

Respuestas electroantenográficas de las hormigas *Acromyrmex landolti* y *Odontomachus bauri* a olores de sus glándulas cefálicas

Cristina Sainz-Borgo¹, Aivle Cabrera², José Vicente Hernández¹

¹Laboratorio de Ecología Química del Comportamiento, Departamento de Biología de Organismos. E-mail: cristinasainzb@gmail.com.

²Departamento de Química; Universidad Simón Bolívar, Apartado 89000, Caracas 1080A, Venezuela.

Resumen

SAINZ-BORGO C, CABRERA A, HERNÁNDEZ JV. 2013. Respuestas electroantenográficas de las hormigas *Acromyrmex landolti* y *Odontomachus bauri* a olores de sus glándulas cefálicas. ENTOMOTROPICA 28(1): 39-49.

El objetivo de este trabajo consistió en determinar si los pulsos de aire de olores de compañeras de nido e intrusas, y de extractos de las glándulas mandibular (GM) y post-faringeal (GPF) producían actividad electrofisiológica sobre las antenas de *Acromyrmex landolti* y *Odontomachus bauri* utilizando la técnica de electroantenografía (EAG). No se encontraron diferencias entre las respuestas a pulsos de olores de compañeras y de intrusas entre ambos tratamientos, ni con respecto al control. Se encontraron diferencias en las respuestas a extractos de ambas glándulas entre compañeras e intrusas con respecto al control en ambas especies. Se aplicó la técnica de EAG acoplada a cromatografía de gases (CG), evaluando ambos extractos, encontrándose para la GM, que había diferencias entre los olores de compañeras e intrusas. Los resultados destacan el rol potencial de ambas glándulas en el reconocimiento de compañeras de nido en ambas especies.

Palabras clave adicionales: Electroantenografía, glándula mandibular, glándula postfaringeal, hormigas.

Abstract

SAINZ-BORGO C, CABRERA A, HERNÁNDEZ JV. 2013. Electroantennographic response of the ants *Acromyrmex landolti* and *Odontomachus bauri* to odors of their cephalic glands. ENTOMOTROPICA 28(1): 39-49.

The objective of this work was to determine if the air pulses of odors from nest-mates and intruders, and extracts of mandibular (GM) and post-pharyngeal (GPF) glands produced electrophysiological activity on the antennae of *Acromyrmex landolti* and *Odontomachus bauri*, using the technique of electroantennography (EAG). There were no differences in the responses to pulses of odors from nest-mates and intruders between both treatments, or with respect to the control. There were differences in responses to both glands extracts between partners and intruders with respect to the control in both species. The EAG technique coupled to gas chromatography (GC) was applied to evaluate both extracts. For the GM, there were differences among the smells of companions and intruders. The results highlight the potential role of both glands in recognition of both species nest-mates.

Additional key words: Ants, electroantennography, mandibular gland, postfaryngeal gland.

Introducción

Las antenas constituyen el órgano sensorial más importante de los insectos, ya que se encuentran equipadas con numerosas sensillas (Hashimoto 1990). Por otro lado, este órgano se encuentra involucrado en la identificación de las características ambientales (p. ej.: presencia de enemigos naturales, posibles fuentes de alimento, etc), discriminación de las compañeras de nido e intrusas, identificación de las presas, detección de la feromona de camino y en todas las interacciones sociales (Holldobler y Wilson 1990, Hou et al. 1997, LiMei et al. 2009).

La electroantenografía (EAG) es una técnica que permite evaluar la respuesta de la antena de un insecto ante estímulos volátiles y por ello ha sido ampliamente utilizada en el estudio de la relación insecto-planta (Marion-Poll y Thiéry 1996). Los electroantogramas registran los cambios de potencial eléctrico (ΔmV) que resultan de una estimulación química, suministrando así información sobre la sensibilidad y especificidad de los receptores olfatorios a las moléculas químicas (Schneider 1957a, Schneider et al. 1977). Esta técnica se utilizó por primera vez para medir las respuestas electrofisiológicas de la antena del macho de *Bombyx mori* estimulada por compuestos volátiles correspondientes a la feromona sexual, producida por la hembra de esta especie (Schneider 1957a,b). Posteriormente, ha sido utilizada acoplada a la cromatografía de gases (CG), lo cual permite que sea posible la separación de los componentes de las feromonas y la evaluación individual de su actividad biológica.

En hormigas se han realizado bioensayos electroantegráficos que permitieron determinar que la feromona de camino de las hormigas *Lasius fuliginosus* Latreille, 1798 (Kern et al. 1997), *Pristomyrmex pungens* Mayr, 1866 (Janssen et al. 1997) y *Atta texana* Buckley, 1860 (Andryszak et al. 1990) estimulaban la actividad electro-fisiológica en las antenas de estas especies. Así mismo, Steck et al. (2009)

observaron, utilizando la técnica de EAG, que *Cataglyphis fortis* Forel, 1902 podía orientarse para volver al nido mediante señales olfativas.

