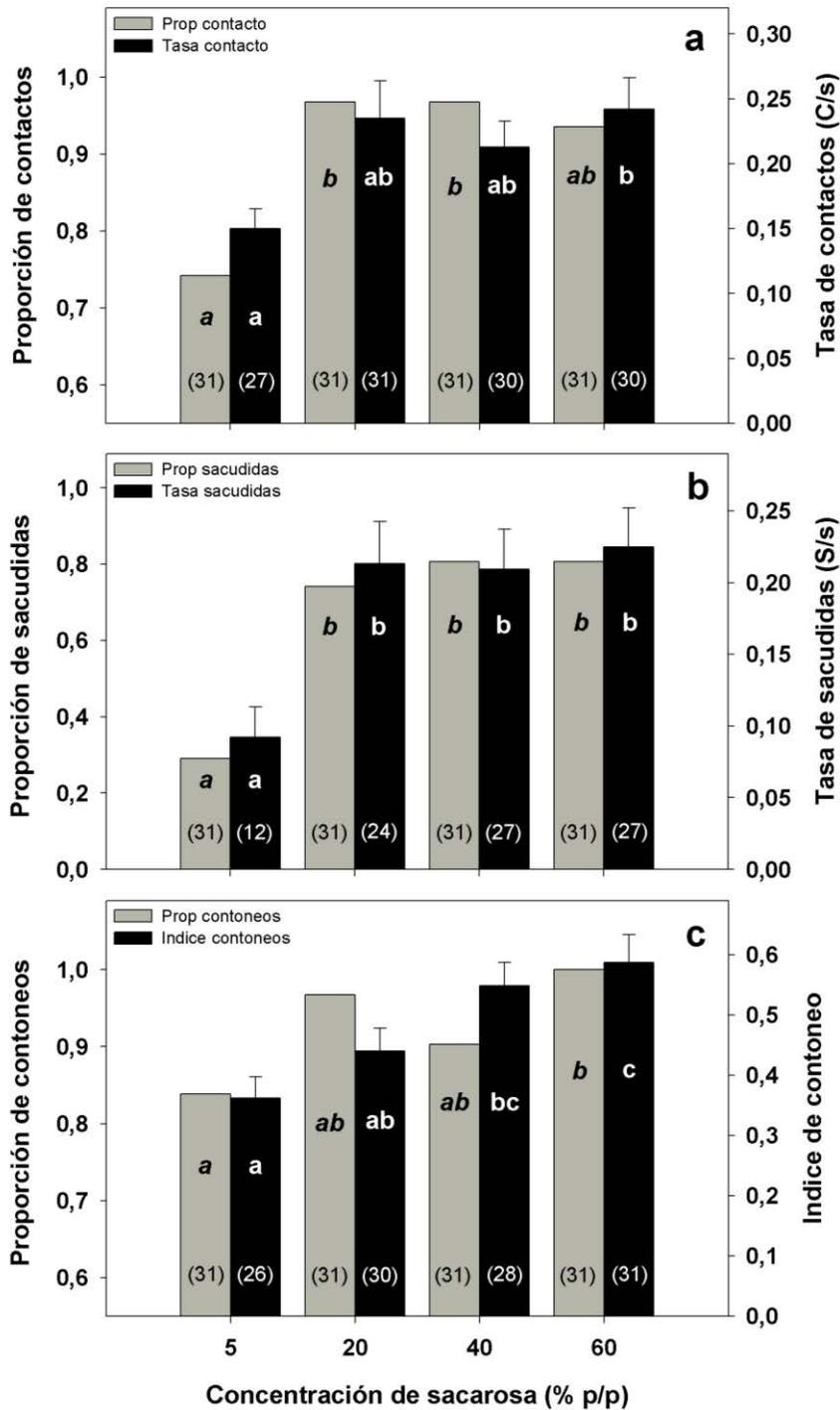


**Fig. 2.11:** Número de receptoras por hormiga dadora en función de la concentración de sacarosa.

*Comportamiento de las dadoras antes de la oferta de buche:* Contactos de cabeza, Sacudidas de cabeza (interacción entre individuos) y Contoneo de gáster (comportamiento individual) fueron cuantificados y medidos en relación al tiempo en que la hormiga se mantuvo activa. Los tres comportamientos mostraron variaciones con la concentración de sacarosa. Las mayores diferencias se dieron para la solución más diluida (5% p/p), ya que una pequeña proporción de las hormigas dadoras realizó tales comportamientos (Fig. 2.12, barras grises) y las que efectuaron estos despliegues motores en esa concentración, lo hicieron a tasas más bajas (Fig. 2.12, barras negras).

Los contactos de cabeza fueron significativamente menos frecuentes en las hormigas del grupo de 5% p/p de sacarosa. Tanto la proporción de hormigas dadoras totales que presentaron este comportamiento ( $G = 12.377$ ;  $p = 0,0062$ ), como la tasa a la que lo realizaron ( $H_{3,118} = 7,997$ ;  $p = 0,0461$ ) fueron más bajas para ese grupo.

Las sacudidas de cabeza, como un subconjunto de los contactos de la cabeza, mostraron una distribución similar de acuerdo con la concentración de sacarosa. Hormigas que ingirieron sacarosa al 5% mostraron menor probabilidad de sacudidas ( $G = 25,996$ ;  $p < 0,0001$ ) y las tasas de sacudida más bajas ( $H_{3,90} = 11,394$ ;  $p = 0,0098$ ). Al parecer, la modulación por concentración podría estar saturando más allá de 20% p/p de sacarosa en nuestros experimentos, aunque esto podría deberse a nuestras condiciones experimentales particulares. Por otro lado, las sacudidas de cabeza podrían ser medidas como una proporción de los contactos de cabeza totales, en la que las diferencias entre concentraciones serían más secuenciales, con 5%, 20%, 40% y 60% p/p mostrando proporciones de 0,52, 0,77, 0,8 y 0,9, respectivamente.



**Fig 2.12:** Comportamiento de hormigas dadoras en la etapa activa, antes de exponer la gota: **a)** Proporción y tasa de contactos; **b)** Proporción y tasa de sacudidas; **c)** Proporción e índice de contoneos. Las columnas grises representan la proporción de dadoras totales que realizan el comportamiento, las columnas negras representan la tasa a la que se produjo el comportamiento (es decir, número de eventos en relación con el tiempo activo). El índice de contoneo tiene en cuenta el tiempo durante el cual la hormiga está meneando su gáster sobre el tiempo total de caminata. Las barras que no comparten letra tienen diferencias significativas (K-W comparaciones de a pares  $p < 0,05$ , G comparaciones de a pares  $p < 0,013$ ).

El comportamiento de contoneo de gáster también se vio afectado por la concentración de sacarosa. La proporción del total de hormigas dadoras que realizaron contoneo aumentó con la concentración ( $G = 8,606$ ;  $p = 0,0350$ ); todas las hormigas que ingirieron 60% p/p de sacarosa presentan contoneos. El índice de contoneo, -tiempo de caminata con contoneo sobre el tiempo total de caminata-, aumentó proporcionalmente con la concentración de sacarosa. Encontramos que las hormigas dadoras que ingirieron concentraciones más altas agitaron sus gásteres más tiempo, lo que resultó en diferencias significativas entre las concentraciones de sacarosa ( $F_{3,120} = 7,952$ ;  $p < 0,0001$ ).

## **2.4. DISCUSIÓN**

### **2.4.1. Modulación de la ingestión individual**

Con este trabajo se mostró que la calidad relativa de un recurso alimentario es capaz de modular diferentes variables de alimentación e interacción de la hormiga argentina, *L. humile*.

Las cargas de buche fueron mayores para concentraciones de sacarosa intermedias, mientras que los extremos de concentraciones altas y bajas generaron cargas parciales. Esto coincide con lo visto en otras hormigas (*C. mus*: Josens et al., 1998; y *Rhyditoponera metallica*: Dussutour y Simpson, 2008), donde soluciones diluidas también generaron cargas parciales. Esto podría ser evidencia de preferencias por parte de las hormigas forrajeras, ya sea mediante la detección de la concentración de sacarosa, viscosidad, o una combinación de ambas. Sin embargo, también se pudieron observar cargas parciales para la concentración más diluida de 5% p/p; en este caso no se puede justificar la baja en la ingesta por la viscosidad. Es posible que una solución energéticamente tan pobre resultara en una menor motivación para alimentarse. Nuestros resultados suman evidencia a lo observado en otras hormigas, donde se plantea que las moléculas de sacarosa actúan como estímulo quimiosensorial en las antenas o palpos labiales, y resultan fagoestimulantes afectando la motivación por alimentarse (Josens et al., 1998; Falibene y Josens, 2012; Perez et al., 2013; Detrain y Prieur, 2014).

Se pudo observar que los tiempos de ingestión aumentaron linealmente al ofrecer soluciones de concentración de sacarosa creciente. Esto difiere de observaciones en otras especies de hormigas (*C. mus*: Josens et al., 1998; Falibene et al., 2009; *Lasius niger*: Bonser et al., 1998; Detrain y Prieur, 2014), donde el tiempo de ingestión aumentó siguiendo una función exponencial. La coincidencia con el incremento exponencial de la viscosidad (Wolf et al., 1984), sugiere que en esos casos puede haber una relación directa o indirecta entre ambas variables. En el caso de *Odontomachus chelifer* (Ávila Núñez et al., 2011) se observaron tiempos mayores para concentraciones medias y bajas (5% - 30%) que para las más altas (50% - 60%); es posible que esto se deba a sus hábitos alimentarios (Paul y Roces, 2003), es principalmente depredadora y no nectívora. En nuestro caso, considerando el mecanismo de ingestión de esta especie, es lógico pensar que la viscosidad resulte un factor determinante (Kingsolver y Daniel, 1979; Harder, 1986); sin embargo, la hormiga argentina es al menos un orden de magnitud más pequeña que *C. mus* y pudo haber sido afectada por la viscosidad de manera diferente. Es probable que estas hormigas, debido a sus dimensiones más pequeñas, sean más susceptibles a la viscosidad; pequeños aumentos en la viscosidad de concentraciones intermedias ya podrían representar una dificultad para pasar a través de su tubo digestivo anterior.

Con este trabajo registramos por primera vez las tasas de ingestión individuales para la hormiga argentina. Vemos que a diferencia de los tiempos de ingestión, los cuales aumentaron con la concentración de sacarosa, las tasas de ingestión mostraron un patrón más similar a las cargas de buche. Para *L. humile* las concentraciones intermedias entre 10-40% p/p resultaron en tasas altas (máximo en 0,09  $\mu\text{l}/\text{min}$  para 10%), mientras que las concentraciones extremas de 60-70% p/p fueron ingeridas a tasas más bajas (mínimo en 0,029  $\mu\text{l}/\text{min}$  para 70%). Esto coincide con otros trabajos sobre ingestión individual (Josens et al., 1998; Paul y Roces, 2003; Ávila Núñez et al., 2011), donde las hormigas ingirieron soluciones a diferentes velocidades de acuerdo a la concentración de sacarosa. Era de esperarse que las concentraciones más altas tuvieran tasas más bajas debido a su mayor viscosidad (Kingsolver y Daniel, 1995; Kim et al., 2011). Sin embargo, soluciones de 5% p/p de sacarosa también mostraron una importante tendencia a reducir la tasa de ingestión, que no puede ser explicada por la viscosidad. En este caso particular, al igual que con las cargas de buche, es posible que la motivación esté afectando a la variable, ya que 5% p/p de

sacarosa es una concentración relativamente baja. Este recurso podría ser reconocido como de baja calidad, rechazado o ingerido menos y a menor tasa que otro más rico. Este comportamiento resultaría más eficiente para la colonia al maximizar la entrada de recursos más energéticos.

#### **2.4.2. Modulación de las interacciones grupales y trofalaxias**

Los contactos entre individuos dentro de una colonia permiten la transferencia de información (Wilson, 1971; Farina, 1996; Hölldobler, 1999). Los contactos trofalácticos particularmente, pueden estar asociados a información transferida por la frecuencia de golpeteos de las antenas; comportamiento modulado por la calidad del recurso y por el ayuno en las hormigas carpinteras (Mc Cabe et al., 2006). Además, tal como es conocido en abejas (De Marco y Farina, 2001), se ha visto que aún los contactos breves en *C. mus* son suficientes para que la hormiga receptora pueda asociar un olor con el azúcar del néctar probado (Provecho y Josens, 2009).

Pudimos ver en nuestros experimentos que la concentración de sacarosa tuvo un efecto sobre la proporción y tasa de contactos de cabeza. Las hormigas dadoras que habían ingerido una solución de sacarosa al 5% p/p hicieron contactos a una tasa significativamente menor que las del grupo de 60% p/p, y a su vez la proporción del total de dadoras que realizaron los contactos de cabeza/antennales fue más baja para dadoras de 5% p/p. Las implicancias que esta modulación tendría en contexto de nido, donde el número de posibles receptoras sería mayor, es que al retornar de fuentes de muy baja concentración sería menor la eventual activación o reclutamiento de forrajeras. Es conocido en hormigas que mayores concentraciones determinan un mayor reclutamiento (Detrain et al., 1999; Detrain y Deneubourg, 2008).

En el caso de las sacudidas de cabeza, vemos algo similar a lo observado para los contactos, parecería que la tasa y proporción de sacudidas se acerca a la saturación ya en soluciones de 20% p/p de sacarosa. La importancia de las sacudidas de cabeza fue observada para diferentes especies de hormigas, incluyendo a la hormiga argentina, sugiriéndose que los despliegues motores aumentan la eficacia de reclutamiento (Sudd,

1957; Szlep y Jacobi, 1967; Szlep-Fessel, 1970; Van Vorhis Key y Baker, 1986; Hölldobler, 1999). Las diferencias que observamos pueden deberse a dos posibles causas: por un lado, nuestras condiciones experimentales pueden haber generado alta motivación (por ejemplo por exceso de ayuno) en las hormigas experimentales, lo cual enmascararía modulaciones más sutiles en las respuestas comportamentales. Por otro lado, es posible que este mecanismo de interacción dependa de algún valor umbral, posiblemente modulado por el ayuno, pasado el cual la respuesta comportamental es máxima. Harían falta trabajos comparando diferentes niveles de ayuno para confirmar cuál es el caso. Al igual que con la variable anterior, un cambio en la frecuencia de sacudidas podría ser relevante en la eficiencia de forrajeo de una colonia.

En algunos de los trabajos que estudiaron el reclutamiento de hormigas se hace referencia a una “caminata excitada” por parte de la hormiga reclutadora, especialmente luego de ingerir de una fuente rica (Sudd, 1957; Szlep y Jacobi, 1967; Szlep-Fessel, 1970). En nuestras filmaciones pudimos observar que una mayor proporción de las dadoras de soluciones más concentradas presentaron también una caminata diferente, más “excitada”. Inicialmente supusimos que esa diferencia se estaba dando por la velocidad, pero al compararla, por lo menos en las condiciones limitadas de la arena, no pudimos encontrar diferencias entre los grupos. Sin embargo, al hacer esa observación más detallada pudimos encontrar un nuevo comportamiento en la caminata, un contoneo intermitente del gáster de lado a lado. Este se daba mientras la hormiga caminaba y sin la filmación de alta calidad y evaluada posteriormente en cámara lenta hubiese sido casi imposible de cuantificar. Los estudios anteriores que registraron las “caminatas excitadas” fueron realizados mediante observaciones visuales de los investigadores, por lo que, de haber existido, los contoneos pueden no haberse reconocido como tales. Las dadoras que habían ingerido soluciones más ricas mostraron este comportamiento más frecuentemente, para 60% p/p de sacarosa el 100% de las dadoras “contonearon”. No queda claro qué función podría tener este despliegue, pero es posible que en el nido, donde la densidad de individuos puede ser muy alta, aumente la probabilidad de contactos entre la dadora y recolectoras inactivas, alertándolas. También surge la posibilidad que el movimiento del gáster ayude a propagar posibles feromona de camino que estuviera liberando la dadora, esencial para el reclutamiento en esta hormiga (Van Vorhis Key y Baker, 1986).

Finalmente, las trofalaxias también fueron moduladas por la calidad del recurso. A medida que aumentó la concentración, aumentó también la duración de las trofalaxias, lo cual puede asociarse a lo visto en las ingestiones individuales y la probable injerencia de la viscosidad en la transferencia. Sin embargo, la probabilidad de generarse una trofalaxia fue máxima para concentraciones intermedias de 20% y 40% p/p de sacarosa. A su vez, la latencia para que se dieran fue menor para esas concentraciones. Esto podría ser indicativo de que las concentraciones bajas y altas son menos palatables, o por lo menos que tienen la misma significancia al momento de repartirlas. Pero al tener información sobre el comportamiento previo a la trofalaxia podemos ver que no es el caso; aunque las dadoras de 5% y 60% p/p de sacarosa tardan más y realizan menos trofalaxias, el comportamiento previo puede considerarse opuesto. Las dadoras de 5% p/p muestran poca motivación en hacer contactos, sacudidas y contoneos, mientras que las de 60% p/p son las que más presentan esos comportamientos. En el primer caso, la posible activación en un contexto de nido sería mínima, y en el segundo, máxima. Las dadoras de 60% p/p utilizan el tiempo inicial de arribo para interactuar con la mayor cantidad de compañeras de nido, aumentando el posible reclutamiento a una fuente de muy alta calidad.

# INGESTIÓN DE CEBOS TÓXICOS

## 3.1. INTRODUCCIÓN

Las hormigas son a menudo consideradas plagas de ambientes urbanos, teniendo un impacto económico significativo para la industria de control de plagas y el público general. Sin embargo, su importancia contrasta con la falta de información fisiológica y comportamental para muchas de esas especies. Algunas especies son muy estudiadas por su importancia médica, agrícola o por ser molestia domiciliaria, como la hormiga de fuego, *S. invicta* (Banks, 1990), la hormiga faraón *Monomorium pharaonis* (Williams, 1990), y hormigas carpinteras del género *Camponotus* (Akre y Hansen, 1990; Hansen et al., 1993).

En zonas urbanas, las estrategias de control se centran generalmente en la minimización de la exposición humana a los compuestos tóxicos, para lo cual se puede aprovechar el comportamiento natural de hormigas para introducir el compuesto activo (tóxico) en el nido por medio de las propias hormigas. Por otro lado, el nido es, con frecuencia, difícil de localizar o es inaccesible, lo cual disminuye la posibilidad de aplicar las sustancias tóxicas de manera efectiva directamente en el nido. Como ocurre en otros insectos sociales, en las hormigas los únicos individuos que salen regularmente del nido son una pequeña fracción de las obreras estériles, las forrajeras. Éstas buscan y llevan diferentes recursos al nido, donde la comida se comparte con compañeras de la colonia, reina/s y la cría. Es por ello que los cebos alimentarios pueden alcanzar la mayoría de miembros de la colonia, son la forma más eficaz de distribuir un tóxico en un nido. Para muchas especies de hormigas, las soluciones de azúcar pueden actuar como cebos eficaces

ya que los hidratos de carbono constituyen una parte importante de su dieta (Baker et al., 1985; Hölldobler y Wilson, 1990).

Aunque los cebos pueden ser efectivos para el control de hormigas, se debe tener en cuenta las preferencias de la especie blanco y las condiciones de aplicación al momento de formularlo. Registros a campo han demostrado variaciones estacionales notables en el consumo de soluciones de sacarosa para diferentes especies de hormigas (*Formica lugubris*, Sudd y Sudd, 1985; *L. humile*, Rust et al., 2000; *Camponotus pennsylvanicus*, Tripp et al., 2000). Esta variación podría deberse a los cambios en los números de obreras y/o cría, o su proporción, ya que tiene un impacto evidente en el balance que necesitan de proteínas y de hidratos de carbono (Howard y Tschinkel, 1980; Dussutour y Simpson, 2008). De hecho, las forrajeras no recogen recursos para sus propias necesidades individuales, sino para toda la colonia (Cassill y Tschinkel, 1999). Además, los cambios en la disponibilidad de fuentes alternativas naturales podrían afectar la ingesta de cualquier cebo a base de azúcar ofrecido (Sudd y Sudd, 1985; Kay, 2002; Vega y Rust, 2003; Daane et al., 2006; Silverman y Brightwell, 2008).

Uno de los problemas más difíciles ha sido formular cebos en los que las sustancias tóxicas sean consistentemente aceptadas (Baker et al., 1985; Silverman y Roulston, 2001; Rust et al., 2004). La evaporación del agua de cualquier cebo tóxico también plantea un problema, ya que al concentrarse el tóxico puede volverse detectable por las hormigas, causando un efecto fago-disuasorio, incluso pudiendo interferir con la aceptación del cebo y/o el reclutamiento (Klotz et al., 2000; 2004).

La aceptación de los cebos que se aplican para el control estará sujeta a la actividad de recolección que la colonia presente en ese momento. Los procesos relacionados con la recolección de soluciones de azúcar dependen del equilibrio entre la entrada de hidratos de carbono al nido y los requisitos energéticos de la colonia. El balance entre ambos determinará la motivación por recolectar: un estado interno particular que afecta la toma de decisiones y modula diferentes variables comportamentales y umbrales de respuesta (Mangel, 1993). Esto permite al realizar estudios con colonias de laboratorio, que la búsqueda de alimento y el reclutamiento puedan ser parcialmente manipulados por el suministro o la privación de los hidratos de carbono a la colonia (Howard y Tschinkel,

1980; Josens y Roces, 2000; Mailleux et al., 2006; Falibene y Josens, 2008; Falibene et al., 2009). Por la misma razón, ya sea en la naturaleza o en condiciones de laboratorio, un cierto cebo azucarado podría ser aceptado, ingerido y transportado hacia el nido, así como desencadenar el reclutamiento en algunas situaciones, pero no en otras (Josens y Roces, 2000; Mailleux et al., 2000; 2005; 2006; 2011). El estado interno de una recolectora afecta la valoración relativa de un determinado recurso (estímulo externo) que, a su vez, afecta a la motivación individual para ingerir cierto alimento (McFarland, 1971). Por lo tanto, la aceptación del cebo tóxico en una situación dada no necesariamente representa su aceptación cuando se utiliza en un programa de control, la motivación individual de cada recolectora determinará su efectividad.

El ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) y el borato de sodio ( $Na_2B_4O_7$ ) se han utilizado como insecticidas en cebos para hormigas desde finales del siglo XIX (Riley, 1889; Rust, 1986). Su uso se redujo en la década de 1940, pero volvió a aparecer en las últimas décadas, ya que tienen algunas ventajas sobre otros tóxicos; por ejemplo, una baja toxicidad para los mamíferos en pequeñas dosis (Quarles, 1992), solubilidad en agua y toxicidad retardada, que es esencial para el control de insectos sociales (Klotz y Moss, 1996). La aceptación, el consumo y la mortalidad de los cebos que utilizan este principio activo se han estudiado ampliamente en diferentes especies de hormigas, tanto en ensayos de laboratorio como a campo (Klotz et al., 1996; 1997; 1998; 2000; Rust et al., 2004; O'Brien y Hooper-Bui, 2005; Nelson y Daane, 2007; Stanley y Robinson, 2007; Daane et al., 2008; Nyamukondiwa y Addison, 2011). En general, la mayoría de los estudios sobre cebos tóxicos para hormigas se realizaron con colonias enteras o en grupos de hormigas, pero muy pocos se focalizan en la respuesta individual (Hooper-Bui y Rust, 2001; O'Brien y Hooper-Bui, 2005).

En cuanto a la concentración de ingrediente activo, muchos estudios sugieren el uso de menos de 1% p/v del compuesto borado (Klotz y Williams, 1996; Hooper-Bui y Rust, 2000), a pesar de que varios cebos comerciales contienen hasta un 4 o 5% p/v (Klotz et al., 2000). Los resultados preliminares con *C. mus* mostraron que el aumento de la concentración de ácido bórico condujo a un mayor rechazo y un menor volumen ingerido por las hormigas, lo que sugiere cierto grado de fago-disuasión (Fernández, 2001). Por el

contrario, muy bajas concentraciones de agentes tóxicos de boro pueden ser más fácilmente aceptados pero podrían ser menos eficaces para el control, ya que compartiendo el cebo por trofalaxia entre una gran población puede fácilmente diluir un tóxico a una dosis subletal (Rust et al., 2004; Greenberg et al., 2006).

En cuanto a la concentración de sacarosa del cebo, varios estudios aplican 10% p/p en cebos para hormigas (Klotz y Moss, 1996; Klotz et al., 1996; 1997). Sin embargo, en los estudios de campo, la hormiga argentina mostró más reclutamiento hacia mayores concentraciones de sacarosa (Klotz et al., 1998). Además, vale la pena considerar que, incluso sin tóxicos, las soluciones azucaradas pueden ser rechazadas si la concentración no es lo suficientemente alta (Josens et al., 1998; Josens y Roces, 2000).

### **3.1.1. Objetivos**

El objetivo de este capítulo fue comparar la aceptación de cebos con dos compuestos borados (ácido bórico y borato de sodio) en condiciones que potencien una posible fago-disuasión en la hormiga argentina, *L. humile*. Esta situación se alcanzó bajo condiciones de baja motivación para recolectar alimento. Para ello, se utilizó como posible factor disuasorio una baja concentración de sacarosa, reduciendo así el atractivo del cebo. Se utilizó además una alta concentración cebo tóxico para intensificar cualquier posible efecto fago-disuasorio, lo que nos permite detectar si alguna de las dos sustancias tóxicas podría aceptarse incluso cuando las hormigas mostraran poca motivación.

