



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**“CONDUCTA DE RECOLECCIÓN DE
ALIMENTO EN *Vespula germanica*:
IMPLICANCIAS PARA EL CONTROL DE
AVISPAS SOCIALES INVASORAS EN LA
PATAGONIA”**

Tesis presentada para optar al Título de Doctor/a de la Universidad de Buenos Aires en el área de Ciencias Biológicas

Lic. Analía Mattiacci

Director de tesis: Dr. Juan Corley

Directora Asistente de tesis: Dra. Maité Masciocchi

Consejero de Estudios: Dr. Walter Farina

Lugar de trabajo: Instituto de Investigaciones Forestales y Agropecuarias Bariloche (IFAB)

Buenos Aires, 2019

Índice general

Agradecimientos.....	vii
RESUMEN.....	x
Abstract.....	xiii
CAPÍTULO 1: Introducción general.....	1
1.1. Decisiones de forrajeo.....	1
1.2. Forrajeo en insectos sociales.....	8
1.3. Modelo de estudio: La avispa social <i>Vespula germanica</i> ("chaqueta amarilla").....	17
1.4. Objetivos y estructura del trabajo de tesis.....	26
CAPÍTULO 2: Consenso y simetría en la explotación de recursos: influencia de la experiencia individual.....	28
Resumen.....	28
2.1. Introducción.....	29
2.2. Materiales y métodos.....	39
2.3. Resultados.....	45
2.4. Discusión.....	50

CAPÍTULO 3: Diferencias en la percepción gustativa entre obreras de <i>V. germanica</i> : influencia de la calidad, del tipo de recurso y de la experiencia previa.....	54
Resumen	54
3.1. Introducción	55
3.2. Materiales y métodos	63
3.3. Resultados	71
3.4. Discusión.....	77
CAPÍTULO 4: Requerimientos nutricionales: influencia de la edad y las demandas de la colonia en la valoración del recurso	82
Resumen	82
4.1. Introducción	83
4.2. Materiales y métodos	87
4.3. Resultados	94
4.4. Discusión.....	99
CAPÍTULO 5: Discusión general y conclusiones principales	104
5.1. Discusión.....	104
5.2. Restricciones y problemas encontrados	110
5.3. Investigaciones a futuro.....	113
5.4. Conclusiones principales	115
Referencias bibliográficas	122

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: Introducción general

Figura 1. Principales aspectos que integra y valora un individuo forrajero en el momento de tomar la decisión de explotar una fuente o continuar explorando otras.	2
Figura 2. Recopilación y procesamiento de la información.	5
Figura 3. Respuesta de ingestión de animales forrajeros frente a la rentabilidad de la fuente.	7
Figura 4. Cladograma que representa las relaciones entre los principales grupos de Hymenoptera.	9
Figura 5. Polietismo etario en <i>Apis mellifera</i>	10
Figura 6. Relaciones a nivel de subfamilia de Vespidae.	15
Figura 7. Ciclo de vida típico de las avispas del género <i>Vespula</i> spp.	16
Figura 8. Nido subterráneo de las avispas del género <i>Vespula</i> spp.	17
Figura 9. Distribución global de <i>Vespula germanica</i>	19
Figura 10. Chaqueta amarilla <i>Vespula germanica</i>	19
Figura 11. Polietismo etario en <i>Vespula</i> spp.	20
Figura 12. Línea de tiempo con la dinámica poblacional de <i>Vespula germanica</i> en el hemisferio Sur.	21
Figura 13. Obreras de <i>Vespula germanica</i> forrajeando en diversas fuentes alimenticias.	24

CAPÍTULO 2: Consenso y simetría en la explotación de recursos: influencia de la experiencia individual

Figura 14. Principales estrategias de comunicación dentro del nido sobre fuentes rentables.	31
Figura 15. Representación gráfica del consenso o la simetría en la explotación de varias fuentes alimenticias.	34
Figura 16. Mapa de la ciudad de San Carlos de Bariloche y sus alrededores.	40
Figura 17. Extracción de nidos subterráneos de <i>V. germanica</i> .	41
Figura 18. Cajas con nidos experimentales.	42
Figura 19. Obrera forrajera de <i>V. germanica</i> a punto de ingresar al nido experimental con un trozo de jamón recolectado de la fuente experimental.	42
Figura 20. Diseño experimental.	43
Figura 21. Esquema del diseño experimental para evaluar la asignación del esfuerzo de forrajeo de colonias de <i>V. germanica</i> en la explotación de dos fuentes simultáneas de iguales características (a) y la influencia de la experiencia previa en esta asignación (b).	44
Figura 22. Esfuerzo de forrajeo asignado por colonias de <i>V. germanica</i> a la explotación de dos fuentes proteicas de igual calidad (5 gr. de carne picada) ofrecidas simultáneamente (n=8) ...	47
Figura 23. Influencia de la experiencia previa en la asignación de esfuerzo de forrajeo a la explotación de dos fuentes proteicas (5gr de carne picada) (n=12).	48
Figura 24. Tiempo transcurrido (latencia) hasta el aterrizaje de la primera obrera en dos fuentes.	49

CAPÍTULO 3: Diferencias en la percepción gustativa entre obreras de *V. germanica*: influencia de la calidad, del tipo de recurso y de la experiencia previa

Figura 25. Detalle del aparato bucal de <i>V. germanica</i> en condiciones naturales.....	59
Figura 26. Foto del aparato bucal de <i>Vespula germanica</i>	60
Figura 27 . Esquema de la cabeza de <i>Vespula</i> spp.....	61
Figura 28. Técnica de encepado de obreras utilizada en los experimentos de estimulación gustativa.....	66
Figura 29. Puntuación (<i>score</i>) asignada a cada obrera según la respuesta observada..	69
Figura 30. Porcentaje de individuos que, tras la estimulación en las antenas o los palpos, extienden el complejo maxilo labial.....	71
Figura 31. Efecto de la estimulación repetida en el reflejo de extensión del complejo maxilo-labial.....	72
Figura 32. (a) Porcentaje de respuestas positivas de extensión del complejo maxilo-labial (MaLER) según la concentración de solución ofrecida (agua, 3%, 10%, 20% y 50% de sacarosa p/p).....	73
Figura 33. (a) Porcentaje de respuestas positivas de extensión del complejo maxilo-labial (MaLER) según la concentración de solución ofrecida (agua, 3%, 5%, 10% y 15% de sacarosa p/p)	75
Figura 34. (a) Porcentaje de respuestas positivas de extensión del complejo maxilo-labial (MaLER) según la concentración de solución ofrecida (agua, 3%, 5%, 10% y 15% de peptona de carne p/p)	76

