

PEDECIBA
AREA BIOLOGÍA
SUBAREA ECOLOGÍA y EVOLUCIÓN

El rol de la aptitud y el aprendizaje en la toma de decisiones durante el forrajeo en hormigas cortadoras

Autor: Lic. Mateo García

Orientador: Dr. Martín Bollazzi

Co- orientador: Dr. Flavio Roces

Tribunal:

Dr. Alejandro Brazeiro

Dr. Ciro Invernizzi

Dr. Anita Aisenberg

Noviembre 2015

Tabla de contenidos

RESUMEN	3
INTRODUCCION.....	4
¿Cómo organizan el trabajo los insectos sociales?	4
Toma de decisiones durante el forrajeo en hormigas cortadoras.....	7
El rol de la aptitud en la decisión de cortar o cargar en hormigas cortadoras.....	10
Hipótesis	11
Objetivos.....	12
CAPITULO I: MANIPULACIÓN DE LA APTITUD PARA CORTAR.....	13
METODOLOGÍA	17
Experimento 1: Manipulación del desgaste.....	17
Experimento 2: Manipulación de la fuerza de corte.....	21
RESULTADOS	23
Experimento 1: Manipulación del desgaste.....	23
Experimento 2: Manipulación de la fuerza de corte.....	25
Manipulación de la aptitud para cortar	26
CAPITULO II: APRENDIZAJE DURANTE LA TAREA DE CORTE	27
METODOLOGÍA	28
RESULTADOS	32
DISCUSIÓN	36
Manipulación de la aptitud.....	36
Aprendizaje durante la tarea de corte.....	40
CONCLUSIONES.....	43
PERSPECTIVAS.....	43
Manipulación experimental de la aptitud para cortar.....	43
Fidelidad de la tarea.....	44
Duración del aprendizaje asociativo	45
Modelo de auto reforzamiento	45
BIBLIOGRAFÍA.....	46
AGRADECIMIENTOS	53

RESUMEN

En hormigas cortadoras la actividad de forrajeo puede dividirse en dos eventos principales: cortar, y cargar. Existen obreras que tienden a cortar y otras que tienden a cargar. Se planteó que la decisión entre cortar y cargar depende, entre otros factores, de la aptitud para realizar la tarea de corte, la cual depende del desgaste de las mandíbulas y la fuerza de corte. Además, la elección del material a forralear depende de la capacidad de aprendizaje de las obreras. De este modo, se espera que en condiciones de aptitud reducida las hormigas eviten cortar y pasen a cargar, no solo por ser menos eficientes en la realización de dicha tarea sino porque ocurra un proceso de aprendizaje que condicione futuras decisiones.

El primer objetivo de este trabajo fue manipular experimentalmente ambos factores de la aptitud, el desgaste de las mandíbulas y la fuerza de corte, a fin de determinar individualmente el efecto que tiene cada uno sobre la decisión de cortar en hormigas de *Acromyrmex lundii*. Para realizarlo, se comparó la probabilidad de que una obrera sea cortadora o cargadora entre hormigas con la aptitud para cortar disminuida y hormigas aptas. Se demostró que hormigas con mandíbulas gastadas tienden a cargar en lugar de cortar. Asimismo, hormigas con fuerza de corte reducida cargaron en lugar de cortar. Esto implica que la probabilidad de realizar una tarea depende de la aptitud para realizarla.

El segundo objetivo fue determinar si las obreras eran capaces de aprender a asociar una clave olfativa al éxito o fracaso durante el corte y posteriormente tomar decisiones basadas en dicho aprendizaje. Se entrenaron colonias de *A. lundii* para que sus obreras asocien un olor al éxito durante el corte y otro olor al fracaso al cortar. Se determinó que las hormigas son capaces de llevar a cabo un aprendizaje asociativo entre claves olfativas y el éxito o fracaso durante el corte y posteriormente evitar el sustrato impregnado con el olor que asociaron a la imposibilidad de cortar. Esta capacidad de aprendizaje seguramente se haya fijado como un mecanismo para evitar hojas potencialmente dañinas para las obreras así como para su hongo simbionte.

En este trabajo se demuestra empíricamente que la aptitud para cortar está compuesta del desgaste de las mandíbulas así como de la fuerza de corte. El es primer trabajo en utilizar la hipoxia como método para manipular la aptitud y el primer trabajo en reportar un aprendizaje asociativo entre el éxito o fracaso al realizar una tarea y una clave olfativa

INTRODUCCION

¿Cómo organizan el trabajo los insectos sociales?

Los insectos sociales se definen en base a tres características: el cuidado de los juveniles por parte de los adultos, el solapamiento de generaciones y la división del trabajo (Hölldobler and Wilson 1990a). La eficiente división del trabajo es considerada una de las principales características que favoreció el éxito ecológico que los insectos sociales presentan actualmente (Hölldobler and Wilson 1990a; Waibel et al. 2006). A lo largo del proceso de entendimiento de cómo los insectos sociales organizan su trabajo, históricamente se han utilizados dos enfoques principales: división del trabajo y partición de tareas. La división del trabajo se focaliza en los individuos y las tareas que realizan. La partición de tareas en cambio, hace foco en las tareas en sí mismas y cómo estas son divididas entre las obreras. En otras palabras, la división del trabajo es la división de las obreras en las diferentes tareas llevadas a cabo por la colonia mientras que la partición de tareas es la división de una tarea concreta entre diferentes obreras (Hart, Anderson, and Ratnieks 2002)

Uno de los aspectos más destacables de la división del trabajo es su plasticidad, propiedad que se logra a través de la gran flexibilidad comportamental de cada obrera de la colonia (Bonabeau et al. 1997; Campos et al. 2001). Esto es importante ya que la división del trabajo a nivel colonia surge como consecuencia de la sumatoria de cada una de las decisiones tomadas a nivel individual por cada obrera y no producto de un control central que la regule (Beshers and Fewell 2001; Roces and Bollazzi, 2009).

Existen dos patrones generales, no excluyentes, en la organización del trabajo en insectos sociales: polietismo temporal o patrones comportamentales correlacionados con la edad; y el polietismo morfológico en el cual la forma y tamaño de las obreras se relaciona con su eficiencia en las tareas. El polietismo temporal está ampliamente distribuido en los insectos sociales y se compone de un patrón general por el cual obreras más jóvenes típicamente realizan tareas en el interior del nido mientras que las más viejas realizan tareas externas como el forrajeo y la defensa (Robinson 1992). Con respecto al polietismo morfológico, el patrón general parecería ser que los tamaños más extremos tienen comportamientos más específicos

así como repertorios comportamentales mas limitados (Oster and Wilson 1978). Sin embargo, hay que tener en cuenta que mucha de la variación en las tareas realizadas por las obreras ocurre independientemente de su edad o morfología (Bourke and Franks 1995; Beshers and Traniello 1996) . Por ejemplo las obreras de colonias de abejas compuestas por una sola cohorte (es decir por obreras todas de la misma edad) logran cubrir todo el repertorio de tareas de la colonia (Robinson et al. 1989). Además, a medida que cambian las demandas de trabajo en una colonia las obreras demuestran tener una gran flexibilidad comportamental por lo que la división del trabajo a nivel colonia reside en la decisión individual de cada obrera. Dicha decisión puede estar afectada por (i) factores internos, si derivan de factores genéticos, neuronales, hormonales, y la experiencia, (ii) factores externos si se desprenden de la interacción de la obrera con el ambiente, (iii) la interacción de ambos tipos de factores (Beshers and Fewell 2001).

Aparte de los dos tipos de polietismos mencionados se han planteado diversos modelos por los cuales los insectos sociales organizan su trabajo. Entre los más aceptados se encuentran el modelo de umbrales de respuesta, el “foraging for work” y el modelo de auto-reforzamiento. El primero plantea que cada obrera posee un umbral de respuesta diferente según la tarea. La variación de los diferentes umbrales entre las obreras es lo que genera la división del trabajo a nivel colonia. Asume que el estado por defecto de una obrera es permanecer inactiva, sin intentar realizar ninguna tarea y que por ende las tareas se llevan a cabo solo cuando el estímulo supera al umbral de respuesta. Según este modelo cuando un individuo realiza una tarea disminuye el estímulo para el resto de las obreras, ya que las obreras pueden percibir la necesidad de que una tarea sea realizada al encontrarse por azar con la misma o a través de la transferencia social de la información (Brunner, D’Ettorre, and Heinze 2002; Fürst, Durey, and Nash 2012). “Foraging for work” es un modelo que afirma que las tareas de la colonia están distribuidas espacialmente de manera lineal como si fuera una línea de producción. El *input* de una tarea es el *output* de otra, entonces la oportunidad de realizar una tarea depende de la actividad de las obreras que se encuentran antes en la línea de producción. De este modo, la zona en la cual una obrera busca tareas depende de i) cuantas veces no consiga una tarea en la zona en que se encuentra, ii) el número relativo de obreras realizando una tarea anterior en la

línea de producción y iii) la disponibilidad de tareas en zonas posteriores a su sitio en la línea de producción (Franks and Tofts 1994).

El modelo de auto-reforzamiento en cambio, propone que el desempeño exitoso en la realización de una tarea aumenta la probabilidad de volver a realizar esa misma tarea nuevamente, mientras que un desempeño no exitoso reduce la probabilidad de repetirla. Este mecanismo puede explicar el desarrollo de obreras especialistas en diferentes tareas a partir de individuos de edad, tamaño y genética similares. En otras palabras, la experiencia puede actuar como un factor condicionante de la organización del trabajo en insectos sociales. De hecho, Ravary et al. (2007) probaron que obreras de *Cerapachis biroi* con experiencias negativas durante el forrajeo (poco exitosas encontrando alimento), tienden a disminuir la probabilidad de salir a forrajear mientras que aquellas obreras que tuvieron experiencias positivas son más propensas a continuar realizando dicha tarea. Esto demuestra la importancia de la experiencia durante la actividad de forrajeo.

La actividad de forrajeo, es decir la colecta y transporte de material para consumo de la colonia, es una tarea fundamental ya que existiría una correlación entre la eficiencia de forrajeo de la colonia y su *fitness* (Roces and Bollazzi, 2009). Los insectos sociales son interesantes para estudiar temas relacionados al forrajeo ya que tienen la peculiaridad de que sus estrategias de forrajeo no buscan ser óptimas a nivel individual sino a nivel colonia. De este modo por ejemplo, durante la fase de inicio del forrajeo, hormigas de *Acromyrmex heyeri* retornan descargadas al nido, sacrificando su tasa de entrega individual, a fin de transmitir información más rápido para que la colonia pueda monopolizar el recurso (Bollazzi and Roces 2011).

Si bien muchos trabajos de forrajeo en insectos sociales son realizados en abejas melíferas, las hormigas cortadoras también son un modelo estudiado por varias razones. Primero, constituyen uno de los grupos de herbívoros más importantes de Sudamérica (Mueller and Rabeling 2008; Wirth et al. 2013). En este sentido Coley & Barone (1996) estimaron que las hormigas cortadoras son responsables del 75% del consumo de hojas en selvas tropicales. Segundo, las hormigas cortadoras parecen contradecir la teoría de forrajeo óptimo en ciertas ocasiones. Esta teoría predice que los organismos siempre intentan maximizar la adquisición de energía en un período de tiempo corto y con el menor costo posible (Pyke, Pulliam, and

Charnov 1977). Las hormigas cortadoras sin embargo, suelen dejar de forrajear un recurso cuando aún no ha sido agotado e incluso viajan largas distancias para forrajear un ejemplar de una especie de planta teniendo otro ejemplar de la misma especie más próximo (Cherrett 1968, 1989). Tercero, las hormigas cortadoras comparten con algunas especies de termitas y de escarabajos el hábito de cultivar y alimentarse de hongos, dependiendo en forma obligada del cultivo de su hongo simbionte para alimentarse (Weber 1966; Hölldobler and Wilson 1990a; Wirth et al. 2013). Aunque las obreras cubren el 90% de su demanda energética alimentándose de la savia de las plantas que cortan (Littleddyke and Cherrett 1976), el hongo representa la única fuente de alimento para los juveniles y larvas (Quinlan and Cherrett 1979; Bass and Cherrett 1995). Por ende las hormigas cortadoras son herbívoros polívoros que cortan vegetales en pequeños fragmentos, que luego son transportados al nido para ser utilizados como sustrato para su hongo simbionte (Weber 1966; Hölldobler and Wilson 1990a). Su interacción con el hongo hace que las decisiones que tomen durante el forrajeo no solo estén condicionadas por las preferencias individuales de las obreras sino también por las del hongo. Además, las hormigas cortadoras presentan la ventaja metodológica que en condiciones de laboratorio se pueden observar fácilmente todas las actividades que realizan durante el forrajeo y por ende, todas las decisiones que toman pueden ser cuantificadas.

Toma de decisiones durante el forrajeo en hormigas cortadoras

Las hormigas cortadoras están constantemente enfrentadas a la necesidad de tomar decisiones durante el forrajeo. Una obrera al encontrarse con un recurso adecuado debe decidir si vale la pena comunicar acerca de él al resto de la colonia o no. Si la fuente es atractiva, la obrera a su retorno deja un rastro químico a su paso que servirá como señal para las demás obreras. Este comportamiento se conoce como reclutamiento y es sabido que aumenta la tasa de forrajeo de la colonia (Roces 2002).

Una vez que la obrera determina que el recurso es atractivo para la colonia y decide cortarlo debe decidir de qué tamaño cortará el fragmento. Al cortar las hormigas anclan sus patas traseras al borde de la hoja y cortan formando un arco pivoteando en torno a ésta,

usando su cuerpo a modo de compás (Figura 1). Cada hemimandíbula tiene un movimiento distinto, una avanza y es fijada a la hoja, mientras que la otra es arrastrada hacia la primera, cortando el tejido a modo de tijera. Por ende se podría esperar que el tamaño del fragmento se corresponda con el tamaño de la hormiga (Weber 1972). Sin embargo, hay evidencia de que las obreras no siempre cortan fragmentos del máximo tamaño que su cuerpo les permitiría, implicando que la decisión acerca del tamaño del fragmento es más compleja. Si bien fragmentos pequeños implicarían coleccionar menos alimento, fragmentos más grandes significan un tiempo de corte mayor así como una velocidad de transporte menor, disminuyendo la tasa de forrajeo de la obrera. Entre otros factores, la distancia al nido (Roces 1990a) así como la densidad del material cortado (Burd 1996; Roces and Hölldobler 1994) afectan el tamaño del fragmento. Además, al forrajear la hormiga no solamente entrega alimento sino también información a la colonia, existiendo un compromiso entre la tasa de entrega de cada uno. Obreras de *Acromyrmex lundii* cortan fragmentos más pequeños y retornan a mayor velocidad al enfrentarse a fuentes de alimento de mayor calidad (Roces 2002) para poder transmitir la información del recurso más eficientemente a la colonia.



Figura 1. Obrera de *Acromyrmex* spp cortando un fragmento de hoja. Se observa como ancla una pata trasera al borde de la hoja y corta formando un arco pivoteando en torno a ésta, usando su cuerpo a

modo de compás. De este modo, el tamaño máximo de fragmento que pueden cortar está determinado por su tamaño corporal. Foto: Alex Wild (www.alexanderwild.com).