Las feromonas de alarma, producidas por la glándula mandibular (GM), juegan un papel importante en el reconocimiento de las compañeras de nido en hormigas (Jaffé 1983, Whitehouse y Jaffé 1995, Hernández et al. 2002, Hughes et al. 2001). Por otra parte, diversos estudios indican que la secreción de la glándula post-faringeal (GPF) constituye una señal de reconocimiento en diversas especies de hormigas (Bonavita-Courgourdan et al. 1989, Bágneres y Morgan 1991, Soroker et al. 1994, Vienne et al. 1995, Dietemann et al. 2003).

El objetivo de este trabajo consistió en determinar fuentes de olor electrofisiológicamente activas, es decir, los olores que producen una deflexión de voltaje en la antena, con el fin de establecer las posibles señales de reconocimiento de compañeras de nido de las especies bajo estudio. En este sentido, se evaluó mediante electroantenografía, el efecto de los olores emitidos por compañeras de nido e intrusas, así como los extractos de las glándulas post-faringeal y mandibular sobre la actividad electrofisiológica de obreras de *Acromyrmex landolti* Forel, 1885 y *Odontomachus bauri* Emery, 1882.

Materiales y Métodos

Área de estudio y selección de nidos

Las obreras utilizadas en los análisis químicos fueron recolectadas en nidos ubicados en el *campus* de la Universidad Simón Bolívar, estado Miranda, Venezuela. El criterio para seleccionar los nidos consistió en que hubiesen obreras forrajeando cerca de la entrada, lo cual indicaba que el nido estaba activo.

Recolecta de las hormigas

Las obreras utilizadas para la elaboración de los extractos y para ser usadas como sujetos experimentales fueron recolectadas de la trilla

en el caso de *A. landolti*, y en las afueras del nido para el caso de *O. bauri*, utilizando pinzas blandas limpias y trasladadas al laboratorio en viales de vidrio de 4 mL de capacidad, permaneciendo allí por 30 minutos, hasta la realización del bioensayo.

Elaboración de extractos

Una vez recolectadas, las obreras se aletargaron por cinco minutos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente las glándulas se disecaron bajo agua destilada, utilizando para ello dos pinzas de relojero, una microtijera y un microscopio estereoscópico (Marca Wild Heerbrug). Se disecaron 20 glándulas en 100 μL de *n*-hexano (Marca Aldrich, grado HPLC). Para los extractos de GPF se utilizaron 20 hormigas, mientras que para los extractos de GM se utilizaron 10, ya que al ser la GM pareada, realmente se extrajeron dos glándulas por hormiga. Se realizaron 10 extractos para cada glándula, provenientes de 10 nidos diferentes (realizándose un extracto por nido).

Análisis electroantenográficos (EAG) de los olores corporales y extractos glandulares (GPF y GM)

Para los bioensayos se utilizó un electroantenógrafo marca Syntech (Alemania), cuyos componentes se aprecian en la Figura 1. El bioensayo para determinar la actividad electrofisiológica mediante electroantografía consistió en colocar una antena en un electrodo de oro y plata con gel conductor (Spectra 360, Marca Parker Laboratories C. A., USA), con la ayuda de un pincel fino para evitar daños en la superficie de la misma. Previamente, se disecó la antena de la cabeza de la hormiga, cortando cuidadosamente con una microtijera una pequeña porción del ápice y luego en la base del escape. Previamente la hormiga fue aletargada durante 5 minutos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. A través del tubo de flujo continuo (tubo de liberación de aire húmedo) (Figura 2), la antena recibió moléculas de aire impregnadas de olores de obreras o de

extractos. Se aseguró que el gel se encontrara distribuido uniformemente, sin la presencia de burbujas, que pudiesen dificultar la conducción de la respuesta eléctrica.

Los estímulos aplicados a la antena fueron:

1. Olores corporales de obreras: se aplicó sobre la antena un pulso de aire proveniente de una pipeta Pasteur de cuello corto que contenía 10 obreras intrusas. Se realizó el mismo procedimiento utilizando compañeras de nido. Antes de colocar a las obreras en la pipeta Pasteur se aletargaron por 5 minutos a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2. Olores de extractos glandulares: se impregnó un papel de filtro de 2 cm^2 con 2 μL de extracto en *n*-hexano de GPF de obreras intrusas o de compañeras de nido. Se esperaron 2 minutos a que se evaporara el *n*-hexano. Luego, se aplicó sobre la antena un pulso de aire utilizando una pipeta Pasteur a la que se le colocó el papel de filtro preparado con el extracto. En el caso de los extractos de la GM se repitió el mismo procedimiento.

3. Control: se estimuló la antena con aire y *n*-hexano, para determinar las deflexiones promedio de voltaje cuando no se presenta estímulo químico. El *n*-hexano se utilizó como control para los tratamientos con extractos glandulares y se aplicó la misma metodología usada para estos. Para los tratamientos de olores corporales, se usó como control la aplicación de pulsos de aire, utilizando una pipeta Pasteur vacía.