CAPÍTULO 4: Requerimientos nutricionales: influencia de la edad y las demandas de la colonia en la valoración del recurso

Figura 35. Diseño experimental para evaluar los efectos de la edad y del rol dentro de la colonia en la decisión de explotación de un recurso..... 89

Figura 36. Alimentadores ofrecidos a campo con recursos azucarados (a) y recursos proteicos (b)..... 91

Figura 37. Diseño experimental para evaluar los efectos de las demandas de la colonia en la decisión de explotación de un recurso..... 92

Figura 38. Porcentaje de obreras *naïve* que responden positivamente en cada ensayo.. 95

Figura 39. Porcentaje de obreras forrajeras que responden positivamente para cada ensayo. 97

Figura 40. Porcentaje de obreras forrajeras que aterrizaron en la estación de prueba para cada grupo experimental. 98

CAPÍTULO 5: Discusión general y conclusiones principales

Figura 41. Resumen del marco teórico abordado en la tesis con los principales resultados obtenidos. 119

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a Juan Corley por haberme abierto las puertas de laboratorio, por guiarme y acompañarme dejándome elegir el camino, siempre con buena onda y “tirando para adelante”. A mi codirectora, Maité Masciocchi, por haberme acompañado en estos cinco años a la par, por enseñarme constantemente, por las palabras de aliento y por contagiarme de energía motivadora disfrazada de granos de polen. A ambos por alentarme a dar lo mejor de mí, exigirme constantemente y esperar siempre más.

A INTA y CONICET por el apoyo institucional imprescindible para muchas tareas. Mención especial a Juampi e Inés por estar siempre al pie del cañón.

A Rodrigo Pol, Andres Arenas y Patricia Fernandez por revisar esta tesis y por sus valiosos aportes.

A la UBA, el DBBE y los integrantes de la comisión de seguimiento de tesis, Walter Farina y Raúl Alzogaray, por el apoyo académico e institucional.

A todo el GEPI. Gerardo y Romi, compañeros de oficina, por bancar mis humores y “aguantar los trapos”. Por el apoyo constante en la estadística, discusión de experimentos, escritura de tesis. A Anto, Santi, Gime y Meli, por sacarme el papel de

“becaria única” y alegrar todos los días con risas y chistes. A Debo, Vicky, Jose, Andres, Romi D, Ana Laura, por los consejos, las discusiones, los almuerzos y la buena voluntad para ayudar siempre. A todos los CPAs y pasantes que me acompañaron en las salidas de campo poniendo el cuerpo.

Quiero agradecer a todo el personal del Colegio San Patricio y especialmente a Carolina Dartiguelongue que me recibió y formó como docente, entendiendo siempre el desafío de complementar las obligaciones del doctorado con las de la docencia.

A mis viejos, mis abuelos y a la O.M.U..... básicamente por todo (acá es donde si fuera un gol señalaría a su sector en la tribuna).

A lo mejor que me dejó esta carrera: los amigos. A las que más que amigas son hermanas, por las largas sesiones de terapia y catarsis: Lupe, Agus, Mai y Vale. A mi familia Barilochense, que supo contenerme en todo momento: Juan, Silvi, Caro C., Caro M., Dai, Marga. Y a todos los que me acompañaron, me escucharon y me apoyaron siempre: Maru, Flor, Caro M., Gigita, Agus A.C., Quique, Nati, Agus A., Agus V., Mari A., Cesar, Nico, Las Panteras con Leo incluido (obvio), Doble IPA y algunos más que seguro se me están pasando.

En fin, 5 años llenos de aprendizajes y crecimiento, profesional y personal, que nunca podrían haber sido concretados sin todo un batallón de personas acompañando cada uno desde su rol. Gracias a todes y cada une!!!

“ Las teorías pasan. La rana permanece ”

Jean Rostand

Citada en “El juego de lo posible”

François Jacob

RESUMEN

Durante la búsqueda de alimentos los individuos necesitan resolver si explotar un recurso dado o continuar buscando nuevos sitios de alimentación, que posiblemente sean mejores. Esta decisión se basa principalmente en la recopilación e integración de información del ambiente (como la disponibilidad y la rentabilidad de la fuente) e información interna (como, por ejemplo, los requerimientos nutricionales del individuo). En las especies sociales - caracterizadas por la división del trabajo, la superposición de las generaciones y el cuidado cooperativo de las crías - la toma de decisiones individuales también está influenciada por el nivel de organización social y las necesidades nutricionales de la colonia, las cuales también pueden variar con el tiempo y el desarrollo del nido. Más aún, en avispas sociales la toma de decisiones de alimentación incluye un nivel más de complejidad: las avispas son insectos silvestres que se alimentan de una variedad de recursos muy diferentes y dinámicos, como la carroña, presas de insectos vivos y frutas maduras. Esta diversidad en tipo de recursos a explotar afecta también las decisiones de alimentación. *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) comúnmente conocida como “chaqueta amarilla”, es una avispa eusocial que ha invadido con éxito la Patagonia Argentina, en donde se la considera plaga. En esta tesis estudié aspectos del comportamiento y la toma de decisiones de forrajeo a nivel de colonia y a nivel individual de *V. germanica*, evaluando la influencia de la edad, el papel dentro de la colonia y la experiencia previa en tres

aspectos fundamentales: (1) la explotación de dos fuentes de alimento disponibles simultánea y no simultáneamente, (2) el umbral de rentabilidad de un recurso y (3) la explotación de fuentes con diferentes aportes nutricionales.