La elección sobre qué especie de planta forrajear es también compleja. En condiciones de campo, las hormigas cortadoras muestran una fuerte preferencia por dos o tres especies de plantas pero continúan forrajear varias otras especies en menor medida (Rockwood 1976). Producto de que los fragmentos forrajeados son incorporados al hongo simbiote y no consumidos directamente por las obreras (que consumen savia) es esperable que surjan conflictos en cuanto a la elección de las plantas a forrajear. Por un lado, las obreras podrían preferir recursos que aseguren el mayor crecimiento posible del hongo simbiote sin importar las características energéticas de su savia. Por otro lado, la elección podría estar basada en el retorno energético inmediato para las obreras. Para entender la resolución de este conflicto es necesario saber qué tipo de información utilizan las obreras durante el forrajeo. La elección de las plantas que las hormigas cortadoras de hojas consumen está influenciada por varios factores incluyendo el contenido de agua, carbohidratos y aminoácidos (Meyer, Roces, and Wirth 2006), dureza de las hojas (Nichols-Orians and Schultz 1989), el estado nutricional de la colonia (Littleddyke and Cherrett 1975) y la presencia de compuestos secundarios volátiles emitidos por las plantas en respuesta a la herbivoría (Thiele et al. 2014). A fin de entender hasta qué punto esta elección de las plantas a forrajear está mediada por la interacción entre hormigas y el hongo, se realizaron experimentos en los cuales a cebos experimentales se les añadió un fungicida inerte para las hormigas (cicloheximida). Al ser indetectable para las hormigas, solo después de que el cicloheximida entraba en contacto con el hongo y causaba su muerte, las hormigas desempeñaban el comportamiento conocido como rechazo tardío por el cual las hormigas aprenden a rechazar cualquier material que contenga sustancias dañinas para el hongo (Ridley, Howse, and Jackson 1996). Este comportamiento sugiere que la capacidad de aprendizaje es un factor determinante que afecta la toma de decisiones durante el forrajeo en hormigas cortadoras. Si bien el fenómeno de rechazo tardío ha sido bien estudiado y se conoce bastante acerca del aprendizaje de las obreras mediado por su interacción con el hongo, poco

se sabe acerca de otros aspectos del aprendizaje de las obreras durante el forrajeo. Más específicamente, se desconoce si durante la actividad de corte ocurre un proceso de aprendizaje que condicione las futuras decisiones de la hormigas durante el forrajeo.

Finalmente, si tenemos en cuenta que las dos principales tareas durante el forrajeo en hormigas cortadoras son cortar y cargar, las obreras deberán decidir cuál de esas dos tareas desempeñar. Como se mencionó anteriormente, no existe consenso sobre los mecanismos por los cuales las hormigas toman decisiones acerca de las tareas que realizan. Si apelamos al modelo de auto reforzamiento podríamos hipotetizar que aquellas obreras que tengan experiencias positivas respecto a la actividad de corte van a continuar realizando esa tarea mientras que las que experimenten fracasos al cortar van a abandonarla. La probabilidad de ser exitoso o fracasar al realizar una tarea va a depender de diversos factores pero principalmente de la aptitud del individuo para realizarla. De este modo, la decisión de cortar o cargar debería depender de la aptitud que tiene una obrera para realizar dichas tareas.

El rol de la aptitud en la decisión de cortar o cargar en hormigas cortadoras

Es importante tener en cuenta que entre cortar y cargar, la tarea de corte representa una mayor demanda energética para la obrera. Cargar en cambio es energéticamente mucho menos costoso que cortar (Roces and Lighton 1995). Debido a esto, se espera que la presión que la aptitud ejerza actúe más fuertemente sobre la decisión de cortar que sobre la decisión de cargar.

Schofield et al. (2011) propusieron que la aptitud para realizar la tarea de corte en hormigas cortadoras estaba determinada fundamentalmente por el desgaste de las mandíbulas de las obreras. Demostraron que se necesita el doble de fuerza y el doble de tiempo para cortar la misma hoja con mandíbulas gastadas que con mandíbulas prístinas, y que alcanzado un determinado nivel de desgaste, la actividad de corte no es energéticamente favorable para la colonia. Basados en este resultado, los autores postularon que la actividad de corte será principalmente realizada por aquellas hormigas cuyas mandíbulas se encuentren en buen estado. Posteriormente sin embargo, García and Bollazzi (2012) realizaron un estudio

comparativo del nivel de desgaste de las mandíbulas de hormigas que retornaban cargadas y descargadas al nido en dos especies de hormigas cortadoras con diferente fuerza de mordida: *Acromyrmex lundii* y *Acromyrmex heyeri*. Tras cuantificar el nivel de desgaste de las mandíbulas de hormigas que retornaban cargadas y descargadas al nido en ambas especies (Figura 2), se determinó que el desgaste de las mandíbulas afecta la probabilidad de volver cargada en la especie con menor fuerza de mordida (*A. lundii*) pero no en la de mayor fuerza de mordida (*A. heyeri*) (Figura 3). Una mayor fuerza de mordida podría llegar a compensar el desgaste de las mandíbulas implicando que la aptitud para realizar el corte está compuesta tanto por el desgaste de las mandíbulas como por la fuerza de mordida. De este modo, experimentos que manipulen independientemente el desgaste de las mandíbulas como la fuerza de mordida permitirían asignar causalidad y distinguir los efectos de ambos factores sobre la decisión de cortar o cargar en hormigas cortadoras. Se espera que en condiciones de aptitud reducida las hormigas eviten cortar y pasen a cargar, no solo por ser menos eficientes en la realización de dicha tarea sino porque ocurra un proceso de aprendizaje asociativo durante el corte que condicione futuras decisiones.

Hipótesis

(i) La reducción de la aptitud para cortar reduce la probabilidad de que las obreras realicen esa tarea y por ende decidan cargar un fragmento en lugar de cortarlo.

(ii) Las hormigas cortadoras de hojas son capaces de aprender a asociar un estímulo al éxito o fracaso durante el corte y en función de ello decidir qué sustrato forrajear posteriormente.

Objetivos

- 1) Manipular experimentalmente ambos factores de la aptitud para cortar, i) el desgaste de las mandíbulas y ii) la fuerza de corte, a fin de determinar el efecto que tiene cada uno sobre la decisión que toman las obreras entre cortar y cargar un fragmento en hormigas de *A. lundii*.
- 2) Determinar si las obreras son capaces de aprender a asociar estímulos al éxito o fracaso durante la tarea del corte y posteriormente decidir en base a dicho aprendizaje qué sustrato forrajear.

CAPITULO I: MANIPULACIÓN DE LA APTITUD PARA CORTAR

Los herbívoros pequeños, como los insectos, sufren más el desgaste de sus “herramientas”, como las mandíbulas o los dientes, ya que éstas poseen un área mucho menor que en los herbívoros de mayor tamaño (Schofield, Nesson, and Richardson 2002). Para el caso de las hormigas cortadoras, el desgaste de las mandíbulas (Figura 2), producto de su intenso uso durante la actividad de forrajeo, representa un importante detrimento en la eficiencia de forrajeo (Schofield et al. 2011) y en última instancia, en el *fitness* de la colonia, ya que existiría una correlación entre la eficiencia de forrajeo de la colonia y su *fitness* (Roces and Bollazzi, 2009).

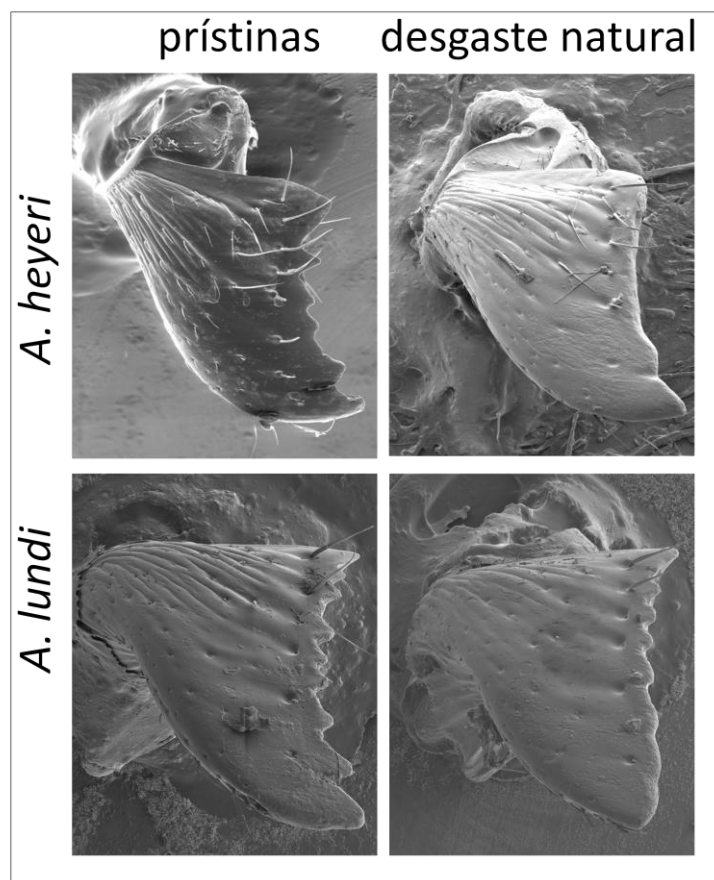


Figura 2. Microscopía electrónica de barrido de mandíbulas de obreras de dos especies de hormigas cortadoras: *Acromyrmex heyeri* (arriba) y *Acromyrmex lundii* (abajo) en condiciones prístinas (izquierda) y gastadas (derecha) encontradas en caminos de forrajeo en condiciones de campo. Fotos: Martín Bollazzi.

García and Bollazzi (2012) realizaron un estudio comparativo del nivel de desgaste de las mandíbulas de hormigas que retornaban cargadas y descargadas al nido en dos especies de hormigas cortadoras con diferente fuerza de mordida: *A. lundii* y *A. heyeri* (Figura 3). *A. lundii* forrajea principalmente monocotiledóneas (hojas) mientras que *A. heyeri* muestra especialización en gramíneas (pastos) (Bucher and Montenegro 1974). Como se ha determinado que, en comparación con las hojas de dicotiledóneas, las hojas de gramíneas C3 son aproximadamente 3 veces más duras y las de gramíneas C4 aproximadamente 6 veces más duras (Bernays 1991), las hormigas cortadoras de pastos deberían tener más fuerza de corte en las mandíbulas que las hormigas cortadoras de hojas. De hecho, se ha demostrado que *A. heyeri* posee una relación masa cefálica/masa total mayor que *A. lundii* (Montes, 2010). Una cabeza más grande significa, además de un mayor volumen absoluto del músculo aductor, una mayor proporción del volumen cefálico ocupado por éste, lo que en definitiva se traduce en una mayor fuerza de mordida (Paul 2001). García and Bollazzi (2012) cuantificaron el desgaste de las mandíbulas de hormigas que retornaban cargadas y descargadas al nido y obtuvieron que las obreras de *A. lundii* que vuelven cargadas poseen mandíbulas más prístinas, mientras que las hormigas que vuelven descargadas poseen mandíbulas más gastadas. En *A. heyeri* no se encontraron diferencias entre hormigas con o sin carga (Figura 3). Se plantea que *A. heyeri* compensaría el desgaste de las mandíbulas con una mayor fuerza de mordida. Estos resultados sugieren que la aptitud para realizar el corte posee al menos dos componentes, el estado de la mandíbula y la fuerza de mordida, y por ende la aptitud condiciona la actividad de corte.

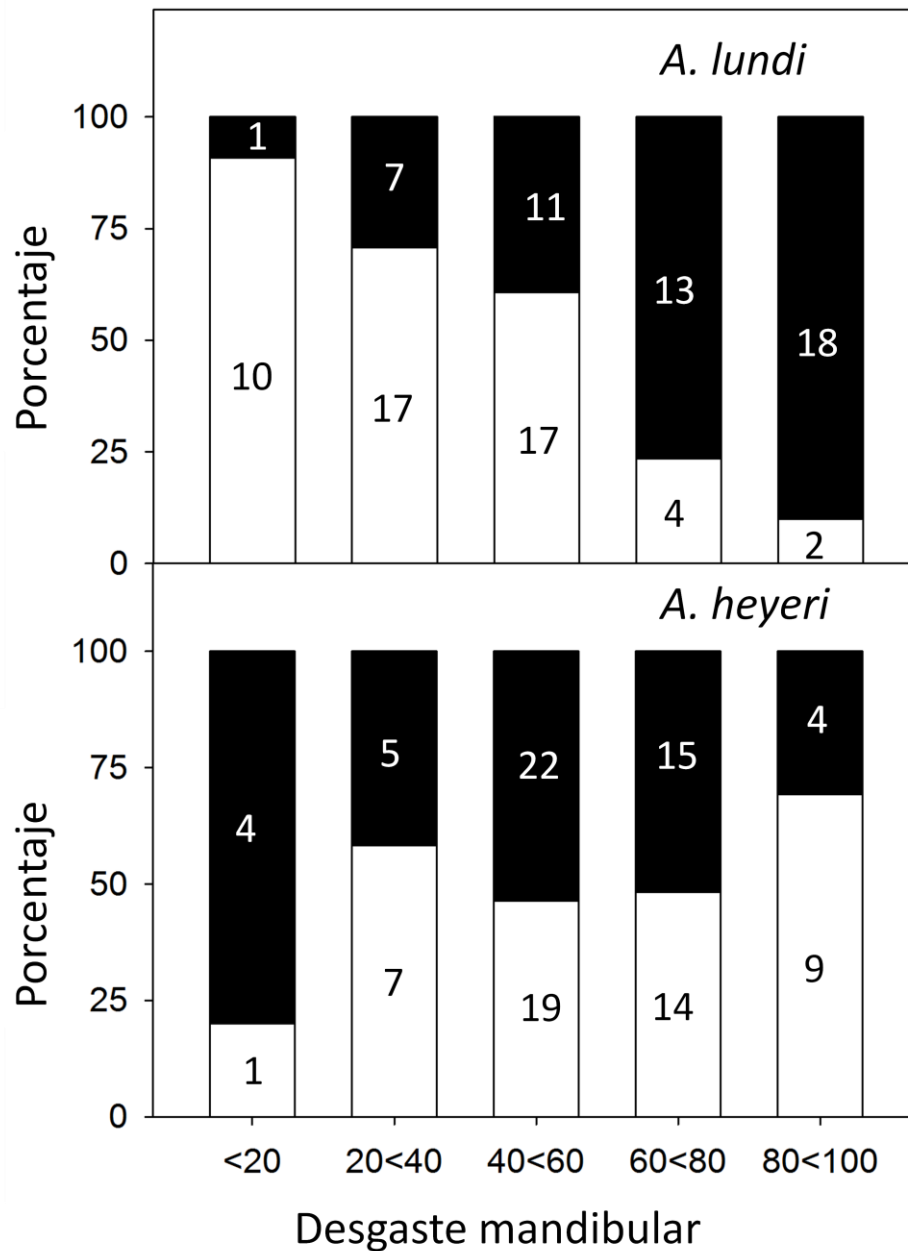


Figura 3. Porcentaje de hormigas cargadas (blanco) y descargadas (negro) en caminos de *A. lundii* y *A. heyeri* en función del desgaste mandibular. Los valores dentro de las columnas indican la cantidad de obreras cargadas y descargadas en cada categoría. Para el caso de *A. lundii* las hormigas con mandíbulas más gastadas tienden a volver descargadas al nido mientras que las hormigas con mandíbulas más prístinas vuelven cargadas ($p < 0.01$). Para el caso de *A. heyeri* no se registraron diferencias significativas entre el estado de las mandíbulas de las hormigas que vuelven al nido descargadas en relación a las que vuelven cargadas ($p > 0.05$).