Cada estímulo se aplicó con 5 minutos de separación uno del otro. La duración del pulso de aire del estímulo fue de 0,5 s, el flujo de aire fue de 500 mL/min y el flujo continuo de aire húmedo sobre la antena fue de 250 mL/min. En estudios preliminares se determinó que estas condiciones eran las óptimas para obtener una mayor respuesta con la menor cantidad de ruido. La separación del tubo de liberación de la muestra a la antena montada fue de 2,5 cm.

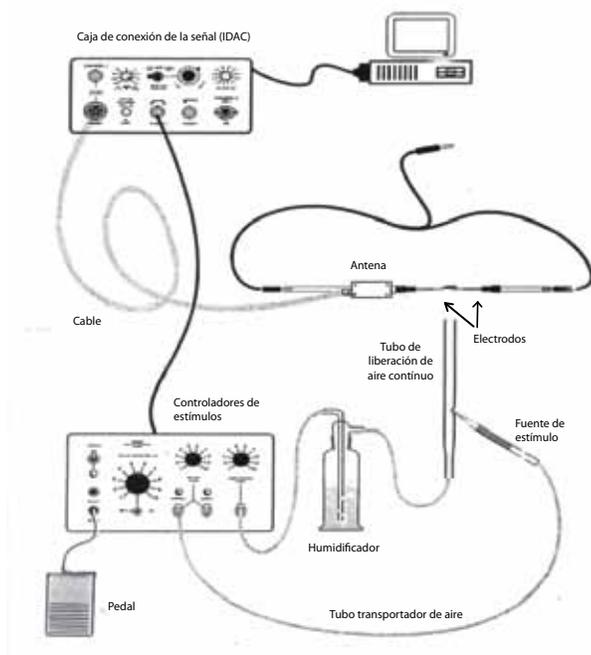


Figura 1. Esquema de un electroantenógrafo (Fuente: Syntech 1998).



Figura 2. Antena de *Acromyrmex landolti* colocada sobre un electrodo frente al tubo de liberación de aire.

Análisis de los extractos de GM y GPF mediante Cromatografía de Gases (CG) acoplada a Detector Electroantenográfico (DEA)

Para determinar si alguno de los compuestos químicos presentes en los extractos en *n*-hexano de GPF y de GM producían actividad electrofisiológica en la antena, se utilizó un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard 5890 Modelo Serie II Plus) equipado con una columna capilar de sílica fundida (Supelco), con fase estacionaria de fenilmetilsilicona (Marca Quadrex) de 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de fase y 30 m de longitud, utilizando helio como gas de arrastre a un flujo de 1 mL/min. El cromatógrafo se encontraba acoplado a un electroantenógrafo (Syntech, Internal GAT U) (Figura 1). Los datos fueron analizados con el software Syntech EAG 2000. El volumen de muestra inyectado fue de 1 µL, y el modo de inyección fue *splitless*, con un tiempo

de apertura de válvula de 0,7 min, luego de ese tiempo la proporción Split fue 30:1.

Análisis Estadístico

Se aplicaron pruebas de normalidad (Test de Shapiro y Wilk) y homocedasticidad (Test de Levene) a los datos, y dado que no cumplía con las mismas, se realizaron pruebas no paramétricas con el paquete estadístico Statistica.

Resultados y Discusión

Acromyrmex landolti

Determinación de la actividad electrofisiológica mediante EAG

El Cuadro 1 presenta las respuestas electroantenográficas de antenas de obreras de *A. landolti* a los pulsos de aire que contenían olores de compañeras de nido e intrusas. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Mann Whitney, $P=0,11$), ni entre los tratamientos y el control (Test de

Cuadro 1. Respuestas electroantenográficas (mV) en obreras de *A. landolti* sometidas a estímulos de olor de compañeras, olor de intrusas y aire.

Tratamiento	Respuesta EAG (mV)
Olor corporal compañeras	0,8 ± 0,9*
Olor corporal intrusas	0,9 ± 1,0*
Control (aire compañera)	0,6 ± 0,9**
Control (aire intrusa)	0,9 ± 1,1**

(N= 50). Prueba de Kruskal Wallis, Comparaciones entre olores corporales de compañeras e intrusas; *P=0.11; **comparación entre olores de compañeras y aire: P= 0.56, comparación entre olores de intrusa y aire P= 0.32.

Cuadro 2. Respuestas electroantenográficas (mV) en obreras de *A. landolti* sometidas a estímulos de extractos de GPF y GM de compañeras e intrusas y *n*-hexano.

Tratamiento	Respuesta EAG a intrusa (mV)	Respuesta EAG a compañera (mV)
Extracto de GM	1,3 ± 1,0*	2,0 ± 2,0
Extracto de GPF	1,2 ± 1,3	2,0 ± 1,0 **
Control (<i>n</i> -hexano)	0,7 ± 0,9	1,0 ± 1,0

Comparación entre los tratamientos y el *n*-hexano (N=50): *:Test de Mann Whitney, P<0,05; **:Test de Mann Whitney, P<0,01.