## **3.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

El objetivo de estos experimentos fue comparar la aceptación y el comportamiento alimentario de las hormigas individuales a los tóxicos utilizados en los cebos comerciales en un estado de baja motivación de alimentación, con el fin de potenciar un posible efecto disuasorio de las sustancias tóxicas. Para bajar la motivación, se utilizaron concentraciones de las sustancias tóxicas altas (5% p/v) combinadas con una baja concentración de sacarosa (5% p/p). Las colonias fueron previamente sometidas a un período de ayuno de 48 a 72 h

previo a cada día de registro. En cada día de registro de datos, todos los tratamientos (tratamientos control y cebos tóxicos) se tomaron de manera uniforme a lo largo de las horas del día, en secuencia aleatoria, tomando un dato de cada tratamiento, de modo de evitar cualquier asociación de la hora del día con un tratamiento en particular. Esto se repitió en varios días para alcanzar un tamaño de muestra suficiente. En todos los experimentos, a cada hormiga individual se le proporcionó una sola solución y se analizó solamente una vez. Luego de cada día, las hormigas experimentales se juntaron según grupos experimentales para evaluar la mortalidad. Se les proporcionó agua y miel diluida durante 14 días, registrando las hormigas muertas cada día.

Se cuantificaron las siguientes variables: volumen de ingesta individual, tiempo de ingestión, aceptación y mortalidad. Las primeras variables se registraron de igual manera que en el capítulo anterior. La aceptación (%) se calculó como el porcentaje de hormigas que ingirió respecto del número total de hormigas que hizo contacto con la solución con sus piezas bucales o antenas. Esta variable no se midió durante los primeros días de grabación de datos; por lo tanto, el tamaño de la muestra para esta variable fue menor que para el resto de las variables registradas. La mortalidad se cuantificó como la cantidad acumulada de hormigas muertas por día para cada tratamiento.

### **3.2.1. Series experimentales**

#### **3.2.1.1. Comparación entre borato de sodio y ácido bórico**

Se ofreció a cada hormiga una de tres soluciones de sacarosa 5% p/p: sin tóxico (*tratamiento control*), con 5% p/v de ácido bórico (*tratamiento ácido bórico*) y 5% p/v de borato de sodio (*tratamiento borato*). El acceso a la solución experimental fue durante el tiempo de ingestión de cada hormiga, y por única vez. Luego de los ensayos, 30 hormigas por tratamiento se mantuvieron en grupos de 15, según el tratamiento recibido, durante 14 días. Los envases plásticos (7 cm de diámetro) que contuvieron las hormigas se cubrieron con tapas de plástico perforadas para mantener la humedad dentro del envase, al mismo tiempo que permite el intercambio de aire. El piso de los mismos contaba con una capa de yeso y las paredes pintadas con flúon. Durante este período, las hormigas tenían acceso a

agua y el miel diluida *ad libitum*, pero no se les ofreció más tóxico. La mortalidad se registró como el número acumulado de hormigas muertas por día.

### **3.2.1.2. Borato de sodio y concentración de sacarosa**

En este experimento, estudiamos la respuesta de las hormigas a cebos con una misma concentración de tóxico pero con diferente concentración de azúcar. Probamos si los cebos de baja concentración de sacarosa eran menos atractivos que los de concentración más alta, aunque todos tuvieran alta concentración de Borato. Se analizaron las variables de comportamiento para cada obrera individual cuando se alimentaba de una solución de sacarosa de 5, 10 o 20% p/p, todas con 5% p/v de borato de sodio. Posteriormente, las hormigas se mantuvieron en grupos de 15 por envase plástico, y la tasa de mortalidad se registró diariamente como se describe anteriormente.

### **3.2.1.3. Comparación de tóxicos y el efecto de la concentración de sacarosa**

Se reprodujeron (en otro año con otras colonias) todas las series que se han descrito previamente. Sin embargo, mientras que en los experimentos anteriores cada serie se realizó una después de la otra (analizándose cada serie por separado), en este experimento la concentración de sacarosa y agente tóxico fueron evaluadas en paralelo, en forma simultánea. Ofrecimos a cada hormiga individual una de nueve soluciones (tratamientos); combinando las concentraciones de sacarosa (5, 10 y 20% p/p) y el tipo de tratamiento administrado: control (sin tóxico), ácido bórico y borato de sodio (ambos 5% p/v). La mortalidad se midió como se describe anteriormente.

### **3.2.4. Análisis estadístico**

Se analizaron las variables de alimentación utilizando análisis de varianza de un factor (ANOVA). En los casos de diferencias significativas, se hicieron comparaciones múltiples post-hoc de a pares de Tukey. La aceptación de las diferentes soluciones se comparó con pruebas de G. La mortalidad fue comparada mediante curvas de Kaplan-Meier de supervivencia con alfa corregido cuando se realizan comparaciones de a pares.

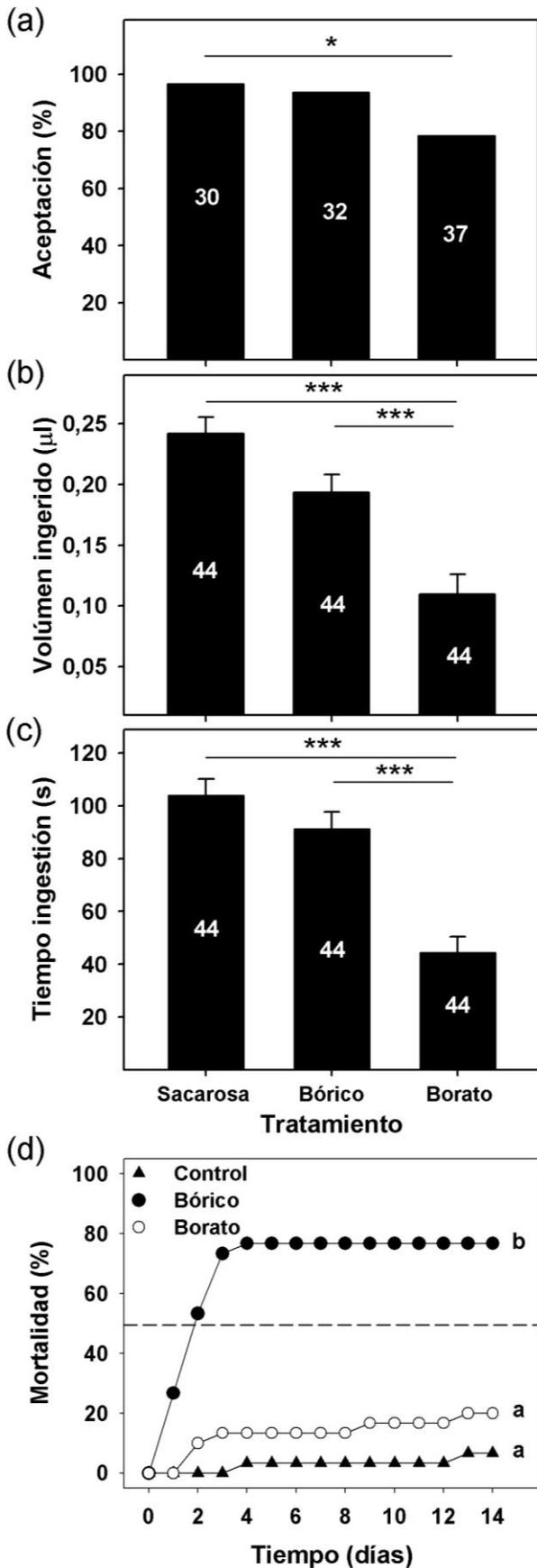
Para el experimento de comparación de tóxico y concentración de sacarosa, para las variables de alimentación se realizó ANOVA de dos factores (factor concentración de sacarosa y factor tratamiento); luego, si no existiera una interacción significativa, se aplicaron las comparaciones post-hoc Neuman-Keuls. El nivel de significación general utilizado fue de 5% en todos los experimentos.

### **3.3. RESULTADOS**

#### **3.3.1. Comparación entre borato de sodio y ácido bórico**

Cuando ofrecimos a las hormigas argentinas un cebo de baja concentración de azúcar y de alta concentración de tóxico, se observó un comportamiento diferente para el ácido bórico (5% p/v) y borato de sodio (5% p/v) (Fig. 3.1). Las hormigas mostraron un rechazo más pronunciado al borato de sodio que al ácido bórico (G-test,  $p = 0,035$ ; Fig. 3.1a). Este resultado se vio reforzado también por el volumen ingerido (ANOVA,  $F_{2, 129} = 19,76$ ;  $p < 0,0001$ ; Fig. 3.1b) y el tiempo de ingestión (ANOVA,  $F_{2, 129} = 25,12$ ;  $p < 0,0001$ ; Fig. 3.1c). El control mostró el mayor tiempo de ingestión y la carga de buche más alta, que era similar a la de tratamiento de ácido bórico, pero significativamente diferente que el cebo de borato de sodio.

La mortalidad de estos tres grupos mostró diferencias que eran compatibles con las variables de alimentación (Kaplan Meier,  $\chi^2 = 42,18$ ;  $p < 0,00001$ ; Fig. 3.1d). Las hormigas del grupo borato presentaron una mortalidad mucho más baja que el grupo de ácido bórico y a su vez, comparable a la del grupo control. El grupo ácido bórico alcanzó el 50% de mortalidad entre el primero y segundo día después del tratamiento, mientras que los grupos de borato de sodio y de control no alcanzaron el 20% durante los 14 días registrados.



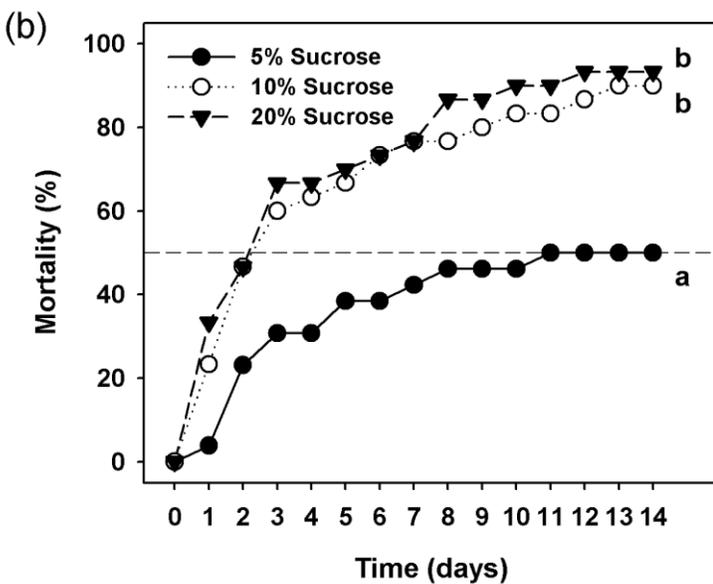
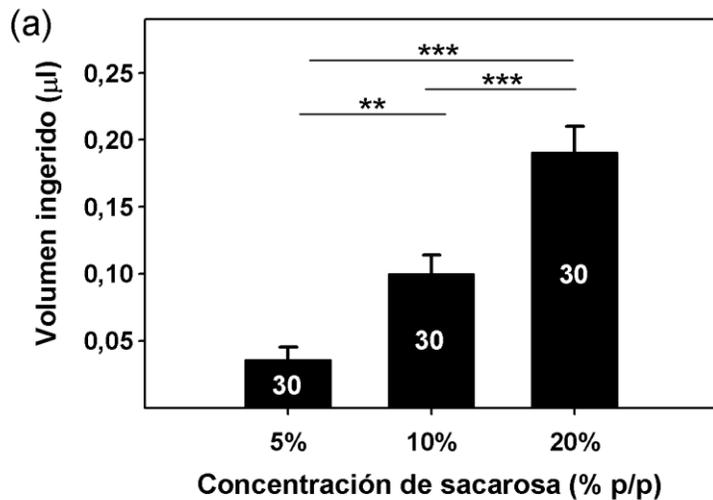
**Fig. 3.1:** Variables de ingestión individuales para 5% p/p de solución de sacarosa, sin tóxico (control), con ácido bórico (5% p/v), o con borato de sodio (5% p/v). **a)** Aceptación (% de hormigas que ingiere la solución en relación con el número de hormigas que hicieron contacto con la solución), **b)** Volumen ingerido (media  $\pm$  se), **c)** Tiempo de ingestión (media  $\pm$  se). Las líneas horizontales indican diferencias significativas (comparaciones post-hoc de Tukey: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ). Los números dentro de las barras representan el número de hormigas experimentales. **d)** la mortalidad diaria (acumulada) después de recibir uno de los tres tratamientos: control, ácido bórico o borato. Cada curva representa 30 hormigas. Curvas que no comparten letras son significativamente diferentes (Kaplan Meier,  $p < 0,0001$ ).

### 3.3.2. Borato de sodio y concentración de sacarosa

*L. humile* muestra diferencias en el comportamiento de alimentación de acuerdo a la concentración de sacarosa en el cebo de borato de sodio. Al ofrecer soluciones de creciente concentración de sacarosa adicionadas con 5% borato de sodio las diferencias en volumen ingerido fueron muy marcadas (ANOVA,  $F_{2, 87} = 27,38$ ;  $p < 0,0001$ ; Fig. 3.2a), más de lo que se pudo observar en el capítulo anterior comparando soluciones solo de sacarosa. La mortalidad fue consistente con el comportamiento descrito (Fig. 3.2b); hormigas que bebieron del cebo de sacarosa al 5% tuvieron menor mortalidad que los otros grupos (Kaplan Meier,  $\chi^2 = 12,78$ ;  $p = 0,0017$ ). Dado que todos los cebos tenían la misma concentración de borato de sodio (5% p/v), cuanto más cebo se consumió, más tóxico se ingirió. Para cebos de 10% y 20% p/p sacarosa, el cincuenta por ciento de las hormigas murió entre el segundo y tercer día después del tratamiento, pero para el cebo de 5% p/p sacarosa, el cincuenta por ciento de las hormigas murió a los 11 días. Ya que durante el período de post-tratamiento las hormigas solo tuvieron acceso a miel diluida, las diferencias en la mortalidad solo pueden ser una consecuencia de un mayor volumen de tóxico ingerido para las soluciones más concentradas.

### 3.3.3. Comparación de tóxicos y el efecto de la concentración de sacarosa

El volumen ingerido varió tanto con la concentración de sacarosa como con el tratamiento tóxico (ANOVA de dos factores, *concentración sacarosa*:  $F_{2, 261} = 10,33$ ;  $p < 0,0001$ ; *tóxico*:  $F_{2, 261} = 8,12$ ;  $p < 0,001$ ; *interacción*:  $F_{4, 261} = 0,91$ ;  $p = 0,46$ ; Fig. 3.3). Hubo diferencias entre las sustancias tóxicas, pero a medida que aumentó la concentración de sacarosa, estas diferencias desaparecieron. Mientras que para cebos de 5% sacarosa, el borato de sodio fue significativamente menos ingerido que el control y el ácido bórico (Fig. 3.3a), para 10%, el borato de sodio tendió a ser menor que el control (Fig. 3.3b), y para el 20% había no hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 3.3c).



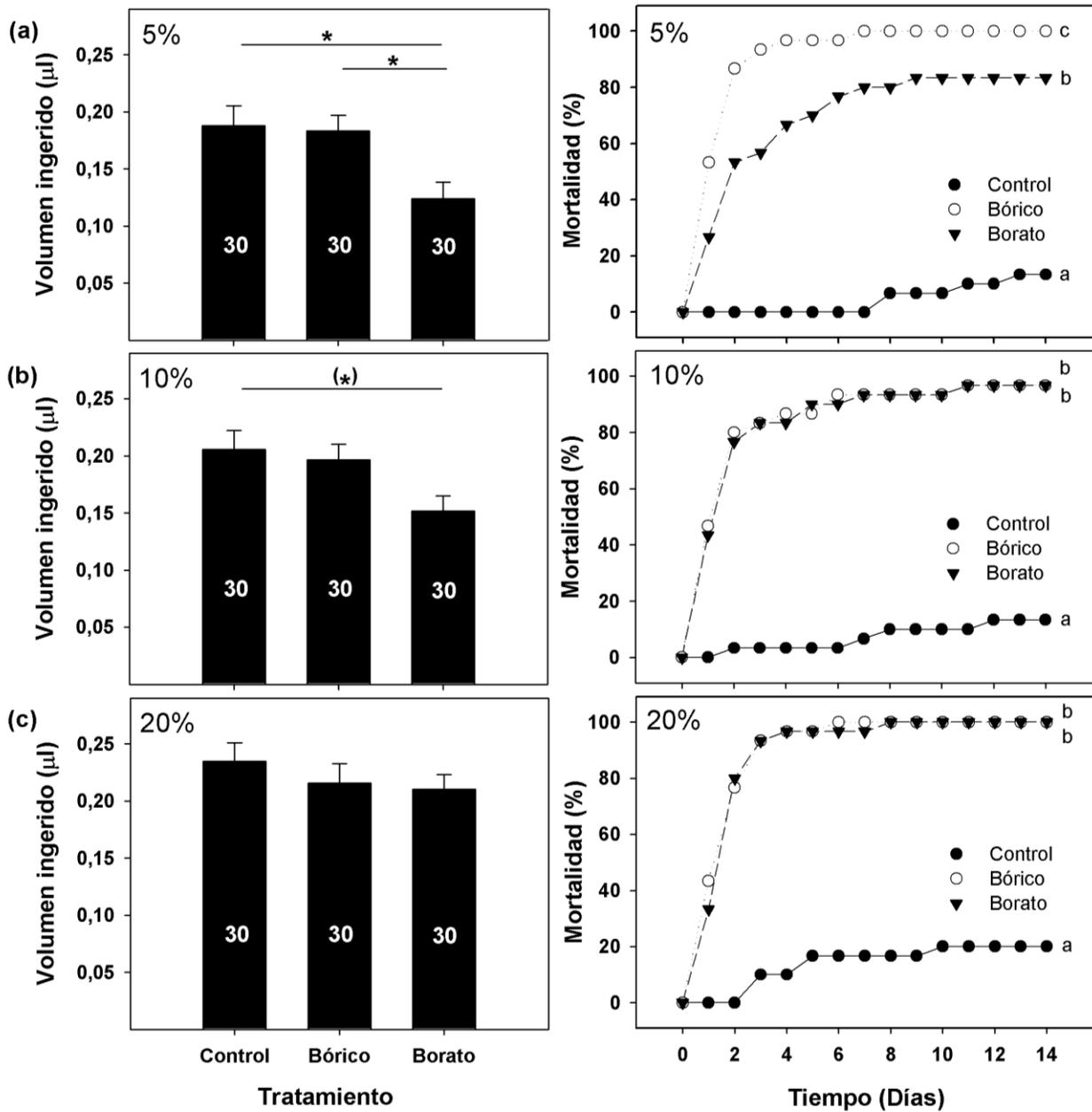
**Fig. 3.2:** Ingestión de solución de borato de sodio de diferente concentración de sacarosa. **a)** Volumen ingerido (media ± SE) por las hormigas individuales para las soluciones de sacarosa de 5, 10 y 20% p/p, todas con 5% p/v de borato de sodio. Las líneas horizontales indican diferencias significativas (comparaciones post-hoc de Tukey: \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ). Los números dentro de las barras representan el número de hormigas experimentales. **b)** La mortalidad como el número acumulativo de hormigas que murió cada día después del tratamiento (día 0). Curvas que no comparten letras son significativamente diferentes (Kaplan Meier,  $p < 0,05$ ).

Solo cuando la concentración de sacarosa del cebo es baja pudieron detectarse diferencias entre los tóxicos, ya que desaparecieron con el incremento de concentración. En el tratamiento de borato de sodio, a mayor concentración de sacarosa, mayor volumen ingerido. La disminución en la ingestión a concentraciones inferiores de sacarosa fue significativa para el borato de sodio (Neuman-Keuls, 5 vs 10:  $P > 0,1$ ; 10 vs 20:  $p = 0,0696$ ,

5 vs 20:  $p < 0,001$ ), pero no para el ácido bórico o el tratamiento de control. Estos resultados indican que, en ciertas circunstancias, el borato de sodio afecta negativamente la ingesta, pero el ácido bórico no.

Vale la pena mencionar que, en un experimento previo (no mencionado en Materiales y Métodos) con el mismo protocolo, la tendencia a ingerir menos con la disminución de la concentración era más pronunciada (ANOVA,  $F_{2,111} = 6,00$ ;  $p < 0,004$ ; datos no mostrados). Este hecho indicaría que incluso con el mismo protocolo, otros factores pueden afectar la motivación para alimentarse, (por ejemplo, estación del año, tiempo, clima, condiciones del nido, etc.)

La mortalidad de los grupos control, ácido bórico y borato de sodio difirió para cada una de las tres concentraciones de sacarosa: 5% de sacarosa (Kaplan Meier,  $\chi^2 = 49,2$ ;  $p < 0,00001$ ), 10% de sacarosa (Kaplan Meier,  $\chi^2 = 44,97$ ;  $p < 0,00001$ ), y 20% de sacarosa (de Kaplan Meier,  $\chi^2 = 45,17$ ;  $p < 0,00001$ ; Fig. 3.3 paneles de la derecha). En todos los casos, el grupo control tuvo una mortalidad baja difiriendo de los otros dos tratamientos y nunca alcanzando el 50% en más de 14 días. En cuanto a las sustancias tóxicas, los grupos borato y bórico no presentaron diferencias en la mortalidad para las concentraciones de sacarosa superiores (10 y 20%, Fig. 3.3b y c, paneles de la derecha). Sin embargo, cuando la concentración de sacarosa fue baja (5%), el cebo de ácido bórico alcanzó una tasa de mortalidad significativamente mayor que el grupo de borato de sodio (Fig. 3.3a panel derecho).



**Fig. 3.3:** Volumen ingerido (media  $\pm$  SE; paneles de la izquierda) y la mortalidad diaria (acumulada; paneles de la derecha) de las hormigas argentinas después de recibir uno de nueve tratamientos: control (sin tóxico), ácido bórico (5% p/v) y borato (5% p/v) en **a**) 5% p/p sacarosa, **b**) 10% p/p sacarosa y **c**) 20% p/p sacarosa. Las líneas horizontales en paneles de la izquierda indican diferencias significativas (comparaciones post-hoc de Tukey: (\*)  $0,05 < p < 0,1$ ; \*  $p < 0,05$ ). Cada barra corresponde a cada curva en los gráficos de mortalidad;  $N = 30$ . Dentro de cada panel, letras diferentes indican curvas que son significativamente diferentes (Kaplan Meier,  $p < 0,05$ ).

### 3.4. DISCUSIÓN

Demostramos que las hormigas respondieron de forma asimétrica hacia los dos compuestos borados, dependiendo de la concentración de azúcar del cebo en cuestión. Dado que la concentración de azúcar será valorada según la motivación por recolectar, la posible eficacia en la aplicación de cebo tóxico para el control de hormigas tiene una estrecha relación con las condiciones de cada situación en particular. Este estudio muestra que las hormigas argentinas presentaron una respuesta diferente cuando se les ofreció soluciones de sacarosa con borato de sodio o ácido bórico; aceptaron más fácilmente los cebos de ácido bórico que los de borato de sodio. La hormiga *C. mus*, con hábitos alimentarios similares, ha presentado una respuesta opuesta; esto es, en situaciones de baja motivación rechaza más el ácido bórico (Fernández, 2001; Sola et al., 2013). Es por ello que sería recomendable a la hora de aplicar un cebo para controlar hormigas, no solo tener en cuenta sus hábitos de alimentación (es decir nectívoras, hormigas cortadoras de hojas), sino también considerar la especie en particular que se va a combatir. Ciertas especies responden mejor a un compuesto activo que a otro, y esto varía de especie en especie. Así, nuestros resultados sugieren que la elección del cebo tóxico a ser usado es más compleja de lo que se consideraba hasta el momento.

La respuesta asimétrica hacia los dos compuestos tóxicos de boro se evidenció solo cuando la motivación para alimentación fue baja, o sea, cuando el cebo presentaba baja atracción, manipulado a través de la concentración de azúcar. En otras palabras, en las condiciones del experimento, la hormiga argentina redujo la aceptación y el consumo de cebos de borato de sodio únicamente cuando estos tenían baja concentración de sacarosa. Sin embargo, estas diferencias estuvieron ausentes cuando la concentración de sacarosa fue mayor, lo que haría el cebo más atractivo para las hormigas. En este último escenario, las hormigas ingirieron una mayor cantidad de cebo, por ende, más tóxico, y en consecuencia su mortalidad por día aumentó. Por el contrario, las soluciones con ácido bórico mostraron ingestas similares a las del control para todas las concentraciones de sacarosa. Por lo tanto, no aparecieron diferencias en la mortalidad para el ácido bórico, como se observó en los cebos de borato de sodio. Estos resultados demostraron que el borato de sodio es más

disuasivo para hormigas argentinas que el ácido bórico, un efecto indeseado para un cebo tóxico.

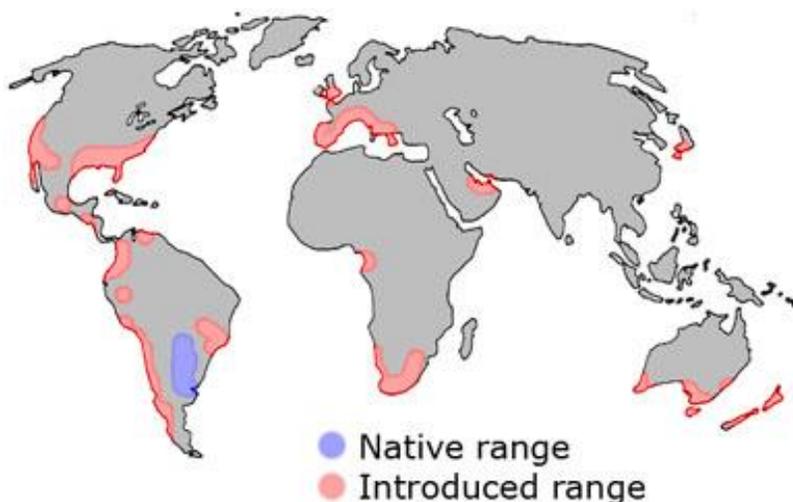
Las tasas de mortalidad fueron una consecuencia de la cantidad de tóxico ingerida en todos los experimentos realizados en este estudio. Cuando se ingirió más tóxico, se requirió menos tiempo para llegar a una mortalidad del 50% de las hormigas. La mortalidad fue consecuencia de la cantidad de tóxico ingerido en el experimento, ya que se realizó una sola ingestión del cebo tóxico en el día 0; en los siguientes días no fue administrado más tóxico y las hormigas tenían acceso a agua y solución de azúcar *ad libitum*.