No obstante, el trabajo de García and Bollazzi (2012) no puede establecer que exista una relación de causalidad entre el desgaste de las mandíbulas y la decisión de corte ya que (i) se trata de un muestreo en condiciones de campo y (ii) la decisión de cortar no fue evaluada directamente sino que fue evidenciada a través del retorno con o sin carga desde el sitio de forrajeo. Para efectivamente establecer que el desgaste de las mandíbulas afecta la probabilidad de realizar la tarea de corte, es necesario realizar experiencias en las cuales se manipule experimentalmente el desgaste mandibular y cuantificar su efecto directamente sobre la decisión de cortar o cargar.

Sin embargo, manipular el desgaste de las mandíbulas es solo una parte de la manipulación de la aptitud de corte. También es necesario manipular experimentalmente la fuerza de corte. La presencia de oxígeno es fundamental para la generación de ATP (adenosin trifosfato) (Harrison et al. 2006). Por ende, menos oxígeno disponible (hipoxia) se traduce en una disminución de la energía que un individuo tiene disponible. Existen numerosas adaptaciones que hacen a los insectos resistentes a la hipoxia permitiéndoles mantener la postura y la capacidad de respuesta aún a concentraciones de oxígeno muy bajas (Schmitz and Harrison 2004). Sin embargo, en ambientes hipóxicos es esperable que pierdan las funciones energéticamente mas demandantes. Como se mencionó anteriormente la actividad de corte es la actividad energéticamente más costosa durante el forrajeo en hormigas cortadoras. Roces and Lighton (1995) reportan un incremento de 31 veces la tasa metabólica basal durante el corte en *Atta sexdens rubropilosa*. En ambientes hipóxicos (5% de oxígeno) las hormigas se comportan normalmente pero tienen dificultades para llevar a cabo la tarea del corte (*com. pers.* Flavio Roces). Utilizando la disminución de la concentración de oxígeno como una forma de disminuir la fuerza de corte es esperable entonces que hormigas en ambientes hipóxicos prefieran cargar fragmentos que en condiciones normales cortarían.

En suma, de la hipótesis (i) que plantea que una reducción de la aptitud para realizar la tarea de corte va a reducir la probabilidad de que la obrera realice esa tarea, se desprenden las siguientes predicciones: (a) en relación a las hormigas con mandíbulas normales, un menor número de hormigas con mandíbulas desgastadas artificialmente cortará y la mayoría pasarán a

cargar, y (b) hormigas que se encuentren en un ambiente hipóxico preferirán cargar en lugar de cortar.

Para testear estas predicciones, se comparó la probabilidad de ser cortadora o cargadora en (a) hormigas con mandíbulas desgastadas artificialmente versus hormigas control y (b) hormigas en ambiente hipóxico (5% de oxígeno) versus hormigas en ambiente normal (21% de oxígeno).

METODOLOGÍA

Experimento 1: Manipulación del desgaste

Desgaste de las mandíbulas

Los experimentos fueron realizados en el Departamento de Fisiología Comportamental y Sociobiología de la Universidad de Würzburg, Alemania, entre enero y marzo de 2014. Se trabajó con cuatro colonias de *Acromyrmex lundii*, de 3-6 años de edad, colectadas en Uruguay y Argentina, mantenidas en condiciones de laboratorio desde hace varios años a 25°C con un ciclo 12:12 horas de luz/oscuridad.

Para determinar el efecto del desgaste de las mandíbulas sobre la división del trabajo en hormigas cortadoras y cargadoras, se les aumentó artificialmente el desgaste mandibular (método detallado más adelante) a hormigas individualizadas y se comparó la probabilidad de cortar o cargar un fragmento entre hormigas manipuladas y sin manipular según el tamaño del fragmento ofrecido. Fragmentos de 3, 4 y 5 cm de largo por 0.4 cm de ancho de hojas de mora (*Rubus* sp.) fueron ofrecidos a las obreras presentes en el área de forrajeo. Las hormigas podían levantar los fragmentos y transportarlos al nido o cortarlos en fragmentos más pequeños antes de transportarlos.

Cortar fragmentos a fin de ajustar el tamaño del mismo en relación al tamaño de la obrera aumenta la tasa de forrajeo ya que mejora su maniobrabilidad durante el transporte (Lighton et al. 1987). Por lo tanto, se espera que obreras con mandíbulas prístinas corten los

fragmentos antes de transportarlos mientras que obreras con mandíbulas desgastadas carguen el fragmento sin cortarlo.

El día previo a los experimentos, al menos 20 obreras observadas cortando fueron extraídas de la colonia y obligadas a morder una lima circular (Figura 4) que al ser mordida era sutilmente rotada de modo tal que desgastara los dientes del borde masticatorio de las mandíbulas (Figura 4). Luego de la manipulación las obreras eran inspeccionadas bajo lupa para verificar que no hubieran sufrido mayores daños que el desgaste de sus dientes, individualizadas con pintura de color y aisladas en una cámara separada por al menos 15 minutos antes de ser reintroducidas a la colonia. Se comprobó que la obrera presentaba comportamiento y capacidad locomotora normal. Al otro día, se ofreció a la colonia 10 fragmentos de cada tamaño y se registró si los mismos eran levantados o si eran cortados antes de ser transportados por hormigas manipuladas y sin manipular. Inmediatamente después de que una hormiga cortaba o levantaba un fragmento, la misma era colectada y sacrificada por congelamiento a -14°C durante 24 horas para luego cuantificar el grado de desgaste de sus mandíbulas.

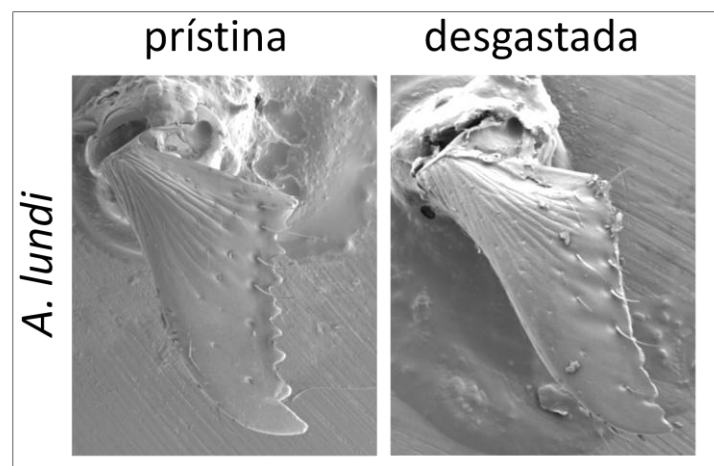


Figura 4. Arriba: obrera durante el proceso de desgaste de sus mandíbulas. Foto: Patchi Jaso. Abajo: microscopía electrónica de barrido de mandíbulas de hormigas diferentes de *Acromyrmex lundii* antes (izquierda) y después (derecha) de aumentarle el desgaste artificialmente. Fotos: Martín Bollazzi.

Cuantificación del desgaste mandibular

Para controlar que efectivamente existieran diferencias entre el desgaste de las mandíbulas manipuladas y no manipuladas se procedió a cuantificar el desgaste de las mandíbulas de las hormigas colectadas. El desgaste de las mandíbulas de las hormigas colectadas fue determinado mediante una comparación con mandíbulas absolutamente prístinas provenientes de hormigas recién salidas del estadio de pupa (que no habían utilizado

sus mandíbulas aún). Estas hormigas (n=6) fueron colectadas de colonias encontradas en el campo, en el interior del nido, en una posición de inactividad e incluso todavía con restos de hifa del hongo simbiote. A todas las hormigas se les extrajo las mandíbulas las cuales fueron montadas en lupas para fotografiarlas y posteriormente medirlas. El desgaste (Z) se calculó como la relación entre el perímetro total formado por todos los dientes del borde masticatorio (P) y el largo del borde masticatorio si estuviera ausente de dientes (L), expresado como P/L (Figura 5). El desgaste mandibular de las obreras colectadas se obtuvo dividiendo su desgaste (Z) entre el desgaste promedio de las mandíbulas prístinas (Z_p) y transformándolo en términos de porcentaje ($Mw = (1 - Z/Z_p) * 100$). Mw por ende es una variable continua entre 0 y 100 siendo 0 el caso de mandíbulas prístinas y tiende a 100 a medida que aumenta el desgaste mandibular.

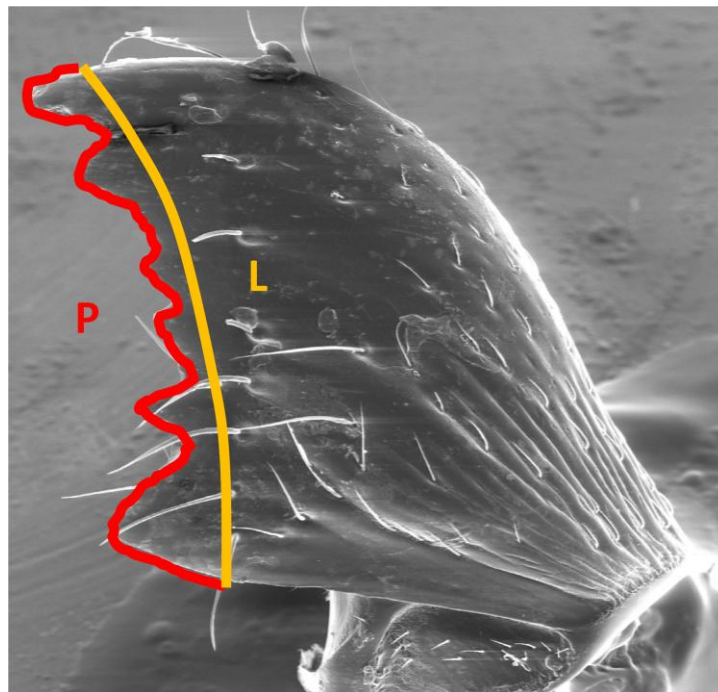


Figura 5. Microscopía electrónica de barrido de una mandíbula de una obrera de *Acromyrmex* spp: (P) perímetro total formado por todos los dientes del borde masticatorio, (L) largo del borde masticatorio si estuviera ausente de dientes. Fotografía: Martín Bollazzi.

Análisis estadístico

Para verificar si el cambio en la proporción de hormigas que cortaban y cargaban era estadísticamente diferente a la proporción de hormigas que cortaron y cargaron luego de la manipulación se realizaron tests de G para cada categoría de tamaño, testeando contra la hipótesis nula de una relación 1:1 entre cortadoras y cargadoras.

Experimento 2: Manipulación de la fuerza de corte

Los experimentos fueron realizados en el Departamento de Fisiología Comportamental y Sociobiología de la Universidad de Würzburg, Alemania, entre enero y marzo de 2014. Se trabajó con una colonia de *Acromyrmex lundii*, de 3-6 años de edad, colectada en Uruguay, mantenida en condiciones de laboratorio desde hace varios años a 25°C con un ciclo 12:12 horas de luz/oscuridad.

A fin de determinar el efecto de la fuerza de corte sobre la decisión entre cortar y cargar, se comparó la probabilidad de cortar o cargar un fragmento de hojas de mora (*Rubus* sp.) de 4 x 0.4 cm en un ambiente hipóxico (con 5% de oxígeno en el aire) con respecto a un ambiente normal (con 21% de oxígeno en el aire). Para generar el ambiente hipóxico se crearon cámaras de forrajeo (150 cm³ aproximadamente) que contaban con dos pequeñas aberturas: por una se introducía el aire hipóxico que circulaba a través de cámara y salía por la otra abertura generándose de este modo un flujo de aire que aseguraba un ambiente hipóxico (Figura 6). La experiencia control consistía en comparar la probabilidad de cortar y cargar en la misma cámara de forrajeo con el mismo flujo de aire, en este caso aire con 21% de oxígeno.

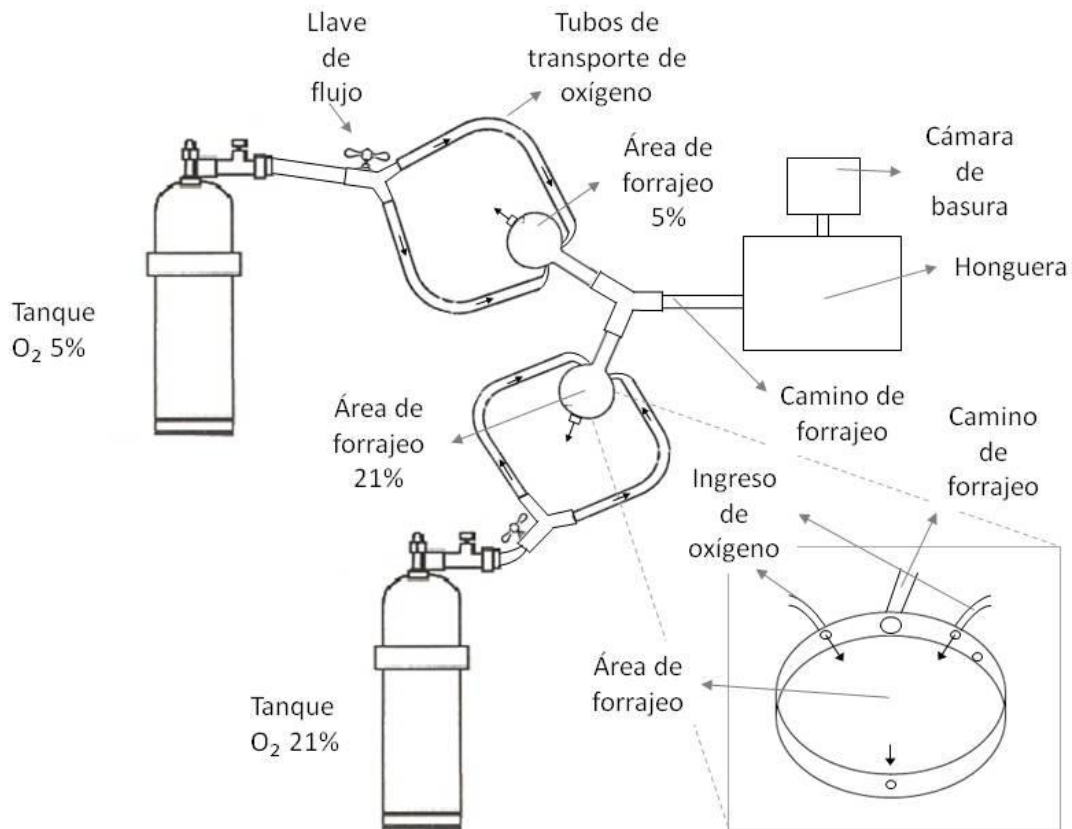


Figura 6. Representación esquemática del set experimental armado para manipular experimentalmente la fuerza de mordida de las obreras al someterlas a ambientes hipóxicos (5% de oxígeno en el aire).

Análisis estadístico

Para verificar si el cambio en la proporción de hormigas que cortaban y cargaban en ambientes con 5% de oxígeno era estadísticamente diferente a la proporción de hormigas que cortaron y cargaron en ambientes con 21% de oxígeno, se realizaron tests de G, testeando contra la hipótesis nula de una relación 1:1 entre cortadoras y cargadoras, entre los diferentes ambientes.

RESULTADOS

Experimento 1: Manipulación del desgaste

Tras cuantificar el desgaste de las mandíbulas de las hormigas que intervinieron en el experimento se verificó que efectivamente existieron diferencias entre el desgaste de las mandíbulas de hormigas manipuladas y no manipuladas. Menos de 5% de las hormigas no manipuladas poseían mandíbulas gastadas y 1% de las hormigas manipuladas poseían mandíbulas prístinas.