Mann Whitney, P>0,45). El aire era utilizado como control, observándose una deflexión de voltaje similar a la observada con los olores.

El Cuadro 2 muestra las respuestas electroantenográficas de antenas de obreras de *A. landolti* al ser sometidas a pulsos de aire que contenían moléculas provenientes de extractos de GPF (Figura 3a,3b) y de GM (Figura 3c,3d). Se observó una diferencia significativa al comparar la respuesta al tratamiento de extracto de GPF de compañeras de nido con respecto a la del *n*-hexano (control) (Test de Mann Whitney, P<0,01), lo cual indica que la variación de voltaje (mV) producida por dichos extractos es mayor que la producida por el tratamiento control. También se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las deflexiones de voltaje (mV) producidas por el extracto de GM de intrusa y el *n*-hexano (Test de Mann Whitney, P<0,05), siendo mayor la deflexión producida por el extracto.

Durante la medición del tiempo en que la antena era sensible a los estímulos, se observó que ésta

seguía activa hasta los 90 minutos. Se registró un aumento en el nivel de ruido a medida que avanzaba el tiempo, lo cual sugiere un deterioro de los receptores de la antena con el tiempo.

Determinación de la actividad electrofisiológica de compuestos mediante la técnica de Cromatografía de gases con Detector Electroantenográfico (CG-DEA)

El Cuadro 3 muestra la frecuencia de repetición de las señales electroantenográficas (número de veces que apareció la señal dividido entre el número total de corridas) al aplicar los componentes volátiles de las GM como estímulos, utilizando la técnica de EAG acoplada a cromatografía de gases (CG). Al comparar las frecuencias de respuestas de compañeras e intrusas a estos compuestos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos tratamientos (Test de Mann Whitney, P=0,0034), indicando que se producía una mayor deflexión de voltaje al aplicar volátiles de GM de intrusa que de compañera. Se encontró que dos de los índices de retención de compuestos

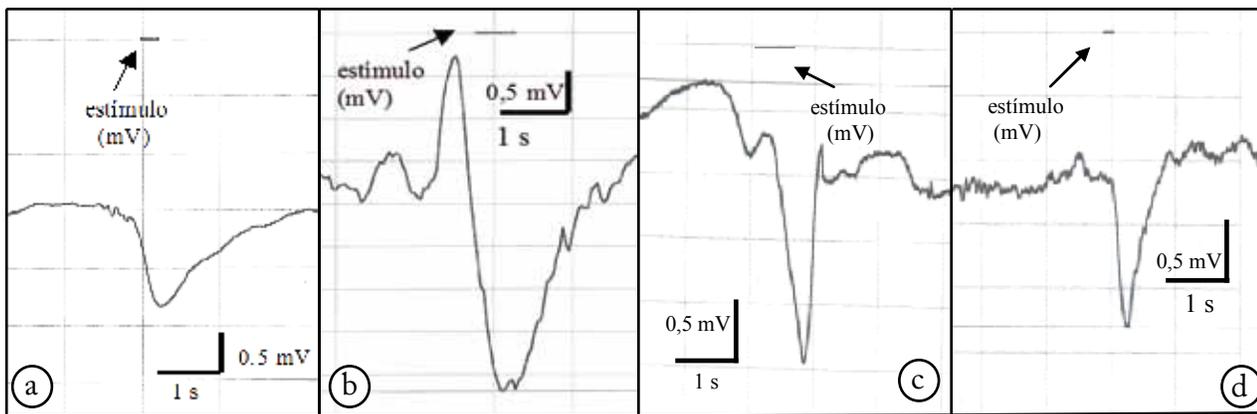


Figura 3. Respuesta electroantenográfica de una obrera de *A. landolti* por la aplicación de un pulso de extracto de: GPF; a) compañera de nido, b) de intrusa. GM; c) compañera de nido, d) de intrusa (eje vertical 0.5 mV/div, eje horizontal: 1 s/div).

volátiles de las GM (4-metil-3-heptanona y 2-undecanona) coincidían con el de las respuestas electroantenográficas, lo cual es un indicativo de que dichos compuestos producen actividad electrofisiológica en la antena.

El Cuadro 4 presenta la frecuencia de las respuestas electroantenográficas producidas por las antenas de las hormigas al ser estimuladas con extractos de GPF de compañeras y de intrusas. En estos resultados no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias de respuestas electroantenográficas frente a ambos extractos (Test de Mann Whitney, $P=0,585$). Se encontró que una respuesta electroantenográfica coincidía con la señal de un compuesto (Tricosano) perteneciente al extracto de la GPF, lo cual indica que dicho compuesto probablemente produzcan actividad electrofisiológica en la antena.

Odontomachus bauri

Determinación de la actividad electrofisiológica mediante EAG

El Cuadro 5 muestra las respuestas electroantenográficas (mV) producidas por antenas de *O. bauri* estimuladas con olores de compañera y olores de intrusa, observándose mayores deflexiones de voltaje en dichos

tratamientos, que en control (aire) (Test de Mann Whitney, $P=0,48$).