En primer lugar (**Capítulo 2**), estudié la estrategia de explotación de la colonia frente a dos fuentes disponibles. Para esto, primero evalué la preferencia, medida como número de visitas y tiempo de latencia, de dos fuentes proteicas ofrecidas simultáneamente; y segundo evalué la influencia de la experiencia sobre ésta. Encontré que no existe una preferencia marcada entre las dos fuentes, aun cuando una de ellas era conocida previamente, sugiriendo que *V. germanica*, a diferencia de otros insectos sociales, posee mecanismos que le permiten descubrir y explotar una o más fuentes simultáneamente, independientemente de momento de aparición de estas.

El segundo aspecto que evalué fue la existencia de un umbral de rentabilidad de recursos proteicos y azucarados, y como éste es influenciado por la edad y la experiencia previa del individuo (**Capítulo 3**). Para esto, estimulé antenas y palpos con distintas soluciones (azucaradas y proteicas) y registré la aceptación de estas. Observé que, tanto para soluciones proteicas como soluciones azucaradas, existe un umbral de rentabilidad, por debajo del cual las avispas no ingieren el recurso, y que este umbral es similar entre obreras, independientemente de la edad y de la experiencia previa del individuo.

A lo largo del **Capítulo 4**, estudié como los requerimientos nutricionales individuales y de la colonia modifican el comportamiento de forrajeo de la obrera según su edad y su papel dentro del nido. Para esto, expuse a un contraste entre recursos azucarados

y proteicos (esto es, entrenamiento con un tipo de recurso y prueba con el otro) a avispas aisladas de la colonia (recién emergidas, de edad conocida y forrajeras) y a avispas forrajeras en condiciones naturales. Observé que los tres grupos de obreras que no tenían contacto con la colonia ingerían hidratos de carbono independientemente de la experiencia previa. Mientras que forrajeras en contacto con la colonia priorizaron el consumo de recursos proteicos. Por lo tanto, los requerimientos nutricionales de la colonia influyen fuertemente en las decisiones de forrajeo y no así la edad y el rol de cada obrera en la colonia.

Para finalizar, en el **Capítulo 5**, concluyo que *V. germanica* posee mecanismos de explotación de alimentos altamente flexibles que actúan en dos niveles distintos. Por un lado, a nivel de colonia, donde observé la existencia de obreras con una fuerte tendencia a buscar nuevos sitios de recolección y otras que mantienen una fuerte fidelidad a la fuente. Por el otro, a nivel individual, observé obreras que poseen umbrales de respuesta flexible que varían según las demandas de la colonia. Considero que esta información abre un campo prometedor para la investigación sobre el aprendizaje y la toma de decisiones a nivel conductual. A su vez, estos conocimientos son fundamentales para perfeccionar las estrategias de control, basadas en la captura de obreras y/o en la incorporación de tóxicos a los nidos a través del proceso de recolección de alimentos (estrategia de control más utilizada en la actualidad).

Palabras clave: *toma de decisiones, avispa generalista, insecto invasor, control de plagas, insectos sociales*

Abstract

During food searching, individuals need to decide whether to exploit a given resource or to continue looking for new, potentially better resources. This decision is mainly based on the integration of information from the environment (such as the availability and profitability of the source) and of the individual (such as the nutritional requirements). Moreover, the decision making process in social species - those that are characterized by division of labor, overlapping generations, and the cooperative care of offspring - is also influenced by the level of group organization and the nutritional necessities of the colony, which can also vary with time and the nest development. Moreover, the study of feeding decisions in truly social wasps is even more complex: scavenger wasps feed on very different resources such as live insects, carrion, and ripe fruits. Thus, wasp feeding decisions are also affected by the type of resource encountered. *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae), commonly known as “yellow jacket wasps”, is an eusocial wasp that has successfully invaded the Patagonia (Argentina), where it may be regarded as a common pest. In this dissertation, I report my studies on several behavioral aspects and foraging decision made by *V. germanica*, assessing the influence of age, their role in the colony and experience, focusing on three fundamental aspects: (1) the exploitation of two simultaneous food sources, (2) the resource’s profitability threshold, and (3) the exploitation of food sources with different nutritional contributions.

First (**Chapter 2**), I studied the exploitation strategy of colonies against two available food sources. In order to do this, I evaluated worker preference, measured as the number of visits and latency time, towards two protein sources, which were offered simultaneously, considering also wasp past experience. I found that there is no noticeable preference between both food sources, even when one of them was previously known by the foragers, suggesting that *V. germanica*, unlike other social insects, displays behaviors that allow them to discover and exploit one or more sources simultaneously, regardless of when these became available.

The second aspect I evaluated (**Chapter 3**) was the existence of a profitability threshold of protein and sugary resources, and how this threshold is influenced by age and the individual experience. For this, I stimulated antennae and palps of tethered workers, with different solutions (protein and sugar-rich solutions), and I tallied acceptance response. I noted that, for both protein and sugary solutions, there is a profitability threshold, below which wasps do not consume the resource, and that this threshold is similar among the workers, independently of age and experience.

Throughout **Chapter 4**, I studied how both the individual and the colony's nutritional requirements modify worker foraging behavior, according to age and role within the nest. In order to do this, I presented workers with a contrast between sugary and protein resources (that is, a training with one type of resource and a testing against the other) to isolated wasps (foragers, freshly emerged, and of a given, known age) and to foraging wasps in natural conditions. I noted that the three groups of workers that did not have prior contact with other colony members, ingested carbohydrates, independently of their experience, whereas the foragers that had contact with the

colony, prioritized the consumption of protein resources. Therefore, I show that the nutritional requirements of a colony strongly influence the foraging decisions, but not the age and the role of each worker in the colony.

Finally, in **Chapter 5**, I conclude that *V. germanica* displays a flexible behavior during food resource foraging, affected by level of organization. On the one hand, at the colony level, I observed that some workers show a spontaneous impulse to search for new feeding sites, but others maintain a strong fidelity to a given resource. On the other hand, at an individual level, I note that workers possess flexible response thresholds, that vary according to colony demands. I believe that this information opens a promising field for research on learning and decision making at a behavioral level. In turn, this knowledge is fundamental to understand and improve current control strategies.