Durante el experimento, según el tamaño de fragmento ofrecido, intervinieron: tamaño pequeño, 111 obreras (51 manipuladas y 60 sin manipular); tamaño medio, 154 obreras (50 manipuladas y 104 sin manipular); y tamaño grande 96 obreras (35 manipuladas y 61 sin manipular).

En hormigas no manipuladas, es decir con mandíbulas prístinas, aumenta la probabilidad de corte a medida que aumenta el tamaño del fragmento. Como es de esperar, fragmentos pequeños son mayormente transportados sin necesidad de cortarlos previamente mientras que fragmentos grandes suelen ser cortados antes de transportarlos. Para el caso de los fragmentos de tamaño medio no existen diferencias entre la probabilidad de cortarlos antes de transportarlos o simplemente recogerlos y transportarlos. En otras palabras, los fragmentos de tamaño medio, la mitad de las veces son cortados y la otra mitad son simplemente cargados ($p > 0.05$; Figura 7).

En hormigas manipuladas, es decir con mandíbulas desgastadas, hay un leve aumento en la probabilidad de corte a medida que aumenta el tamaño del fragmento pero las obreras nunca llegan a preferir cortar antes que cargar ($p > 0.05$; Figura 7).

Si comparamos la proporción de hormigas que cortan/cargan entre hormigas manipuladas y hormigas control se obtuvo diferencias significativas para los tamaños medios y grandes de fragmento efectivamente existe un cambio en la proporción de hormigas que cortan/cargan entre hormigas manipuladas y hormigas control (tamaño medio, $p = 0.01$ *;

tamaño grande, $p= 7.8 \times 10^{-4}$). Para los fragmentos pequeños la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p= 0.257$).

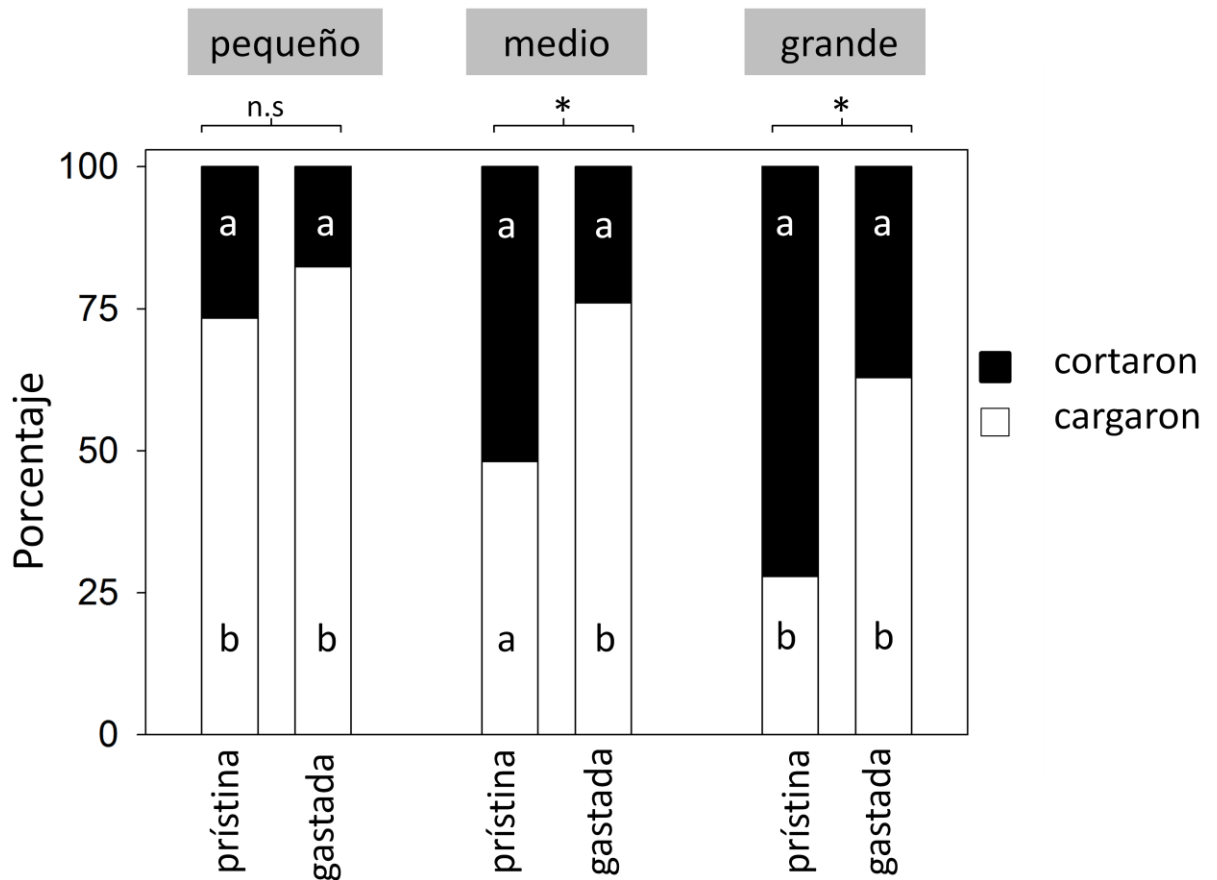


Figura 7. Respuesta de obreras de *A. lundii* (blanco: cargaron, negro: cortaron) dependiendo del estado de sus mandíbulas (prístinas: sin manipular; desgastadas: manipuladas experimentalmente) y el tamaño del fragmento. Dentro de cada columna, los porcentajes estadísticamente diferentes se representan con letras diferentes (Test G). Dentro de cada categoría de tamaño, el (*) indica que la proporción de hormigas que cortan/cargan es estadísticamente diferente entre obreras con mandíbulas prístinas y desgastadas, mientras que (n.s) indica que dichas proporciones no difieren entre sí.

En definitiva, al aumentarles artificialmente el desgaste de las mandíbulas, las obreras de *A. lundii* cortaron menos que con mandíbulas prístinas.

Experimento 2: Manipulación de la fuerza de corte

Se realizaron 6 experiencias control (con flujo de aire con 21% de oxígeno) en los cuales intervinieron 38 obreras. Se realizaron 4 experiencias en ambientes hipóxicos (5% de oxígeno) en las cuales intervinieron 21 obreras.

Se obtuvo que en ambientes con 21% de oxígeno las obreras no mostraron preferencias entre cortar y cargar ($p > 0.05$; Figura 8). Esto se corresponde con los resultados obtenidos para hormigas con mandíbulas prístinas al forrajear fragmentos del mismo tamaño (4 x 0.4 cm) que tampoco mostraron preferencia por realizar una tarea sobre la otra (Figura 7). Sin embargo, en ambientes hipóxicos las obreras cargaron mucho más de lo que cortaron ($p < 0.01$; Figura 8).

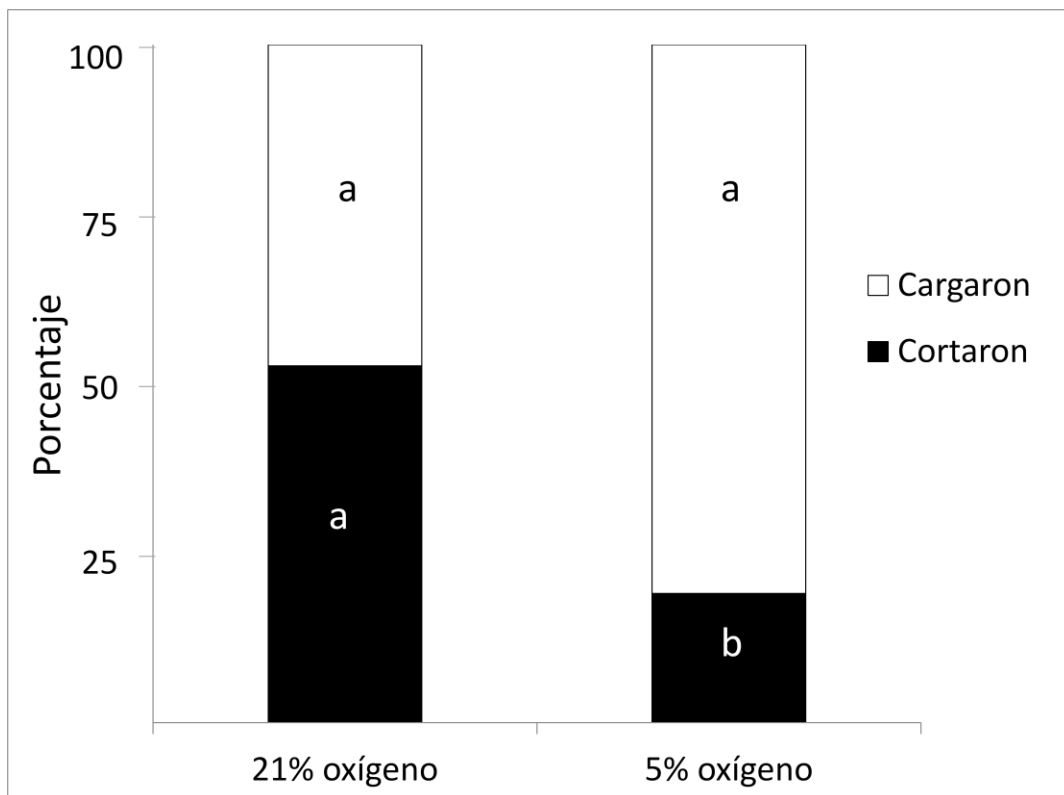


Figura 8. Preferencias mostradas por las obreras entre la tarea de cortar (negro) y cargar (blanco) en atmósferas con 21% y 5% de oxígeno. Dentro de cada columna, los porcentajes estadísticamente diferentes se representan con letras diferentes.

Si bien no se pudo verificar el estado de las mandíbulas de las hormigas que intervinieron en este experimento, como se mencionó anteriormente, se determinó que en las colonias experimentales utilizadas menos del 5% de las hormigas poseían mandíbulas con un nivel de desgaste tal que impida la actividad de corte. De este modo existe una probabilidad menor a 0.05 que en condiciones de hipoxia una hormiga no corte debido a tener las mandíbulas gastadas y no producto de la reducción de su fuerza de corte. Si consideramos que intervinieron 21 hormigas durante las experiencias en ambientes hipóxicos, es esperable que solo una hormiga tenga las mandíbulas gastadas lo cual no modifica los resultados obtenidos. De este modo, se puede afirmar que hormigas en un ambiente hipóxico prefirieron cargar en lugar de cortar.

Manipulación de la aptitud para cortar

Tanto la manipulación del desgaste de las mandíbulas como la manipulación de la fuerza de corte aumentaron la probabilidad de que la obrera decida cargar en lugar de cortar. Esto implica que (i) la aptitud para la tarea de corte efectivamente está compuesta al menos por el desgaste de las mandíbulas y la fuerza de corte y que (ii) la aptitud para cortar es un factor determinante en la decisión entre cortar y cargar en obreras de *A. lundii*.

CAPITULO II: APRENDIZAJE DURANTE LA TAREA DE CORTE

El aprendizaje constituye un cambio en el comportamiento de los individuos producto de su experiencia (Shettleworth 1994). Los insectos son buenos modelos para estudiar el aprendizaje debido a su plasticidad comportamental y a que es posible diseñar experimentos en los cuales tanto los individuos como los estímulos sean adecuadamente controlados (Dupuy et al. 2006). En hormigas por ejemplo, se ha demostrado que existe aprendizaje acerca de la orientación y navegación espacial (Wehner 2003; Durier, Graham, and Collett 2004) y temporal (Harrison and Breed 1987) de un ambiente. Más específicamente, hormigas cortadoras aprenden a evitar sustratos que son dañinos para su hongo simbionte a través de un proceso llamado rechazo tardío (Saverschek et al. 2010; Saverschek and Roces 2011). De este modo sabemos que la elección del material a forrajear depende de la capacidad de aprendizaje de las obreras. Tanto la capacidad de aprendizaje (Saverschek et al. 2010; Saverschek and Roces 2011) como la aptitud para realizar una tarea (demostrado en el capítulo I de este trabajo) son factores que afectan las decisiones que las obreras toman durante el forrajeo. Sin embargo, ¿es posible que dichas decisiones también se vean afectadas por la interacción entre ambos factores? Es decir, ¿es la obrera capaz de establecer sus futuras elecciones del sustrato a forrajear en base a un aprendizaje asociativo entre un estímulo y el éxito durante el corte?

Para evaluar la capacidad de aprendizaje de un organismo es necesario asociar un cambio comportamental a una clave o estímulo ya que el aprendizaje es un proceso que no es posible observar directamente pero sí a través de sus efectos (Thorpe 1963). Las claves olfativas son fundamentales en la mayoría de los aspectos de la vida de las hormigas como la comunicación y el reconocimiento entre obreras, la defensa de la colonia, y durante forrajeo (Dupuy et al. 2005). De hecho, obreras de *A. lundii* utilizan el olor del alimento forrajado por otras obreras como clave para basar su elección (Roces 1990b, 1994). Por ende, un olor parecería ser un buen estímulo para asociar con un cambio comportamental en hormigas cortadoras.

A fin de verificar la segunda hipótesis de este trabajo que plantea que obreras de *Acromyrmex lundii* son capaces de aprender a asociar un estímulo al éxito o fracaso durante el

corte, se entrenaron colonias de *A. lundii* para que sus obreras asocien un olor al éxito y otro olor al fracaso durante la tarea de corte. Se predice que obreras entrenadas para asociar el fracaso durante el corte a un olor determinado, en futuras ocasiones, evitarán cortar fragmentos que contengan dicho olor.

METODOLOGÍA

Los experimentos fueron realizados en el Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Agronomía, UdelaR, entre marzo y julio de 2015. Se trabajó con 4 colonias de *A. lundii*, de 2-3 años de edad, colectadas en Uruguay, mantenidas en condiciones de laboratorio a 25°C con un ciclo 12:12 horas de luz/oscuridad.

Se entrenaron 4 colonias de *A. lundii* para que sus obreras asocien el éxito o fracaso respecto a la tarea de corte a olores determinados. El poder o no poder cortar, estaba determinada por la dureza del material ofrecido. Se trabajó con un papel, de una dureza tal que las obreras no lo podían cortar (4.4 g/cm³) y parafilm blando que sí (0.1 g/cm³). Tanto el papel como el parafilm fueron ofrecidos en forma de fragmentos (40 x 4 mm) sujetos a bases de cartón mediante alfileres para evitar que las hormigas se lleven el fragmento sin cortarlo. Una vez que las hormigas cortaban, se les retiraba el fragmento antes de llegar al nido para evitar que el mismo entrara en contacto con el hongo. Los fragmentos eran distribuidos en la zona de forrajeo asegurándose que fragmentos duros y blandos quedaran mezclados pero sin ningún patrón espacial determinado (Figura 9).

Para inducir a las hormigas a cortar el material artificial ofrecido los fragmentos fueron impregnados con uno o con otro de dos olores diferentes, naturales, conocidos y atractivos para las hormigas: avena y naranja. Para impregnar los materiales con olor, los mismos eran dejados 24 horas en un recipiente cerrado con jugo de naranja o avena teniendo la precaución que el material nunca estuviese en contacto directo con el jugo o la avena para evitar que le queden restos que generen diferencias en su atractividad para las hormigas.

Los experimentos fueron realizados en secuencias semanales donde se realizaban experiencias control en el primer día, tres días de entrenamientos, al cuarto día un test (test 1) y otro entrenamiento y finalmente el quinto día otro test nuevamente (test 2).