Hacemos hincapié en la importancia de las condiciones predominantes asociadas con todos estos resultados. Aunque algunas investigaciones indican que las concentraciones de boratos mayores a 1% p/v podrían ser repelentes (Klotz y Williams, 1996; Hooper-Bui y Rust, 2000), nuestro estudio muestra que cuando las condiciones conducen a una alta motivación, hasta los cebos con alta concentración de borato de sodio son bien aceptados.

# SUPERCOLONIAS URBANAS DE LA HORMIGA ARGENTINA

## 4.1. INTRODUCCIÓN

La hormiga argentina, *Linepithema humile*, es una importante plaga en ambientes urbanos y agrarios de todo el mundo. Fue introducida a todos los continentes por acción involuntaria del hombre. Debido a su impacto como especie invasora a nivel global viene siendo extensamente estudiada en las últimas décadas (rev. Silverman y Brightwell, 2008). Son oriundas de la cuenca del Paraná, la cual incluye marginalmente a la Ciudad de Buenos Aires (Newell y Barber, 1913; Wild, 2004). Sin embargo, de los trabajos realizados dentro de su rango nativo (Suarez et al., 1999; Tsutsui et al., 2000; Tsutsui y Case, 2001; Heller, 2004; Holway y Suarez, 2004; Pedersen et al., 2006; Vogel et al., 2010), son escasos los que se centran en su comportamiento y distribución en ambientes urbanos (Suarez et al., 1999; Pedersen et al., 2006; Vogel et al., 2010).



**Fig. 4.1:** Distribución global de *L. humile*. El rango nativo es de color azul y el rango introducido, en rojo (www.myrmecos.net, A. Wild).

Se sabe que la estructura poblacional en ambientes donde fue introducida es *unicolonial*, representada por supercolonias que pueden llegar a ocupar varios kilómetros cuadrados, donde las hormigas de diferentes nidos no son agresivas entre sí (Tsutsui et al., 2000; Giraud et al., 2002). En su rango nativo, originalmente se supuso que las poblaciones eran *multicoloniales* (cada nido corresponde a una colonia diferente, siendo agresivos entre sí). Estudios más recientes han encontrado que las supercolonias también son muy comunes en el rango nativo, pero de menor tamaño (Heller, 2004; Pedersen et al., 2006). En ambientes urbanos las dimensiones de las supercolonias son desconocidas. Considerando que en su rango de invasión la hormiga argentina también está muchas veces asociada a centros urbanos, es de gran importancia entender cómo se distribuye y se estructuran las poblaciones en estos ambientes y cuáles son las variables que rigen su distribución.

La hipótesis más aceptada sobre los factores que generan la pérdida de agresión en el rango invasor, se basan en gran medida en estudios genéticos. En estos estudios genéticos se analiza la variabilidad que presentan las poblaciones en su rango invasor y en su rango nativo. Muchos trabajos encontraron que las poblaciones introducidas son menos diversas genéticamente que las poblaciones nativas, posiblemente por efecto de cuellos de botella al ser transportadas y establecerse a partir de grupos pequeños de hormigas (Suarez et al., 2008; Brandt et al., 2009; Vogel et al., 2010). Se cree que esta es una de las razones por la cual se observa una falta de agresión intraespecífica entre colonias a kilómetros de distancia. Esta falta de agresión se considera que es un factor fundamental a favor de su habilidad como invasora y lo que le permite en última instancia constituir las supercolonias (Tsutsui et al., 2000).

#### **4.1.1. Objetivos**

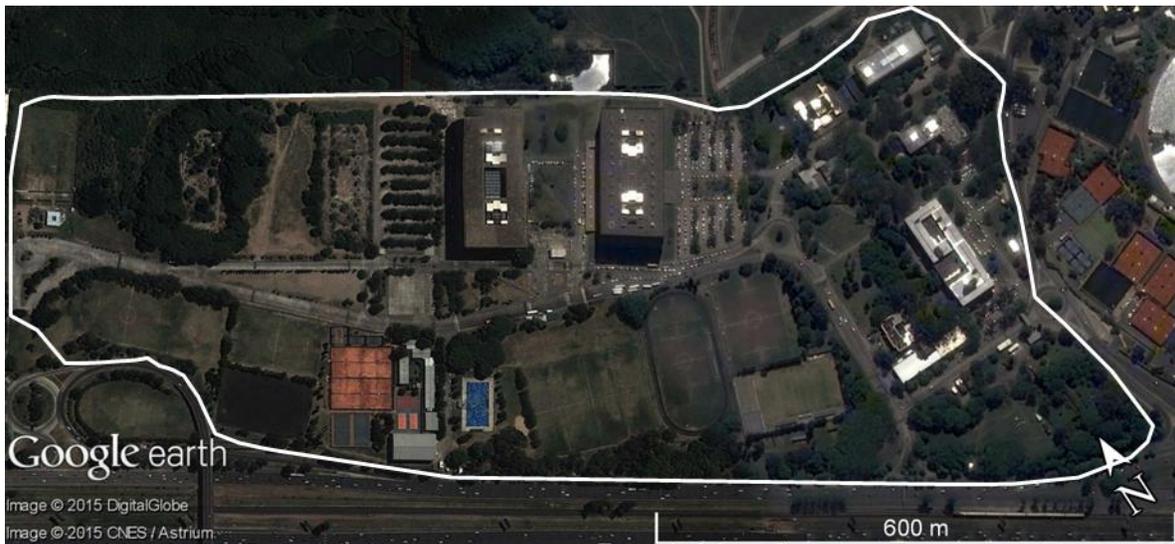
El objetivo de este trabajo fue evaluar en primer lugar qué tipo de estructura poblacional presenta la hormiga argentina en un ambiente fuertemente antropizado dentro de su rango de distribución original. Se evaluó el área que ocupa una colonia o supercolonia, utilizando métodos comportamentales y genéticos para la discriminación de

las mismas. Se buscó además determinar si estructuras propias del ambiente urbano, como calles asfaltadas con tráfico intenso, pueden actuar como barreras físicas determinando límites en la distribución de las supercolonias.

## 4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.2.1. Área de muestreo

Se relevaron las colonias de *L. humile* presentes en un espacio verde urbano de alrededor de 48 hectáreas de ambiente modificado, el campus de la Ciudad Universitaria de la Universidad de Buenos Aires (34° 32' 25" S; 58 ° 26' 45" O). La Ciudad Universitaria es un sitio ideal para este estudio sobre especies urbanas, ya que presenta un área parqueada con abundante presencia de peatones y vehículos, representando un ambiente fuertemente antropizado pero con buenas condiciones para el trabajo de muestreo. De su área total tiene cubierta aproximadamente un 12,5% por edificaciones (~6 ha). A esta área principal se sumó el Paseo de las Américas y el Centro de Rehabilitación del Lisiado, cruzando las avenidas Int. Cantilo y L. Lugones y las vías de ferrocarril Gral. Belgrano (Fig. 4.2).

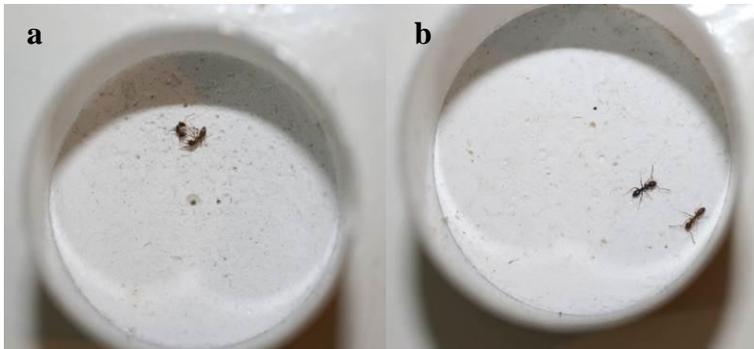


**Fig. 4.2:** Campus de la Ciudad Universitaria de la Universidad de Buenos Aires.

#### 4.2.2. Ensayos de agresión y distribución de supercolonias

Con el objeto de determinar la estructura poblacional de *L. humile*, en primer lugar, y posteriormente identificar las supercolonias (conjunto de nidos y caminos, cuyas hormigas no presentan agresión entre sí), así como las extensiones de las mismas, se realizaron ensayos comportamentales utilizando ensayos de agresión entre individuos. Esta técnica es una de las más utilizadas para determinar la extensión de cada colonia (Holway et al., 1998; Suarez et al., 1999; 2002). Para ello, se recolectaron hormigas provenientes de diferentes puntos de muestreo diferentes y se las enfrentó para determinar si las interacciones entre las mismas fueron agresivas o no. En cada uno de puntos (marcados en la Fig. 4.5) se recolectaron grupos de hormiga argentina (~150 individuos por punto de muestreo; 30 puntos en total) que luego fueron transportados al laboratorio donde se los mantuvo al menos dos horas en recipientes plásticos con fondo de yeso y agua *ad libitum* para su aclimatación. Pasado este tiempo se retiró una única hormiga de cada grupo correspondiente a un punto de muestreo y se la colocó en una arena de observación. Esta arena consistió en un recipiente plástico circular (2,5cm de diámetro, 3cm de altura) con fondo de yeso y paredes internas pintadas con flúon (Fig. 4.3). Luego se introdujo a esa misma arena una segunda hormiga, proveniente de otro punto de muestreo o del propio, y se observó el comportamiento de las hormigas hasta registrar una interacción. Los comportamientos observados fueron contacto, antenación, evitación, levantamiento de gáster, abertura de mandíbulas y finalmente, mordidas. Frecuentemente, se considera a los dos primeros como no agresivos, los siguientes de agresión leve, y los últimos como agresivos (Holway et al., 1998). El tiempo máximo de observación por pareja fue de 5 minutos. De no ocurrir una interacción o en el caso que el resultado de la misma fuera ambiguo se descartaba el par de hormigas. Esto se repitió con todos los posibles pares, incluyendo hormigas de la misma muestra, con seis repeticiones para cada combinación, alternando qué hormiga (de qué punto) entraba en la arena primero. Estos es, para cada uno de los 30 puntos se realizaron 180 ensayos, obteniéndose un total de 5400 observaciones. Finalmente, las interacciones fueron catalogadas como agresivas o no agresivas. Las interacciones no agresivas indican que las hormigas pertenecen a la misma supercolonia (Hölldobler y Wilson, 1990). A diferencia de otros trabajos, las agresiones no fueron categorizadas según Holway et al. (1998) dado que los diferentes niveles de agresión leve

se dieron sin un patrón claro, o más bien, dependían de las condiciones del encuentro. Si un par de hormigas mostraba evitación, la forma más leve de agresión, eso no descartaba que, a medida que pasara el tiempo o aumentaran los cruces entre ambas dentro de la arena, la agresión se intensificara a la forma máxima, mordidas y muerte. Un factor que modificó el nivel de agresión fue el tamaño de la arena (obs. pers. FJS), ya que al utilizar arenas de menor tamaño también aumentaron los encuentros entre los dos individuos, lo que llevaba eventualmente a la escalada de agresión



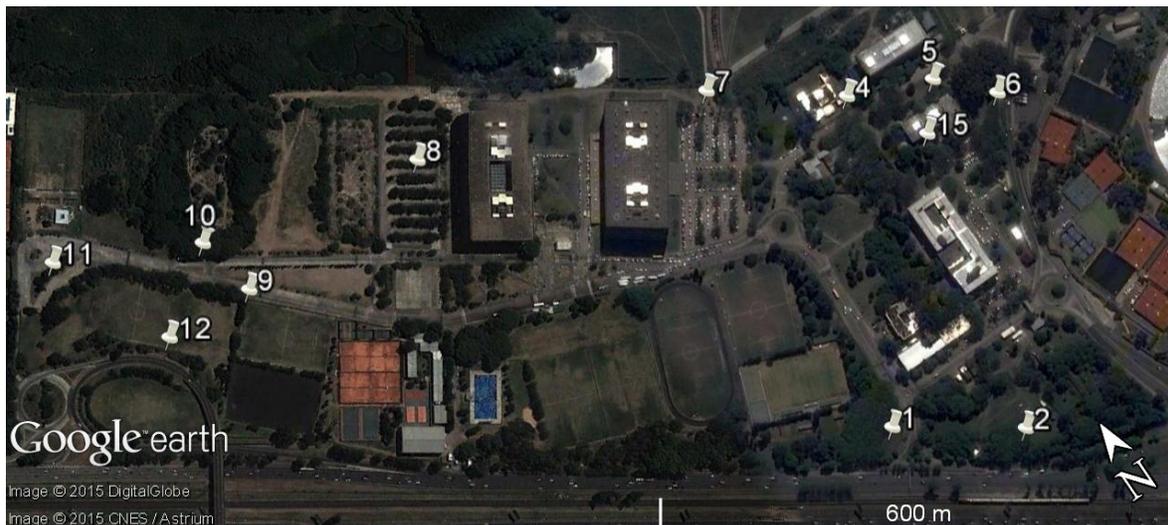
**Fig. 4.3:** Obreras de *L. humile* muestran conductas a) agresivas y b) no agresivas.

A partir de los resultados de agresión se pudo determinar, en conjunto con las muestras y registros de actividad a campo, las dimensiones de cada supercolonia. Para ello se utilizó el programa Google Earth Pro, donde se marcaron las áreas de actividad continua de hormigas asociadas a los puntos de muestreo, y se obtuvieron los valores de área para cada una.

#### **4.2.3. Muestreo genético**

Con el fin de evaluar un posible correlato del comportamiento de agresión de las colonias o supercolonias de hormiga argentina con diferencias en marcadores genéticos, al año siguiente se tomaron muestras genéticas en algunos de los sitios previamente muestreados en la sección anterior. Se colectaron hormigas de 12 sitios y se las llevó vivas

al laboratorio para realizar las pruebas de agresión y definir las pertenencias a supercolonias específicas. Estos 12 sitios de recolección fueron seleccionados en función de los resultados del experimento de comportamiento, haciendo énfasis en las áreas extremas de la distribución de las supercolonias. De esas muestras se separaron grupos de hormigas para el genotipado, realizado en cooperación con el Grupo de Genética y Ecología en Conservación y Biodiversidad (GECobi) del Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN). Las hormigas fueron colocadas en etanol 96% a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la extracción de ADN. Se purificó el ADN de 120 hormigas, 10 por muestra, para luego genotiparlas para 5 microsátelites polimórficos descritos para *L. humile* (M33, M11, M35, M19, M28; Tsutsui et al., 2000). La metodología detallada de extracción y secuenciación se encuentran en el Anexo 1.1.



**Fig. 4.4:** Puntos de muestreos genéticos.

#### 4.2.4. Determinación de barreras artificiales

Para evaluar si calles asfaltadas con tráfico podrían actuar como barreras físicas en la distribución de las supercolonias, se recorrió toda la Ciudad Universitaria y alrededores buscando calles donde se encontrara hormiga argentina de un lado y otro. En esos sitios se colectaron muestras a cada lado de la calle. En algunos casos esas muestras fueron aquellas usadas para los ensayos de agresión general, pero debido a que se requirió gran cantidad de

hormigas para ello en otros casos se tomaron muestras más pequeñas para comparar solo con el punto enfrentado *in situ*. A partir de esas muestras se evaluó el comportamiento agresivo de las hormigas; si no presentaban agresión se consideró que pertenecían a la misma supercolonia.

#### **4.2.5. Análisis estadísticos**

Los análisis estadísticos para evaluar la cantidad de grupos genéticos (supercolonias) existentes en las muestras tomadas fueron realizados por la Dra. Patricia Mirol, directora del Grupo de Genética y Ecología en Conservación y Biodiversidad (GECobi), Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN). La metodología de análisis puede encontrarse en el Anexo 1.2.

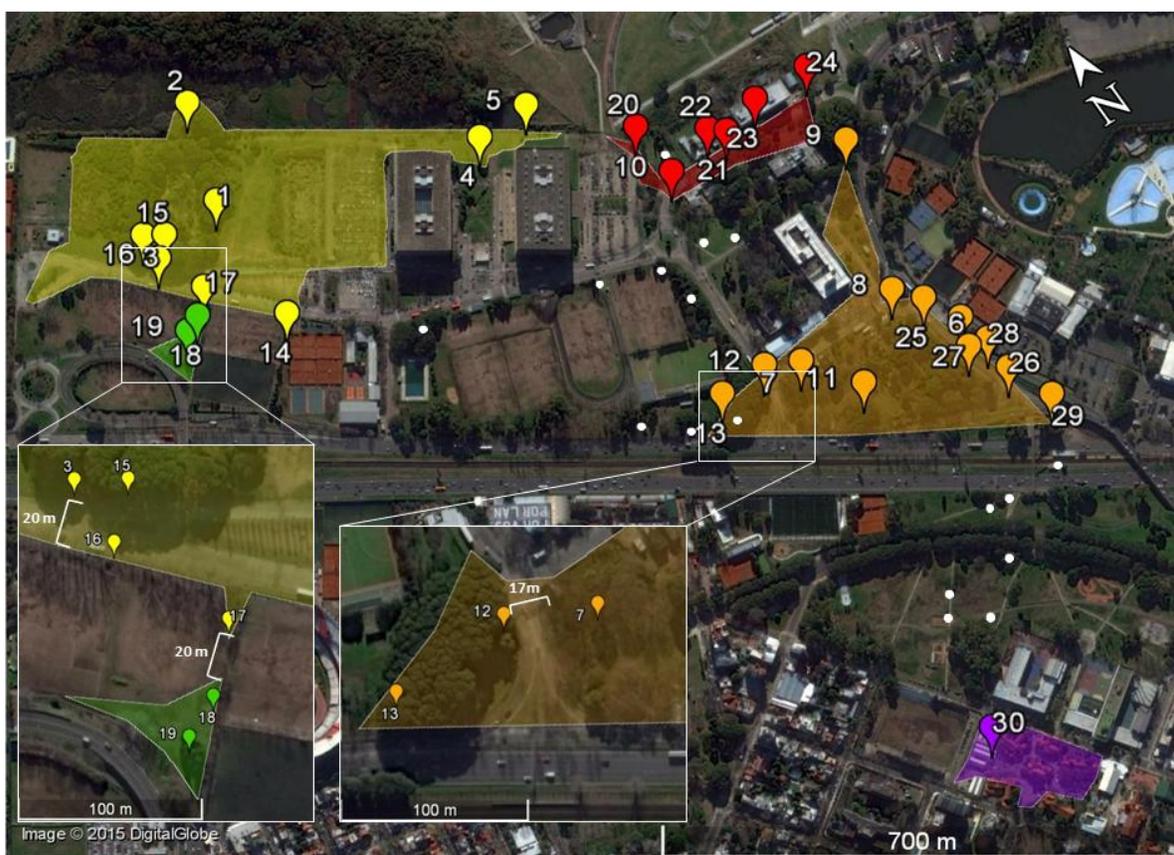
### **4.3. RESULTADOS**

#### **4.3.1. Ensayos de agresión y distribución de supercolonias**

En el área estudiada se encontraron gran cantidad de nidos interconectados por caminos, lo cual corresponde a una *estructura tipo unicolonial*, siendo esto consistente con lo descrito para esta especie en su rango nativo en áreas silvestres. Al evaluar la extensión de las colonias de hormiga argentina en Ciudad Universitaria y alrededores mediante pruebas comportamentales de agresión, se encontraron cinco supercolonias en el área de estudio (Fig 4.4). Todas las interacciones entre pares de distintas supercolonias fueron agresivas, pero nunca para aquellos pares pertenecientes a las mismas supercolonias. En el caso de los ensayos con pares de hormigas pertenecientes a la misma supercolonia, solo se observó el comportamiento de antenación. No se observó ningún patrón en particular entre el tipo de conductas agresivas y la distancia entre colonias que se enfrentaron. Es decir, las interacciones agresivas entre supercolonias que se hallaban a distancias mayores (por ejemplo A y C) no eran diferentes de aquellas interacciones observadas entre pares de hormigas pertenecientes a supercolonias más cercanas (por ejemplo, C y D) (Tabla 4.1 y Fig. 4.5).

**Tabla 4.1:** Dimensiones de las supercolonias de Ciudad Universitario, identificadas mediante pruebas comportamentales (Fig. 4.5).

Supercolonía	Perímetro (m)	Área (Ha)	Distancia máxima entre nidos (m)
A – Naranja	1535	5,68	455
B – Roja	760	1,1	284
C – Amarilla	2041	10,9	761
D – Verde	252	0,17	83
E - Violeta	567	1,45	206



**Fig. 4.5:** Supercolonias de *L. humile* representadas por colores, las etiquetas (numeradas) son muestras usadas en pruebas de agresión, áreas coloreadas indican sitios de actividad de hormigas, nidos o caminos, conectados a sitios etiquetados. Puntos blancos representan nidos de *Solenopsis richteri*, una especie dominante. Detalles muestran calles con presencia de hormigas a cada lado.

Las supercolonias encontradas cubrieron áreas de hasta 11 hectáreas e incluyeron múltiples nidos cuyas distancias máximas de separación alcanzaron los 760 metros (Tabla 4.1). Los nidos se encontraron debajo de piedras, en la tierra, dentro de troncos muertos y en árboles, pero también dentro de los edificios, en el césped y debajo de las macetas, e incluso en las grietas de las calles. Los caminos continuos de hormigas eran por lo general largos, de hasta 200 metros de longitud, conectando diferentes nidos.

La distribución de las supercolonias, según los resultados de los ensayos de agresión, se mantuvo aproximadamente estable en años subsiguientes; aunque algunos nidos individuales pudieron moverse, surgir o desaparecer, se conservaron áreas similares para cada supercolonia.

#### 4.3.2. Muestreo genético

Los muestreos genéticos se realizaron con éxito y los microsatélites utilizados mostraron tener buena resolución. Los resultados confirman las supercolonias previamente muestreadas (Fig. 4.5 y 4.6). Todos los grupos genéticos o supercolonias poseen alelos únicos, no presentes en las otras supercolonias. Puntualmente: A tiene 4, B tiene 16, C tiene 4 y D tiene 3. La mayor riqueza alélica está en el grupo genético B, pero la mayor heterocigosis se da en el grupo C (Tabla 4.2).

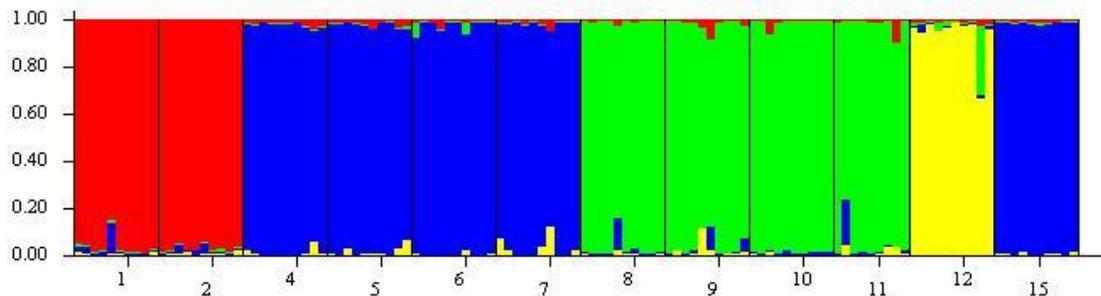
**Tabla 4.2:** Heterocigosis de las muestras genéticas según supercolonia.

Población/ Supercolonia	Tamaño muestra	Loci	Heterocigosis observada		Nro Alelos	
			media	d.s.	media	d.s.
A	20	5	0,4501	0,0519	5,40	3,78
B	49	5	0,5876	0,0316	10,00	4,00
C	40	5	0,6453	0,0340	6,60	2,51
D	10	5	0,5400	0,0705	4,80	2,17



**Fig. 4.6:** Supercolonias de *L. humile* representadas por colores según los resultados genéticos, las etiquetas son muestras usadas para genotipado, áreas coloreadas indican sitios de actividad de hormigas, nidos o caminos, conectados a sitios etiquetados.

Los resultados de STRUCTURE demostraron que el número más probable de grupos genéticos (supercolonias) es 4 (Fig. 4.7). Las muestras 1 y 2 pertenecen al grupo A, las muestras 4-7 y 15 al grupo B, las muestras 8-11 al grupo C, y la muestra 12 al grupo D.



**Fig. 4.7:** Agrupamiento de los puntos de muestreo 1 a 15 de acuerdo a los resultados de STRUCTURE. Cada uno de los colores indica un clúster genético. Rojo: grupo A, Azul: grupo B, Verde: grupo C, Amarillo: grupo D.

El índice de fijación ( $F_{ST}$ ), también llamado índice de diferenciación es un índice para medir la diferenciación de una población basada en su polimorfismo genético. Todos

los FST mostraron diferencias significativas (Anexo 1.3). El índice o tasa de migración (M) es una medida de flujo génico. En todos los casos hubo evidencia de flujo génico ( $M > 1$ ) entre supercolonias, dándose el valor más alto entre los grupos B y C (Tabla 4.3).

Como puede observarse en la comparación entre los dos mapas, el genético y el resultante de los ensayos de agresión, ambos presentan una superposición importante, habiéndose determinados en ambos casos la presencia de 4 unidades.