Key words: *decision making, generalist wasps, invasive insects, pest management, social insects*

CAPÍTULO 1

Introducción general

1.1. Decisiones de forrajeo

La adquisición de recursos por los seres vivos, es un factor importante que determina su aptitud reproductiva individual y supervivencia (Pyke *et al.* 1977). El éxito de un animal heterótrofo durante el forrajeo está determinado por tres factores: (1) la estrategia de búsqueda (es decir, dónde buscar los recursos), (2) su capacidad cognitiva (es decir, cómo reconocer rápidamente los tipos y calidad del recurso), y (3) la toma de decisiones (es decir, si explotar el recurso encontrado o continuar explorando; Zhang y Hui 2014).

Para los individuos que forrajean existe un compromiso (“*trade off*”) entre la **explotación** y **exploración** de las fuentes de alimento (Begon *et al.* 2006). La distribución irregular del alimento en el ambiente provoca una obtención de energía en “pulsos” y, por consiguiente, una ingesta nula para el forrajero que viaja entre fuentes. Por lo tanto, cuando un animal forrajea confronta la siguiente situación: si deja la fuente inmediatamente después de encontrarla, pasará la mayor parte del tiempo *explorando* el ambiente, y si por el contrario solo permanece *explotando* la primera fuente encontrada, pasará largos períodos en parches agotados o

empobrecidos (Begon *et al.* 2006). Para decidir si explotar o no -de manera de disminuir al máximo la compensación explotación-exploración- los individuos deben valorar e integrar varios aspectos. En primer lugar, deben **recopilar información** acerca del ambiente que los rodea y la disponibilidad de fuentes; en segundo lugar, una vez identificada la fuente, deben **evaluar la rentabilidad** de esta en términos absolutos; y por último, deben relativizar este valor teniendo en cuenta otros aspectos como, por ejemplo, el **aporte nutricional y los requerimientos** fisiológicos de determinados nutrientes (que a su vez, están influenciados por aspectos del individuo como la edad o la saciedad; Corley 1999; Figura 1). En esta sección presento una revisión de los tres factores que modulan la toma de decisiones de explotación-exploración.

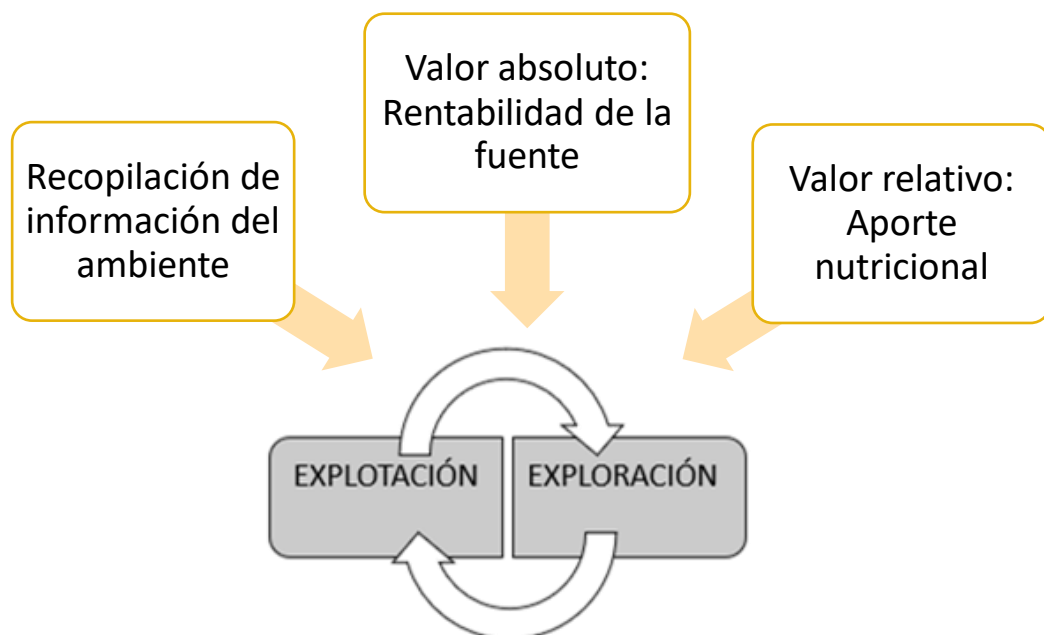


Figura 1. Principales aspectos que integra y valora un individuo forrajero en el momento de tomar la decisión de explotar una fuente o continuar explorando otras.

1.1.1. Recopilación, integración y procesamiento de información ambiental en la toma de decisiones

Para decidir con eficacia donde forrajear por alimento, los animales necesitan

información sobre las diversas alternativas (Dall *et al.* 2005). *Información* es cualquier elemento o factor que reduzca la incertidumbre y, a menos que las condiciones sean estables, los animales deben intentar recopilar nueva información constantemente (Dall *et al.* 2005). Hay dos formas en las cuales un animal puede adquirir información: (1) interactuando directamente con el medio ambiente a través de prueba y error (**información personal**) o (2) monitoreando las interacciones de los demás con el entorno (**información social**) (Danchin *et al.* 2004). A su vez la información social puede estar basada en *claves* emitidas inadvertidamente por los individuos que se encuentran realizando la actividad (por ejemplo, mejora local o “*local enhancement*”) o puede estar basada en *señales* o rasgos seleccionados específicamente para transmitirla. Esta última vía de adquisición de información se denomina **comunicación**, y en ella tanto el emisor como el receptor participan activamente (Danchin *et al.* 2004).

Las ventajas de la adquisición constante de información personal han sido estudiadas. Por ejemplo, se han realizado estudios con palomas domésticas expuestas a la elección entre dos fuentes de alimento (una con escasa cantidad de presas ofrecidas de forma constantes; y otra fluctuante entre alta y baja cantidad de presas) y se observó que las palomas muestrean constantemente ambas fuentes para rastrear los cambios, aun cuando estas tienen el mismo valor (por ejemplo, escasa cantidad de presas; Shettleworth 1988). Sin embargo, si bien en un contexto de forrajeo la adquisición de información nueva lleva al descubrimiento de nuevas fuentes, posiblemente más rentables, también tiene desventajas: para recopilar información nueva los animales deben redirigir recursos como energía y tiempo, a expensas de las demandas biológicas básicas, como crecimiento y reproducción (Grüter y Leadbeater 2014).