Control: las experiencias control se realizaban para verificar si la avena y la naranja presentan diferencias en su atractividad para las hormigas. Para ello, durante una hora se les brindó fragmentos de parafilm (cortables) con olor a avena y naranja (10 fragmentos de cada olor), y se registró la cantidad de cortes que realizaron de cada olor durante una hora.

Entrenamiento: el objetivo de los entrenamientos era que las hormigas aprendieran que un olor particular estaba asociado a la imposibilidad de cortar mientras que el otro olor se asociaba con el éxito durante el corte. En otras palabras se buscaba condicionar a las obreras a que un olor indicaba la posibilidad de corte mientras que el otro la imposibilidad de hacerlo. Para lograrlo, se les ofreció fragmentos de papel duro y parafilm impregnados cada uno con un olor asignado al azar (Figura 9). De este modo, si el papel duro tenía olor a avena y el parafilm olor a naranja, la avena pasaría a ser el “olor duro” mientras que la naranja el “olor blando”. A partir de ahora se hará referencia a los olores como “olor duro” y “olor blando” porque, a modo de control, no siempre se utilizó el mismo olor como “olor duro” u “olor blando”, sino que se fue alternando entre colonias e incluso en la misma colonia en el tiempo, cuál era el “olor duro” y cuál era el “olor blando”. De este modo, definimos “olor duro” como aquel olor, sea avena o naranja, con que durante los entrenamientos se impregnaba el papel duro y que las hormigas asociaban con la imposibilidad de cortar y “olor blando” como el olor asociado durante los entrenamientos se impregnaba al parafilm, blando y cortable. Los entrenamientos entonces constaban de brindar papel duro con “olor duro” y parafilm con “olor blando” hasta que las hormigas aprendieran justamente que en el caso del “olor duro” no lo podían cortar y en el caso del “olor blando” si lo podían cortar. Las sesiones de entrenamiento duraban tres horas y se realizaron dos sesiones por día.

Tests: los tests constaban de darles 10 fragmentos de parafilm con “olor duro” al mismo tiempo que se les brindaba 10 fragmentos de parafilm con “olor blando” por un lapso de tiempo de una hora (Figura 9). Durante los tests se registró la cantidad de fragmentos cortados de parafilm de cada olor y el tiempo hasta que una hormiga realizaba el primer corte de cada olor. Es importante tener en cuenta que los fragmentos de parafilm no difieren en nada salvo su olor. Además, la única diferencia entre un control y un test es que entre ambos hay sesiones de

entrenamiento. De encontrarse diferencias en la cantidad de fragmentos que cortan de cada olor, estas diferencias deberían responder al aprendizaje ocurrido durante el entrenamiento.

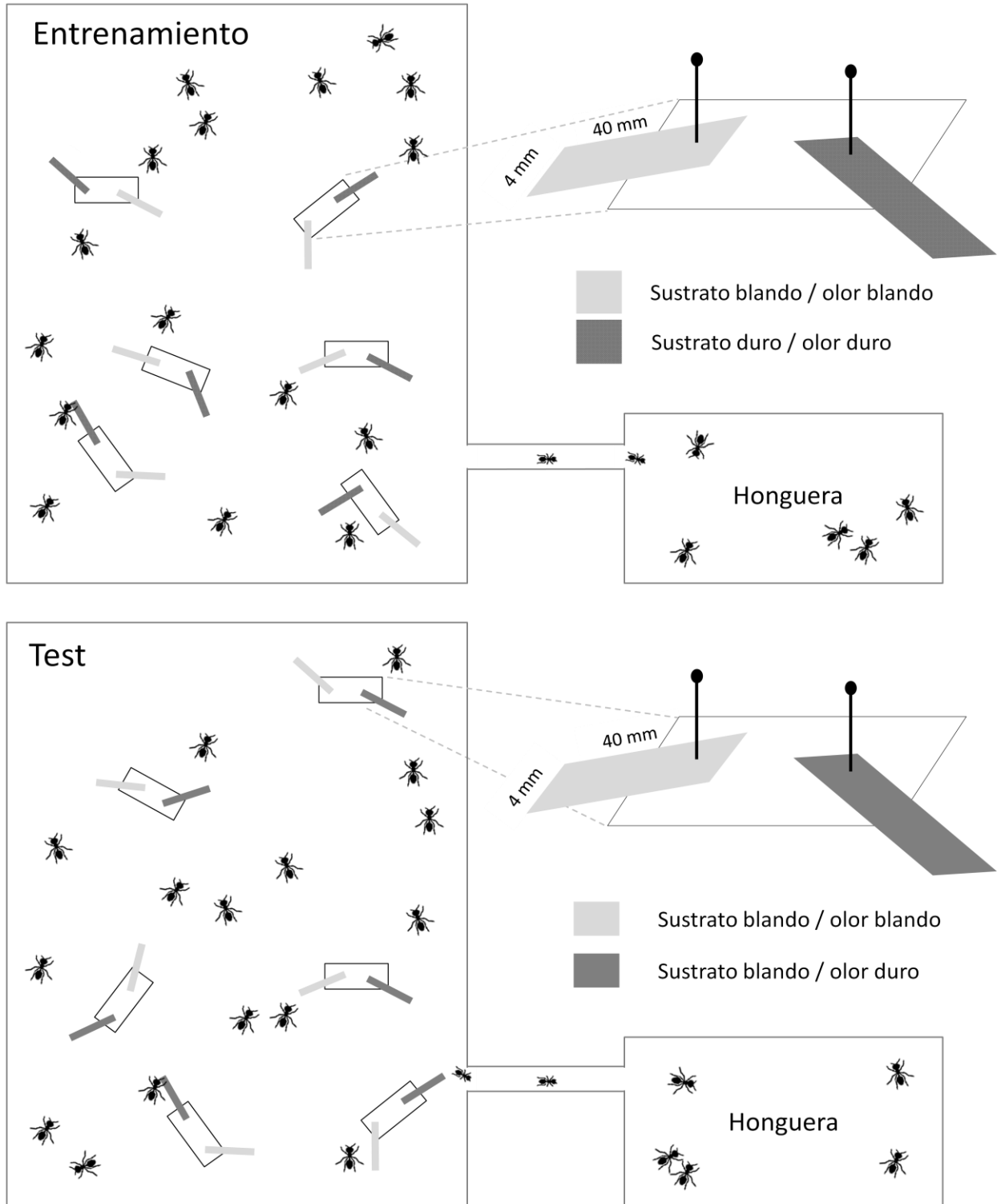


Figura 9. Representación esquemática del experimento de aprendizaje acerca de la aptitud.

Análisis estadístico

Para analizar los datos, tanto de cantidad de fragmentos cortados como del tiempo del primer corte, para cada variable de respuesta se generó un modelo general lineal mixto de medidas repetidas. Efectos fijos: dureza del material (variable discreta: duro o blando) y experimento realizado (variable discreta: control, test); efectos aleatorios: subcolonia. En ambos casos la función de conexión del modelo fue ajustada mediante una distribución binomial negativa. Para el caso de la variable “cantidad de fragmentos cortados”, primero se formuló un modelo (m1) considerando a test 1 y test 2 como experiencias diferentes pero al ver la similaridad de los resultados obtenidos entre ambos tests se probó otro modelo (m1.1) agrupando los datos de test 1 y test 2 bajo la categoría test. Esto no es conceptualmente equivocado ya que test 1 y test 2 eran experimentalmente idénticos. De la comparación de los modelos se obtuvo que ambos son estadísticamente equivalentes (ANOVA(m1,m1.1) $p = 0.543$) y por el criterio de Akaike Information Criteria se optó por m1.1 (AIC m1 = 511.98, AIC m2= 509.21). Se realizó lo mismo para el “tiempo del primer corte” (m2 con datos de test 1 y test 2 separados y m2.1 con los datos de ambos tests agrupados) y se obtuvo lo mismo (ANOVA (m2,m2.1) $p= 0.225$; AIC m2= 402.72, AIC m2.1= 401.71) por lo que en ambos casos se trabajó con los datos de test 1 y test 2 agrupados.

RESULTADOS

Se registraron datos de la cantidad de obreras que cortaron y cargaron de cada olor en 27 tests y 15 experiencias control. Los datos del tiempo hasta el primer corte fueron tomados durante los 27 tests.

En este trabajo se utilizaron dos materiales diferentes impregnados con dos olores diferentes. Por ende, se debe demostrar que los resultados no sean producto de los diferentes materiales, ni olores, empleados. El primer control, el del material utilizado, está contemplado por el diseño experimental. Si bien durante los entrenamientos las colonias estaban expuestas a dos materiales diferentes, durante los tests, el material empleado era el mismo. Los fragmentos

de parafilm ofrecidos durante los test son idénticos excepto por su olor. Para demostrar que los resultados no se deben a los diferentes olores utilizados se determinó que la avena y la naranja tienen la misma atractividad para las colonias de *A. lundii* empleadas ya que durante los controles (parafilm con olor a avena y naranja previo a los entrenamientos) no se presentan preferencias entre la cantidad de fragmentos cortados de avena y naranja (Figura 10. $p = 0.496$). Otro aspecto del control de los olores utilizados está dado por el hecho de que avena y naranja fueron asignados al azar como olor duro y olor blando entre las diferentes colonias y a veces en la misma colonia en el tiempo, es decir que en algunas colonias avena significaba “olor duro” mientras que para otras “olor blando”.

Se determinó que durante los tests las hormigas prefirieron cortar menos el sustrato impregnado con aquel olor que durante los entrenamientos asociaron a la imposibilidad de cortar (Figura 10. $p = 1e-06$) Aproximadamente el 70% de los fragmentos cortados durante los tests poseían olor blando mientras que durante los controles no se observó preferencia por ninguno.

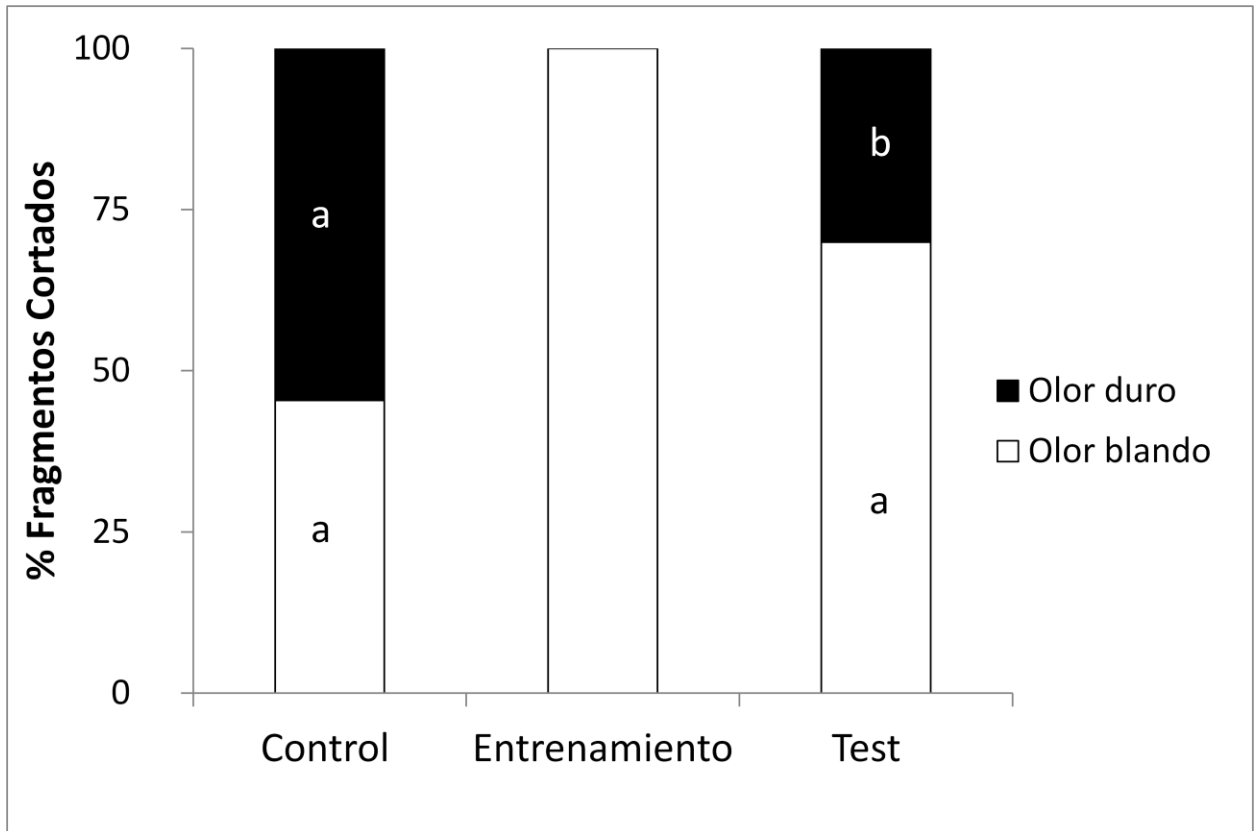


Figura 10. Preferencias en la cantidad de fragmentos cortados durante controles (n=15) y tests (n=27) de fragmentos con olor duro y olor blando. Dentro de cada columna, los porcentajes estadísticamente diferentes se representan con letras diferentes.

¿Por qué se tomaron datos del tiempo hasta el primer corte de cada olor? Es importante tener en cuenta que durante los tests se ofrecían 10 fragmentos de parafilm de cada olor a la colonia durante una hora en un área de forrajeo que fácilmente contaba con cientos de obreras. Ya que las obreras prefirieron cortar más el olor blando, estos 10 fragmentos eran rápidamente agotados quedando disponibles solamente los fragmentos impregnados con olor duro en el sitio de forrajeo. Durante el trabajo experimental se observó que es inevitable que obreras motivadas para forrajear, eventualmente, intenten cortar estos fragmentos por más que hubieran aprendido que no podían. Además, es posible que durante los tests intervinieran hormigas que no participaran de los entrenamientos; obreras para las cuales el olor duro no significaba nada. Las obreras son plenamente aptas para cortar los fragmentos con olor duro ya

que con respecto a su dureza son iguales a los fragmentos con olor blando por lo que una vez que intentan nada les impediría cortarlos. Es esperable entonces que durante los tests exista un porcentaje de obreras que corten fragmentos con olor duro, no debido a que no puedan aprender acerca de su aptitud para cortarlos, sino porque era lo único para forrajear en el área o porque se trataba de obreras no entrenadas. De este modo para probar este efecto de la metodología sobre los resultados se registró el tiempo hasta el primer corte de cada olor como otra medida indicadora de la preferencia de las obreras. Es de esperar que las obreras primero corten los fragmentos con el olor que asociaran al éxito de corte (fragmentos con olor blando) y que eventualmente terminen cortando los fragmentos duros. Efectivamente esto es lo que ocurrió (Figura 11). Mientras que el promedio del tiempo del primer corte de los fragmentos blandos es de 11 minutos el de los fragmentos duros es significativamente mayor: 24.5 minutos ($p=1.73e-08$). En definitiva en presencia de fragmentos con olor duro y olor blando las obreras prefieren cortar los fragmentos con olor blando antes que los impregnados con olor duro.