**Tabla 4.3:** Índices de fijación para las muestras de las cuatro supercolonias.

<b>Índice de fijación (FST)</b>				
	A	B	C	D
A	-----			
B	0,22470	-----		
C	0,19169	0,12986	-----	
D	0,26130	0,15795	0,21748	-----

**Tabla 4.4:** Índices de migración para las muestras de las cuatro supercolonias.

<b>Índice de migración (M)</b>				
	A	B	C	D
A	-----			
B	1,72517	-----		
C	2,10834	3,35035	-----	
D	1,41350	2,66552	1,79903	-----

Los resultados completos del análisis genético se encuentran en el Anexo 1.3.

#### **4.3.3. Determinación de barreras artificiales**

Respecto a las posibles barreras físicas que representarían las calles asfaltadas circundantes, se encontraron 4 calles con hormigas a cada lado: entre los puntos 15 y 16, entre los puntos 12 y 7, entre el punto 23 y enfrente (representado por una muestra más pequeña), y entre el punto 8 y enfrente (Fig. 4.5). En todos los casos las pruebas de agresión fueron negativas para todos los pareos realizados. No se encontró que las calles transitadas influyeran o actuaran como límites en la distribución de nidos de una misma supercolonia. Las supercolonias se extendieron sobre calles de entre 17 y 20 metros con flujo moderado de autos y colectivos. Por el contrario, en dos casos se observaron límites

entre supercolonias sin ninguna barrera física aparente, por ejemplo entre los puntos 17 y 18, y los puntos 9 y 24 de la figura 4.5.

En el caso de las avenidas Cantilo y Lugones, es posible que éstas funcionen como una barrera física. Suman, junto al ferrocarril, unos 70 metros, la mitad de los cuales son asfaltados y presentan un tráfico vehicular denso y constante. Al otro lado de las avenidas nos encontramos con áreas verdes capaces de albergar la hormiga argentina, pero esta se encuentra ausente. Se observaron nidos de *Solenopsis richteri*, una especie dominante (Folgarait et al., 2004), en esa zona (Fig. 4.5). Dentro de la CU, en varios sectores no se registró la presencia de *L. humile* en ninguno de los años evaluados, pese a que estas áreas también presentaban un parque de similares características a otros con presencia de *L. humile*.

#### 4.4. DISCUSIÓN

En este capítulo se realizó un primer registro intensivo de supercolonias urbanas de *L. humile* en un ambiente urbano (Ciudad de Buenos Aires) dentro del rango nativo. La importancia de este trabajo yace en que, además de combinar diferentes técnicas de determinación de supercolonias (comportamentales y genéticas), los resultados de éstas se vincularon con la distribución espacial de las supercolonias. Sin bien otros trabajos han hecho muestreos en la ciudad de Buenos Aires (Suarez et al., 1999; Pedersen et al., 2006; Vogel et al., 2010), éstos se han limitado a tomar muestras para análisis genético o registrar especies, pero nunca se abordó el tema desde la perspectiva del estudio de la distribución espacial como en esta Tesis. Esto se debe en parte a la dificultad de trabajar dentro de un ambiente urbano. La presencia de vehículos, personas y mascotas dificulta en gran medida el trabajo de muestreo continuo y observaciones comportamentales. Es por ello que el predio de la Ciudad Universitaria resultó ser clave para la toma de datos, dado que es un ambiente urbano, con áreas verdes, pero con acceso restringido al público general.

Nuestros datos de distribución espacial coincidieron con la literatura para la hormiga argentina en su rango nativo para sitios no urbanizados y con menos barreras artificiales (Heller, 2004; Pedersen et al., 2006). Por ejemplo, las supercolonias encontradas

en Santa Fe y Entre Ríos midieron entre 14,5 y 1,75 hectáreas, con distancias máximas entre nidos de 1900 y 350 metros, respectivamente (Heller, 2004), valores cercanos a los aquí presentados. Estos resultados nos sugieren que *L. humile* podría comportarse de manera similar en ambientes no urbanizados y urbanizados dentro de su rango nativo.

Encontramos además que estas supercolonias se encuentran bien diferenciadas genéticamente, aunque con cierto flujo génico entre grupos. Estos datos de variabilidad genética en rango nativo, pueden servir a su vez para hacer comparaciones globales con situaciones similares en su rango introducido.

Respecto a las barreras físicas, esta especie no presenta vuelos nupciales (Passera y Keller, 1992), por lo que la expansión territorial se da por gemación a partir de nidos mayores, lo cual la haría teóricamente susceptible a barreras terrestres. Se podrían haber encontrado que algunas estructuras artificiales afectasen la disposición de las supercolonias, sin embargo, éstas se extendieron sobre calles de 20 metros de ancho con tráfico, sugiriendo que estas barreras artificiales no marcan un límite a la expansión de supercolonias. Barreras físicas de mayores dimensiones, como en este caso los 70 m de ancho que comprenden las avenidas Cantilo y Lugones, las cuales corren de manera paralela y poseen una alta carga de tráfico, presentes en nuestra área de estudio, sí parecieron ser límites efectivos para la distribución de este insecto.

Llegamos entonces a la conclusión que la distribución potencial de las supercolonias de *L. humile* urbanas no puede definirse únicamente por la presencia de barreras artificiales; solo las barreras físicas más importantes parecen limitar su extensión. Es probable que otros factores también estén definiendo el área de distribución de cada supercolonia, como pueden ser las competencias inter e intraespecíficas (Parr y Gibb, 2010). Con respecto a la interacción intraespecífica, vimos que aún sin una barrera aparente dos supercolonias se mantuvieron a una distancia de 20 metros entre sí (Fig. 4.5, puntos 17 y 18, 9 y 24), posiblemente por interacciones agresivas a campo. Muchos estudios sobre agresión en la hormiga argentina se basan en una correlación entre la distancia e índices de agresión crecientes. Nuestras observaciones no fueron consistentes con esos resultados. Las hormigas pueden graduar sus niveles de agresión, pero lo hacen aparentemente bajo condiciones puntuales. Al poner a punto este experimento de agresión se pusieron a prueba

recipientes de diferentes tamaños y tiempos de observación más largos. Al usar recipientes más grandes los encuentros dentro de la arena eran escasos, y la mayoría de las “agresiones” fueron de evitación. Al probar recipientes más pequeños o dejando las hormigas más tiempo, se observó que las interacciones/encuentros fueron más frecuentes, y con ese aumento en la frecuencia se observó un consistente patrón de escalada en las agresiones, como pueden ser mordidas y levantamiento de gásteres. Además, observaciones a campo (Human y Gordon, 1999; FJS obs pers.) sugieren que las hormigas favorecen la evitación antes que las agresiones físicas.

Hemos observado que en aquellos sitios de ubicación central en el área abarcada por estas supercolonias, la hormiga argentina pareciera ser dominante, numéricamente y comportamentalmente. Sin embargo, se registraron también amplios sectores donde la hormiga argentina estaba ausente, en los cuales se observó la presencia de nidos de *S. richteri*, la hormiga de fuego negra. Es curioso encontrar que los nidos de *S. richteri* se encontraron en áreas sin hormiga argentina y viceversa. No existen datos ecológicos sobre sus interacciones en su rango nativo, pero se sabe que ambas son especies dominantes (Folgarait et al., 2004; LeBrun et al., 2007), y muestran comportamientos agresivos entre sí (obs. pers. FJS). Se cree que *S. richteri* puede desplazar a la hormiga argentina en su rango introducido (Wilson, 1951; Glancey et al., 1976), por lo que es factible que estas especies se eviten aquí también, aunque no queda claro si una de las dos especies es dominante sobre la otra. En nuestro caso de estudio la presencia de *S. richteri* puede estar actuando como barrera donde no lo hicieron las estructuras artificiales, separando supercolonias de *L. humile*.

Este trabajo podrá servir para estudios comparativos de distribución y comportamiento entre sus poblaciones nativa e introducida en un contexto urbano. Estas comparaciones son esenciales para entender la biología de una especie invasora, y clave para establecer programas de control.

**Agradecimientos:** Quiero agradecer la colaboración de la Dra. Patricia Mirol, directora del Grupo de Genética y Ecología en Conservación y Biodiversidad (GECobi), Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN) por permitirme utilizar su laboratorio, enseñarme las técnicas utilizadas y finalmente analizar los resultados obtenidos.

# DIVERSIDAD DE HORMIGAS DE LA CIUDAD UNIVERISTARIA

## 5.1. INTRODUCCIÓN

Entre las 100 especies invasoras de mayor impacto del planeta se encuentran las hormigas *L. humile* (hormiga argentina), *S. invicta* (hormiga de fuego), *Pheidole megacephala* (hormiga cabezona) y *Wasmannia auropunctata* (hormiga pequeña de fuego) (Lowe et al., 2004).

Pese a lo mucho que se ha estudiado sobre la biología y el control para muchas de estas plagas de hormigas, estos esfuerzos no alcanzan para lograr contener el impacto económico y ecológico que tienen en diferentes regiones del globo. Ciertas especies han cobrado importancia a nivel global por sus efectos, tal el caso de la hormiga argentina, una de las especies más invasoras del mundo (rev. Silverman y Brightwell, 2008) y las hormigas de fuego por su impacto médico y agrícola (Banks 1990). Por su parte, ciertas especies generan cuantiosas pérdidas en ciertos países, tal el caso de la hormiga faraón, que es una de las principales plagas de los hogares y ha sido señalada como potencial vector de enfermedades en hospitales (Williams, 1990); y las hormigas carpinteras, que destruyen la madera, y son consideradas importantes plagas estructurales (Akre y Hansen, 1990).

Las hormigas invasoras tienden a dominar los ambientes donde son introducidas (Human y Gordon, 1999; LeBrun et al., 2007; Silverman y Brightwell, 2008). Esto está muchas veces asociado a sus habilidades competitivas, pero también se ha propuesto que más importante es su tolerancia, o hasta preferencia, por ambientes disturbados o antropizados (Klotz et al., 2008). En sus ambientes nativos, muchas de esas especies coexisten en forma regulada con un mayor número y diversidad de especies, por lo que las

interacciones con éstas en sus ambientes nativos parecen jugar un rol en la regulación de sus poblaciones (Tsutsui et al., 2000; LeBrun et al., 2007, Calcaterra et al., 2008).

La presencia, abundancia y distribución espacial de las especies depende en gran medida de las interacciones con otras especies del mismo nivel trófico con quienes compiten por recursos, o de otros niveles tróficos (presas, depredadores, parásitos y parasitoides), así como de la dinámica poblacional (Legendre y Legendre, 1998; Perry et al., 2002). En hormigas, particularmente, uno de los principales factores que determinan la estructura de la comunidad es la competencia interespecífica por recursos (Wilson, 1971; Fellers, 1987; Hölldobler y Wilson, 1990; Davidson, 1998; Holway, 1999; Morrison, 2000).

La competencia intra e interespecífica define en gran medida la jerarquía de dominancia de las especies y es clave para entender la estructura de las comunidades de hormigas (Wilson, 1971; Hölldobler y Wilson, 1990; Davidson, 1998; Holway, 1999; Morrison, 2000). Muchas especies invasoras son muy abundantes en ambientes antropizados o inestables dentro de sus ambientes nativos (Lee y Gelembiuk, 2008). De hecho se ha planteado que la alteración del ambiente favorece la dominancia de las especies típicamente invasoras, y que como consecuencia reducen la diversidad de estas áreas (Petren y Case, 1998). Así una especie que resulta dominante ejerce una gran influencia sobre la composición y la forma de una comunidad. Se trata de especies de gran éxito ecológico y que son abundantes dentro del grupo comunitario. Al referirnos a la dominancia, podemos considerar si la cantidad de hormigas presentes es mayor a cada una de las demás especies presentes, en este caso hablamos de *dominancia numérica*. Por otro lado, la *dominancia comportamental* se caracteriza por la habilidad de desplazar otras especies y monopolizar/defender/retener recursos específicos. Ambas determinaran la *dominancia ecológica* de una población en un sistema dado (Davidson, 1998; LeBrun, 2005).

La hormiga argentina es dominante en su rango introducido, afectando las comunidades de artrópodos, en particular la mirmecofauna (Holway, 1999; Human y Gordon, 1999; Silverman y Brightwell, 2008). Sin embargo, en su rango nativo los estudios sobre dominancia no son conclusivos; Lebrun y colaboradores (2007) estudiaron como la

competencia dentro del rango nativo de dos especies invasoras, la hormiga argentina y la hormiga de fuego, puede relacionarse al éxito invasivo. Los autores no encontraron que estas especies fueran tan dominantes en sus comunidades nativas como en las introducidas, y que su mayor factor limitante es la competencia interespecífica. La hormiga de fuego, *S. invicta*, resultó mejor descubridora y dominadora de recursos solo en hábitats simples y pobres en especies en su rango nativo, lo que contrasta con lo observado en su rango de invasión. Por lo cual, la diversidad de especies y la fuerte competencia interespecífica en Argentina fue señalada como el factor más importante que limita el éxito de esta especie (LeBrun et al., 2007; Calcaterra et al., 2008).

Para evaluar la diversidad de especies que se encontraba en un ambiente dado en áreas con y sin *L. humile*, se muestrearon diferentes puntos de la ciudad, con el objeto de detectar la presencia de la hormiga argentina. Pese a que en pocos lugares se detectó la presencia de *L. humile*, estos muestreos fueron llevando a una gran colección de muestras de las hormigas de distintos puntos de la CABA. Al realizar estas tareas, notamos que si bien la Argentina tuvo una importante tradición en taxonomía para la familia Formicidae a principio y mediados de siglo (Bruch, Gallardo, Kusnezov), no se dispone de ninguna evaluación en lo que se refiere a las *especies urbanas* en particular (rev. Chacón de Ulloa, 2003). La Ciudad de Buenos Aires se encuentra dentro de la cuenca del río Paraná, de donde provienen algunas de las especies de hormigas invasoras más importantes a nivel mundial (*L. humile*, *S. invicta*, *S. richteri*, *W. auropunctata*) (Lowe et al., 2004). En ese sentido, y por la necesidad de identificar las especies que acompañaban los ensambles de hormigas con presencia de *L. humile*, dio como resultado que durante el trabajo de esta Tesis, se recolectaron muestras de diferentes sitios de la Ciudad de Buenos Aires. Esto permitió armar una importante colección de referencia de las especies presentes en esta ciudad de Buenos Aires que se presenta como parte de este capítulo.

### **5.1.1. Objetivos**

En este capítulo se presentarán resultados preliminares, cuyo objetivo fue determinar la dominancia relativa de la hormiga argentina en un ambiente antropizado, la Ciudad Universitaria de la Universidad de Buenos Aires, para indagar 1) si *L. humile* es la

especie dominante de los ensambles de hormigas en aquellas áreas donde está presente; 2) si la diversidad de especies es mayor en aquellos lugares sin la presencia de *L. humile*; y 3) si hay otra/s especie/s de hormiga que resulte dominante cuando *L. humile* no está presente.

Adicionalmente, producto de la información recabada tanto en Ciudad Universitaria como en otros puntos de la CABA, se presenta una lista de las especies encontradas, que a nuestro entender es uno de los relevamientos más completos de hormigas de la Ciudad de Buenos Aires, que se dispone hasta el momento.

## **5.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.2.1. Muestreo de hormigas**

Con el objeto de evaluar la fauna mirmecológica dentro de nuestra área de estudio se realizaron muestreos de hormigas dentro del campus de Ciudad Universitaria y alrededores. Para ello se emplearon diferentes métodos de captura: colecta manual, cebos, muestras de hojarasca y de suelo y trampas de caída entre otros.

Para caracterizar los ensambles de hormigas y sus relaciones de dominancia, se utilizó uno de los protocolos más usado por los mirmecólogos, que es la combinación de trampas de caída y cebos. Las trampas de caída proporcionan una estimación de la actividad-abundancia (dominancia numérica), los cebos permiten una estimación de la dominancia comportamental y ambas proporcionan una estimación de la dominancia ecológica.

Para cuantificar la abundancia de especies se utilizaron trampas de caída sin cebo. Se colocaron un total de 106 trampas distribuidas en la Ciudad Universitaria en dos temporadas (primavera y verano) consecutivas; los sitios elegidos podían o no presentar hormiga argentina. Cada trampa de caída consistía en un recipiente plástico de 8 cm de diámetro y 5 cm de alto, enterrados al ras del suelo y llenos por la mitad con etanol 70%. Las trampas se colocaron en dos disposiciones diferentes según la temporada; la primer temporada (2010/2011) se colocaron 16 trampas, dispuestas de a cuatro, espaciadas 5 metros una de otra. La temporada siguiente (2011/2012) se colocaron 90 trampas en 9

transectas de 50 metros, con 5 metros entre trampas. En ambos casos, una vez colocadas se dejaron durante 48 horas, luego de las cuales se retiraron y llevaron al laboratorio, donde se les reemplazó el líquido restante por alcohol 96% en espera de su procesamiento.

Las hormigas fueron separadas de otros artrópodos bajo lupa e identificadas a especies o género principalmente con las claves de Kusnezov (1978) y Fernández (2003), sumado a claves para géneros específicos (Anexo 2). Las determinaciones fueron realizadas en su mayoría en el laboratorio del Grupo de Estudios de Insectos Sociales. Algunos ejemplares fueron determinados por especialistas (Tabla 5.1), la Dra. Fabiana Cuezco del Instituto-Museo Miguel Lillo (IMML), San Miguel de Tucumán, la Dra. Estela Quirán de la Facultad de Ciencias, Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, y el Dr. William Mackay de la Universidad de Texas, El Paso, EUA. Se depositaron especímenes de referencia en el Museo Argentino de Ciencias Naturales, Buenos Aires, Argentina, y en el laboratorio del Grupo de Estudio de Insectos Sociales (INSSOC), FCEN, UBA.

### **5.2.2. Dominancia comportamental y ecológica**

Con el fin de determinar la dominancia comportamental de las diferentes especies de hormigas dentro de la Ciudad Universitaria se utilizaron cebos alimentarios.

Se colocaron 116 cebos alimentarios en diferentes sitios dentro de la Ciudad Universitaria. Al igual que para las trampas de caída, los cebos fueron colocados en dos temporadas consecutivas (2010/2011 y 2011/2012). La primera temporada se dispusieron 9 grupos de 4 cebos, separados entre sí por 5 metros. En la segunda temporada se utilizaron las mismas transectas de 50 metros de las trampas de caída, cada 5 metros, en la misma posición que las trampas de caída mencionadas en el punto anterior, pero en días diferentes para no generar algún efecto indeseado. Los cebos consistieron en un plástico blanco rígido de 20 x 20cm sobre el cual se colocaron cuatro alimentos: carne, atún, viandada y miel diluida. Se utilizaron cebos proteicos y azucarados para atraer un máximo de especies y se evaluó el comportamiento de las hormigas en la arena de los cebos en función del tiempo. El momento de colocación de los cebos se tomó como tiempo 0 y se tomó una fotografía en

alta resolución de la arena cada 10 minutos desde ese tiempo 0 y durante 70 minutos para luego contar las hormigas en el laboratorio en base a las fotografías (Fig. 5.1).



**Fig. 5.1:** Hormigas en cebos alimentarios (atún, miel, viandada).

Mediante el estudio de las interacciones entre las hormigas que visitaron los cebos se buscó definir qué especies dominan comportamentalmente y numéricamente a las demás. La dominancia comportamental se evaluó registrando las especies que logren defender, o desplazar a otra de la arena donde se ofrece el cebo. La especie dominante se definió como aquella que presentó al menos el 50% de los individuos al finalizar el tiempo de registro de 70 minutos.

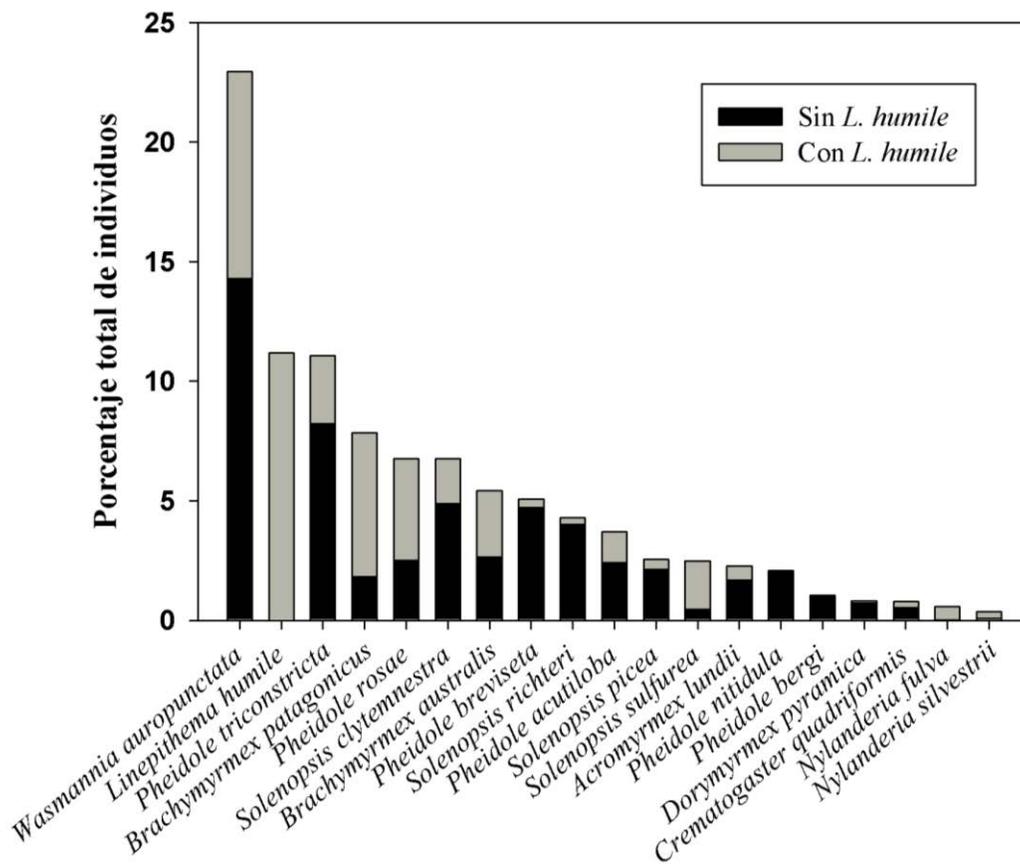
La dominancia numérica se evaluó utilizando el número de hormigas en las trampas de caída de la sección anterior, que se colocaron en los mismos puntos. El cambio en la cantidad de hormigas en función del tiempo también dio indicio de la capacidad de reclutamiento de cada especie, esencial para lograr dominar un recurso.

### **5.3. RESULTADOS**

#### **5.3.1. Muestreo de hormigas**

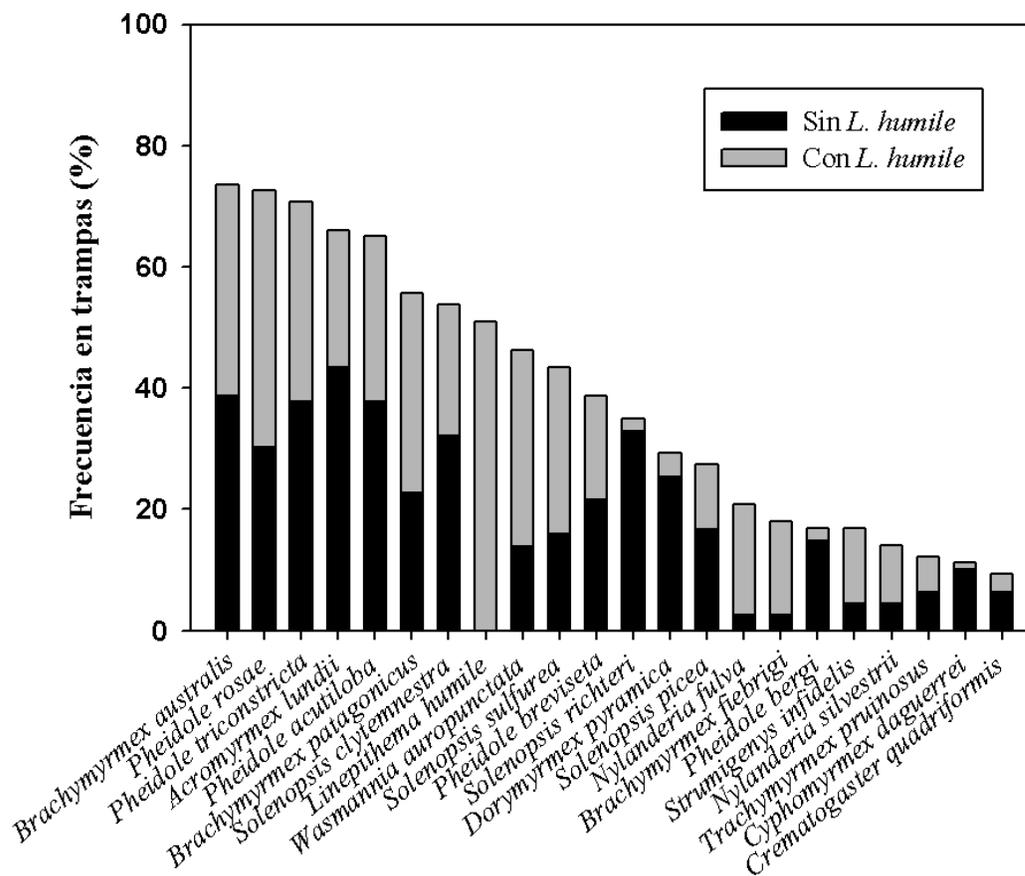
A partir de las muestras de trampas de caídas de la Ciudad Universitaria se colectaron un total de 21930 hormigas pertenecientes a 42 especies en 20 géneros.