Existen mecanismos para mitigar las desventajas de la adquisición constante de nueva

información. La información ambiental (ya sea personal o social) se presenta en estímulos de diferentes modalidades sensoriales (esto es, olfativa, gustativa, táctil, visual, auditiva) que son integradas y procesadas por los animales. El **aprendizaje** es la adquisición de nueva información del ambiente (por ejemplo, configuraciones espaciales; información sensorial como características visuales, auditivas u olfativas; asociaciones entre estímulos percibidos y contexto); y se denomina **aprendizaje social** cuando la información adquirida viene de la observación de, o la interacción con otros individuos (Menzel 1993, Heyes 1994, Giurfa 2007, Dukas 2008). Por lo tanto, el aprendizaje social es aquel aprendizaje individual que tiene lugar en un contexto social. La nueva información adquirida debe codificarse y almacenarse en forma de **memoria**, de manera tal de poder ser recuperada y expresada posteriormente a través de respuestas comportamentales determinadas (McGaugh y Roozendaal 2008). Así, a través del aprendizaje provocado por las experiencias previas, los animales pueden generar una representación interna del medio ambiente (memoria) que les permite extraer reglas y estructuras para anticiparse a los eventos relevantes del entorno y reducir de este modo la incertidumbre, evitando gastar tiempo y energía en la recopilación constante de nueva información (Figura 2; Mackintosh 1994). Por ejemplo, los parasitoides como *Asobara tabida* toman decisiones de oviposición en base a la información adquirida sobre la calidad del parche en visitas previas a los mismos, sin tener en consideración si en el tiempo transcurrido el parche sufrió alguna modificación que alteró su valor (Thiel y Hoffmeister 2006).

En conclusión, si bien los animales requieren de la adquisición de información sobre las fuentes disponibles en el ambiente (ya sea de forma personal o social), este proceso es “costoso”. Por ello, en determinadas situaciones, utilizan la información adquirida de experiencias previas para tomar la decisión de que fuente explotar.

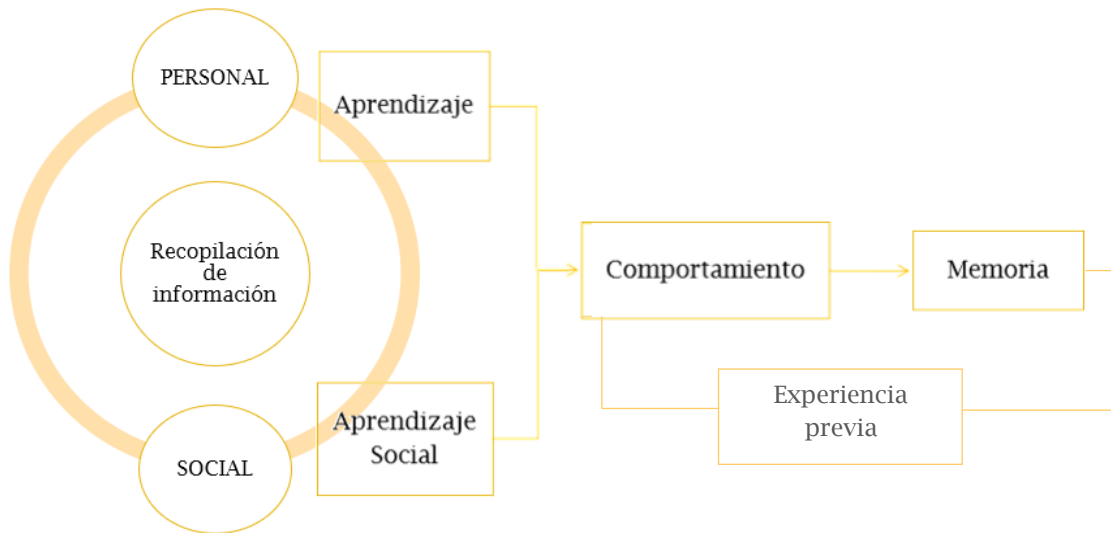


Figura 2. Recopilación y procesamiento de la información. Los individuos pueden adquirir información ya sea interactuando con el ambiente (información personal) u observando la interacción de otros (información social). Una vez adquirida esa información se genera un comportamiento que se procesa como un aprendizaje en particular que puede ser consolidado como memoria, a la cual pueden acceder los animales en futuros eventos de forrajeo.

1.1.2. Influencia de la rentabilidad de la fuente: aceptación o rechazo

Una vez localizadas varias fuentes de alimento, los animales forrajeros deben decidir cuál explotar, dado que no todas ofrecen la misma recompensa. La **rentabilidad** de una fuente está determinada por la *calidad* del recurso, que a su vez depende de la *variedad* de nutrientes que lo componen y la *abundancia relativa* de cada uno. De esta forma, una gota de miel y una fruta tienen distinta calidad ya que la variedad y la abundancia de nutrientes es distinta. De igual forma, una gota de azúcar concentrada y una diluida o un trozo de carne fresco y uno en descomposición tienen distinta calidad ya que la abundancia relativa de los nutrientes es diferente. Varios estudios han demostrado la influencia de la rentabilidad de la fuente en la explotación de la misma, por ejemplo, las larvas de coccinélidos (*Coccinella septempunctata*) pasan la mayor parte del tiempo en las hojas con alta abundancia de pulgones, el ave archibebe común (*Tringa totanus*)

se agrupa en parches con mayor densidad de presa y el parasitoide *Delia radicum* tiene una dependencia directa del porcentaje de ataques al hospedador con su abundancia (Goss-Custard 1970, Hassell y May 1974, Pacala & Hassell 1991).