El Cuadro 6 y Figura 4 muestran las respuestas electroantenográficas de antenas de *O. bauri* al ser sometidas a estímulos de extractos de GM de intrusa, GM de compañera, GPF de intrusa, GPF de compañera y *n*-hexano (control). Se encontraron diferencias significativas entre los extractos glandulares y el control (Test de Mann Whitney, $P<0,001$), lo cual indica que dichos extractos producen una deflexión de voltaje mayor que la producida por el *n*-hexano.

Determinación de la actividad electrofisiológica mediante la técnica de electroantenografía acoplada a cromatografía de gases (CG - DEA)

El Cuadro 7 presenta los índices de retención (I_r) y la frecuencia de las respuestas electroantenográficas producidas por volátiles de las GM provenientes de obreras compañeras de nido e intrusas sobre las antenas de obreras de *O. bauri*. Se encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de respuestas electroantenográficas (Test de Mann Whitney, $P<0,05$) inducidas por volátiles de obreras intrusas y compañeras, lo cual indica que los compuestos volátiles de las intrusas producían una mayor frecuencia de respuestas que los

Cuadro 3. Frecuencia de respuestas electroantenográficas en obreras de *A. landolti* producidas por volátiles de las GM de compañeras e intrusas utilizando la técnica de CG-EAG (Ir: índices de retención, NI compuesto no identificado)

Compuestos detectados por CG	Ir de la señal EAG	Frecuencia de la señal EAG frente a estímulos de intrusa	Frecuencia de la señal EAG frente a estímulos de compañera
NI	878	0,5	0,1
4-metil-3-heptanona	937	0,4	0,2
NI	990	0,5	0,1
NI	1034	0,5	0,1
2-undecanona	1160	0,8	0,1
NI	1266	0,3	0,1

N=10. (Test de Mann Whitney, P=0,0034)

Cuadro 4. Frecuencia de respuestas electroantenográficas en obreras de *A. landolti* producidas por extractos de GPF de compañeras e intrusas utilizando la técnica de CG-DEA (N=10) (Ir: índice de retención de la respuesta electroantenográfica, NI: compuesto no identificado).

Compuestos detectados por CG	Ir de la señal EAG	Frecuencia de la señal EAG frente a estímulos de intrusa	Frecuencia de la señal EAG frente a estímulos de compañera
NI	1956	0,1	0,4
NI	1993	0,4	0,3
NI	2039	0,4	0,3
Ácido linoleico	2121	0,4	0,3
Tricosano	2307	0,7	0,5

Test de Mann Whitney al comparar las frecuencias de respuesta de la señal de EAG frente a estímulos de intrusa y de compañera: P>0,05

Cuadro 5. Respuestas electroantenográficas (mV) en obreras de *O. bauri* sometidas a estímulos de olor de compañeras, olor de intrusas y aire (N=100).

Tratamiento	Respuesta EAG a olor corporal (mV)	Respuesta EAG a aire (mV)	Test de Mann Whitney P valor
Olor de compañera	2,1 ± 1,4	1,3 ± 1,3	<0,001
Olor de intrusa	2,3 ± 1,4	1,2 ± 1,1	<0,001

Test de Mann Whitney al comparar las frecuencias de respuesta de la señal de EAG frente a estímulos de intrusa y de compañera: P>0,05

de compañeras de nido. También se observó un índice de retención (Ir=862), en el cual coincidía la señal del FID con la respuesta electroantenográfica, lo cual indica que ese compuesto produce actividad electrofisiológica. Otra respuesta electroantenográfica coincidió

con el índice de retención del compuesto identificado mediante la técnica de CG-EM como 2,5-dimetil-3-propil-pirazina, lo cual indica que dicho compuesto induce una respuesta en las sensillas de las antenas de la hormiga estudiada.