Se encontró que la especie más numerosa en la Ciudad Universitaria es *W. auropunctata*, sumando el 23% de todos los individuos colectados (Fig. 5.2). La siguieron la hormiga argentina y *Pheidole triconstricta*, con 11% del total cada una. *Solenopsis richteri*, otra especie aparentemente dominante solo sumó un 5% del total. Al separar las trampas de caída entre aquellas áreas con *L. humile* y aquellas donde no se hallaba esta especie no encontramos grandes diferencias numéricas entre los individuos totales (9755 vs 12175) ni número de especies presentes (37 vs 35). Lo mismo ocurre al comparar la frecuencia de las especies en las trampas (Fig. 5.3), las mismas especies estuvieron representadas en los dos casos.



**Fig. 5.2:** Porcentaje de individuos colectados por especies considerando todas las trampas de caída en su conjunto, tanto en áreas con *L. humile* (barras grises) y como sin *L. humile* (barras negras).

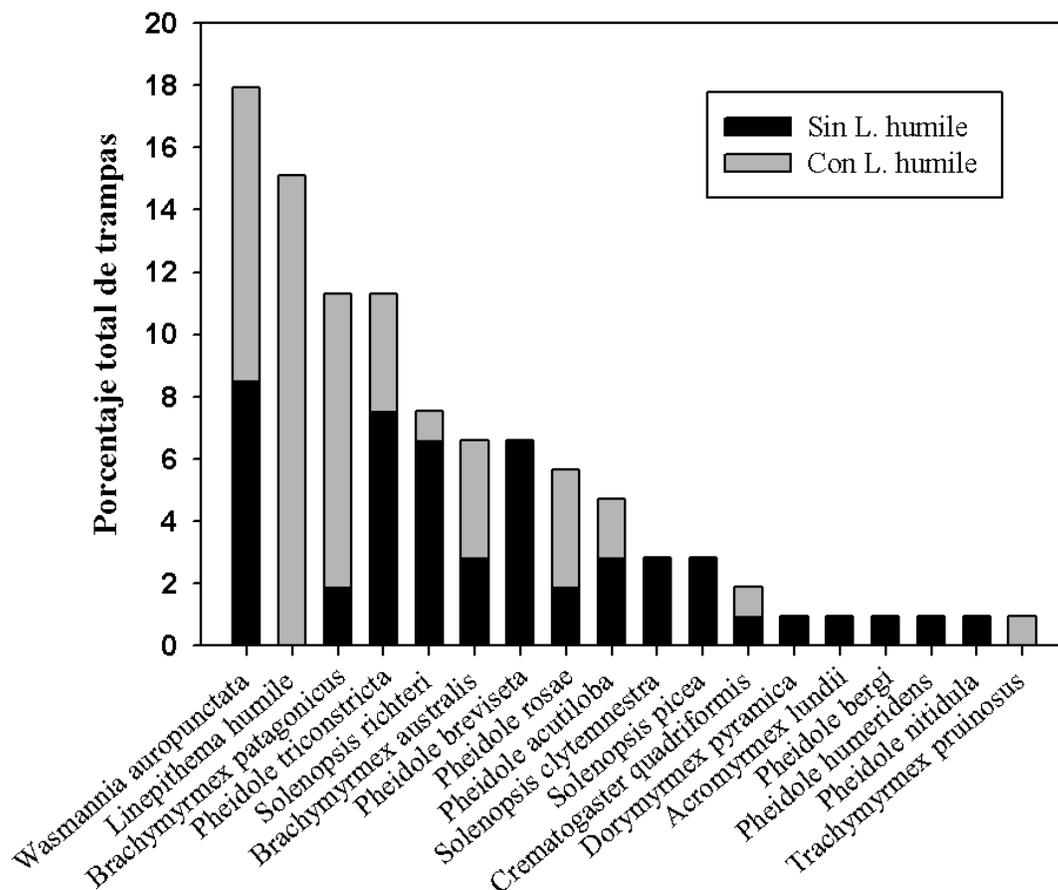
Si consideramos todas las trampas de caída colocadas, al analizar la especie que más apareció, donde al menos un individuo fue encontrado en esa trampa, fue *Brachymyrmex australis* (Fig. 5.3), una especie pequeña y subordinada (FJS, obs. pers.), seguida por varias especies de *Pheidole*, *Acromyrmex lundii*, *Brachymyrmex patagonicus* y *Solenopsis clytemnestra*. Excepto por *A. lundii*, todas estas especies son inconspicuas y/u oportunistas, tienden a no interactuar con especies dominantes como *L. humile* y *S. richteri*.



**Fig. 5.3:** Frecuencia de aparición de especies en trampas de caída con (barras grises) y sin (barras negras) *L. humile*. El 78% de las trampas colocadas tuvo al menos una hormiga de la especie *Brachymyrmex australis*.

Si en cambio tenemos en cuenta la dominancia numérica por trampa de caída (Fig. 5.4), encontramos que *W. auropunctata* sigue siendo dominante con mayor frecuencia, domina un 18% de la trampas. Esto nos indica que la hormiga argentina es numéricamente dominante en una mayor proporción de las trampas en las que se encuentra.

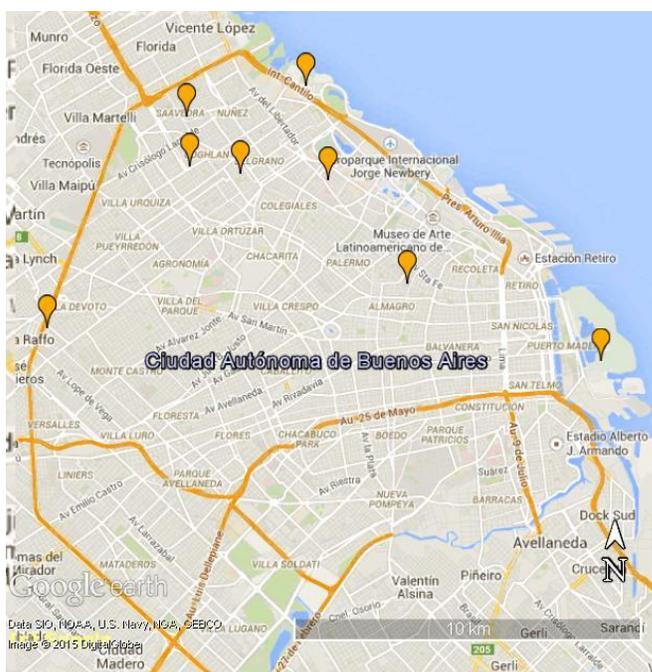
En términos de la diversidad (Shannon-H) en presencia y ausencia de la hormiga argentina no se observaron grandes diferencias. Con la hormiga argentina:  $H = 2,346$ ; sin la hormiga argentina:  $H = 2,524$ .



**Fig. 5.4:** Porcentaje de trampas totales dominadas por una especie. Barras grises indican presencia de *L. humile*, barras negras indican su ausencia.

### 5.3.2. Lista de especies de CABA

Durante diferentes años se fueron complementando estos muestreos con colectas directas y cebos en otros sitios de la ciudad de Buenos Aires (Fig. 5.5), sin llegar a encontrar hormiga argentina en esos lugares. Esos muestreos se utilizaron para intentar generar una lista lo más completa posible de las especies de esta ciudad. Así se lograron sumar a las ya encontradas en la CU, otras 18 especies y 7 géneros, llegando a un total de 60 especies en 27 géneros (Tabla 5.1). Esto constituye el 36% de los géneros y 10% de especies totales citadas para Argentina (<http://www.antwiki.org/>).



**Fig. 5.5:** Puntos complementarios de muestreo en la ciudad de Buenos Aires.

**Tabla 5.1:** Las especies de hormigas de Buenos Aires

Subfamilia	Género	Especie	Determinado por
Dolichoderinae	<i>Dorymyrmex</i>	<i>pyramicus</i> Roger, 1863	F. Cuezzo
Dolichoderinae	<i>Dorymyrmex</i>	<i>brunneus</i> Forel, 1908	F. Cuezzo
Dolichoderinae	<i>Linepithema</i>	<i>micans</i> (Forel, 1908)	F. J. Sola
Dolichoderinae	<i>Linepithema</i>	<i>humile</i> Mayr, 1868	F. J. Sola
Dolichoderinae	<i>Myrmelachista</i>	<i>nodigera</i> Mayr, 1887	F. J. Sola
Dolichoderinae	<i>Myrmelachista</i>	<i>gallicola</i> Mayr, 1887	F. J. Sola
Dolichoderinae	<i>Tapinoma</i>	<i>melanocephalum</i> (Fabricius, 1793)	F. J. Sola
Formicinae	<i>Brachymyrmex</i>	<i>brevicornis</i> Emery, 1906	E. Quirán
Formicinae	<i>Brachymyrmex</i>	<i>patagonicus</i> Mayr, 1868	E. Quirán

Formicinae	<i>Brachymyrmex</i>	<i>australis</i> Santschi, 1922	E. Quirán
Formicinae	<i>Brachymyrmex</i>	<i>fiebrigi</i> Forel, 1908	E. Quirán
Formicinae	<i>Camponotus</i>	<i>mus</i> Roger, 1863	R. Josens
Formicinae	<i>Camponotus</i>	<i>bonariensis</i> Mayr, 1868	W. Mackay
Formicinae	<i>Camponotus</i>	<i>punctulatus</i> Mayr, 1868	F. Sola
Formicinae	<i>Nylanderia</i>	<i>steinheili</i> (Forel, 1893)	W. Mackay
Formicinae	<i>Nylanderia</i>	<i>silvestrii</i> Emery, 1906	W. Mackay
Formicinae	<i>Nylanderia</i>	<i>fulva</i> Mayr, 1862	F. J. Sola
Formicinae	<i>Acropyga</i>	<i>exsanguis</i> Wheeler, 1909	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Acromyrmex</i>	<i>lundi</i> Guérin-Méneville, 1838	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Acromyrmex</i>	<i>heyeri</i> Forel, 1899	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Apterostigma</i>	<i>steigeri</i> Santschi, 1911	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Apterostigma</i>	<i>pilosum</i> Mayr, 1865	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Cephalotes</i>	<i>jheringhi</i> Emery, 1894	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Crematogaster</i>	<i>torosa</i> Mayr, 1870	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Crematogaster</i>	<i>evallans</i> Forel, 1907	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Crematogaster</i>	<i>quadriformis</i> Roger, 1863	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Cyphomyrmex</i>	<i>rimosus</i> (Spinola, 1851)	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Cyphomyrmex</i>	<i>daguerrei</i> Santschi, 1933	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Discothyrea</i>	<i>neotropica</i> Bruch, 1919	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Monomorium</i>	<i>pharaonis</i> Linnaeus, 1758	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Nesomyrmex</i>	<i>spininodis</i> Mayr, 1887	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>rosula</i> Wilson, 2003	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>acutilobata</i> Mackay, 2011	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>radoszkowskii</i> Mayr, 1884	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>rosae</i> Forel, 1901	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>bergi</i> Mayr, 1887	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>breviseta</i> Santschi, 1919	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>triconstricta</i> Forel, 1886	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>cordiceps</i> Mayr, 1868	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>nitidula</i> Emery, 1888	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pheidole</i>	<i>humeridens</i> Wilson, 2003	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Pogonomyrmex</i>	<i>naegelli</i> Emery, 1878	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i>	<i>richteri</i> Forel, 1909	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i>	<i>sulfurea</i> (Roger, 1862)	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i>	<i>picea</i> Emery, 1896	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i>	<i>metanotalis</i> Emery, 1896	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Solenopsis</i>	<i>clytemnestra</i> Emery, 1896	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Strumigenys</i>	<i>infidelis</i> Santschi, 1919	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Strumigenys</i>	<i>louisianae</i> Roger, 1863	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Tetramorium</i>	<i>caespitum</i> Linnaeus, 1758	W. Mackay
Myrmicinae	<i>Trachymyrmex</i>	<i>pruinus</i> Emery, 1906	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Trachymyrmex</i>	<i>tucumanus</i> Forel, 1914	F. J. Sola
Myrmicinae	<i>Wasmannia</i>	<i>europunctata</i> (Roger, 1863)	F. J. Sola
Ponerinae	<i>Stigmatomma</i>	<i>armigerum</i> Mayr, 1887	J. Lattke

Ponerinae	<i>Gnamptogenys</i>	<i>triangularis</i> Mayr, 1887	W. Mackay /F. Sola
Ponerinae	<i>Hypoponera</i>	<i>argentina</i> Santschi, 1922	F. J. Sola
Ponerinae	<i>Hypoponera</i>	<i>opaciceps</i> Mayr, 1887	F. J. Sola
Pseudomirmicinae	<i>Pseudomyrmex</i>	<i>holmgreni</i> (Wheeler, 1925)	F. J. Sola
Pseudomirmicinae	<i>Pseudomyrmex</i>	<i>gracilis</i> Fabricius, 1804	F. J. Sola
Pseudomirmicinae	<i>Pseudomyrmex</i>	<i>phyllophilus</i> Smith, 1858	F. J. Sola

En nuestra lista de especies encontramos dos especies exóticas, *M. pharaonis*, la hormiga faraón, y *Tetramorium caespitum*, la hormiga del pavimento. Ambas fueron colectadas por fuera de nuestra área principal de estudio, la Ciudad Universitaria. Las hormigas faraón fueron colectadas dentro de una edificación, y las hormigas del pavimento, en el jardín de una casa. La única cita que tenemos para la hormiga faraón en la ciudad de Buenos Aires surge de un trabajo propio de nuestro laboratorio (Josens et al., 2014), pero para la hormiga del pavimento existe una cita previa (Steiner et al., 2008, datos sin publicar), aunque no especifica dónde en Buenos Aires.

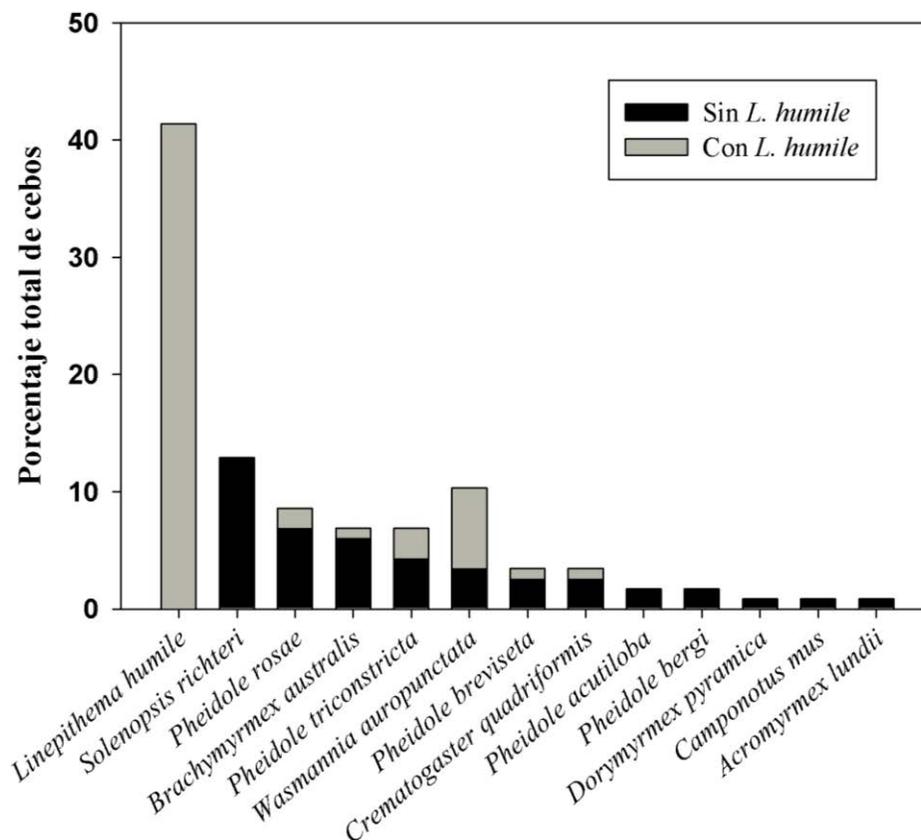
Durante este doctorado también se ha descrito una nueva especie de *Pheidole*, *P. acutilobata*, en colaboración con el Dr. William Mackay de la Universidad de Texas, El Paso, EUA, la cual dio origen a la publicación: Mackay, W.P.; Sola, F.J.; Josens, R. 2011: A new shield-faced ant of the genus *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae: aberrans group) from Argentina. *Transactions of the American Entomological Society*, 137(3y4): 297-305.

### 5.3.3. Dominancia comportamental

De las 42 especies encontradas en el campus de la Ciudad Universitaria, 21 fueron detectadas mediante cebos. De esas, 19 especies dominaron al menos un cebo.

Considerando todos los cebos en su conjunto (los colocados en áreas con y sin hormiga argentina), *L. humile* dominó el 41%. Al diferenciar los cebos dentro y fuera de las áreas de las colonias de *L. humile*, ésta dominó el 70% dentro y ninguno fuera, como es de esperar (Fig. 5.6).

En muchos casos *L. humile* no era la primera especie en descubrir a un cebo, pero luego de 10-20 minutos de aparecer las primeras obreras lograba dominarlo. Esta habilidad se debe en gran parte a su alta tasa de reclutamiento, podía aumentar la cantidad de individuos de 10 a 200 en 10 minutos. Esto generaba un mayor número de interacciones con las hormigas de otras especies ya presentes, desplazándolas. Este desplazamiento se daba principalmente por evitación, las agresiones físicas que involucran algún tipo de contacto, como por ejemplo, las mordidas, fueron muy infrecuentes. En áreas donde era numéricamente dominante, llegó a dominar el 75% de los cebos alimentarios. Como está descrito en Human y Gordon (1999), la mayor habilidad competitiva de la hormiga argentina parece darse por sus altas densidades y reclutamiento, y no por una habilidad individual de las hormigas.



**Fig. 5.6:** Porcentaje de cebos totales dominados por una especie. Barras grises indican presencia de *L. humile*, barras negras indican su ausencia.

Algunas especies, en particular *S. richteri*, nunca fueron encontradas en cebos donde se encontraba *L. humile* (Fig. 5.6), y muy ocasionalmente en las mismas trampas de caída (< 2%, Fig. 5.3). Sin embargo, la mayoría de las demás especies fueron encontradas indistintamente.

#### 5.4. DISCUSIÓN

De los diferentes muestreos realizados en la CABA, podemos decir que existe una alta diversidad de especies en los ambientes urbanos, especialmente en las áreas verdes. Actualmente hemos alcanzado 60 especies diferentes en 27 géneros, una proporción importante del total de 594 especies citadas para Argentina (<http://www.antwiki.org/>). Es además una cifra elevada comparada con otros estudios de hormigas urbanas (Klotz et al., 1995; Yamaguchi, 2004; Chacón de Ulloa et al., 2006; Pecarevic et al., 2010), y comparable con estudios en sitios no urbanizados dentro del rango nativo (Heller, 2004; LeBrun et al., 2007). Esta lista de especies urbanas es una herramienta útil para investigadores de hormigas argentinas y hormigas urbanas en general, ayudando a evitar determinaciones erróneas, lamentablemente comunes en la mirmecología (*L. humile*: Wild 2004; *N. fulva*: Gotzek et al. 2012), que a su vez llevan a conclusiones equivocadas (Orr et al., 2001).

De este trabajo ha surgido además la descripción de una especie nueva del género *Pheidole*, *Pheidole acutilobata*, descrita en cooperación con el Dr. William Mackay, especialista en sistemática de hormigas (Mackay et al., 2011). Existe la alta probabilidad de encontrar más especies, algunas no descritas, permitiendo actualizar la información disponible sobre la mirmecofauna local. A partir de los datos recabados se podrá estimar también la cantidad de especies de hormiga totales que pueden esperarse encontrar en la Ciudad de Buenos Aires.

Respecto a los muestreos dentro de la Ciudad Universitaria, algunas especies no fueron encontradas simultáneamente con la hormiga argentina, en cuya ausencia, estas especies tendieron a dominar los cebos, indicando posiblemente su carácter ecológicamente

dominante. Este fue el caso de la hormiga de fuego negra, *S. richteri*; la distribución de *S. richteri* se solapa con la de la hormiga argentina (Pitts, 2002; Wild, 2004), y se cree que estas dos especies son mutuamente excluyentes (Wilson, 1951; Glancey et al., 1976; Buczkowski et al., 2004).

Tal como se mencionó previamente, estos datos son preliminares y se continuará con su análisis, profundizando así el estudio de la diversidad en presencia y ausencia de *L. humile*. Pese a lo preliminar de los datos mostrados, pareciera que la hormiga argentina presenta un comportamiento dominante como ocurre en su rango de invasión, sin embargo contrariamente a lo que ocurre en el rango de invasión, nuestro datos no parecieran mostrar una reducción importante respecto a la presencia de otras especies, al comparar sitios con y sin *L. humile*.

**Agradecimientos:** Gracias a Nahuel Marchisio, cuya ayuda fue esencial para llevar a cabo los experimentos de este capítulo. Quiero agradecer además la colaboración para las determinaciones a la Dra. Fabiana Cuezco del Instituto-Museo Miguel Lillo (IMML), San Miguel de Tucumán, a la Dra. Estela Quirán de la Facultad de Ciencias, Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, Santa Rosa, al Dr. John Lattke de la Universidad Central de Venezuela, y al Dr. William Mackay de la Universidad de Texas, El Paso, EUA.

# 6

## DISCUSIÓN GENERAL

### CONCLUSIONES

- La calidad relativa de un recurso alimentario afecta la ingestión individual en la hormiga argentina. Las variables más afectadas fueron el volumen ingerido, la duración de la ingesta y la tasa de ingestión. Las soluciones de alta concentración afectan dichas variables debido a su alta viscosidad. Mientras que las soluciones de baja concentración probablemente, se distinguen por generar baja motivación modulando en consecuencia el comportamiento de ingestión de las mismas.
- Los comportamientos de interacción en el grupo de compañeras de colonia dependieron de la concentración de sacarosa. Estos cambios están dados por el comportamiento de la hormiga dadora, ya que *a priori* es la única que ha experimentado el recurso, y por lo tanto valorado la calidad del alimento. Aquí mostramos que ante diferentes concentraciones de sacarosa existen diferentes combinaciones de comportamientos; no es solo un cambio gradual y lineal de los mismos.
- Ante la presencia de tóxicos en la fuente de alimento, la concentración de sacarosa tiene un efecto positivo en la aceptación e ingestión del cebo tóxico. En ciertas situaciones, una alta concentración de sacarosa actúa como fago-estimulante que puede compensar el efecto disuasorio de la ingesta que genera el tóxico.
- La identidad o naturaleza del tóxico utilizado tiene un efecto claro en la aceptación e ingestión de un cebo tóxico. Diferencias con otras especies de hormigas indican la importancia de estudios comparativos simultáneos de aceptación y efectividad de tóxicos.

- Debido a su mayor aceptación el ácido bórico resultó ser más efectivo que el borato de sodio para aumentar la mortalidad de *L. humile*.
- La hormiga argentina mostró tener una distribución unicolonial en un ambiente urbano. Las medidas observadas están en concordancia con aquellas de sitios no urbanizados. Esto suma evidencia de un rasgo, antes pensado como resultado de invasiones, que es en realidad preexistente en las poblaciones nativas de esta especie.
- Ciertas estructuras típicas del contexto urbano no ofrecieron limitaciones físicas a la extensión de supercolonias: calles transitadas no resultaron barreras, ya que las supercolonias se encontraban a ambos lados. No se descarta que estructuras de mayor envergadura o tamaño sean límites efectivos.
- Las interacciones intra e interespecíficas de la hormiga argentina podrían resultar más importantes al momento de definir los límites de supercolonias a nivel local.
- En ambientes donde la hormiga argentina es numerosa, como nuestra área de estudio, esta especie es numéricamente subdominante y comportamentalmente dominante. Se encontró que la hormiga *W. auropunctata* fue la más numerosa en trampas de caída, pero no en cebos alimentarios.
- La presencia de hormiga argentina, aun siendo comportamentalmente dominante, no parece generar una disminución en la diversidad de especies respecto a áreas próximas donde *L. humile* está ausente.
- Se pudo generar una lista preliminar de especies de hormigas presentes en la Ciudad de Buenos Aires, con un número comparable a ambientes naturales y superior a otros estudios urbanos en el mundo.

## **6.1. MODULACIÓN DEL COMPORTAMIENTO RECOLECTOR**

En esta Tesis demostramos que aún en una especie tan estudiada como *L. humile* (rev. Silverman y Brightwell, 2008) restan comportamientos y mecanismos por descubrir.

Aquí cuantificamos, por primera vez para esta especie, el efecto de la sacarosa en comportamientos individuales de ingestión e interacciones asociadas al reclutamiento. Mostramos además un nuevo comportamiento en hormigas: el contoneo de gáster, similar a lo encontrado en abejas melíponas (Lindauer y Kerr, 1960; Hölldobler, 1977; Hrncir et al., 2000). Estas modulaciones son importantes para el estudio de esta hormiga ya que pueden servir como variables para cuantificar el efecto de diferentes cebos tóxicos.

Con esta Tesis contamos ahora con datos cuantitativos sobre el comportamiento de ingestión individual de la hormiga argentina. Confirmamos para esta hormiga lo visto en otras especies (Josens et al., 1998; Schilman y Roces, 2006; Dussutour y Simpson, 2008), las soluciones ricas en sacarosa son consumidas a tasas y volúmenes altos hasta concentraciones donde la viscosidad genera dificultades en su consumo. Más interesante es lo que ocurre a concentraciones bajas, donde también se observan bajas tasas y volúmenes, probablemente, como consecuencia de la baja motivación del insecto (Josens et al., 1998; Falibene y Josens, 2012; Perez et al., 2013; Detrain y Prieur, 2014).