Para detectar la calidad de un recurso, el mismo debe ser evaluado a través del gusto. El sentido del gusto implica la capacidad de detectar moléculas químicas en estado líquido o sólido; y su morfología y fisiología es muy variada entre los animales (Chapman 2012). En general el contacto de un órgano sensorial con el alimento desencadena una cascada de comportamientos que terminan en la ingestión o rechazo de este en función de si el estímulo censado supera un determinado umbral (Chapman 2012). Por ejemplo, en la mosca *Phormia* sp., la estimulación de los quimiorreceptores del tarso con azúcar suficientemente concentrada conduce a la extensión de la trompa, que pone en contacto a los quimiorreceptores con la comida que a su vez hacen que la mosca extienda las labelas y comience la succión (Chapman 2012).

Sin embargo, se ha demostrado que el aumento en la calidad de la fuente en determinadas ocasiones genera la disminución del consumo por parte del individuo, por ejemplo, una serie de experimentos con murciélagos nectarívoros demostraron que estos prefieren siempre la mayor concentración de néctar hasta un máximo de concentración, luego del cual la aceptación comienza a disminuir (Roces y Núñez 1993). Este fenómeno también fue observado en mariposas, abejas, abejorros y hormigas, quienes prefieren siempre la solución de mayor concentración hasta llegar a una dada *concentración crítica* por encima de la cual la preferencia disminuye (Roubik y Buchmann 1984, May 1985, Harder 1986, Josens *et al.* 1998). En general, la disminución en la ingestión se debe a un aumento en el gasto energético requerido para su explotación. Por lo tanto, existe un rango óptimo en la calidad de una fuente que genera en el individuo forrajero la máxima motivación recolectora; por fuera de

este la ingesta disminuirá gradualmente (rechazo).

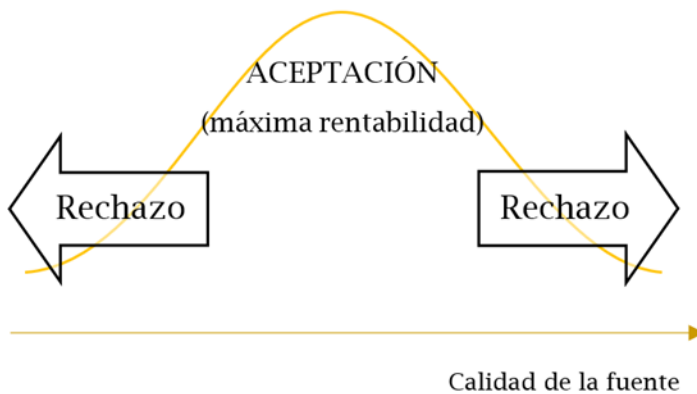


Figura 3. Respuesta de ingestión de animales forrajeros frente a la rentabilidad de la fuente. Recursos de muy baja calidad no superan el umbral de percepción y por lo tanto no son aceptados, mientras que recursos más ricos, requieren de más energía para su explotación que la energía que proporcionan. Entre estos dos extremos, se encuentra un rango de calidad en el cual la rentabilidad es máxima y la fuente es aceptada.

1.1.3. Requerimientos nutricionales y relativización del valor de la fuente

La decisión de que comer y en qué cantidades es de suma importancia en un animal forrajero para mantener un estado nutricional equilibrado que maximice su aptitud física. Estas estrategias nutricionales afectan profundamente la fisiología, el comportamiento y el desempeño de los individuos (Chapman 2012). La nutrición implica una interacción compleja entre el comportamiento de alimentación de un animal y la oferta del ambiente. Para crecer, mantener los tejidos, reproducirse y obtener la energía necesaria para llevar a cabo diferentes funciones, los organismos deben ingerir sustancias químicas a través de los alimentos adecuados en cantidades apropiadas y evitar excesos nocivos (Lihoreau *et al.* 2015).

Para alcanzar el estado nutricional óptimo los animales deben seleccionar alimentos e ingerirlos en cantidades y proporciones apropiadas. Sin embargo, a medida que el animal se alimenta, su estado nutricional cambia (Chapman 2012). Un animal debe

evaluar constantemente la calidad del recurso, y en base a sus necesidades nutricionales decidir si alcanzar su objetivo de ingesta comiendo un solo alimento nutricionalmente equilibrado o mezclando dos o más alimentos nutricionalmente complementarios (Lihoreau *et al.* 2015). Mientras que, si existe una restricción a un alimento nutricionalmente desequilibrado, el animal debe alcanzar un compromiso entre la ingesta excesiva de algunos componentes alimenticios y la ingestión insuficiente de otros (Lihoreau *et al.* 2015). Por lo tanto, según el estado interno del animal y la nutrición de este, así como la oferta del ambiente, cada fuente tomará un valor relativo. Por ejemplo, Corley (1999) demostró que para las hembras parasitoides de *Venturia canescens*, el valor de un dado parche de hospedadores es distinto si éste es el único parche disponible o si está inmerso en una matriz de otros parches, sugiriendo que estos animales resuelven la toma de decisiones en función del valor relativo del recurso encontrado.

En conclusión y según lo expuesto anteriormente, existen diversos factores que regulan el comportamiento alimentario de los animales forrajeros. Las señales recibidas por un individuo desde el medioambiente (factores externos como la ubicación y la calidad de una fuente) y las basadas en su estado fisiológico o motivación recolectora (factores internos), que a su vez están modulados por su experiencia y el umbral de percepción, determinan de manera conjunta su respuesta comportamental, modelando la toma de decisiones durante la búsqueda y recolección de alimento.

1.2. Forrajeo en insectos sociales

Los insectos constituyen unas de las clases más abundantes del reino animal. Con alrededor de 1.000.000 de especies descritas (Chapman 2012), su gran diversidad en

estrategias de adaptación al medio ambiente pareciera ser la clave de su éxito. Dentro de estas estrategias, se destaca en algunos casos una estructura social de cooperación, la **eusocialidad**, presente en termitas, hormigas (Formicidae), algunos tipos de abejas (Apoidea) y avispas (Vespidae) (Figura 4).