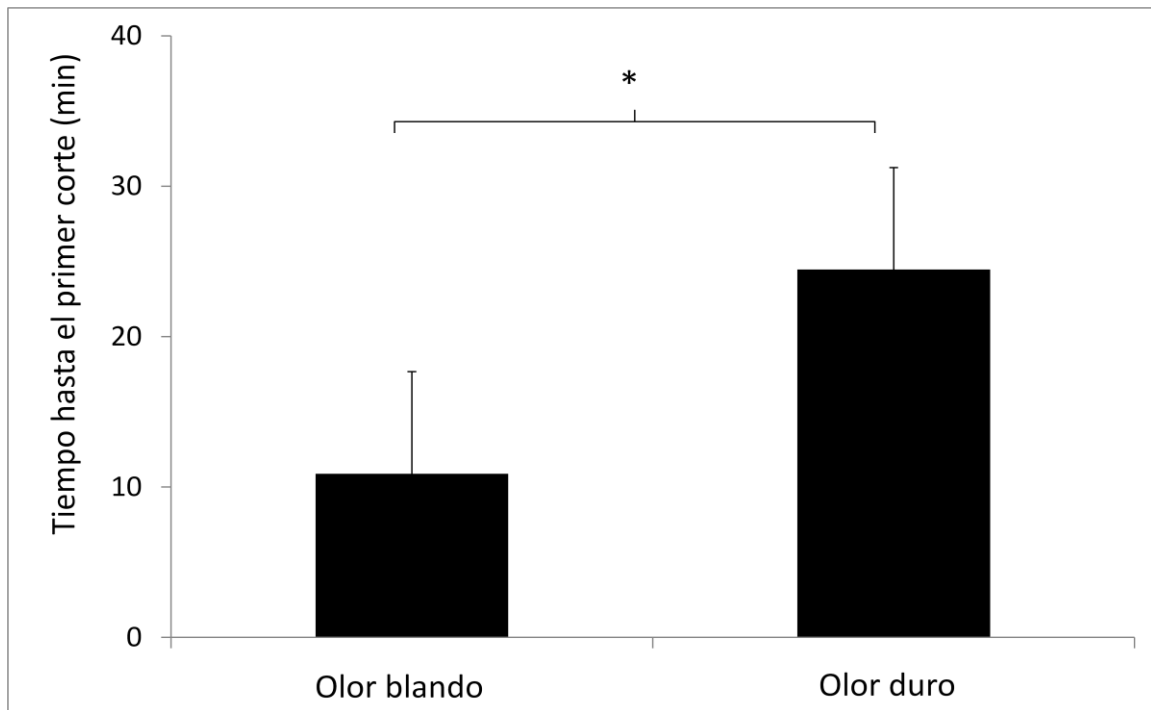


Figura 11. Tiempo medido hasta que una obrera realizaba el primer corte (min \pm SE) de un fragmento con olor blando o con olor duro.

DISCUSIÓN

Los resultados muestran que al manipular la aptitud para cortar, ya sea mediante el aumento del desgaste mandibular como a través de la reducción de la fuerza de corte, se reduce la probabilidad de cortar y aumenta la de cargar. Además, las obreras de *Acromyrmex lundii* fueron capaces de llevar a cabo un aprendizaje asociativo entre el éxito o fracaso al realizar la tarea de corte y una clave olfativa, que posteriormente determinó la elección del sustrato a forrajear.

Manipulación de la aptitud

Mediante la manipulación experimental del desgaste de las mandíbulas se demostró que hormigas con mandíbulas gastadas tendían a cargar en lugar de cortar. Asimismo, hormigas con fuerza de corte reducida prefirieron cargar antes que cortar. Esto implica que las hormigas menos aptas para realizar la tarea del corte evitaron realizar dicha tarea y en definitiva que la probabilidad de realizar una tarea depende de la aptitud para realizarla. De este modo, ¿es posible plantear la existencia de un mecanismo de división del trabajo en base a la aptitud? La lógica detrás de un modelo de división de trabajo en base a la aptitud es simple: si las tareas son realizadas por las obreras más aptas, las tareas serán realizadas más eficientemente. Tareas realizadas más eficientemente implican menores pérdidas energéticas innecesarias. Se ha planteado que una colonia de insectos sociales funciona como un superorganismo, por ende, la organización del trabajo y la eficiencia con la cual es realizado es fundamental para obtener el mayor *fitness* posible (Hölldobler and Wilson 1990a, 2010).

En este trabajo, al aumentarles artificialmente el desgaste de sus mandíbulas, las hormigas tienden a ser cargadoras en lugar de cortadoras. Teniendo en cuenta que cortar es la actividad energéticamente más costosa del forrajeo (Roces and Lighton 1995) y que cortar con mandíbulas gastadas implica un mayor gasto energético (Schofield et al. 2011), es esperable que el desgaste mandibular genere una importante presión selectiva que promueva diferentes adaptaciones. Algunas de estas adaptaciones podrían ser: la existencia de una preferencia de

las obreras por sustratos blandos, una composición mandibular resistente al desgaste, el empleo de técnicas de corte que desgasten menos las mandíbulas, o la generación de estrategias a nivel colonia que disminuyan el efecto del desgaste en la eficiencia del forrajeo (Schofield et al. 2011).

Las hormigas cortadoras, de hecho, presentan una estrategia para que la colonia disminuya el efecto del desgaste sobre la eficiencia del forrajeo: obreras jóvenes no cortan dentro del nido hasta que sus mandíbulas se endurecen mediante la incorporación de zinc (Schofield et al 2002). Otra estrategia podría ser la formación de cadenas de transporte. En las cadenas de transporte la tarea de forrajeo está particionada entre obreras cortadoras y cargadoras, y este fenómeno es bien conocido en algunas especies del género *Atta* de hormigas cortadoras (*Atta sexdens*: Fowler and Robinson 1979; *Atta laevigata*: Vasconcelos and Cherrett 1996; *Atta cephalotes*: Hubbell et al. 1980). En el género *Acromyrmex*, si bien no existen trabajos publicados, un trabajo de doctorado reporta cadenas de transporte en *A. lundii* (Röschard 2002) y otro trabajo de doctorado reporta cadenas de transporte en *A. crassispinus* cuando las obreras forrajean a más de diez metros de la colonia (Nickele 2013).

En presencia de cadenas de transporte en *A. lundii*, una obrera que retorna cargada podría ser o bien (i) una hormiga que retorna cargada con un fragmento cortado por ella misma, o (ii) una hormiga que recibió el fragmento cortado por otra obrera. Desde el punto de vista del desgaste de las mandíbulas, en el primer caso (i) esperaríamos que obreras cargadas posean mandíbulas prístinas o con menores niveles de desgaste (que fue de hecho lo que García and Bollazzi (2012) observaron, Figura 3) o en el segundo caso (ii) que no existiera una correlación entre volver cargada y el nivel de desgaste de las mandíbulas. Además de que García and Bollazzi (2012) no reportan observaciones de cadenas de transporte, el hecho de que hayan encontrado una correlación entre tener mandíbulas prístinas y la probabilidad de que una obrera retorne cargada al nido sugiere que no existieron cadenas de transporte durante su muestreo. Sin embargo, con la manipulación experimental del desgaste de las mandíbulas realizada en este trabajo, se demostró que hormigas con mandíbulas gastadas tienden a cargar en lugar de cortar. Esto en condiciones de campo se podría traducir en una

tendencia a la formación de cadenas de transporte, ya que existirían obreras que al no poder cortar están disponibles para transportar lo que otras obreras cortan.

Existe controversia acerca de si las cadenas de transporte aumentan o disminuyen la tasa de forrajeo para la colonia. Entre las ventajas se plantea que especies que forrajean de árboles pueden aprovechar la gravedad para bajar los fragmentos más rápidamente y evitarse la dificultosa tarea de cargar fragmentos en pendientes muy inclinadas o hasta verticales (Burd 1996). Entre las desventajas se discute que, producto de que las obreras ajustan el tamaño del fragmento a su tamaño corporal, se puede dar una discrepancia entre el tamaño del fragmento cortado y el tamaño de la hormiga cargadora que enlentezca el transporte y por ende reduzca la tasa de forrajeo (Hart and Ratnieks 2001a). No obstante, trabajos posteriores plantean que las cadenas de transporte existen debido a que favorecen el pasaje de información entre las obreras forrajeras (Röschard and Roces 2003, 2011).

Si bien producto del desgaste de las mandíbulas el cambio en la tendencia de ser cortadora a ser cargadora es claro, en condiciones de campo, una obrera podría pasar de ser cortadora a cargadora producto de una edad avanzada, independientemente del desgaste de sus mandíbulas. En una colonia de insectos sociales, las obreras jóvenes realizan las tareas del interior del nido mientras que las obreras más viejas se encargan de las tareas externas al nido (Hölldobler and Wilson 1990). Teniendo en cuenta que las tareas llevadas a cabo en el interior del nido son generalmente más seguras (Visscher and Dukas 1997; Hart and Ratnieks 2001b) este polietismo temporal parecería ser una adaptación que logra extraer el máximo beneficio de las obreras para la colonia (Jeanne 1986). Según este modelo de polietismo temporal, la obrera va cambiando de tarea a medida que aumenta su edad, entonces el cambio de cortadora a cargadora podría ser producto de una edad avanzada, y no del desgaste de las mandíbulas.

Tanto Schofield et al. (2011) como García and Bollazzi (2012) discuten que no pueden distinguir el efecto de la edad del efecto del desgaste en sus estudios, ya que ambas variables están sumamente correlacionadas: a medida que aumenta la edad de la obrera también aumenta el desgaste de sus mandíbulas. En este trabajo se desconoce la edad de los individuos, sin embargo, ya que (i) entre la manipulación y el experimento pasó solo un día y (ii) las

hormigas no manipuladas no cambiaron de tarea, se podría descartar el efecto de la edad en los resultados y asignar causalidad a la relación entre el desgaste de las mandíbulas y la probabilidad de ser cargadora en lugar de cortadora. En otras palabras, tengan la edad que tengan, las obreras luego de que se le desgastan las mandíbulas no pueden cortar. Este cambio de cortadora a cargadora, al no deberse a la edad, puede ser producto de un fenómeno de autoevaluación (Moroñ, Witek, and Woyciechowski 2008) o a que las obreras podrían dejar de intentar realizar una tarea cuando no tienen éxito al llevarla a cabo.

Además, ¿qué es la edad? Cuando se menciona la edad, no se hace referencia al efecto de la edad en sí misma, es decir, al efecto del paso del tiempo *per se*, sino que se refiere al efecto de los cambios fisiológicos que están asociados con dicho paso del tiempo. De este modo, la edad no es un factor en sí mismo, sino que es una variable fácilmente medible que resume el conjunto de cambios fisiológicos que ocurren con el paso del tiempo. Si lográramos impedir que ocurra una degradación de las funciones a lo largo del tiempo, dejaríamos de encontrar muchas de las correlaciones que encontramos con la edad; y al contrario, si aceleramos los efectos fisiológicos del paso del tiempo se podrían obtener individuos envejecidos prematuramente. Para poder “manipular” la edad, por ende, sería necesario identificar cuáles son los cambios fisiológicos que experimentan los individuos producto del paso del tiempo.

Entre los cambios fisiológicos asociados al pasaje del tiempo, probablemente el más notorio sea la degradación que sufren los músculos (Augustin and Partridge 2009). En mamíferos, esta degradación ocurre debido a una reducción de la síntesis así como un aumento de la degradación de la proteína muscular que se traduce en una disminución de la potencia y fuerza muscular y un aumento de la fatiga (Hasten et. al 2000). En invertebrados, la degradación de la función muscular se debe principalmente a una menor disponibilidad de ATP debido a una reducción de la eficiencia de las mitocondrias presentes en el músculo (Miller et. al 2008).

Si (i) uno de los aspectos claves del envejecimiento de los invertebrados es la reducción de la funcionalidad de las mitocondrias, y (ii) la presencia de oxígeno es fundamental para la síntesis de ATP por parte de las mitocondrias (Harrison et al. 2006), ¿se podría considerar que

individuos sometidos a ambientes reducidos en oxígeno se encuentran momentáneamente “envejecidos”? Es este trabajo se sometieron obreras de *A. lundii* a ambientes hipóxicos para disminuirles su fuerza de corte y de este modo determinar el rol de este factor sobre la decisión entre cortar y cargar. Se obtuvo que obreras en ambientes hipóxicos prefirieron cargar antes que cortar. Esto, además de demostrar que la fuerza de corte es un factor determinante en la aptitud para cortar implica que, más que la edad, es la reducción en la aptitud para realizar una tarea asociada a la edad lo que estaría condicionando la división de tareas entre cortar y cargar en este caso. Mencionamos que la edad tiene dos componentes, el paso del tiempo y los cambios fisiológicos asociados al paso del tiempo. Es claro que no se puede modificar el paso del tiempo, pero al someter a los individuos a un ambiente hipóxico y reducir la eficiencia de sus mitocondrias para generar energía, en cierta medida se pudo recrear uno de los efectos del paso del tiempo: la reducción de la aptitud para realizar tareas.

De este modo, la aptitud para realizar una tarea podría ser un factor subyacente a varios de los modelos de división del trabajo planteados para insectos sociales. Si consideramos el polietismo temporal o morfológico, donde las tareas son desempeñadas según la edad o morfología de las obreras, es posible considerar que en definitiva dicha asignación de tareas no ocurre de acuerdo a la edad o morfología de las obreras, sino en base a una diferencia en la aptitud para realizar una tarea que se correlaciona con la edad o la morfología de las obreras. Este trabajo es un ejemplo de esto y por ende brinda evidencia a favor de que la aptitud para realizar una tarea es un factor determinante a considerar por futuros modelos de división del trabajo.

Aprendizaje durante la tarea de corte

En este trabajo se determinó que obreras de *A. lundii* prefirieron cortar menos el sustrato impregnado con aquel olor que asociaron a la imposibilidad de cortar. El valor adaptativo de lo que implica el aprendizaje asociativo que tuvo lugar en este trabajo tiene varios componentes. El primero sería el valor adaptativo de tener la capacidad de aprender. Individuos capaces de anticipar eventos, basados en sus experiencias previas, van a ser seleccionados sobre aquellos que no. En un ambiente continuamente variable y muy

competitivo, donde en palabras de Darwin 1859 “nacen más individuos de los que son capaces de sobrevivir y dejar descendencia”, el aprendizaje es un aspecto fundamental de la sobrevivencia y reproducción de los individuos.

El segundo se relaciona con el valor adaptativo de tener la capacidad de aprender a evitar realizar una tarea al fracasar repetidamente durante su realización. Esta capacidad tiene consecuencias fundamentalmente sobre la energética de la colonia ya que permite que las obreras eviten gastar energía en intentar realizar tareas que previamente aprendieron que no podían realizar. Obreras que tengan esa capacidad, ahorran energía y tiempo a la colonia, lo cual se traduciría en un aumento de su *fitness*.

El tercero y más específico, se relaciona con la utilidad que tiene aprender claves olfativas que les permitan a las obreras de hormigas cortadoras evitar sustratos duros en su ambiente natural. El valor adaptativo de esto está relacionado a aspectos claves de la herbivoría de las hormigas cortadoras. Los vegetales generan mecanismos que tienen el potencial de actuar como defensas ante los herbívoros, pudiendo ser estas defensas de tipo físicas como químicas (Lucas 2000). Las defensas físicas, tales como la dureza y el contenido en fibras, se correlacionan mejor con la reducción del daño sufrido por herbívoros que las defensas químicas, las cuales constan principalmente de la acumulación de compuestos secundarios que disminuyen la palatabilidad y repelen a los herbívoros (Lowman and Box 1983; Nichols-Orians and Schultz 1989). De acuerdo a la teoría de forrajeo óptimo los organismos intentan maximizar la adquisición de energía con el menor costo posible (Pyke et al. 1977). Hojas duras implican la necesidad de un mayor gasto energético para cortarlas por lo que existe un valor de dureza umbral a partir del cual no es energéticamente redituable forrajear ese sustrato. Además, a medida que una hoja envejece, existe un incremento de su dureza y acumulación de compuestos secundarios así como una disminución de su contenido nutricional (Barrer and Cherrett 1972; Lowman and Box 1983; Nichols Orians and Schultz 1989). De este modo, en la naturaleza, las hojas duras tienden a ser mas viejas y presentar menor retorno energético así como una mayor toxicidad para las hormigas y para su hongo simbiote. Por ende, el valor adaptativo del aprendizaje asociativo observado en este trabajo radica en que dicho aprendizaje le permite a la obrera aprender a reconocer una hoja dura en base a su olor, sin

necesidad de intentar cortarla nuevamente, y evitarse de este modo realizar gastos energéticos innecesarios así como exponerse a compuestos secundarios potencialmente dañinos.