Es posible que sea más eficiente para la colonia que una hormiga que se encuentre con una fuente pobre vuelva al nido más rápidamente (por ejemplo sin una carga de buche completa), y así actualizar su información sobre otras fuentes disponibles. En la naturaleza las fuentes alimentarias tienden a ser dinámicas, por lo que la transmisión de esa información entre los individuos de una colonia maximizaría la eficiencia en la recolección conjunta de recursos (Núñez, 1982). Una recolectora que retorna de una fuente de alimento pobre podría ser reclutada a otra fuente más productiva. Es decir, la calidad de un recurso modula la respuesta individual del animal forrajero, sin embargo, el comportamiento de recolección en insectos sociales no puede interpretarse de manera individual sino en términos de eficiencia a nivel colonial.

Tanto abejas como hormigas frecuentemente regresan al nido con una carga parcial, por debajo del máximo que pueden transportar (Núñez, 1982; Roces y Núñez, 1993; Josens et al., 1998; Josens y Roces, 2000; Mailleux et al., 2000). En el caso de las abejas, Núñez y Giurfa (1996) propusieron que las recolectoras disminuyen el tiempo en la fuente de alimento y, consecuentemente, disminuyen la carga transportada, para así aumentar la

frecuencia de visitas a la colmena y, con ello, el flujo de información entre los miembros de la colonia.

La transmisión de dicha información se da en parte durante las interacciones grupales entre la forrajera y sus compañeras de nido. La hormiga dadora tiene información sobre una fuente de alimento y ésta se encuentra codificada en la modulación de su comportamiento. En las hormigas se encontró que diferentes concentraciones de sacarosa modulan las interacciones de *S. invicta* (Cassill, 2003). Schmidt y colaboradores (2008) describieron en la abeja melípona *Nannotrigona testaceicornis* el efecto de la concentración de sacarosa en las interacciones dentro del nido, a medida que aumenta la riqueza de la fuente, la abeja que vuelve al nido realiza más empujones o zarandeos a sus compañeras. En esta Tesis cuantificamos esos contactos, sacudidas (contoneos de gáster) por primera vez para la hormiga argentina. El contoneo o sacudida de gáster es un comportamiento conspicuo que se ha visto en otras especies de himenópteros sociales, especialmente en las abejas melíferas, pero también para algunas abejas melíponas (Lindauer y Kerr, 1960; Von Frisch, 1967; Hrncir et al., 2000). En el caso de las abejas melíferas, forma parte de la danza que codifica riqueza y posición de la fuente. En las melíponas este contoneo no se encuentra tan estereotipado, es parte de una caminata excitada y como tal no comunica posición, pero se ve modulado por la riqueza de la fuente. En el presente trabajo vimos que dadoras que consumieron soluciones de mayor concentración de azúcar mostraron en mayor proporción el comportamiento, y durante más tiempo. Es posible que este comportamiento aumente la dispersión de feromonas de camino, las cuales son suficiente, sin contacto, para generar el reclutamiento de forrajeras inactivas (Van Vorhis Key y Baker, 1986). Otra posibilidad es que esta “caminata excitada” podría generar un aumento de atención en otras obreras con las que se podría cruzar en un nido atestado, sin la necesidad de interacciones individuales, y así aumentar la eficiencia de reclutamiento.

Este estudio es en parte complementario a los trabajos de Mailleux y colaboradores (2006 y 2010), donde se encuentra que el ayuno afecta los umbrales de marcado de camino por reclutadoras y de activación de obreras en el nido: ante mismos estímulos éstas se activan o no dependiendo del grado ayuno. Aquí constatamos otro mecanismo, no excluyente, donde la información de la hormiga dadora (reclutadora en un contexto de

nido) modula sus interacciones hacia sus compañeras de nido. Estos despliegues motores están asociados al reclutamiento (Hölldobler y Wilson, 1990; Hölldobler, 1999), por lo que su aumento podría traducirse, en condiciones naturales, a un mayor número de forrajeras activadas. Vimos que dicho aumento se da para soluciones de mayor concentración de azúcar, las cuales serían ventajosas para la colonia en términos energéticos, justificando una mayor salida de forrajeras en su búsqueda.

La diferencia en latencia y tiempo de ingestión llevaría a pensar que las concentraciones intermedias de sacarosa serían las más eficientes al momento de incorporar azúcares a la colonia, ya que cada ciclo de forrajeo sería más corto. Sin embargo, eso sería suponiendo que todas las obreras forrajeras de un nido están activas. En el caso de que hubiera hormigas inactivas, la incidencia de los comportamientos de reclutamiento cobraría mayor importancia. Una obrera con información de una fuente rica, en nuestro caso 60% sacarosa p/p, gasta tiempo y energía en interactuar con sus congéneres, activándolas. Cuando para una solución de 20% una hormiga hubiera transferido su carga de buche y vuelto a salir, una reclutadora de una fuente más concentrada generaría la salida de un grupo de hormigas hacia la fuente encontrada. Esto podría justificarse por la tasa de ingestión de sacarosa para concentraciones más concentradas, pero por el efecto de la viscosidad la tasa máxima se alcanza a 30% sacarosa p/p (datos no mostrados). Existen otras explicaciones, la demora asociada a su recolección que conlleva peligro para las obreras y el acceso a la fuente, por depredadores y competidores, respectivamente, como también la transitoriedad de las fuentes de alimento.

## **6.2. CEBOS TÓXICOS**

Los experimentos de ingestión suelen someter a las colonias o subcolonias a una dieta de ayuno de hidratos de carbono para promover una mayor alimentación en los sujetos de prueba (Josens y Roces, 2000; Maillieux et al., 2000, 2005, 2006; Falibene y Josens, 2008; Falibene et al., 2009). Aunque esta es una herramienta útil, debe ser cuidadosamente implementada ya que el ayuno prolongado puede tener un efecto perjudicial sobre la cantidad de información que se puede recuperar a partir de un experimento dado. Hemos demostrado que las diferencias entre tratamientos se pueden enmascarar o perder si la

motivación para alimentar se intensifica bajo ciertas condiciones afectando el *valor* del cebo. Un animal con una alta motivación para alimentarse tendrá umbrales de aceptación más bajos, y posiblemente acepte un cebo bajo estas condiciones que rechazaría en condiciones naturales. En este sentido, períodos más prolongados de ayuno en las colonias de laboratorio promovieron el consumo de cebos más tóxicos y mortalidad más alta (Hooper-Bui y Rust, 2000; Mathieson et al., 2012).

Nuestro trabajo se focalizó en la respuesta comportamental individual ante cebos tóxicos, mientras que la mayoría de los estudios sobre este tema se enfocan en el desempeño de los grupos o colonias (Klotz et al., 1997; 1998; 2000; Daane et al., 2006; 2008). En los insectos sociales, las decisiones de los individuos son la base de la organización y el éxito de forrajeo del grupo en su conjunto (Seeley, 1989; Mailleux et al., 2003; Hölldobler y Wilson, 2008). La organización de un grupo al realizar una tarea, como la recolección de recursos, implica necesariamente compartir información. Las hormigas lo hacen a través de diversos canales de comunicación. Así, estas interacciones y las decisiones individuales contribuyen a la coordinación y la regulación del proceso de búsqueda y recolección de alimento. Por lo tanto, nuestros resultados, a pesar de basarse en el rendimiento individual, son relevantes a nivel de la colonia.

Aun considerando el cebo más adecuado para una especie dada, la efectividad del mismo se ve desafiada por las limitaciones impuestas por la competencia de otras fuentes de alimento de alta calidad. En condiciones naturales la existencia de poblaciones de homópteros, o de nectarios extraflorales y en zonas urbanas cualquier alimento azucarado accesible que compita con el cebo tóxico ofrecido, puede generar una menor motivación y por lo tanto una menor aceptación del mismo. Esta es una consideración importante ya que, en condiciones naturales, los recursos disponibles pueden variar en gran medida, compitiendo con los cebos utilizados para controlar hormigas. Por lo tanto, el tipo de sustancia tóxica que se utilizará para una solución de cebo, y las concentraciones de sacarosa y tóxico son esenciales para maximizar la eficacia de los programas de control.

Este trabajo busca servir de línea de base para futuros trabajos sobre comportamiento individual en la hormiga argentina. Conociendo las bases individuales del comportamiento es posible que se puedan encontrar estrategias de control novedosas.

### 6.3. DIVERSIDAD DE HORMIGAS URBANAS

La necesidad de generar inventarios de hormigas es especialmente importante en ambientes urbanos. Allí, las poblaciones humanas interactúan con las hormigas, afectándose mutuamente. Las hormigas generan inconvenientes y pérdidas materiales, mientras que los humanos facilitan la dispersión de las hormigas (Banks, 1990; Williams 1990; Human y Gordon, 1999; LeBrun et al., 2007; Silverman y Brightwell, 2008). Sin embargo, de todas las especies que comparten nuestras ciudades, solo una fracción genera inconvenientes (Lowe et al., 2004, Holway et al., 2002). En esta Tesis vimos que de las 60 especies encontradas, solo cinco son invasivas, *W. auropunctata*, *S. richteri*, *L. humile*, *M. pharaonis* y *Tetramorium caespitum*. Aun así, esas pocas especies siempre deben estar identificadas correctamente para evitar hacer interpretaciones incorrectas (*L. humile*: Wild, 2004; *N. fulva*: Gotzek et al., 2012) y utilizar estrategias de control ineficaces.

Es también importante conocer la estructura de la población de la hormiga a combatir. No es lo mismo controlar una especie multicolonial que una unicolonial, o monogínica y poligínica. En una especie multicolonial podemos tomar cada nido como una colonia, una unidad, por lo que los esfuerzos por combatir una infestación pueden ser localizados. Si en cambio la especie es unicolonial y poligínica, como suele ocurrir en especies invasores, aplicaciones parciales o esfuerzos insuficientes pueden acrecentar el problema, fragmentando las colonias originales en múltiples colonias más pequeñas esparcidas (Hee et al., 2000; Holway et al., 2002).

Conocer las dominancias y hábitos relativos de las diferentes especies nos permite orientar el diseño del cebo o método de control a la especie que se quiere combatir. Si una especie es comportamentalmente dominante, como la hormiga argentina, se puede implementar el uso de cebos alimentarios con menor riesgo de afectar especies no blanco. El cebo será monopolizado por la hormiga dominante, desplazando otras especies, minimizando su contacto con el tóxico asociado. Si en cambio nuestra especie de interés es subordinada se deberá implementar algún método de limitar el acceso de otras especies. Esto puede ser mediante aplicaciones localizadas, como pueden ser nidos o puntos de acceso, o por algún diseño de estación de cebo que solo permita el acceso de la especie

blanco, por ejemplo ante una especie muy pequeña utilizar una malla de diámetro que solo permita su paso, siendo las demás hormigas de mayor tamaño.

#### **6.4. IMPLICANCIAS**

Este trabajo aporta datos básicos sobre comportamiento y ecología de una hormiga de interés mundial. Los experimentos de laboratorio podrán servir como línea de base para ensayos futuros sobre preferencias alimentarias y formulaciones de cebos tóxicos. Trabajos anteriores aportaron información sobre estos temas, pero quedaba pendiente información cuantificable y sobre comportamiento individual.

Al poner a prueba en el laboratorio las aceptaciones y efectividad de dos cebos tóxicos presentamos un protocolo donde manipular la motivación de los individuos recolectores. Esto es esencial al momento de observar diferencias que en otros contextos podrían estar enmascaradas. En una situación aplicada, existen muchas variables sin controlar, es por eso que existe la necesidad de asegurarse que la formulación de un cebo tóxico tenga una aceptación total, o lo más cercana posible. Para tener esa certeza es necesario el trabajo en laboratorio bajo condiciones controladas, sumado a un enfoque individual, que nos ofrece un nivel más de control.

Autor

Lic. Francisco J. Sola

Directora

Dra. Roxana B. Josens

# BIBLIOGRAFÍA

- Abril, S., Oliveras, J., y Gómez, C. (2007). Foraging activity and dietary spectrum of the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae) in invaded natural areas of the northeast Iberian Peninsula. *Environmental Entomology*, 36(5), 1166-1173.
- Agosti, D., Majer, J. D., Alonso, L. E., y Schultz, T. (2000). *Ants: Standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian Institution, Washington DC.
- Akre, R. D., y Hansen, L. D. (1990). Management of carpenter ants. En: R. K. Vander Meer et al. [eds.], *Applied Myrmecology, a world perspective*. Westview Press, Boulder, Colorado, 693-700.
- Baker, T. C., Key, S. V. V., y Gaston, L. K. (1985). Bait-preference tests for the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 78(5), 1083-1088.
- Banks, W. A. (1990). Chemical control of the imported fire ants. En: R. K. Vander Meer et al. [eds.], *Applied Myrmecology, a world perspective*. Westview Press, Boulder, Colorado, pp. 596-603.
- Beckers, R., Deneubourg, J. L., y Goss, S. (1992). Trails and U-turns in the selection of a path by the ant *Lasius niger*. *Journal of Theoretical Biology*, 159(4), 397-415.
- Bonser, R., Wright, P. J., Bament, S., y Chukwu, U. O. (1998). Optimal patch use by foraging workers of *Lasius fuliginosus*, *L. niger* and *Myrmica ruginodis*. *Ecological Entomology*, 23(1), 15-21.
- Boulay, R., Soroker, V., Godzinska, E. J., Hefetz, A., y Lenoir, A. (2000). Octopamine reverses the isolation-induced increase in trophallaxis in the carpenter ant *Camponotus fellah*. *Journal of Experimental Biology*, 203(3), 513-520.
- Boutin-Ganache, I., Raposo, M., Raymond, M., y Deschepper, C. F. (2001). M13-tailed primers improve the readability and usability of microsatellite analyses performed with two different allele-sizing methods. *Biotechniques*, 31(1), 24-6.
- Brandt, M., Van Wilgenburg, E., y Tsutsui, N. D. (2009). Global-scale analyses of chemical ecology and population genetics in the invasive Argentine ant. *Molecular Ecology*, 18(5), 997-1005.
- Breed, M. D., Bowden, R. M., Garry, M. F., y Weicker, A. L. (1996). Giving-up time variation in response to differences in nectar volume and concentration in the giant tropical ant, *Paraponera clavata* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, 9(5), 659-672.
- Brown, W. L. JR (2000) *Diversity of ants*. *Ants: standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Biological diversity hand book series. Smithsonian Institution Press, Washington and London.
- Bueno, O. C. (1997). Formigas urbanas: identificação e controle. *Biológico (São Paulo)*, 59(2), 17-19.
- Bueno, O. C., y Fowler, H. G. (1994). Exotic ants and the ant fauna of Brazilian hospitals. En: Williams, D. F. (ed) *Exotic ants: biology, impact and control of introduced species*. Westview Press, Boulder, p. 191-198.

- Calcaterra, L. A., Livore, J. P., Delgado, A., y Briano, J. A. (2008). Ecological dominance of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, in its native range. *Oecologia*, 156(2), 411-421.
- Camazine, S. (1993). The regulation of pollen foraging by honey bees: how foragers assess the colony's need for pollen. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 32(4), 265-272.
- Cammaerts, M. C., y Cammaerts, R. (1980). Food recruitment strategies of the ants *Myrmica sabuleti* and *Myrmica ruginodis*. *Behavioural Processes*, 5(3), 251-270.
- Cano, E. (1988). Pastizales naturales de La Pampa. Tomo I: Descripción de las especies más importantes. Convenio AACREA – Gobierno de La Pampa.
- Cassill, D. (2003). Rules of supply and demand regulate recruitment to food in an ant society. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 54(5), 441-450.
- Cassill, D.L., y Tschinkel, W. R. (1995). Allocation of liquid food to larvae via trophallaxis in colonies of the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Animal Behavior* 50: 801-813
- Cassill, D.L., y Tschinkel, W. R. (1999). Regulation of diet in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Journal of Insect Behavior*, 12: 307-328.
- Cassill, D. L., y Tschinkel, W. R. (1999). Information flow during social feeding in ant societies. En: *Information processing in social insects* (pp. 69-81). Birkhäuser Basel.
- Chacón de Ulloa, P. (2003). Hormigas urbanas. En: *Introducción a las hormigas de la región neotropical*. Fernández, F. (ed.). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá. Colombia: 351-359.
- Chacón de Ulloa, P., Jaramillo, G. I., y Lozano, M. M. (2006). Hormigas urbanas en el departamento del Valle del Cauca, Colombia. *Revista de la Academia colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales*, 30(116-117), 435.
- Chapman, A.D. (2009). Numbers of living species in Australia and the world. Report for the Australian Biological Resources Study, 2nd ed. Canberra, Australia.
- Clarke, K. M., Fisher, B. L., y LeBuhn, G. (2008). The influence of urban park characteristics on ant (Hymenoptera, Formicidae) communities. *Urban Ecosystems*, 11:317–334
- Cole, F. R., Medeiros, A. C., Loope, L. L., y Zuehlke, W. W. (1992). Effects of the Argentine ant on arthropod fauna of Hawaiian high-elevation shrubland. *Ecology*, 1313-1322.
- Cuezzo, F. (1998). Formicidae. En: Morrone, J. J., y Coscarón, S. (eds.), *Diversidad de Artrópodos Argentinos. Una perspectiva biotaxonomica*. Ediciones Sur, La Plata, pp. 452-462.
- Daane K. M., M. L. Cooper, K. R. Sime, E. H. Nelson, M. C. Battany, y M. K. Rust. (2008). Testing baits to control Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae) in vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 101, 699-709.
- Daane K.M., K. R. Sime, B. N. Hogg, M. L. Bianchi, M. L. Cooper, M. K. Rust, y J. H. Klotz. (2006). Effects of liquid insecticide baits on Argentine ants in California's coastal vineyards. *Crop Protection*, 25, 592-603.
- Davidson, D. W. (1997). The role of resource imbalances in the evolutionary ecology of tropical arboreal ants. *Biological Journal of the Linnean Society*, 61(2), 153-181.
- Davidson, D. W. (1998). Resource discovery versus resource domination in ants: a functional mechanism for breaking the trade-off. *Ecological Entomology*, 23(4), 484-490.
- De Biseau, J. C., y Pasteels, J. M. (1994). Regulated food recruitment through individual behavior of scouts in the ant, *Myrmica sabuleti* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, 7(6), 767-777.

- De Marco, R., y Farina, W. (2001). Changes in food source profitability affect the trophallactic and dance behavior of forager honeybees (*Apis mellifera* L.). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 50(5), 441-449.
- Detrain, C., y Deneubourg, J. L. (2002). Complexity of environment and parsimony of decision rules in insect societies. *The Biological Bulletin*, 202(3), 268-274.
- Detrain, C., y Deneubourg, J. L. (2008). Collective decision-making and foraging patterns in ants and honeybees. *Advances in Insect Physiology*, 35, 123-173.
- Detrain, C., Deneubourg, J. L., y Pasteels, J. M. (Eds.). (1999). *Information processing in social insects*. Springer Science y Business Media.
- Detrain, C., Deneubourg, J. L., y Pasteels, J. M. (1999). Decision-making in foraging by social insects. En: *Information Processing in Social Insects*, 331-354.
- Detrain, C., y Prieur, J. (2014). Sensitivity and feeding efficiency of the black garden ant *Lasius niger* to sugar resources. *Journal of Insect Physiology*, 64, 74-80.
- Dussutour, A., y Simpson, S. J. (2008). Carbohydrate regulation in relation to colony growth in ants. *Journal of Experimental Biology*, 211: 2224-2232.
- Erickson, J. M. (1971). The displacement of native ant species by the introduced Argentine ant *Iridomyrmex humilis* Mayr. *Psyche: A Journal of Entomology*, 78(4), 257-266.
- Evanno, G., Regnaut, S., y Goudet, J. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular ecology*, 14(8), 2611-2620.
- Excoffier, L., y Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564-567.
- Falibene, A., de Figueiredo Gontijo, A., y Josens, R. (2009). Sucking pump activity in feeding behaviour regulation in carpenter ants. *Journal of Insect Physiology*, 55(6), 518-524.
- Falibene, A., y Josens, R. (2008). Nectar intake rate is modulated by changes in sucking pump activity according to colony starvation in carpenter ants. *Journal of Comparative Physiology A*, 194(5), 491-500.
- Falibene, A., y Josens, R. (2012). Sucrose acceptance threshold: a way to measure sugar perception in ants. *Insectes Sociaux*, 59(1), 75-80.
- Falush, D., Stephens, M., y Pritchard, J. K. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 164(4), 1567-1587.
- Farina, W. M. (1996). Food-exchange by foragers in the hive—a means of communication among honey bees?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 38(1), 59-64.
- Farina, W. M. (2000). The interplay between dancing and trophallactic behavior in the honey bee *Apis mellifera*. *Journal of Comparative Physiology A*, 186(3), 239-245.
- Fellers, J. H. (1987). Interference and exploitation in a guild of woodland ants. *Ecology*, 1466-1478.
- Fernández, F. (ed.) (2003). *Introducción a las Hormigas de la región Neotropical*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. XXVI.
- Fernández, P. (2001). Grado de aceptación y carga de buche durante la recolección de cebos tóxicos en la hormiga *Camponotus mus*. M.S. tesis, Universidad de San Martín, Argentina.
- Fitzgerald, K., Heller, N., y Gordon, D. M. (2012). Modeling the spread of the Argentine ant into natural areas: Habitat suitability and spread from neighboring sites. *Ecological Modelling*, 247, 262-272.

- Folgarait, P. J., D'adamo, P., y Gilbert, L. E. (2004). A grassland ant community in Argentina: the case of *Solenopsis richteri* and *Camponotus punctulatus* (Hymenoptera: Formicidae) attaining high densities in their native ranges. *Annals of the Entomological Society of America*, 97(3), 450-457.
- Fowler, H. G., Bernardi, J. V. E., Delabie, J. C., Forti, L. C., y Pereira-da-Silva, V. (1990). Major ant problems of South America. En: R. K. Vander Meer et al. [eds.], *Applied Myrmecology*. Westview, Boulder, Colorado, USA, 3-14.
- Fowler, H. G., Bueno, O. C., Sadatsune, T., y Montelli, A. C. (1993). Ants as potential vectors of pathogens in hospitals in the state of São Paulo, Brazil. *International Journal of Tropical Insect Science*, 14(03), 367-370.
- Gibson, R. L., y Scott, J. G. (1989). Comparative toxicity of fourteen insecticides to two species of carpenter ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 82(4), 1121-1124.
- Gil, M., y Farina, W. (2002). Foraging reactivation in the honeybee *Apis mellifera* L.: factors affecting the return to known nectar sources. *Naturwissenschaften*, 89(7), 322-325.
- Giraud, T., Pedersen, J. S., y Keller, L. (2002). Evolution of supercolonies: the Argentine ants of southern Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(9), 6075-6079.
- Glancey, B. M., Wojcik, D. P., Craig, C. H., y Mitchell, J. A. (1976). Ants of Mobile County, AL, as monitored by bait transects. *Journal of the Georgia Entomological Society*, 11(3), 191-197.
- Gordon, D. M. (2007). Control without hierarchy. *Nature*, 446(7132), 143-143.
- Gordon, D. M., y Heller, N. E. (2014). The invasive Argentine ant *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae) in Northern California reserves: from foraging behavior to local spread. *Myrmecological News*, 19, 103-110.
- Gotzek, D., Brady, S. G., Kallal, R. J., y LaPolla, J. S. (2012). The importance of using multiple approaches for identifying emerging invasive species: the case of the Raspberry crazy ant in the United States. *PloS ONE*, 7(9), e45314.
- Goyret, J., y Farina, W. M. (2003). Descriptive study of antennation during trophallactic unloading contacts in honeybees *Apis mellifera* carnica. *Insectes Sociaux*, 50(3), 274-276.
- Greenberg, L., J. H. Klotz, y M. K. Rust. (2006). Liquid borate bait for control of the Argentine ant, *Linepithema humile*, in organic citrus. *Florida Entomologist*, 89(4), 469-474.
- Hansen, L. D., Akre, R. D., Wildey, K. B., y Robinson, W. H. (1993). Urban pest management of carpenter ants. En: *Proceedings of the first International Conference on Urban Pests*. (pp. 271-279).
- Harder, L. D. (1986). Effects of nectar concentration and flower depth on flower handling efficiency of bumble bees. *Oecologia*, 69(2), 309-315.
- Hee, J. J., Holway, D. A., Suarez, A. V., y Case, T. J. (2000). Role of propagule size in the success of incipient colonies of the invasive Argentine ant. *Conservation Biology*, 14(2), 559-563.
- Heller, N. E. (2004). Colony structure in introduced and native populations of the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*. *Insectes Sociaux*, 51(4), 378-386.
- Heller, N. E., Ingram, K. K., y Gordon, D. M. (2008). Nest connectivity and colony structure in unicolonial Argentine ants. *Insectes Sociaux*, 55(4), 397-403.
- Heyneman, A. J. (1983). Optimal sugar concentrations of floral nectars—dependence on sugar intake efficiency and foraging costs. *Oecologia*, 60(2), 198-213.