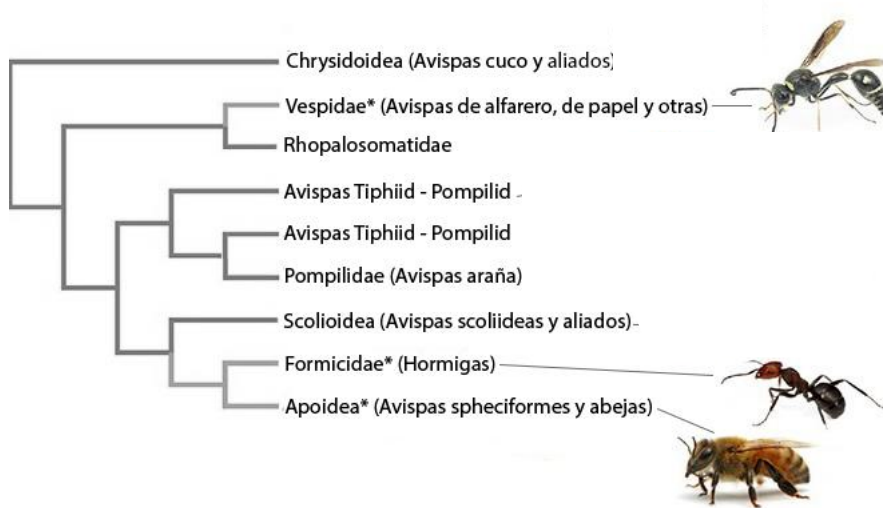


Figura 4. Cladograma que representa las relaciones entre los principales grupos de Hymenoptera. Los asteriscos designan linajes que contienen especies eusociales. Las hormigas son totalmente eusociales, pero esto no ocurre en todas las especies de Vespidae y Apoidea. Adaptado de Johnson *et al.* (2013).

La eusocialidad está definida por tres características: (1) cooperación en el cuidado de la cría, (2) superposición temporal de al menos dos generaciones capaces de contribuir en la labor social y (3) diferenciación reproductiva de los miembros de la colonia en castas fértiles (reinas y machos) y una casta estéril mucho más abundante (obreras) (Michener 1969; Wilson 1971). Estas últimas se ocupan de las tareas de mantenimiento del nido y atención de las crías e individuos reproductores.

Dentro de la casta de las obreras puede existir una división de tareas adicional denominada **polietismo etario** o temporal, de modo que cada edad está caracterizada por realizar cierto tipo de tareas (Figura 5). Generalmente, los individuos más jóvenes son los encargados de la atención y cuidado de las hembras reproductivas (reina o

reinas), huevos y pupas; los de mediana edad cuidan a las larvas, y por último los de mayor edad son los encargados de las tareas en el exterior del nido como la recolección de recursos y la guardia (Jaffé y Sánchez 1984, Busher *et al.* 1985, Hölldobler y Wilson 1990, Cassil y Tshinkel 1999, Braendle *et al.* 2003). Sin embargo, la distribución de roles y tareas entre obreras tiene cierta flexibilidad y puede cambiar según las condiciones particulares de la colonia. Por ejemplo, se ha demostrado que colonias de abejas y abejorros, en las que se han manipulado las reservas de nutrientes, modificaron el número total de recolectores de cada tipo de recurso para equilibrar los nutrientes en la colonia (Rotjan *et al.* 2002, Hendriksma *et al.* 2019). Contrariamente, en otros insectos sociales como algunas avispas sociales el polietismo es menos marcado.

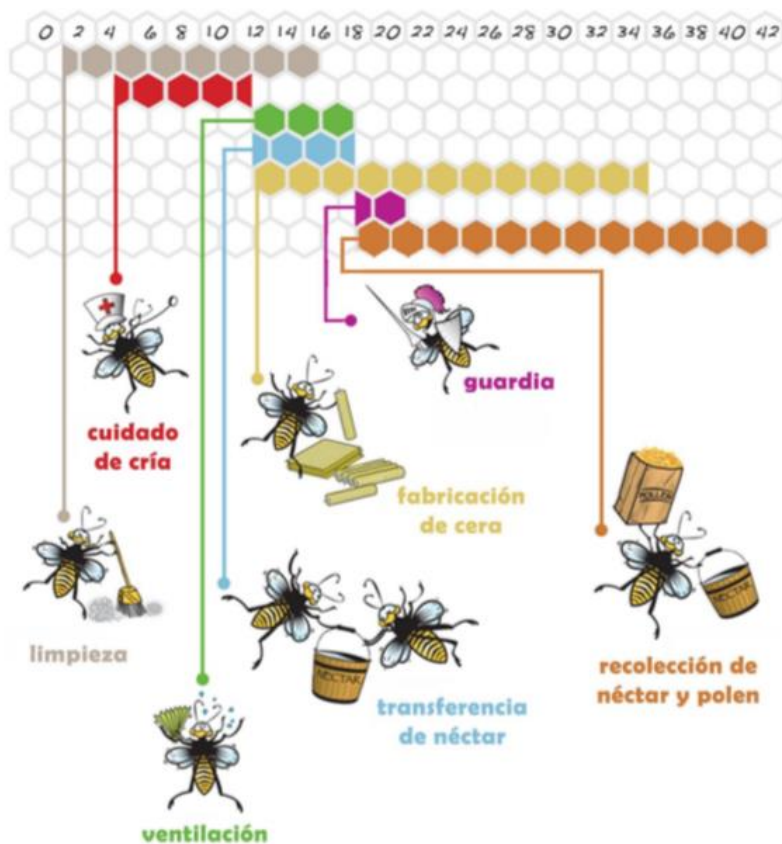


Figura 5. Polietismo etario en *Apis mellifera*. Tareas realizadas por una abeja obrera a lo largo de su vida adulta. Crédito: Grupo INSSOC.

1.2.1.1. Recopilación, integración y procesamiento de información ambiental en insectos sociales

En todos los insectos sociales la realización de tareas responde a los requerimientos de la colonia como una unidad funcional, y su organización y coordinación se basa en las decisiones individuales junto con un eficiente sistema de comunicación entre los individuos (Seeley 1989, O´Donnell y Bulova 2007, Hölldobler y Wilson 2008). Para encontrar una fuente de alimento una obrera forrajera puede, al igual que cualquier animal forrajero, (1) adquirir nueva información personal (buscando nuevos sitios de forrajeo), (2) adquirir nueva información social disponible en la colonia u externa a ella (siguiendo las señales producidas por otros forrajeros hacia nuevas fuentes de alimentos descubiertas), o (3) recurrir a la información personal que ya ha obtenido, ya sea individual o socialmente, a través de la experiencia previa (visitando las fuentes de alimentos que ya conoce).