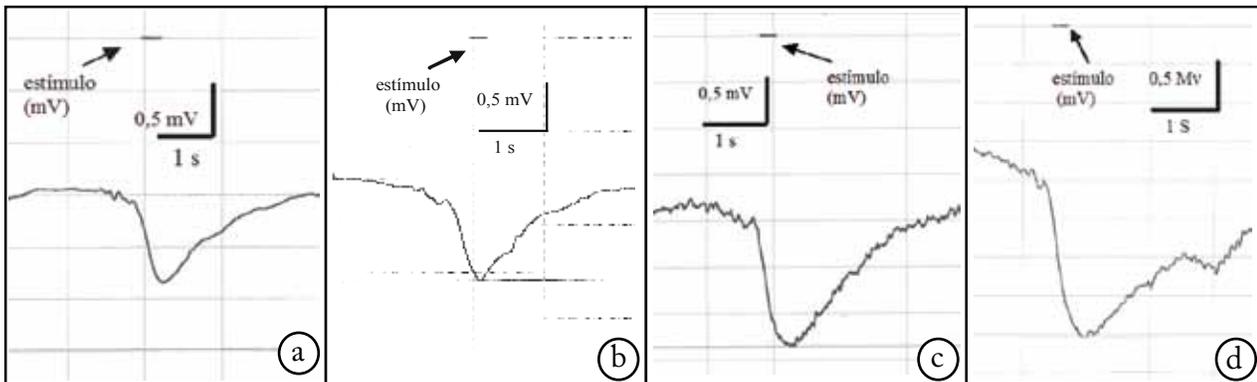


Figura 4. Respuesta electroantenográfica de una obrera de *O. bauri* producida por la aplicación de un pulso de extracto de: GPF; a) intrusa, b) compañera (eje vertical 0.5 mV/div, eje horizontal: 1 s/div). GM; c) intrusa, d) compañera (eje vertical 0.5 mV/div, eje horizontal: 1 s/div).

El Cuadro 8 muestra los índices de retención (I_r) y la frecuencia de respuestas electroantenográficas producidas por los compuestos que conforman los extractos de la GPF de compañeras de nido e intrusas, los cuales fueron separados por la columna cromatográfica y luego sopladados sobre las antenas de *O. bauri*. No se detectaron diferencias significativas entre la frecuencia de respuestas a los extractos de GPF de compañeras de nido e intrusas (Test de Mann Whitney, $P > 0,05$), lo cual sugiere que dichos estímulos no producen una respuesta diferencial en las antenas de *O. bauri*.

Para las dos especies trabajadas en este estudio, se encontró una alta variación en las respuestas electroantenográficas hacia los estímulos, lo cual puede deberse a diferencias en las condiciones fisiológicas de cada individuo y a una serie de variables como disecado de la antena, montaje de la misma, ruido ambiental y ruido experimental, los cuales fueron difíciles de controlar.

Para *A. landolti*, no se observaron diferencias entre la actividad electrofisiológica producida por las compañeras de nido e intrusas, sin embargo, durante los bioensayos electroantenográficos, se encontró que producían una mayor intensidad en la deflexión (mV) del voltaje de la antena cuando era estimulada con extractos de GPF

de compañera de nido en comparación con los de intrusa. Por otra parte, el extracto de GM de intrusa producía una respuesta de mayor amplitud en la antena que el de GM de compañera, es decir, el extracto que produce una mayor actividad fisiológica es el de las intrusas. Sainz-Borgo et al. (En prensa) encontraron para *A. landolti* en los bioensayos de reconocimiento, que los tórax de compañeras impregnados con extractos de GM de intrusas, eran más atacados que los impregnados con extractos de compañera. Ese resultado unido al obtenido en el presente estudio, constituye una evidencia que favorece la hipótesis de que dichos volátiles se encuentran involucrados en el sistema de reconocimiento de compañeras de nido.

En el caso de *O. bauri*, los olores de extractos de intrusas y compañeras produjeron actividad electrofisiológica en la antena; y tanto los volátiles de las GM como los hidrocarburos de la GPF produjeron mayor deflexión de voltaje en comparación con el bioensayo control, lo que implica que ambos son percibidos por las sensillas de la antena. Sin embargo, no se observaron diferencias en las respuestas de EAG de compañeras de nido e intrusas con los extractos de GPF, mientras que con los extractos de la GM sí, lo cual es consistente con resultados de los bioensayos de reconocimiento,

Cuadro 6. Respuesta electroantenográfica (mV) en obreras de *O. bauri* sometidas a estímulos de extractos de GM, GPF y n-hexano.

Tratamiento	Respuesta EAG a olores de intrusa (mV)	Respuesta EAG a olores de compañera (mV)	Respuesta EAG a n-hexano (mV)
Extracto de GM	1,3 ± 1,0 ***	1,5 ± 2,0 ***	0,8 ± 0,9
Extracto de GPF	1,4 ± 1,2 ***	1,4 ± 1,1 ***	0,9 ± 1,0

Comparación entre n-hexano y los tratamientos mediante el Test de Mann Whitney (N=100). ***:P<0,001.

Cuadro 7. Frecuencia de respuestas electroantenográficas en obreras de *O. bauri* producidas por volátiles de las GM de obreras compañeras e intrusas utilizando la técnica de cromatografía de gases (CG) acoplada a electroantenografía (EAG) (Ir: Índice de retención, ND: compuesto no detectado) *.coincide con la señal cromatográfica.

Compuesto detectado por CG	Ir de la señal EAG	Frecuencia de la señal EAG frente a estímulos de intrusa	Frecuencia de la señal EAG frente a estímulos de compañera
ND	* 862	0,8	0,2
ND	1065	0,5	0,2
2,5-dimetil-3-propil-pirazina	1090	0,3	0,2

Test de Mann Whitney (N=10), P<0,05.

Cuadro 8. Frecuencia de respuestas electroantenográficas (mV) en obreras de *O. bauri* producidas por extractos de GPF de compañeras e intrusas utilizando la técnica de cromatografía de gases (CG) acoplada a electroantenografía (EAG) (Ir: Índice de retención).