- Hölldobler, B. (1999). Multimodal signals in ant communication. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 184(2), 129-141.
- Hölldobler, B., y Wilson, E. O. (1990). *The Ants*. Harvard University Press, Cambridge, Mass.
- Hölldobler, B. y Wilson, E. O. 2008. *The Superorganism: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies*. W.W. Norton and Co. Ltd., NY, USA.
- Holway, D. A. (1998). Effect of Argentine ant invasions on ground-dwelling arthropods in northern California riparian woodlands. *Oecologia*, 116(1-2), 252-258.
- Holway, D. A., Suarez, A. V., y Case, T. J. (1998). Loss of intraspecific aggression in the success of a widespread invasive social insect. *Science*, 282(5390), 949-952.
- Holway, D. A. (1999). Competitive mechanisms underlying the displacement of native ants by the invasive Argentine ant. *Ecology*, 80(1), 238-251.
- Holway, D. A., Lach, L., Suarez, A. V., Tsutsui, N. D., y Case, T. J. (2002). The causes and consequences of ant invasions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 181-233.
- Hooper-Bui, L. M., y M. K. Rust. (2000). Oral toxicity of abamectin, boric acid, fipronil, and hydramethylnon to laboratory colonies of argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 93, 858-864.
- Hooper-Bui, L. M., y Rust, M. K. (2001). An oral bioassay for the toxicity of hydramethylnon to individual workers and queens of Argentine ants, *Linepithema humile*. *Pest Management Science*, 57(11), 1011-1016.
- Howard, D. F., y Tschinkel, W. R. (1980). The effect of colony size and starvation on food flow in the fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 7(4), 293-300.
- Hrncir, M., Jarau, S., Zucchi, R., y Barth, F. G. (2000). Recruitment behavior in stingless bees, *Melipona scutellaris* and *M. quadrifasciata*. II. Possible mechanisms of communication. *Apidologie*, 31(1), 93-114.
- Human, K. G., y Gordon, D. M. (1996). Exploitation and interference competition between the invasive Argentine ant, *Linepithema humile*, and native ant species. *Oecologia*, 105(3), 405-412.
- Human, K. G., y Gordon, D. M. (1997). Effects of Argentine ants on invertebrate biodiversity in northern California. *Conservation Biology*, 11(5), 1242-1248.
- Human, K. G., y Gordon, D. M. (1999). Behavioral interactions of the invasive Argentine ant with native ant species. *Insectes Sociaux*, 46(2), 159-163.
- Josens, R. B., y Roces, F. (2000). Foraging in the ant *Camponotus mus*: nectar-intake rate and crop filling depend on colony starvation. *Journal of Insect Physiology*, 46(7), 1103-1110.
- Josens, R. B., y Farina, W. M. (2001). Nectar feeding by the hovering hawk moth *Macroglossum stellatarum*: intake rate as a function of viscosity and concentration of sucrose solutions. *Journal of Comparative Physiology A*, 187(8), 661-665.
- Josens, R. B., Farina, W. M., y Roces, F. (1998). Nectar feeding by the ant *Camponotus mus*: intake rate and crop filling as a function of sucrose concentration. *Journal of Insect Physiology*, 44(7), 579-585.
- Josens, R., Sola, F. J., Marchisio, N., Di Renzo, M. A., y Giacometti, A. (2014). Knowing the enemy: ant behavior and control in a pediatric hospital of Buenos Aires. *SpringerPlus*, 3(1), 229.

- Kay, A. (2002). Applying optimal foraging theory to assess nutrient availability ratios for ants. *Ecology* 83: 1935-1944.
- Kay, A. (2004). The relative availabilities of complementary resources affect the feeding preferences of ant colonies. *Behavioral Ecology*, 15(1), 63-70.
- Kennedy, T. A. (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(2), 343-350.
- Kim, W., Gilet, T., y Bush, J. W. (2011). Optimal concentrations in nectar feeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(40), 16618-16621.
- Kingsolver, J. G., y Daniel, T. L. (1979). On the mechanics and energetics of nectar feeding in butterflies. *Journal of Theoretical Biology*, 76(2), 167-179.
- Kingsolver, J. G., y Daniel, T. L. (1995). Mechanics of food handling by fluid-feeding insects. In *Regulatory Mechanisms in Insect Feeding*, pp. 32-73. Springer US.
- Klotz, J. H., y Williams, D. F. (1996). New approach to boric acid ant baits. *Integrated Pest Management Practitioner*, 18, 1-4.
- Klotz, J. H. y Moss, J. I. (1996). Oral toxicity of a boric acid-sucrose water bait to Florida carpenter ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Entomological Science*, 31, 9-12.
- Klotz, J. H., Oi, D. H., Vail, K. M., y Williams, D. F. (1996). Laboratory evaluation of a boric acid liquid bait on colonies of *Tapinoma melanocephalum* Argentine ants and Pharaoh ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 89(3), 673-677.
- Klotz, J. H., Vail, K. M., y Williams, D. F. (1997). Toxicity of a boric acid-sucrose water bait to *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 90(2), 488-491.
- Klotz, J., Greenberg, L., y Venn, E. C. (1998). Liquid boric acid bait for control of the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 91(4), 910-914.
- Klotz, J. H., Greenberg, L., Amrhein, C., y Rust, M. K. (2000). Toxicity and repellency of borate-sucrose water baits to Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(4), 1256-1258.
- Klotz, J. H., Rust, M. K., y Phillips, P. (2004). Liquid bait delivery systems for controlling Argentine ants in citrus groves (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 43(3), 419-427.
- Klotz, J. H., Mangold, J. R., Vail, K. M., Davis Jr, L. R., y Patterson, R. S. (1995). A survey of the urban pest ants (Hymenoptera: Formicidae) of peninsular Florida. *Florida Entomologist*, 109-118.
- Klotz, J., Hansen, L., Pospischil, R., y Rust, M. (2008). *Urban ants of North America and Europe: identification, biology, and management*. Comstock Publishing Associates.
- Krushelnycky, P. D., Loope, L. L., y Reimer, N. J. (2005). The Ecology, Policy, and Management of Ants in Hawaii. En: *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, 37.
- Kusnezov, N. (1978). Hormigas argentinas; clave para su identificacion [biologia, habitat, Argentina]. Ed. por R. Golbach. *Miscelanea-Fundacion Miguel Lillo (Argentina)*, 61.
- Lach, L., Parr, C. L., y Abott, K. L. (2010). *Ant ecology*. Oxford University Press.
- Le Breton, J., y Fourcassié, V. (2004). Information transfer during recruitment in the ant *Lasius niger* L. (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55(3), 242-250.
- LeBrun, E. G. (2005). Who is the top dog in ant communities? Resources, parasitoids, and multiple competitive hierarchies. *Oecologia*, 142(4), 643-652.

- LeBrun, E. G., Tillberg, C. V., Suarez, A. V., Folgarait, P. J., Smith, C. R., y Holway, D. A. (2007). An experimental study of competition between fire ants and Argentine ants in their native range. *Ecology*, 88(1), 63-75.
- Lee, C. E., y Gelembiuk, G. W. (2008). Evolutionary origins of invasive populations. *Evolutionary Applications*, 1(3), 427-448.
- Legendre, P. L., y Legendre, L. (1998). Numerical ecology. Second English Edition. Amsterdam Elsevier Science.
- Liefke, C., Hölldobler, B., y Maschwitz, U. (2001). Recruitment behavior in the ant genus *Polyrhachis* (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, 14(5), 637-657.
- Lindauer, M., y Kerr, W. E. (1960). Communication between the workers of stingless bees. *Bee World*, 41, 29-41; 65-71.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., y De Poorter, M. (2000). 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database (p. 12). Auckland, New Zealand: Invasive Species Specialist Group.
- MacKay, W. P., Majdi, S., Irving, J., Vinson, S. B., y Messer, C. (1992). Attraction of ants (Hymenoptera: Formicidae) to electric fields. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 39-43.
- Mackay W. P., Sola F. J., Josens R. (2011). A New Shield-Faced Ant of the Genus *Pheidole* (Hymenoptera: Formicidae: aberrans Group) From Argentina. *Transactions of the American Entomological Society*, 137(3 y 4), 297-305.
- Mailleux, A. C., Deneubourg, J. L., y Detrain, C. (2000). How do ants assess food volume?. *Animal Behaviour*, 59(5), 1061-1069.
- Mailleux, A. C., Deneubourg, J. L., y Detrain, C. (2003). Regulation of ants' foraging to resource productivity. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1524), 1609-1616.
- Mailleux, A. C., Detrain, C., y Deneubourg, J. L. (2005). Triggering and persistence of trail-laying in foragers of the ant *Lasius niger*. *Journal of Insect Physiology*, 51(3), 297-304.
- Mailleux, A. C., Detrain, C., y Deneubourg, J. L. (2006). Starvation drives a threshold triggering communication. *Journal of Experimental Biology*, 209(21), 4224-4229.
- Mailleux, A. C., Buffin, A., Detrain, C., y Deneubourg, J. L. (2010). Recruiter or recruit: who boosts the recruitment in starved nests in mass foraging ants?. *Animal Behaviour*, 79(1), 31-35.
- Mailleux, A. C., Sempo, G., Depickère, S., Detrain, C., y Deneubourg, J. L. (2011). How does starvation affect spatial organization within nests in *Lasius niger*?. *Insectes Sociaux*, 58(2), 219-225.
- Mangel, M. (1993). Motivation, learning, and motivational learning. En: Papaj, D. R., Lewis, C. (eds) *Insect Learning*. Chapman and Hall, New York, pp 158-173.
- Markin, G.P. (1968). Nest relationship of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis*, (Hymenoptera: Formicidae) Phosphorus-32 labeled sugar bait. *Journal of the Kansas Entomological Society* 41,511-516
- Markin, G. P. (1970). Food distribution within laboratory colonies of the argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Insectes Sociaux*, 17(2), 127-157.
- Markin, G. P. (1970). Foraging behavior of the Argentine ant in a California citrus grove. *Journal of Economic Entomology*, 63(3), 740-744.

- Markl, H., y Hölldobler, B. (1978). Recruitment and food-retrieving behavior in *Novomessor* (Formicidae, Hymenoptera). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 4(2), 183-216.
- Mathieson, M., Toft, R., y Lester, P. J. (2012). Influence of toxic bait type and starvation on worker and queen mortality in laboratory colonies of Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 105(4), 1139-1144.
- McCabe, S., Farina, W. M., y Josens, R. B. (2006). Antennation of nectar-receivers encodes colony needs and food-source profitability in the ant *Camponotus mus*. *Insectes Sociaux*, 53(3), 356-361.
- McFarland, D. J. (1971). *Feedback Mechanisms in Animal Behaviour*. Academic Press, London/New York.
- Medan, V., y Josens, R. B. (2005). Nectar foraging behaviour is affected by ant body size in *Camponotus mus*. *Journal of Insect Physiology*, 51(8), 853-860.
- Menke, S. B., y Holway, D. A. (2006). Abiotic factors control invasion by Argentine ants at the community scale. *Journal of Animal Ecology*, 75(2), 368-376.
- Miller, S. A., Dykes, D. D., y Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16(3), 1215.
- Möglich, M., y Hölldobler, B. (1975). Communication and orientation during foraging and emigration in the ant *Formica fusca*. *Journal of Comparative Physiology*, 101(4), 275-288.
- Morrison, L. W. (2000). Mechanisms of interspecific competition among an invasive and two native fire ants. *Oikos*, 90(2), 238-252.
- Nelson, E. H., y Daane, K. M. (2007). Improving liquid bait programs for Argentine ant control: bait station density. *Environmental Entomology*, 36(6), 1475-1484.
- Newell, W. (1908). Notes on the habits of the argentine or "New Orleans" ant, *Iridomyrmex humilis* mayr. *Journal of Economic Entomology*, 21.
- Newell W. y Barber T.C. (1913). The Argentine ant. *Bulletin of the U.S. Department of Agriculture, Bureau of Entomology*; 122. 98p.
- Núñez, J. A. (1982). Comparación del comportamiento recolector de abejas africanizadas y abejas europeas. *Social Insects in the Tropics*, 1, 221-231.
- Núñez, J. A., y Giurfa, M. (1996). Motivation and regulation of honey bee foraging. *Bee World*.
- Ávila Núñez, J. L., Naya, M., Calcagno-Pissarelli, M. P., y Otero, L. D. (2011). Behaviour of *Odontomachus chelifer* (Latreille) (Formicidae: Ponerinae) Feeding on Sugary Liquids. *Journal of Insect Behavior*, 24(3), 220-229.
- Nyamukondiwa, C., y Addison, P. (2011). Preference of foraging ants (Hymenoptera: Formicidae) for bait toxicants in South African vineyards. *Crop Protection*, 30(8), 1034-1038.
- O'Brien, K. S., y Hooper-Bui, L. M. (2005). Hunger in red imported fire ants and their behavioral response to two liquid bait products. *Journal of Economic Entomology*, 98(6), 2153-2159.
- O'Donnell, S., y Bulova, S. J. (2007). Worker connectivity: a review of the design of worker communication systems and their effects on task performance in insect societies. *Insectes Sociaux* 54: 203-210.
- Olaya, L. A., y Chacón, P. (2001). Hormigas asociadas a centros hospitalarios del Valle del Cauca. p. 223. En: *Proceedings, XXXVI Congreso Nacional de Ciencias Biológicas*, 10-13 October 2001, Cartagena, Colombia.

- Orians, G. H., y Pearson, N. E. (1979). On the theory of central place foraging. Analysis of Ecological Systems. Eds.: Horn D.J., Mitchell R.D. y Stairs C.R.: 154-177. Ohio State University Press, Columbus, Ohio.
- Orr, M. R., Seike, S. H., Benson, W. W., y Dahlsten, D. L. (2001). Host specificity of *Pseudacteon* (Diptera: Phoridae) parasitoids that attack *Linepithema* (Hymenoptera: Formicidae) in South America. *Environmental Entomology*, 30(4), 742-747.
- Parr, C. L., y Gibb, H. (2010). Competition and the role of dominant ants. *Ant ecology*. Oxford University Press, Oxford, 77-96.
- Passera, L. (1994). Characteristics of tramp species. En: Williams, D. F. (ed.), *Exotic Ants: Biology, Impact, and Control of Introduced Species*, pp. 23-43. Boulder, CO: Westview
- Passera, L., y Keller, L. (1992). The period of sexual maturation and the age at mating in *Iridomyrmex humilis*, an ant with intranidal mating. *Journal of Zoology*, 228(1), 141-153.
- Paul, J., y Roces, F. (2003). Fluid intake rates in ants correlate with their feeding habits. *Journal of Insect Physiology*, 49(4), 347-357.
- Paul, J., Roces, F., y Hölldobler, B. (2002). How do ants stick out their tongues?. *Journal of Morphology*, 254(1), 39-52.
- Pećarević, M., Danoff-Burg, J., & Dunn, R. R. (2010). Biodiversity on Broadway - enigmatic diversity of the societies of ants (Formicidae) on the streets of New York City. *PLoS One*, 5(10), e13222.
- Pedersen, J. S., Krieger, M. J., Vogel, V., Giraud, T., y Keller, L. (2006). Native supercolonies of unrelated individuals in the invasive Argentine ant. *Evolution*, 60(4), 782-791.
- Perez, M., Rolland, U., Giurfa, M., y d'Ettorre, P. (2013). Sucrose responsiveness, learning success, and task specialization in ants. *Learning y Memory*, 20(8), 417-420.
- Perry, J. N., Liebhold, A. M., Rosenberg, M. S., Dungan, J., Miriti, M., Jakomulska, A., y Citron-Pousty, S. (2002). Illustrations and guidelines for selecting statistical methods for quantifying spatial pattern in ecological data. *Ecography*, 25(5), 578-600.
- Petren, K., y Case, T. J. (1998). Habitat structure determines competition intensity and invasion success in gecko lizards. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(20), 11739-11744.
- Pitts, J. P. (2002). A cladistic analysis of the *Solenopsis saevissima* species-group (Hymenoptera: Formicidae). Tesis doctoral, Universidad de Georgia, EUA.
- Portha, S., Deneubourg, J. L., y Detrain, C. (2002). Self-organized asymmetries in ant foraging: a functional response to food type and colony needs. *Behavioral Ecology*, 13(6), 776-781.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., y Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Provecho, Y., y Josens, R. (2009) Olfactory memory established during trophallaxis affects food search behaviour in ants. *Journal of Experimental Biology*, 212, 3221-3227.
- Quarles, W. (1992). Borates provide least-toxic wood protection. *Integrated Pest Management Practitioner*, 14: 1-11.
- Riley, C. V. (1889). Some insect pests of the household. Bed bugs and red ants. *Insect Life* 2: 104-108.
- Robinson, W. H. (1996). *Urban entomology: insect and mite pests in the human environment*. Chapman and Hall.

- Roces, F., y Hölldobler, B. (1996). Use of stridulation in foraging leaf-cutting ants: mechanical support during cutting or short-range recruitment signal?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39(5), 293-299.
- Roces, F., y Núñez, J. A. (1993). Information about food quality influences load-size selection in recruited leaf-cutting ants. *Animal Behavior* 45: 135-143.
- Rodvalho, C. M., Santos, A. L., Marcolino, M. T., Bonetti, A. M., y Brandeburgo, M. A. (2007). Urban ants and transportation of nosocomial bacteria. *Neotropical Entomology*, 36(3), 454-458.
- Rodrigues, J. (2006). How ants determine the number of potential recruits. *Ecological Modelling*, 200, 384-392
- Roubik, D. W., y Buchmann, S. L. (1984). Nectar selection by *Melipona* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and the ecology of nectar intake by bee colonies in a tropical forest. *Oecologia*, 61(1), 1-10.
- Rust, M. K. (1986). Managing household pests. En: Bennett, G. W., y Owens, J. M. (eds.), *Advances in Urban Pest Management*. Van Nostrand Reinhold, New York. pp. 335–386
- Rust, M. K., Reiersen, D. A., Paine, E., y Blum, L. J. (2000). Seasonal activity and bait preferences of the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 17(4), 201-212.
- Rust, M. K., Reiersen, D. A., y Klotz, J. H. (2004). Delayed toxicity as a critical factor in the efficacy of aqueous baits for controlling Argentine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 97(3), 1017-1024.
- Sanders, N. J., y Gordon, D. M. (2002). Resources and the flexible allocation of work in the desert ant, *Aphaenogaster cockerelli*. *Insectes Sociaux*, 49(4), 371-379.
- Sarty, M., Abbott, K. L., y Lester, P. J. (2007). Community level impacts of an ant invader and food mediated coexistence. *Insectes Sociaux*, 54(2), 166-173.
- Schuelke, M. (2000). An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. *Nature Biotechnology*, 18(2), 233-234.
- Schilman, P. E., y Roces, F. (2003). Assessment of nectar flow rate and memory for patch quality in the ant *Camponotus rufipes*. *Animal Behaviour*, 66(4), 687-693.
- Schilman, P. E., y Roces, F. (2006). Foraging energetics of a nectar-feeding ant: metabolic expenditure as a function of food-source profitability. *Journal of Experimental Biology*, 209(20), 4091-4101.
- Schilman, P. E., y Roces, F. (2008). Haemolymph sugar levels in a nectar-feeding ant: dependence on metabolic expenditure and carbohydrate deprivation. *Journal of Comparative Physiology B*, 178(2), 157-165.
- Schilman, P. E., Lighton, J. R., y Holway, D. A. (2005). Respiratory and cuticular water loss in insects with continuous gas exchange: comparison across five ant species. *Journal of Insect Physiology*, 51(12), 1295-1305.
- Schmidt, V. M., Hrncir, M., Schorkopf, D. L. P., Mateus, S., Zucchi, R., y Barth, F. G. (2008). Food profitability affects intranidal recruitment behaviour in the stingless bee *Nannotrigona testaceicornis*. *Apidologie*, 39(2), 260-272.
- Seeley, T. D. (1989). The honey bee colony as a superorganism. *Am. Sci.* 77:546–553.
- Seeley, T. D. (1995). *The Wisdom of the Hive*. Harvard University Press, London.

- Silverman, J., y Roulston, T. A. H. (2001). Acceptance and Intake of Gel and Liquid Sucrose Compositions by the Argentine Ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 511-515.
- Silverman, J., y Brightwell, R. J. (2008). The Argentine ant: challenges in managing an invasive unicolonial pest. *Annual Review of Entomology*, 53, 231-252.
- Sola, F., Falibene, A., y Josens, R. (2013). Asymmetrical behavioral response towards two boron toxicants depends on the ant species (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 106(2), 929-938.
- Soroker, V., Vienne, C., y Hefetz, A. (1995). Hydrocarbon dynamics within and between nestmates in *Cataglyphis niger* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Chemical Ecology*, 21(3), 365-378.
- Stanley, M. C., y Robinson, W. A. (2007). Relative attractiveness of baits to *Paratrechina longicornis* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 100(2), 509-516.
- Steiner, F. M., Schlick-Steiner, B. C., VanDerWal, J., Reuther, K. D., Christian, E., Stauffer, C., Suarez, A. V., Williams, S. E. y Crozier, R. H. (2008). Combined modelling of distribution and niche in invasion biology: a case study of two invasive *Tetramorium* ant species. *Diversity and Distributions*, 14(3), 538-545.
- Stringer, C. E., Lofgren, C. S., y Bartlett, F. J. (1964). Imported fire ant toxic bait studies: evaluation of toxicants. *Journal of Economic Entomology*, 57(6), 941-945.
- Stuart, R. J., y Moffett, M. W. (1994). Recruitment communication and pheromone trails in the neotropical ants, *Leptothorax (Nesomyrmex) spininodis* and *L. (N.) echinatinodis*. *Experientia*, 50(9), 850-852.
- Suarez, A. V., Bolger, D. T., y Case, T. J. (1998). Effects of fragmentation and invasion on native ant communities in coastal southern California. *Ecology*, 79(6), 2041-2056.
- Suarez, A. V., Tsutsui, N. D., Holway, D. A., y Case, T. J. (1999). Behavioral and genetic differentiation between native and introduced populations of the Argentine ant. *Biological Invasions*, 1(1), 43-53.
- Suarez, A. V., Holway, D. A., y Tsutsui, N. D. (2008). Genetics and behavior of a colonizing species: The invasive Argentine ant. *The American Naturalist*, 172(S1), S72-S84.
- Sudd, J. H. (1957). Communication y recruitment in pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis* (L.). *The British Journal of Animal Behaviour*, 5(3), 104-109.
- Sudd, J. H., y Sudd, M. E. (1985). Seasonal changes in the response of wood ants (*Formica lugubris*) to sucrose baits. *Ecological Entomology*, 10(1), 89-97.
- Szlep, R., y Jacobi, T. (1967). The mechanism of recruitment to mass foraging in colonies of *Monomorium venustum* Smith, *M. subopacum* ssp. *Phaenicium* Em., *Tapinoma israelis* For. and *T. Simothi* v. *Phaenicium* Em. *Insectes Sociaux*, 14(1), 25-40.
- Szlep-Fessel, R. (1970). The regulatory mechanism in mass foraging and the recruitment of soldiers in Pheidole. *Insectes Sociaux*, 17(4), 233-244.
- Traniello, J. F. (1977). Recruitment behavior, orientation, and the organization of foraging in the carpenter ant *Camponotus pennsylvanicus* DeGeer (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 2(1), 61-79.

- Traniello, J. F. (1983). Social organization and foraging success in *Lasius neoniger* (Hymenoptera: Formicidae): behavioral and ecological aspects of recruitment communication. *Oecologia* (Berlin) 59:94–100
- Tripp, J. M., Suiter, D. R., Bennett, G. W., Klotz, J. H., y Reid, B. L. (2000). Evaluation of control measures for black carpenter ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(5), 1493-1497.
- Tsutsui, N. D., y Case, T. J. (2001). Population genetics and colony structure of the Argentine ant (*Linepithema humile*) in its native and introduced ranges. *Evolution*, 55(5), 976-985.
- Tsutsui, N. D., Suarez, A. V., Holway, D. A., y Case, T. J. (2000). Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(11), 5948-5953.
- Van Vorhis Key, S. E., y Baker, T. C. (1986). Observations on the trail deposition and recruitment behaviors of the Argentine ant, *Iridomyrmex humilis* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 79(2), 283-288.
- Vega, S. Y., y M.K. Rust. (2003). Determining the foraging range and origin of resurgence after treatment of Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae) in urban areas. *Journal of Economic Entomology*, 96: 844-849.
- Vinson, S. B., y MacKay, W. P. (1990). Effects of the fire ant, *Solenopsis invicta*, on electrical circuits and equipment. En: R. K. Vander Meer et al. [eds.], *Applied Myrmecology: a world perspective*. Westview Press, Boulder, CO, 496-503.
- Vogel, V., Pedersen, J. S., Giraud, T., Krieger, M. J., y Keller, L. (2010). The worldwide expansion of the Argentine ant. *Diversity and Distributions*, 16(1), 170-186.
- Von Frisch, K. (1967). *The Dance Language and Orientation of Bees*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- Waddington, K. D. (1985). Cost-intake information used in foraging. *Journal of Insect Physiology*, 31(11), 891-897.
- Ward, P. S. (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. University of California.
- Wild, A. (2004). Taxonomy and distribution of the Argentine ant, *Linepithema humile* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 97(6), 1204-1215.
- Wilson, E. O. (1951). Variation and adaptation in the imported fire ant. *Evolution*, 68-79.
- Wilson, E. O. (1971). *The Insect Societies*. Belknap Press.
- Williams, D. F. (1990). Effects of fenoxycarb baits on laboratory colonies of the Pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis*. En: R. K. Vander Meer et al. [eds.], *Applied Myrmecology, a world perspective*. Westview Press, Boulder, Colorado, pp. 676-683.
- Wolf, A.V., Brown, M.G., y Prentiss, P.F. (1984). Concentrative properties of aqueous solutions: conversion tables. En: *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 64th ed. Florida, CRC Press: D223-D272.
- Yamaguchi, T. (2004). Influence of urbanization on ant distribution in parks of Tokyo and Chiba City, Japan I. Analysis of ant species richness. *Ecological Research*, 19(2), 209-216.