El aprendizaje constituye un cambio en el comportamiento de los individuos producto de la experiencia (Shettleworth J. 1994). Si bien hubo un momento en el cual se consideraba que el comportamiento de los insectos era mayormente instintivo (Fabre and Teixeira de Mattos 1918), ya se ha demostrado la influencia del aprendizaje en el comportamiento de los insectos en innumerable cantidad de especies y en muy diversas situaciones (Alloway 1973) siendo este aprendizaje fundamental para la sobrevivencia y el éxito reproductivo de los individuos. En hormigas cortadoras lo que se conocía acerca del rol del aprendizaje durante el forrajeo era fundamentalmente (i) el fenómeno de rechazo tardío por el cual las obreras aprenden a evitar sustratos que son dañinos para su hongo simbiote (Saverschek et al. 2010; Saverschek and Roces 2011) o (ii) estudios sobre condicionamiento clásico en los cuales se asocia un olor con una recompensa para demostrar que el olor es utilizado posteriormente para buscar alimento (Roces 1990, 1994; Provecho and Josens 2008). Probablemente este trabajo sea el primer reporte de aprendizaje en hormigas cortadoras en el cual se asocia una clave olfativa al éxito y/o fracaso para realizar una tarea.

Finalmente, los resultados de este trabajo implican que el olor es una clave suficiente para tomar decisiones respecto a la elección del sustrato a forrajear en *A. lundii*. Los insectos tienen una excelente capacidad para reconocer y procesar información olfativa debido a que poseen un sistema olfativo altamente sensible (Hansson et al. 1999; De Bruyne and Baker, 2008). En su ambiente natural, los insectos están expuestos a todo tipo de señales olfativas y por ende deben tener la capacidad de distinguir olores importantes del resto (Schröder and Hilker 2008). En este trabajo, al confrontar a obreras a fragmentos de iguales características físicas pero con diferente olor, las obreras fueron capaces de discriminar y preferir un tipo de fragmento sobre el otro. Si bien la aptitud o ineptitud para cortar en este experimento estaba dada por la dureza del material, las hormigas no tuvieron la necesidad de evaluar las características físicas del fragmento antes de tomar una decisión. Este resultado concuerda con el obtenido por Saverschek and Roces 2011 en donde se demuestra que en el comportamiento de rechazo tardío de sustratos dañinos para el hongo, basta con el olor para que la obrera evite

un sustrato. Que el olor sea una clave suficiente no implica que en condiciones naturales otros factores, como claves gustativas, no puedan también afectar la decisión de cortar.

CONCLUSIONES

En este trabajo queda demostrado el rol de la aptitud en la decisión de cortar o cargar en hormigas cortadoras. También se demuestra que las obreras de *A. lundí* tienen la capacidad de asociar claves olfativas al éxito o fracaso durante el corte y en base a ese aprendizaje tomar decisiones acerca del sustrato a forrajear. Esta capacidad de aprendizaje seguramente se haya fijado como un mecanismo para evitar hojas duras potencialmente dañinas para las obreras así como para su hongo simbiote.

Se demostró empíricamente que la aptitud para cortar está compuesta tanto por el desgaste de las mandíbulas como por la fuerza de corte lo que en definitiva implica que la aptitud para realizar una tarea es un factor determinante en la división del trabajo en hormigas cortadoras. Un sistema de división del trabajo en base a la aptitud debería ser adaptativo para la colonia ya que las tareas serían realizadas más eficientemente. Este trabajo sería un buen punto de partida para seguir investigando el rol de la aptitud en la división del trabajo y las implicancias que tiene tanto a nivel individual como a nivel colonia.

PERSPECTIVAS

Manipulación experimental de la aptitud para cortar

Este no es el primer trabajo que ha manipulado la aptitud para realizar una tarea a fin de testear una hipótesis en ecología. Beckerman et al. (1997) incapacitó arañas (*Pisaurina mira*) de su capacidad para depredar al pegarle con pegamento sus quelíceros, a fin de demostrar que el efecto indirecto positivo que tienen los depredadores sobre la densidad de plantas, se debe a los cambios comportamentales de los herbívoros inducidos por la presencia de depredadores. Green et al. (1987) manipularon la capacidad de mimetismo de la mosca

Zonosematta vittigera para probar que la misma tiene un componente estructural, el patrón de coloración del ala, así como uno comportamental, un patrón de movimiento de la misma y evaluaron su efectividad anti predatoria. Sakaluk et al. (2004) disminuyeron la capacidad de grillos machos (*Cyphoderris strepitans*) de volver a aparearse al reducirles su cantidad de hemolinfa.

Por un lado, la manipulación del desgaste de las mandíbulas realizada en este trabajo, al igual que en los ejemplos anteriores, es una manipulación irreversible. No se puede devolver la pristinidad a las mandíbulas de las obreras luego de desgastárselas. Sin embargo, sí es posible hacer que las obreras carentes de fuerza de corte por estar en un ambiente hipóxico “recuperen” su fuerza de mordida al volver a condiciones normales. De hecho, es sorprendente la capacidad de recuperación de los insectos tras haber estado en períodos de hipoxia o incluso de anoxia (Harrison et al. 2006). Esto se debe a que parte de la regulación de la presión interna de oxígeno de los insectos se realiza mediante difusión pasiva del oxígeno a través de su sistema traqueal (Harrison et al. 2006). De este modo, se utilizó un método, que sin manipular directamente a las obreras, les modificó la aptitud para realizar una tarea de manera potencialmente reversible. Sería bueno investigar la reversibilidad de este método para manipular la aptitud, algo que no fue realizado por este trabajo.

Fidelidad de la tarea

Es importante tener en cuenta que subyacente a los resultados obtenidos, tanto en el primer como en el segundo capítulo de este trabajo, está implícito que las obreras de *Acromyrmex lundii* presentan una importante fidelidad respecto a la actividad de forrajeo, al menos durante el lapso de tiempo que duraron los experimentos. Considerando los experimentos de la manipulación de la aptitud, si el individuo manipulado no era fiel a la actividad de forrajeo, una vez que se le reducía su aptitud para cortar, una opción es que abandonara la tarea de forrajeo. En tal caso, luego de la manipulación no habrían individuos manipulados en el área de forrajeo y por ende no se podrían haber registrado la cantidad de obreras que cargaban o cortaban luego de que se les redujera su aptitud. Durante los

experimentos acerca del aprendizaje durante el corte, no se entrenaron individuos en particular sino que se entrenaron colonias enteras. Esto tenía el riesgo metodológico de que si las hormigas involucradas en los entrenamientos no eran las mismas que participaban durante los tests, podría ocurrir aprendizaje y no poder detectarlo. Sería adecuado cuantificar la fidelidad de la tarea para determinar cómo esta afecta los resultados obtenidos en este trabajo. Incluso, se podría repetir el experimento del aprendizaje, pero esta vez con obreras individualizadas, para determinar si los resultados no están siendo subestimados por la intervención de obreras no entrenadas durante los tests.

Duración del aprendizaje asociativo

Papaj and Prokopy (1989) sugieren tres elementos que caracterizan al aprendizaje (i) los cambios en el comportamiento son repetibles y producto de la experiencia, (ii) el comportamiento cambia gradualmente y (iii) el cambio en el comportamiento se mantiene si se mantiene la experiencia. Esto implica que el aprendizaje puede ser muy plástico. Durante la calibración de la secuencia experimental se vio claramente el punto (iii). Fueron necesarios tres días de entrenamientos para que las obreras de las colonias aprendieran y el aprendizaje decaía rápidamente si se abandonaban los entrenamientos (*obs pers*). A priori esperaríamos que este aprendizaje sea de corto plazo ya que es vital que la colonia sea capaz de reaccionar y ajustar el comportamiento de forrajeo de acuerdo a las características físicas y químicas de las plantas las cuales cambian rápidamente. Sin embargo, en este trabajo no se cuantificó la duración de este aprendizaje. Futuros estudios podrían determinarlo.

Modelo de auto reforzamiento

Si bien este trabajo brinda evidencia a favor de que la aptitud para realizar una tarea es un factor a tomar en cuenta durante la división del trabajo en hormigas cortadoras, los resultados obtenidos podrían llegar a explicarse en el marco del modelo de auto reforzamiento. Este modelo propone que el desempeño exitoso en la realización de una tarea aumenta la probabilidad de volver a realizar esa misma tarea, mientras que un desempeño no exitoso

reduce la probabilidad de repetirla. De acuerdo a este modelo, obreras que experimenten fracasos al cortar, ya sea por: (i) tener las mandíbulas gastadas, (ii) tener la fuerza de corte disminuida o (iii) intentar cortar un sustrato demasiado duro, van a abandonar la tarea de corte. Esto, de hecho, fue lo obtenido por este trabajo. Sin embargo, no implica que ambos modelos sean excluyentes sino complementarios, ya que la probabilidad de ser exitoso o fracasar al realizar una tarea debería depender de la aptitud del individuo para realizarla. Para distinguir entre el rol de la experiencia y el rol de la aptitud se podrían diseñar experimentos en los cuales se manipule independientemente estos dos factores.

BIBLIOGRAFÍA

- Alloway, T. M. 1973. "Ants." Pp. 152–54 in *Invertebrate Learning*, vol. 2, edited by W. C. Corning, J. A. Dyal, and A. O. D. Willows. New York: Plenum Press.
- Augustin, H. and L. Partridge. 2009. "Invertebrate models of age-related muscle degeneration." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1790(10), 1084-1094.
- Barrer, P.M. and J. M. Cherrett. 1972. "Some factors affecting the site and pattern of leaf-cutting activity in the ant *Atta cephalotes* L." *Journal of Entomology Series A, General Entomology*, 47(1), 15-27.
- Bass, M. and J. M. Cherrett. 1995. "Fungal Hyphae as a Source of Nutrients for the Leaf-Cutting Ant *Atta sexdens*." *Physiological Entomology*. 20:1–6.
- Beckerman, A. P., M. Uriarte, and O. J. Schmitz. 1997. "Experimental evidence for a behavior-mediated trophic cascade in a terrestrial food chain." *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(20), 10735-10738.
- Bernays, E. A. 1991. "Evolution of Insect Morphology in Relation to Plants." *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 333:257–64.
- Beshers, S. N. and J. H. Fewell. 2001. "Models of Division of Labor in Social Insects." *Annual Review of Entomology*, 46:413–40.
- Beshers, S. N. and F. A. Traniello. 1996. "Polyethism and the Adaptiveness of Worker Size Variation in the Attine Ant *Trachymyrmex septentrionalis*." *Journal of Insect Behaviour*,

9(1):61–83.

- Bollazzi, Martin and Flavio Roces. 2011. "Information Needs at the Beginning of Foraging: Grass-Cutting Ants Trade Off Load Size for a Faster Return to the Nest." *PLoS ONE*, 6(3):e17667. Retrieved (<http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0017667>).
- Bonabeau, E., G. Theraulaz, J. L. Deneubourg, S. Aron, and S. Camazine. 1997. "Self-Organization in Social Insects." *Trends in Ecology & Evolution*, 12(5 may):188–93.
- Bourke, A. F. G. and N. R. Franks. 1995. *Social Evolution in Ants*. Princeton, N.J.: Princeton University Press.
- Brunner, E., P. D'Etorre, and J. Heinze. 2002. "Phenotypic Plasticity or Co-Evolution? Testing the Acceptance Threshold Model in a Host of a Social Parasite. [abstract]." *Actes des Colloques Insectes Sociaux*, 15:178. Retrieved (in this 2.9 MB file http://uieis.univ-tours.fr/colloques/2002_UIEIS_Versailles/2002_UIEIS_Versailles_Actes.pdf).
- Bruyne, M., and T. C. Baker. 2008. "Odor Detection in Insects: Volatile Codes." *Journal of Chemical Ecology*, 34:882–897.
- Bucher, E. H. and R. Montenegro. 1974. "Hábitos Forrajeros de Cuatro Hormigas Simpátridas Del Género *Acromyrmex* (Hymenoptera, Formicidae)." *Ecología II*, (1):47–53.
- Burd, M. 1996. "Foraging Performance by *Atta colombica*, a Leaf-Cutting Ant." *American Naturalist*, 148(4):597–612.
- Campos, M., E. Bonabeau, G. Theraulaz, and J. L. Deneubourg. 2001. "Dynamic Scheduling and Division of Labor in Social Insects." *Adaptive Behavior*, 8:83–95. Retrieved (<http://www.ulb.ac.be/sciences/use/publications/JLD/161.pdf>).
- Cherrett, J. M. 1968. "The Foraging Behaviour of *Atta cephalotes* L. (Hymenoptera: Formicidae). I. Foraging Patterns and Plant Species Attacked in Tropical Rain Forest." *Journal of Animal Ecology*, 37:387–403.
- Cherrett, J. M. 1989. "The Biology, Pest Status and Control of Leaf-Cutting Ants." Pp. 171–207 in *Biology and population dynamics of invertebrate crop pests*, edited by G. E. Russell. Andover. x, 411 p.: Intercept Ltd.
- Coley, P. and J. Barone. 1996. "Herbivory and plant defenses in tropical forests." *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27:305-335
- Darwin, C. 1859. *On the Origin of Species*. (Facsimile of 1st Edition, 1964). Cambridge, Mass: Harvard University Press.

- Dupuy, F., J. C. Sandoz, M. Giurfa, and R. Josens. 2006. "Individual Olfactory Learning in Camponotus Ants." *Animal Behaviour*, 72:1081–91.
- Durier, V., P. Graham, and T. S. Collett. 2004. "Switching Destinations: Memory Change in Wood Ants." *Journal of Experimental Biology*, 207:2401–8. Retrieved (<http://jeb.biologists.org/cgi/reprint/207/14/2401>).
- Fabre, J. H. and A. Teixeira de Mattos. 1918. *Life and Love of the Insect*. London.
- Fowler, H. G. and S. W. Robinson. 1979. "Foraging by *Atta sexdens* (Formicidae: Attini): Seasonal Patterns, Caste and Efficiency." *Ecological Entomology*, 4:239–47.
- Franks, N. R. and C. Tofts. 1994. "Foraging for Work: How Tasks Allocate Workers." *Animal Behaviour*, 48:470–72.
- Fürst, M. A., M. Durey, and D. R. Nash. 2012. "Testing the Adjustable Threshold Model for Intruder Recognition on *Myrmica* Ants in the Context of a Social Parasite." *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 279:516–22. Retrieved ("Data Supplement" <http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/suppl/2011/06/28/rspb.2011.0581.DC1.html>).
- Garcia, M. and M. Bollazzi. 2012. "La aptitud para realizar una tarea, ¿un factor determinante en la división del trabajo en insectos sociales?" Tesis de grado. Universidad de la República.
- Greene, E., L. J. Orsak, and D. W. Whitman. 1987. "A tephritid fly mimics the territorial displays of its jumping spider predators." *Science*, 236(4799), 310-312.
- Hansson, B. S., M. C. Larsson, and W. S. Leal. 1999. "Green leaf volatile-detecting olfactory receptor neurones display very high sensitivity and specificity in a scarab beetle." *Physiological Entomology*, 24:121–126.
- Hasten, D. L., J. Pak-Loduca, K.A. Obert, and K.E. Yarasheski. 2000. "Resistance exercise acutely increases MHC and mixed muscle protein synthesis rates in 78–84 and 23–32 yr olds". *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 278 (2000) E620–E626.
- Harrison, J. M. and M. D. Breed. 1987. "Temporal Learning in the Giant Tropical Ant, *Paraponera clavata*." *Physiological Entomology*, 12:317–20.
- Harrison, J., Frazier, M. R., Henry, J. R., Kaiser, A., Klok, C. J., & Rascón, B. 2006. "Responses of Terrestrial Insects to Hypoxia or Hyperoxia." *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 154(1-2):4–17
- Hart, A. G., C. Anderson, and F. L. W. Ratnieks. 2002. "Task Partitioning in Leafcutting Ants."