Ir de la señal EAG	Frecuencia de respuesta frente a estímulos de intrusa	Frecuencia de respuestas frente a estímulos de compañera
1785	0,1	0,2
2031	0,4	0,1
2109	0,2	0,1
2298	0,3	0,4
2391	0,2	0,4

(N=10) Test de Mann Whitney, P>0,05.

donde los volátiles de las GM actuaban como señal de reconocimiento en varias especies de hormigas: *Atta cephalotes* (Jaffé 1983), *Camponotus rufipes* (Jaffé y Sanchez 1984), *Atta laevigata* (Hernández et al. 2002), *Odontomachus bauri* (Jaffé y Marcusse 1983, Sainz-Borgo et al. 2011). En este sentido, se ha indicado que la señal de reconocimiento de compañeras de nido en *Atta laevigata* probablemente provenga

de las feromonas volátiles de alarma producidas por las glándulas mandibulares (Jaffé 1983, Whitehouse y Jaffé 1995, Hernández et al. 2002).

Estos resultados ilustran el funcionamiento de la señal de reconocimiento, debido a que por primera vez unos resultados de EAG complementan el estudio de la ecología química

del comportamiento, específicamente el estudio del reconocimiento de compañeras de nido.

Las respuestas electroantenográficas indican una respuesta fisiológica a los compuestos en estudio, esto unido a una respuesta conductual, es indicativo de que dichas señales se encuentran involucradas en el sistema de reconocimiento. Sin embargo, es necesario corroborar esta aseveración realizando bioensayos de comportamiento con los análogos sintéticos de estos compuestos, a fin de reproducir las observaciones realizadas mediante experimento de comportamiento con olores de obreras, partes corporales y extractos glandulares.

En los análisis de electroantenografía (EAG) acoplada a cromatografía de gases (CG) se encontró que los índices de retención de algunas de las señales de variaciones de la intensidad del voltaje (mV) en las antenas, coincidían con los índices de algunos de los IR de los volátiles presentes de las GM y algunos hidrocarburos provenientes de extractos de GPF, lo cual indica que estos compuestos probablemente están produciendo actividad electrofisiológica en la antena. También se encontró que la antena detectaba con una mayor frecuencia compuestos del extracto de GM de intrusa que de compañera, lo que indica que la antena es más sensible a los olores de la GM de intrusa que a los de GM de compañera de nido; mientras que para la GPF no se encontraron diferencias significativas entre extractos de compañeras e intrusas. Para el caso de la GM, esta diferencia pueden deberse a que las sensilias presentan una mayor sensibilidad a los estímulos de volátiles de intrusas que a los de las compañeras, debido probablemente a una diferencia en las proporciones de los compuestos de las feromonas producidas por las glándulas, pudiendo ser este el caso de los compuestos 4-metil-3-heptanona y 2-undecanona. Este resultado es similar a los encontrados por Yamada et al. (1976), Marion-Poll y Thiéry (1996) y Cossé y Bartelt (2000) donde las antenas producían respuestas

diferenciales dependiendo de la concentración de los compuestos aplicados.

Conclusiones

Este constituye el primer estudio de electroantenografía para *A. landolti* y *O. bauri*, determinándose que los extractos de GPF y GM producían actividad electrofisiológica sobre las sensilias de las antenas, en ambas especies, lo cual constituye una primera aproximación al papel de dichas glándulas en el sistema de reconocimiento de compañeras de nido a través de la técnica de electroantenografía.

Agradecimientos

A Beatriz Herrera-Malaver por sus valiosos comentarios sobre el manuscrito. A Carmen V. Liendo-Barandiaran por su ayuda en la realización de los bioensayos.

Referencias

- ANDRYSZAK NA, PAYNE TL, DICKENS JC, MOSSER JC, FISHER RW. 1990. Antenal olfactory of the leaf cutting ant (Hymenoptera:Formicidae) to trail pheromone and its two alarm substances. *Journal of Entomological Society* 25: 593-600.
- BÁGNERES AG, MORGAN ED. 1991. The post-pharyngeal gland and the cuticle of formicidae contain the same characteristics hydrocarbons. *Experientia* 47: 106-111.
- BONAVITA-COUGOURDAN A, CLEMENT JL Y PROVEDA A. 1989. Les hydrocarbures et les procesus de reconnaissance chez les fourmis: le code d'information complexe de *Camponotus vagus*. *Actes des Colloques Insectes Sociaux* 6: 273-280.
- COSSÉ A, BARTELT R. 2000. Male produced aggregation pheromone of *Colopterus truncatus*: structure, electrophysiological and behavioral activity. *Journal of Chemical Ecology* 26: 1735-1748.
- DIETEMANN V, PEETERS C, THIVET V, HOLLDÖBLER B. 2003. Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and non reproductives in the ant *Myrmecia gulosa*. *Proceedings of the Natural Academy of Science of the United States of America* 100: 10341-10346.