## A1. MUESTREOS GENÉTICOS

### A1.1. Extracción, amplificación y secuenciación

Se extrajo ADN total a partir de un protocolo modificado de Miller *et al.* 1988. La digestión fue realizada en un buffer con 50 mM de Tris HCl, 50 mM EDTA pH 8, 50 mM de NaCl con 1 % de SDS más proteinasa K (10 mg/ml), la precipitación fue efectuada con NaCl (5 M) y finalmente se disolvió el ADN resultante en 50 µl de H<sub>2</sub>O destilada y autoclavada. Para cada extracción se utilizó un individuo completo. La tabla XX muestra los individuos utilizados, así como su correspondencia geográfica.

Se amplificaron cinco microsatélites descriptos para *Linepithema humile* (*Lhum-11*, *Lhum-19*, *Lhum-28*, *Lhum-33* y *Lhum-35*, Tsutsui *et al.* 2000). Las amplificaciones se llevaron a cabo para cada locus individualmente en un volumen de reacción de 12 µl conteniendo 40ng de DNA, 0.2mM de cada dNTP, 0.2 µM de cada primer reverso y marcado con M13 fluorescente (FAM, NED, o HEX), 0,015 µM de primer forward marcado con M13, 1XTaq buffer (750mM Tris-HCl, 200mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,1% (v/v) Tween 20), 2mM de MgCl<sub>2</sub> y 1.08 unidades de Taq polimerasa (Invitrogen). Cada primer forward fue marcado con una cola de M13 (5'-CACGACGTTGTAAAACGA-3') (Boutin- Ganache *et al.* 2001) para implementar el método de marcado universal con fluorescencia (Schuelke, 2000). Las condiciones de PCR consistieron en una desnaturalización inicial de 5 minutos a 94°C, seguida de 35 ciclos de 30 seg de desnaturalización a 94 °C, apareamiento por 30 seg a 56 °C y extensión por 30 seg a 72 °C, con una extensión final a 72 °C por 8 min. Los microsatélites fueron agrupados en un único multiplex para su genotipado.

Los genotipos fueron obtenidos en un secuenciador automático MegaBace 1,000 (GE Healthcare) y los fragmentos fueron analizados con el software MegaBACE Fragment Profiler 1.2 (Amersham Biosciences).

## A1.2. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos de las muestras de genotipadas fueron realizados por la Dra. Patricia Mirol, directora del Grupo de Genética y Ecología en Conservación y Biodiversidad (GECobi), Museo Argentino de Ciencias Naturales (MACN).

Se utilizó ARLEQUIN 3.5 (Excoffier *et al.* 2010, <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35/>) para evaluar las cantidades relativas de variación en cada población a través del cálculo de los índices de diversidad genética estándar: frecuencias alélicas, heterocigosidad observada y esperada.

La estructura poblacional se analizó bajo un contexto bayesiano con el programa STRUCTURE 2.3.3, a través del método propuesto por Pritchard *et al.* (2000). Se estimó el número de poblaciones y se asignó cada individuo a las mismas. Este método divide a los individuos muestreados en K grupos genéticos, independientemente de su ubicación geográfica, teniendo en cuenta solamente datos de genotipos multilocus. Dichos grupos son conformados con el fin de reducir al mínimo las desviaciones de Hardy-Weinberg y el desequilibrio de ligamiento dentro de cada agrupamiento. Mediante el uso del método de las cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), el programa estima la probabilidad posterior de que los datos se ajusten a la hipótesis de las K grupos. Además, el programa también calcula la probabilidad de pertenencia de cada individuo a cada agrupamiento (Q). Para obtener el valor de K que mejor se ajusta a los datos se realizaron una serie de corridas variando el valor de K de dos a treinta, utilizando un modelo de mezcla y frecuencias alélicas correlacionadas, tal como es sugerido por los autores del programa para poblaciones cercanamente relacionadas (Falush *et al.* 2003). Los valores de K se establecieron entre 1 y 8. Se efectuaron diez corridas independientes para cada valor de K. Se utilizaron 500.000 iteraciones como burn-in y las estimaciones se basaron en 1 x 10<sup>6</sup> iteraciones adicionales. Para seleccionar el número más probable de grupos genéticos (K), se utilizaron los métodos de Pritchard y Wen (2003) y Evanno *et al.* (2005). Debido a la proximidad geográfica de las localidades de muestreo, se utilizó un valor umbral para la asignación de los individuos a las poblaciones de Q = 0,7. La convergencia de las cadenas se comprobó al comparar los valores de los parámetros entre corridas del mismo K.

## A1.3. Resultados

**Tabla A1.1:** Alelos por grupo (A a D)

A	M33	M11	M35	M19	M28	N				
	120	37	140	10	130	4	174	20	191	1
	126	3	142	28	132	2	176	9	201	2
			142	5	178	1	205	3		
			146	1	180	6	217	12		
			148	4	182	4	223	1		
			150	14			245	4		
			152	2			247	3		
							251	1		
							253	2		

								255	2	
								263	3	
<b>B</b>	M33	M11	M35	M19	M28					
	118	2	140	49	120	1	168	6	193	14
	120	19	142	13	126	24	172	36	199	1
	122	18	144	2	130	2	174	14	201	5
	126	56	148	1	132	3	176	2	203	18
	128	3	150	4	134	2	178	18	205	1
			152	8	136	10	180	1	209	30
			154	9	138	19	182	6	211	4
			156	12	140	10	184	7	215	4
					144	7	186	8	217	15
					146	1			219	3
					150	2			221	1
					152	7			247	1
					154	1			249	1
					156	2				
					158	1				
<b>C</b>	M33	M11	M35	M19	M28					
	120	55	140	38	130	4	172	33	193	23
	122	24	142	8	132	1	176	7	195	1
	126	1	148	5	140	1	178	22	201	20
			150	4	144	24	180	12	215	7
			152	4	148	12	182	6	245	2
			154	10	150	8			247	12
			156	10	152	24			249	9
			158	1	168	6			251	1
									261	1
<b>D</b>	M33	M11	M35	M19	M28					
	120	10	140	3	126	2	182	17	203	2
	126	10	142	5	148	5	186	2	209	6
			144	3	150	4	188	1	213	1
			152	3	166	4			215	8
			154	5	184	1			217	1
			156	1	186	3			249	2
					188	1				

**Tabla A1.2:** Frecuencias alélicas por población

M33	A	B	C	D
<b>118</b>		2.04		
<b>120</b>	92.50	19.39	68.75	50.00
<b>122</b>		18.37	30.00	
<b>126</b>	7.50	57.14	1.25	50.00
<b>128</b>		3.06		
M11	A	B	C	D
<b>140</b>	26.32	50.00	47.50	15.00
<b>142</b>	73.68	13.27	10.00	25.00
<b>144</b>		2.04		15.00
<b>148</b>		1.02	6.25	

<b>150</b>		4.08	5.00	
<b>152</b>		8.16	5.00	15.00
<b>154</b>		9.18	12.50	25.00
<b>156</b>		12.24	12.50	5.00
<b>158</b>			1.25	
<b>M35</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>120</b>		1.09		
<b>126</b>		26.09		10.00
<b>130</b>	12.50	2.17	5.00	
<b>132</b>	6.25	3.26	1.25	
<b>134</b>		2.17		
<b>136</b>		10.87		
<b>138</b>		20.65		
<b>140</b>		10.87	1.25	
<b>142</b>	15.63			
<b>144</b>		7.61	30.00	
<b>146</b>	3.13	1.09		
<b>148</b>	12.50		15.00	25.00
<b>150</b>	43.75	2.17	10.00	20.00
<b>152</b>	6.25	7.61	30.00	
<b>154</b>		1.09		
<b>156</b>		2.17		
<b>158</b>		1.09		
<b>166</b>				20.00
<b>168</b>			7.50	
<b>184</b>				5.00
<b>186</b>				15.00
<b>188</b>				5.00
<b>M19</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>168</b>		6.12		
<b>172</b>		36.73	41.25	
<b>174</b>	50.00	14.29		
<b>176</b>	22.50	2.04	8.75	
<b>178</b>	2.50	18.37	27.50	
<b>180</b>	15.00	1.02	15.00	
<b>182</b>	10.00	6.12	7.50	85.00
<b>184</b>		7.14		
<b>186</b>		8.16		10.00
<b>188</b>				5.00
<b>M28</b>				
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>
<b>191</b>	2.94			
<b>193</b>		14.29	30.26	
<b>195</b>			1.32	
<b>199</b>		1.02		
<b>201</b>	5.88	5.10	26.32	
<b>203</b>		18.37		10.00
<b>205</b>	8.82	1.02		
<b>209</b>		30.61		30.00
<b>211</b>		4.08		
<b>213</b>				5.00
<b>215</b>		4.08	9.21	40.00
<b>217</b>	35.29	15.31		5.00
<b>219</b>		3.06		

221	1.02		
223	2.94		
245	11.76	2.63	
247	8.82	1.02	15.79
249	1.02	11.84	10.00
251	2.94	1.32	
253	5.88		
255	5.88		
261	1.32		
263	8.82		

**Tabla A1.3:** Heterocigosis de las muestras genéticas según supercolonia.

Población/ Supercolonia	Tamaño muestra	Loci	Heterocig. esperada	Het esp SD	Heterocig. observada	Het obs SD	Nro Alelos	Nro Alelos SD
A	20	5	0.5685	0.1310	0.4501	0.0519	5.40	3.78
B	49	5	0.7607	0.0462	0.5876	0.0316	10.00	4.00
C	40	5	0.6987	0.0656	0.6453	0.0340	6.60	2.51
D	10	5	0.6558	0.1118	0.5400	0.0705	4.80	2.17

**Tabla A1.4:** FST de a pares poblacionales

Distance method: No. of different alleles (FST)

	1	2	3	4
1	0.00000			
2	0.22470	0.00000		
3	0.19169	0.12986	0.00000	
4	0.26130	0.15795	0.21748	0.00000

**Tabla A1.5:** Valores p para FST

Número de permutaciones: 110

	1	2	3	4
1	*			
2	0.00000+-0.0000	*		
3	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	*	
4	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	0.00000+-0.0000	*

**Tabla A1.6:** Matriz valores p significativos para Fst  
Nivel de significancia = 0.0500

Número de permutaciones: 110

	1	2	3	4
1		+	+	+
2	+		+	+
3	+	+		+
4	+	+	+	

**Tabla A1.7:** Matriz de valores de M

	1	2	3	4
1				
2	1.72517			
3	2.10834	3.35035		
4	1.41350	2.66552	1.79903	

UN VALOR DE M MAYOR QUE 1 INDICA FLUJO SIGNIFICATIVO.

---

Equilibrio de Hardy Weinberg: valores significativos que tienen  $p < 0.05$ . Todos los grupos tienen al menos un microsatélite fuera del equilibrio. El locus 5 (m28) se desvía en casi todos los grupos, probablemente indique presencia de alelos nulos (que no se amplifican en el locus), pero los grupos A y B tienen otros desvíos.

=====  
 == Equilibrio de Hardy-Weinberg: (A)  
 =====

Referencia: Guo, S. y Thompson, E. 1992. Levene H. (1949).

Exact test using a Markov chain (for all Loci):

Forecasted chain length :100000

Dememorization steps :1000

Locus	#Genot	Obs.Het.	Exp.Het.	P-valor	s.d.	Pasos
1	20	0.15000	0.14231	1.00000	0.00000	100172
2	19	0.42105	0.39829	1.00000	0.00000	100172
3	16	0.50000	0.76815	0.01199	0.00023	100172
4	20	0.65000	0.68333	0.01140	0.00037	100172
5	17	0.52941	0.85027	0.00000	0.00000	100172

=====  
== Hardy-Weinberg equilibrium : (B)  
=====

Reference: *Guo, S. y Thompson, E. 1992.*  
*Levene H. (1949).*

Exact test using a Markov chain (for all Loci):  
Forecasted chain length :100000  
Dememorization steps :1000

Locus	#Genot	Obs.Het.	Exp.Het.	P- valor	s.d.	Pasos
1	49	0.32653	0.60699	0.00000	0.00000	100172
2	49	0.65306	0.70734	0.38602	0.00079	100172
3	46	0.65217	0.86001	0.00000	0.00000	100172
4	49	0.73469	0.79928	0.16459	0.00084	100172
5	49	0.57143	0.82979	0.00000	0.00000	100172

=====  
== Hardy-Weinberg equilibrium : (C)  
=====

Reference: *Guo, S. y Thompson, E. 1992.*  
*Levene H. (1949).*

Exact test using a Markov chain (for all Loci):  
Forecasted chain length :100000  
Dememorization steps :1000

Locus	#Genot	Obs.Het.	Exp.Het.	P-valor	s.d.	Pasos
1	40	0.47500	0.44272	0.81565	0.00116	100172
2	40	0.77500	0.73323	0.71472	0.00140	100172
3	40	0.67500	0.78892	0.28580	0.00090	100172
4	40	0.77500	0.72753	0.73069	0.00131	100172
5	38	0.52632	0.80105	0.00000	0.00000	100172

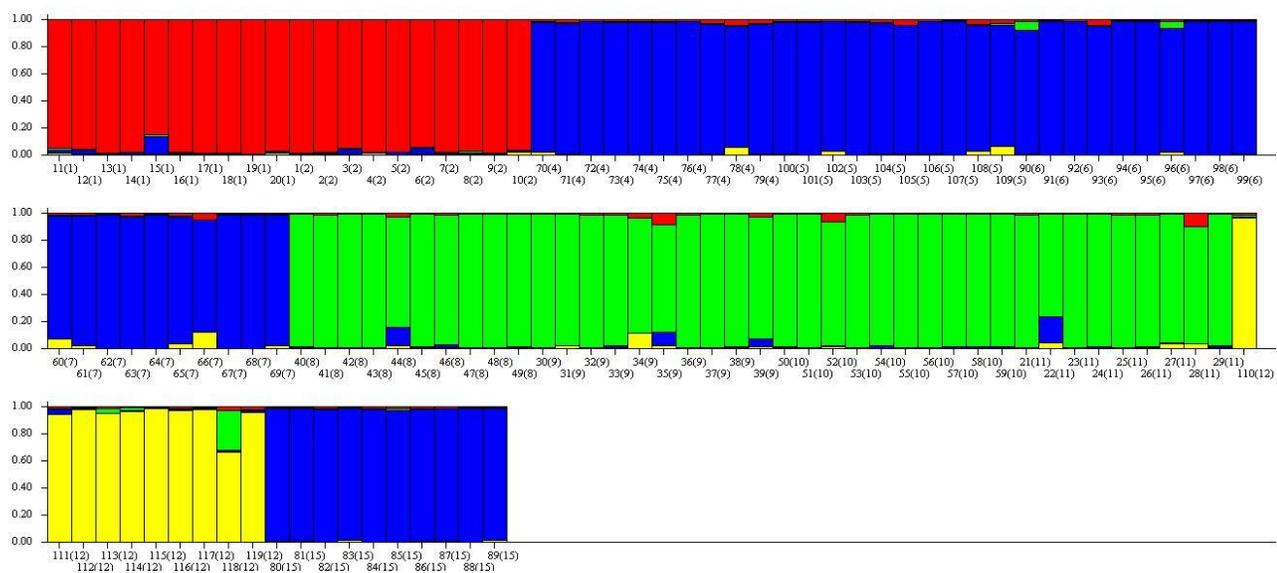
=====  
== Hardy-Weinberg equilibrium : (D)  
=====

Reference: *Guo, S. y Thompson, E. 1992.* *Levene H. (1949).*

Exact test using a Markov chain (for all Loci):  
 Forecasted chain length :100000  
 Dememorization steps :1000

Locus	#Genot	Obs.Het.	Exp.Het.	P- valor	s.d.	Pasos
1	10	0.40000	0.52632	0.56065	0.00155	100172
2	10	0.80000	0.84737	0.73154	0.00131	100172
3	10	0.70000	0.86316	0.00889	0.00037	100172
4	10	0.30000	0.27895	1.00000	0.00000	100172
5	10	0.50000	0.76316	0.05537	0.00059	100172

**Fig. A1.1:** Diagrama de barras mostrando la pertenencia de los 120 individuos a cada uno de los cuatro clusters de acuerdo a *STRUCTURE*



## A2. BIBLIOGRAFÍA UTILIZADA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE HORMIGAS.

- ANTWEB: <http://www.antweb.org/>  
ANTWIKI: <http://www.antwiki.org/>
- Arias-Penna, T. M., y Fernández, F. (2008). Subfamilia Heteroponerinae. Sistemática, biogeografía y conservación de las hormigas cazadoras de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, 109-117.
- Bolton, B., Alpert, G., Ward, P. S. y Naskrecki, P. (2007). Bolton's Catalogue of Ants of the World: 1758-2005. Harvard University Press.
- Brown Jr, W. L. (1962). The neotropical species of the ant genus *Strumigenys* Fr. Smith: Synopsis and keys to the species. *Psyche*, 69(4), 238-267.
- Bruch, C. (1919). Descripción de una curiosa ponerina de Córdoba. "*Discothyrea neotropica*" n. sp. *Physis*, 4, 400-402.
- Casadio, A., y Quirán, E. (1990). Contribución al conocimiento de los Formicidae (Insecta, Hymenoptera) en la Provincia de La Pampa II. *Revista de la Facultad de Agronomía, U. N. La Pampa*, 5(1), 129-134.
- Emery, C. (1888). Formiche della provincia di Rio Grande do Sùl nel Brasile, raccolte dal dott. Hermann von Ihering. *Bollettino della Società Entomologica Italiana*, 19, 352-366.
- Fowler, H. G. (1988). Taxa of the Neotropical grass-cutting ants, *Acromyrmex* (Moellerius) (Hymenoptera: Formicidae: Attini). *Cientifica, Sao Paulo* 16, 281-296.
- Gonçalves, C. R. (1961). O genero *Acromyrmex* no Brasil (Hym. Formicidae). *Studia Entomologica*, 4, 113-180.
- Jiménez, E., Fernández, F., Arias, T., y Lozano, F. (2008). Sistemática, Biogeografía y Conservación de las Hormigas Cazadores de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá, Colombia.
- Kempf, W. W. (1959). A synopsis of the New World species belonging to the *Nesomyrmex*-group of the ant genus *Leptothorax* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Studia*.
- Kempf, W. W. (1964). A revision of the Neotropical fungus-growing ants of the genus *Cyphomyrmex* Mayr. Part I. Group of *strigatus* Mayr (Hym., Formicidae). *Studia Entomologica*, 7, 1-44.
- Kempf, W. W. (1966). A revision of the Neotropical fungus-growing ants of the genus *Cyphomyrmex* Mayr. Part II. Group of *rimosus* (Spinola) (Hym. Formicidae). *Studia Entomologica*, 8, 161-200.
- Kempf, W. W. 1972. Catálogo Abreviado das Formigas da Região Neotropical (Hymenoptera: Formicidae). *Studia Entomologica*, 15, 3-344.
- Kusnezov, N. (1978). Hormigas Argentinas: Clave para su identificación. Edición preparada por R. Golbach, Fundación Miguel Lillo, Miscelánea, 61.
- Kusnezov, N. (1951). *Myrmelachista* en la Patagonia (Hymenoptera, Formicidae). *Acta Zoologica Lilloana* (Argentina), 11, 353-365
- Kusnezov, N. (1949). El género *Cyphomyrmex* (Hymenoptera, Formicidae) en la Argentina. *Acta Zoologica Lilloana*, 8, 427-456.

- Kusnezov, N. (1951). El género *Pogonomyrmex* Mayr (Hym., Formicidae). *Acta Zoologica Lilloana*, 11, 227-333.
- Kusnezov, N. (1952) El género *Pheidole* en la Argentina (Hymenoptera, Formicidae). *Acta Zoologica Lilloana*, 12, 2-88.
- Kusnezov, N. (1952). El género *Camponotus* en la Argentina (Hymenoptera, Formicidae). *Acta Zoologica Lilloana*, 12, 183-252.
- Kusnezov, N. (1952). El género *Wasmannia* en la Argentina (Hymenoptera, Formicidae). *Acta Zoologica Lilloana*, 10, 173-182.
- Kusnezov, N. (1957). Nuevas especies de hormigas (Hymenoptera, Formicidae). *Revista de la Sociedad Uruguaya de Entomología*, 2, 7-18.
- LaPolla, J. S. (2004). *Acropyga* (Hymenoptera: Formicidae) of the world. *Acropyga* (Hymenoptera: Formicidae) del mundo. *Contributions of the American Entomological Institute.*, 33(3), 1-130.
- Lattke, J. y Goitia, W. (1997). El género *Strumigenys* (Hymenoptera: Formicidae) en Venezuela. *Caldasia*, 19, 367-396.
- Lattke, J. E. (1991). Studies of Neotropical *Amblyopone* Erichson (Hymenoptera: Formicidae). *Estudios de los Amblyopone Erichson neotropicales* (Hymenoptera: Formicidae). *Contributions in Science* (Los Angeles). (428), 1-7.
- Lattke, J. E. (1997). Revisión del Género *Apterostigma* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Arquivos Zoología Sao Paulo*, 34, 121-221.
- Lattke, J. E., Fernández, F., Arias-Penna, T. M., Palacio, E. E., Mackay, W., y Mackay, E. (2007). Género *Gnamptogenys* Roger. Subfamilia Ectatomminae, Sistemática, biogeografía y conservación de las hormigas cazadoras de Colombia. *Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt*. Bogotá, 53-107.
- Lattke, J., y Goitia, W. (1997). El género *Strumigenys* (Hymenoptera: Formicidae) en Venezuela. *Caldasia*, 19(3), 367-396.
- MacKay, W. P., y Vinson, S. B. (1989). *A guide to species identification of New World ants* (Hymenoptera: Formicidae). California State University.
- Mackay, W., y Mackay, E. (2004). *The ants of North America*. Centennial Museum, Laboratory for Environmental Biology, The University of Texas, El Paso. [www. utep. edu/leb/antgenera. htm](http://www.utep.edu/leb/antgenera.htm) (6 April 2004).
- Mayhé-Nunes, A. J. y Brandão, C. R. F. (2002). Revisionary studies on the attine ant genus *Trachymyrmex* Forel. Part 1: Definition of the genus and the opulentus group (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 40, 667-698.
- Mayhé-Nunes, A. J., y Brandão, C. R. F. (2005). Revisionary studies on the attine ant genus *Trachymyrmex* Forel. Part 2: The Iheringi group (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*, 45, 271-305.
- Mayhé-Nunes, A. J., y Brandão, C. R. F. (2007). Revisionary studies on the attine ant genus *Trachymyrmex* Forel. Part 3: The Jamaicensis group (Hymenoptera: Formicidae). *Zootaxa*, 1444, 1-21.
- Pacheco, J. A., Mackay, W. P., y Lattke, J. (2013). *The systematics and biology of the New World thief ants of the genus Solenopsis* (Hymenoptera: Formicidae). Ceredigion (UK: Edwin Mellen Press).

- Pitts, J. P. (2002). A cladistic analysis of the *Solenopsis saevissima* species-group (Hymenoptera: Formicidae). Tesis doctoral, Universidad de Georgia, EUA.
- Quirán, E. M. (2005). El género Neotropical *Brachymyrmex* Mayr, 1868 (Hymenoptera: Formicidae) en la Argentina. II. Redescripción de las especies, *B. admotus* Mayr; *B. brevicornis* Emery y *B. gaucho* Santschi. Neotrop. Entomol., 34, 761-768.
- Quirán, E. M. (2007). El género *Brachymyrmex* Mayr en la Argentina. III. Redescripción de *B. aphidicola* Forel, *B. australis* Forel y *B. constrictus* Santschi. Neotrop. Entomol., 36, 699-706.
- Quirán, E., y Casadio, A. (1994). Aportes al conocimiento de Formicidae (Hymenoptera) de La Pampa, Argentina. Revista de la Sociedad Entomologica Argentina, 53 (1-4), 100.
- Quirán, E., y Casadio, A. (1995). Aportes al conocimiento de Formicidae de la Provincia de La Pampa. II. Revista de la Facultad de Agronomía, U. N. La Pampa 8 (2), 101.
- Quirán, E. M., Martínez, J. J., y Bachmann, A. O. (2004). El género *Brachymyrmex* Mayr en la Argentina. I. Acta Zoologica Mexicana, 20(1), 273-285.
- Quirán, E. M., y Martínez, J. J. (2006). Primera cita de *Myrmelachista gallicola* (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) de la provincia de La Pampa (Argentina) y redescripción de la obrera. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 65 (3-4): 89-92.
- Taber, S. W. (1998). The world of the harvester ants. Texas A & M University Press, College Station.
- The Ants of North America - William and Emma Mackay Centennial Museum, Laboratory for Environmental Biology, The University of Texas, El Paso, TX  
<http://www.utep.edu/leb/antgenera.htm>
- Trager, J. C. (1991). A revision of the fire ants, *Solenopsis* geminata group (Hymenoptera: Formicidae, Myrmicinae). Journal of the New York Entomological Society, 99, 141-198.
- Ward, P. S. (1999). Systematics, biogeography and host plant associations of the *Pseudomyrmex viduus* group (Hymenoptera: Formicidae), *Triplaris* and *Tachigali* inhabiting ants. Zoological Journal of the Linnean Society, 126(4), 451-540.
- Weber, N. A. (1939). New ants of rare genera and a new genus of ponerine ants. Annals of the Entomological Society of America, 32(1), 91-104.
- Wild, A. L. (2007). A catalogue of the ants of Paraguay (Hymenoptera: Formicidae). Zootaxa, 1622, 1-55.
- Wild, A.L. (2002). The genus *Pachycondyla* (Hymenoptera: Formicidae) in Paraguay. Boletín del Museo Nacional de Historia Natural del Paraguay, 14, 1-18.
- Wild, A.L. (2007). Taxonomic revision of the ant genus *Linepithema* (Hymenoptera: Formicidae). University of California Publications in Entomology, 126, 1-159.
- Wilson, E.O. (2003). *Pheidole* in the New World. A dominant, hyperdiverse ant genus. Harvard University Press, Cambridge, MA.