Acta ethologica, 5:1–11.

- Hart, A. G. and F. L. W. Ratnieks. 2001a. "Leaf Caching in the Leafcutting Ant *Atta colombica*: Organizational Shifts, Task Partitioning and Making the Best of a Bad Job." *Animal Behaviour*, 62(2):227–34.
- Hart, A. G. and F. L. W. Ratnieks. 2001b. "Task Portitioning, Division of Labour and Nest Compartmentalisation Collectively Isolate Hazardous Waste in the Leafcutting and *Atta cephalotes*." *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 49:387–92.
- Hatcher, M. J., C. Tofts, and N. R. Franks. 1992. "Mutual Exclusion as a Mechanism for Information Exchange within Ant Nests." *Naturwissenschaften*, 79:32–34.
- Hölldobler, B. and E. O. Wilson. 1990a. *The Ants*. Cambridge: Belknap Press, Harvard University Press.
- Hölldobler, B. and E. O. Wilson. 2010. *The Leafcutter Ants. Civilization by Instinct*. New York: W.W. Norton & Company.
- Hubbell, S. P., L. K. Johnson, E. Stanislav, B. Wilson, and H. Fowler. 1980. "Foraging by Bucket-Brigade in Leaf-Cutter Ants." *Biotropica*, 12(3):210–13.
- Jeanne, R. L. 1986. "The Evolution of the Organization of Work in Social Insects." *Monitore Zoologico Italiano-Italian Journal of Zoology*, 20:119–33.
- Littledyke, M. and J. M. Cherrett. 1975. "Variability in the Selection of Substrate by the Leaf-Cutting Ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini)." *Bulletin of entomological research*, 65:33–47.
- Littledyke, M. and J. M. Cherrett. 1976. "Direct Ingestion of Plant Sap from Cut Leaves by the Leaf-Cutting Ants *Atta cephalotes* (L.) and *Acromyrmex octospinosus* (Reich) (Formicidae, Attini)." *Bulletin of entomological research*, 66:205–17.
- Lowman, M. D. and J. D. Box. 1983. "Variation in Leaf Toughness and Phenolic Content among Five Species of Australian Rain Forest Trees." *Australian Journal of Ecology*, 8:17–25. Retrieved (<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1442-9993.1983.tb01515.x>).
- Lucas, P. 2000. "Mechanical Defences to Herbivory." *Annals of Botany*, 86(5):913–20. Retrieved (<http://aob.oxfordjournals.org/cgi/doi/10.1006/anbo.2000.1261>).
- Meyer, S. T., F. Roces, and R. Wirth. 2006. "Selecting the Drought Stressed: Effects of Plant Stress on Intraspecific and within-Plant Herbivory Patterns of the Leaf-Cutting Ant *Atta colombica*." *Functional Ecology*, 20:973–81.

- Miller M. S., P.Lekkas, J. M.Braddock, G. P. Farman, B. A. Ballif, T. C. Irving, D. W.Maughan and Vigoreaux, J. O. 2008. "Aging enhances indirect flight muscle fiber performance yet decreases flight ability in *Drosophila*." *Biophysical Journal*, 95(5), 2391-2401.
- Montes, P. 2010. "Relación entre la dureza del material vegetal cortado y la morfología de las obreras en dos especies de hormigas cortadoras: *Acromyrmex heyeri* y *Acromyrmex lundii*." Tesis de grado. Universidad de la República.
- Moroñ, D., M. Witek, and M. Woyciechowski. 2008. "Division of Labour among Workers with Different Life Expectancy in the Ant *Myrmica scabrinodis*." *Animal Behaviour*, 75:345–50.
- Mueller, U. G. and C. Rabeling. 2008. "A Breakthrough Innovation in Animal Evolution." *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105:5287–88.
- Nichols Orians, C. M. and J. C. Schultz. 1989. "Leaf Toughness Affects Leaf Harvesting by the Leaf Cutter Ant, *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae)." *Biotropica*, 21:80–83. Retrieved (<http://ase.tufts.edu/biology/labs/orians/publications/orians/1989Biotropica.pdf>).
- Nichols-Orians, C. M. and J. C. Schultz. 1989. "Leaf Toughness Affects Leaf Harvesting by the Leaf Cutter Ant, *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae)." *Biotropica*, 21(1):80–83.
- Nichols-Orians, Colin M. and Jack C. Schultz. 1989. "Leaf Toughness Affects Leaf Harvesting by the Leaf Cutter Ant, *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae)." *Biotropica*, 21(1):80. Retrieved (<http://www.jstor.org/stable/2388446?origin=crossref>).
- Nickele M. 2013. "Dinâmica populacional e ecologia do forrageamento de *Acromyrmex* Mayr, 1865 (hymenoptera: formicidae)" Tesis de Doctorado. Universidad Federal do Parana.
- Oster, G. F. and E. O. Wilson. 1978. *Caste and Ecology in the Social Insects*. Princeton: Princeton University Press.
- Paul, J. 2001. "Mandible Movements in Ants." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 131:7–20.
- Papaj, D. R., and R. J. Prokopy. 1989. "Ecological and Evolutionary Aspects of Learning in Phytophagous Insects." *Annual Review of Entomology*, 34:315–350.
- Provecho, Y. and R. Josens. 2008. *Olfactory Memories Acquired during Trophallaxis Affect the Odor Choice at the Food Source in Carpenter Ants. [abstract]*. In: XXIII International Congress of Entomology, Abstracts, 6 - 12 July, 2008: International Convention Centre, Durban, South Africa, p. (1745). Retrieved (in this 16.9 MB file

<http://www.ice2008.org.za/pdf/proceedings.pdf>).

- Pyke, G. H., H. R. Pulliam, and E. L. Charnov. 1977. "Optimal Foraging: A Selective Review of Theory and Tests." *Quarterly Review of Biology*, 52:137–54.
- Quinlan, R. J. and J. M. Cherrett. 1979. "The Role of Fungus in the Diet of the Leaf-Cutting Ant *Atta cephalotes* (L.)." *Ecological Entomology*, 4:151–60.
- Ravary, F., E. Lecoutey, G. Kaminski, N. Châline, and P. Jaisson. 2007. "Individual Experience Alone Can Generate Lasting Division of Labor in Ants." *Current Biology*, 17:1308–12. Retrieved (http://www.sciencedirect.com/science?_ob=MIimg&_imagekey=B6VRT-4P5S9YW-3-6&_cdi=6243&_user=10&_orig=search&_coverDate=08/07/2007&_sk=999829984&view=c&wchp=dGLbVtz-zSkzk&md5=f1493fe5698883a728ede0bf0d6a6766&ie=/sdarticle.pdf or <http://www-leec.univ->).
- Ridley, P., P. E. Howse, and C. W. Jackson. 1996. "Control of the Behavior of Leaf-Cutting Ants by Their 'Symbiotic' Fungus." *Experientia (Basel)* 52:631–35. Retrieved (<http://www.springerlink.com/content/p6626770r056j382/fulltext.pdf>).
- Robinson, G. E. 1992. "Regulation of Division of Labor in Insect Societies." *Annual Review of Entomology*, 37:637–65.
- Robinson G.E., R.E. Page, C. Strambi, and A.Strambi. 1989. "Hormonal and genetic control of behavioral integration in honey bee colonies." *Science*, 246:109–12
- Roces, F. 1990a. "Leaf-Cutting Ants Cut Fragment Sizes in Relation to the Distance from the Nest." *Animal Behaviour*, 40:1181–83.
- Roces, F. 1990b. "Olfactory Conditioning during the Recruitment Process in a Leaf-Cutting Ant." *Oecologia*, 83:261–62.
- Roces, F. 1994. "Odour Learning and Decision-Making during Food Collection in the Leaf-Cutting Ant *Acromyrmex lundi*." *Insectes sociaux*, 41:235–39.
- Roces, F. 2002. "Individual Complexity and Self-Organization in Foraging by Leaf-Cutting Ants." *The Biological Bulletin*, 202:306–13.
- Roces, F. and B. Hölldobler. 1994. "Foraging in Leaf-Cutting Ants: Energy Expenditure during Cutting Determines Load Size Selection. [abstract]." P. 72 in *Les Insectes Sociaux. 12th Congress of the International Union for the Study of Social Insects, Paris, Sorbonne, 21-27 August 1994*, edited by A. Lenoir, G. Arnold, and M. Lepage. Paris: Université Paris Nord.
- Roces, F. and J. R. B. Lighton. 1995. "Larger Bites of Leaf-Cutting Ants." *Nature*, 373:392–93.

- Roces, F. and M. Bollazzi, 2009. "14 Information Transfer and the Organization of Foraging in Grass-and Leaf-Cutting Ants." *Food Exploitation by Social Insects: Ecological, Behavioral, and Theoretical Approaches*, 261.
- Rockwood, L. L. 1976. "Plant Selection and Foraging Patterns in Two Species of Leaf-Cutting Ants (*Atta*)."
Ecology, 57:48–61.
- Röschard, J. 2002. "Cutters, carries and bucket brigades... Foraging decisions in the grass-cutting ant *Atta vollenweideri*". Tesis de doctorado. Universidad de Würzburg.
- Röschard, J. and F. Roces. 2003. "Cutters, Carriers and Transport Chains: Distance-Dependent Foraging Strategies in the Grass-Cutting Ant *Atta vollenweideri*." *Insectes sociaux*, 50:237–44.
- Röschard, J. and F. Roces. 2011. "Sequential Load Transport in Grass-Cutting Ants (*Atta vollenweideri*): Maximization of Plant Delivery Rate or Improved Information Transfer?" *Psyche* 2011, Arti:10 p. Retrieved (<http://downloads.hindawi.com/journals/psyche/2011/643127.pdf> or in this 1 MB file <http://downloads.hindawi.com/journals/specialissues/0602011002.pdf>).
- Sakaluk, S. K., M. T. Campbell, A. P. Clark, J. C. Johnson, and P. A. Keorpes. 2004. "Hemolymph loss during nuptial feeding constrains male mating success in sagebrush crickets." *Behavioral Ecology*, 15(5), 845-849.
- Saverschek, N., H. Herz, M. Wagner, and F. Roces. 2010. "Avoiding Plants Unsuitable for the Symbiotic Fungus: Learning and Long-Term Memory in Leaf-Cutting Ants." *Animal Behaviour*, 79:689–98.
- Saverschek, N. and F. Roces. 2011. "Foraging Leafcutter Ants: Olfactory Memory Underlies Delayed Avoidance of Plants Unsuitable for the Symbiotic Fungus." *Animal Behaviour* 82(3):453–58. Retrieved October 25, 2015 (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003347211002053>).
- Schmitz, Anke and Jon F. Harrison. 2004. "Hypoxic Tolerance in Air-Breathing Invertebrates." *Respiratory Physiology and Neurobiology* 141:229–42.
- Schofield, R. M. S., K. D. Emmett, J. C. Niedbala, and M. H. Nesson. 2011. "Leaf-Cutter Ants with Worn Mandibles Cut Half as Fast, Spend Twice the Energy, and Tend to Carry instead of Cut." *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 65:969–82. Retrieved (1 MB <http://www.springerlink.com/content/n0u117221888kv68/fulltext.pdf>).
- Schofield, R. M. S., M. H. Nesson, and K. A. Richardson. 2002. "Tooth Hardness Increases with Zinc-Content in Mandibles of Young Adult Leaf-Cutter Ants." *Naturwissenschaften*,

89:579–83.

- Schröder, R., and M. Hilker. 2008. "The Relevance of Background Odor in Resource Location by Insects: A Behavioral Approach." *BioScience*, 58:308.
- Shettleworth J., S. 1994. "Biological Approaches to the Study of Learning." Pp. 185–219 in *Animal Learning and Cognition*, edited by N. J. Mackintosh. San Diego: Academic Press.
- Thiele, Theresa, Christian Kost, Flavio Roces, and Rainer Wirth. 2014. "Foraging Leaf-Cutting Ants Learn to Reject *Vitis vinifera* Ssp . Vinifera Plants That Emit Herbivore-Induced Volatiles." *Journal of Chemical Ecology*, 40.6 (2014): 617-620.
- Thorpe, W. H. 1963. *Learning and Instinct in Animals*. 2nd ed. London: Methuen.
- Vasconcelos, H. L. and J. M. Cherrett. 1996. "The Effect of Wilting on the Selection of Leaves by the Leaf-Cutting Ant *Atta laevigata*." *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 78:215–20.
- Visscher, P. K. and R. Dukas. 1997. "Survivorship of Foraging Honey Bees." *Insectes sociaux*, 44:1–5.
- Waibel, M., Floreano, D., Magnenat, S., & Keller, L. 2006. "Division of labour and colony efficiency in social insects: effects of interactions between genetic architecture, colony kin structure and rate of perturbations." *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1595), 1815-1823.
- Weber, N. A. 1966. "Fungus-Growing Ants." *Science* 153:587–604.
- Weber, N. A. 1972. "The Attines: The Fungus-Culturing Ants." *American Scientist*, 60:448–56.
- Wehner, R. 2003. "Desert Ant Navigation: How Miniature Brains Solve Complex Tasks." *Journal of Comparative Physiology*, 189:579–88. Retrieved (1.8 MB <http://www.springerlink.com/content/2ewcymk1f6y444heh/fulltext.pdf>).
- Wirth, R., H. Herz, R. J. Ryel, W. Beyschlag, and B. Holldobler. 2013. "Herbivory of Leaf-Cutting Ants. A Case Study on *Atta colombica* in the Tropical Rain Forest of Panama" Vol. 164. Springer Science & Business Media

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco al Dr. Martín Bollazzi y Dr. Flavio Roces por orientar esta tesis. Al Departamento de Fisiología Comportamental y Sociobiología de la Universidad de Würzburg, Alemania, el

Departamento de Protección Vegetal, Sección Entomología de la Facultad de Agronomía, UdelaR y el Departamento de Ecología y Evolución de la Facultad de Ciencias, UdelaR, por brindarme un sitio y todo lo necesario para realizar el trabajo. A la Comisión Sectorial de Investigación Científica por brindarme apoyo económico durante la realización de la tesis. A los miembros del tribunal, Anita Aisenberg, Alejandro Brazeiro y Ciro Invernizzi, por aceptar corregir este trabajo.

Le agradezco especialmente a Martín por ser un gran tutor y excelente persona, a Bettina por ser mi eterna consejera y amiga, a todos mis compañeros de trabajo por hacer el día a día muy agradable, a mis amigos y familia por apoyarme siempre y a Clemen por todo, por ser mi persona preferida del mundo.