- HASHIMOTO Y. 1990. Unique features of sensilia on the antennae of Formicidae (Hymenoptera). *Applied Entomological Zoology* 25: 491-501.
- HERNÁNDEZ JV, LÓPEZ H, JAFFÉ K. 2002. Nestmate recognition signals of the leaf cutting ant *Atta laevigata*. *Journal of Insect Physiology*. 48: 287-295.
- HOU ZY, CHEN X, ZHANG Y, GUO BQ Y YAN FS. 1997. EAG and orientation tests on the parasitoid *Lysiphlebia japonica* (Hym., Aphidiidae) to volatile chemicals extracted from host plants of cotton aphid *Aphis gossypii* (Hom., Aphidae) *Journal of Applied Entomology* 121: 495-500.
- HÖLLDOBLER B, WILSON EO. The ants. 1990. The Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 733 p.
- HUGHES W, HOWSE P Y GOULSON D. 2001. Mandibular gland chemistry of grass cutting ants. Species, caste and colony variation. *Journal of Chemical Ecology* 27: 109-124.
- JAFFÉ K. 1983. Chemical communication systems in the ant *Atta cephalotes*. Pp 165-180. In: Social Insects in the tropics. Vol. 2, P Jaisson (Ed.). Presses de L'Université Paris Nord.
- JAFFÉ K, MARCUSE M. 1983. Individual recognition and territorial behaviour in the ant *Odontomachus bauri*. *Insectes Sociaux* 30: 466-481.
- JAFFÉ K, SÁNCHEZ C. 1984. Nestmate recognition and territorial behavior in the ant *Camponotus rufipes*. *Insectes Sociaux* 31: 302-315.
- JANSSEN E, HÖLLDOBLER B, KERN F, JÜRGEN BESTMANN H, TSUJI K. 1997. Trail Pheromone of Myrmicine Ant *Pristomyrmex pungens*. *Journal of Chemical Ecology* 23: 1025-1034.
- KERN F, Klein RW, Janssen E; Bestmann HJ, Attygalle AB, Schafer D, Maschwitz U. 1997. Mellein, a trail pheromone component of the ants *Lasius fuliginosus*. *Journal of Chemical Ecology* 23: 779-792.
- LI MEI Z, QIAN J, MINGJING Q, ZHIQIANG Z, SHUANGLIN D, ZHAOJUN H, SHANLIN Y. 2009. EAG and behavioral responses of the large black chafer, *Holotrichia parallela* (Coleoptera: Scarabaeidae) to its sex pheromone. *Acta Entomologica Sinica* 52: 121-125.
- MARION-POLL F, THIÉRY D. 1996. Dynamics of EAG responses to host-plant volatiles delivered by a gas chromatograph. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 120-123.
- SAINZ-BORGO C, CABRERA A, HERNÁNDEZ JV. 2011. Nestmate recognition in the ant *Odontomachus bauri* (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 58: 701-718.
- SAINZ-BORGO C, LEAL B, CABRERA A, HERNÁNDEZ JV. En prensa. Mandibular and postpharyngeal gland secretions of *Acromyrmex landolti* (Hymenoptera: Formicidae) as chemical cues for nestmate recognition. *Revista de Biología Tropical*.
- SCHNEIDER D. 1957a. Electrophysiological investigation on the antennal receptors of the silk moth during chemical and mechanical stimulation. *Experientia* 13: 89-91.
- SCHNEIDER D. 1957b. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 40: 8-41.
- SCHNEIDER D, KAFKA WA, BEROZA M, BIERL BA. 1977. Odor receptor responses of male gypsy and nun moths (Lepidoptera: Lymantriidae) to disparlure and its analogues. *Journal of Comparative Physiology* 113: 1-15.
- SOROKER V, VIENNE C, HEFETZ A. 1994. The postpharyngeal gland as a "gestalt" organ for nestmate recognition in the ant *Cataglyphis niger*. *Naturwissenschaften* 81: 510-513.
- STECK K, HANSSON BS, KNADEN M. 2009. Smells like home: Desert ants, *Cataglyphis fortis*, use olfactory landmarks to pinpoint the nest. *Frontiers in Zoology* 6: 1-8.
- SYNTECH. 1998. Electroantennography: a practical introduction, Hilversum, The Netherlands. 50 p.
- VIENNE C, SOROKER V, HEFETZ A. 1995. Congruency of hydrocarbon pattern in heterospecific groups of ants: transfer and/or biosynthesis?. *Insectes Sociaux* 104: 431-446.
- YAMADA M, SAITO T, KATAGIRI K, IWAKI S, MARUMI S. 1976. Electroantennogram and behavioural responses of the gypsy moth to enantiomers of disparlure and its trans analogues. *Journal of Insect Physiology* 22: 756-761.
- WHITEHOUSE M, JAFFÉ K. 1995. Nestmate recognition in the leaf cutting ant *Atta laevigata*. *Insectes Sociaux* 42: 157-166.