En una colonia, todos los individuos comparten los mismos intereses: el éxito y supervivencia de la colonia. Por lo tanto, las señales sociales informativas (comunicación) deben ser sumamente confiables (los emisores también se benefician al proporcionarla) lo que favorece la evolución del aprendizaje social (Grüter 2014). Las estrategias de comunicación en insectos sociales han evolucionado repetidamente hasta alcanzar los sofisticados sistemas descritos a la fecha, que incluyen señales táctiles (por ejemplo, contactos entre antenas), químicas (como feromonas), vibracionales y la combinación de todas ellas para formar comportamientos complejos como por ejemplo la danza de las abejas melíferas (Jarau y Hrnčir 2009).

Recurrir a la información personal adquirida de la experiencia previa o a la información brindada por compañeras disminuye los tiempos y la energía invertida en la búsqueda,

dado que la ubicación de la fuente rentable es conocida generando una explotación del recurso más rápida y eficaz (Grüter 2014). Sin embargo, sin exploración es probable que no se descubran nuevas fuentes alimenticias que podrían ser mejores o simplemente reemplazar a las existentes cuando se agoten. En consecuencia, a pesar de los costos potenciales de tiempo, energía y riesgo de depredación, la exploración de nuevas fuentes de alimentos podría incrementar el éxito individual y de las colonias en un entorno cambiante (Grüter 2014). Por lo tanto, los costos y beneficios de depender de la información personal, la información social y la exploración son muy variables y específicos del contexto, y ninguna de las tres opciones es sistemáticamente más adaptativa.

1.2.1.2. Rentabilidad y requerimientos nutricionales: valoración de la fuente de alimento en insectos sociales

En insectos sociales la obtención de alimento recae sobre las obreras forrajeras (un grupo dentro de todos los individuos de la colonia). Cuando una obrera exploradora o “*scout*”, encuentra una nueva fuente de alimento, recoge una parte del recurso y regresa al nido. Una vez allí descarga el alimento, que será distribuido entre diversos miembros de la colonia y –en aquellas especies que realizan recolección en forma grupal- comienza a motivar a otras forrajeras a través de diferentes vías de comunicación (química, vibratoria, táctil). Es así como las forrajeras inactivas pueden ser incentivadas a la explotación de nuevas fuentes de alimento. Luego, en la medida en que la fuente tenga una buena productividad, la obrera (ya sea la exploradora o la reclutada) regresará a la fuente de alimento, realizando así cada forrajera sucesivos ciclos de recolección (Hölldobler y Wilson 1990).

La eusocialidad, suma a los individuos forrajeros un desafío más en el momento de la

recolección de alimentos. Además de encontrar una fuente que sea de buena calidad y que responda a sus requerimientos nutricionales, las forrajeras de una colonia deben responder a las demandas de ésta. La división del trabajo, que conlleva a la asignación del forrajeo solo a un subconjunto de miembros, y la superposición de generaciones compuestas de individuos maduros e inmaduros con diferentes requerimientos de nutrientes, adiciona el desafío de recolectar alimentos que satisfagan sus propios requisitos nutricionales y, al mismo tiempo, las necesidades nutricionales de los otros miembros de la colonia, incluida la reina, las larvas y las demás obreras (Hölldobler y Wilson 1990, Cassill y Tschinkel 1999).

En conclusión, en insectos sociales la decisión de una obrera forrajera de recolectar un alimento encontrado está determinada por factores externos (por ejemplo, la oferta del ambiente) e internos (por ejemplo, los requerimientos nutricionales), pero que ocurren tanto a *nivel individual* como a *nivel de colonia*. A nivel individual, la condición fisiológica actual (por ejemplo, en abejas la tendencia a recolectar polen o néctar) y la experiencia previa pueden provocar un comportamiento de búsqueda determinado y, además, el atractivo del alimento encontrado puede verse afectado por la disponibilidad y/o la abundancia relativa percibida (Stein *et al.* 1990, Hahn y Wheeler 2002, Kay 2004). A nivel de la colonia, es importante la retroalimentación relacionada con las demandas nutricionales de las larvas y reproductivos (especialmente de proteínas), transmitida a través de una “cadena de demanda” creada por el intercambio de alimentos entre los miembros de la colonia (Cassill *et al.* 1998, Cassill y Tschinkel 1999, Behmer 2009). Sumado a esto, la fuerza de las señales internas y externas que dirigen las decisiones de alimentación de las obreras forrajeras puede variar temporalmente, lo que complica la tarea de explotación, especialmente frente a posibles deficiencias de recursos (por ejemplo, variación estacional en la

disponibilidad de recursos).

1.2.2. Las avispas eusociales

Aunque hay miles de especies de Véspidos, solo unas 800 especies son sociales o subsociales. Este comportamiento ha evolucionado independientemente dos veces en la familia Vespidae en tres subfamilias distintas: Stenogastrinae, Polistinae y Vespinae (Figura 6; Hines *et al.* 2007). De las 800 especies sociales o subsociales, 23 pertenecen al género *Vespula* (Vespidae: Vespinae; Archer 2012). Comparados con otros insectos sociales (hormigas y abejas principalmente), las avispas son el grupo más pobre en términos de investigaciones y publicaciones científicas relacionadas con el comportamiento de alimentación.

Las avispas sociales difieren de la mayoría de las especies de otros grupos de insectos eusociales en varios aspectos que influyen el comportamiento de forrajeo. Sus nidos están contruidos principalmente de materiales forrajeados, típicamente algún tipo de fibra vegetal; la dieta es principalmente carnívora y obtienen prácticamente todos sus requerimientos proteicos de fuentes animales, aunque también requieren carbohidratos; además, no almacenan alimento dentro del nido, por lo que deben salir a forrajear cada día; y por último, los mecanismos de comunicación que caracterizan a la mayoría de los otros grupos de insectos sociales, son débiles o hasta incluso inexistentes en algunos grupos (Jeanne y Taylor en Jarau y Hrncir 2009).

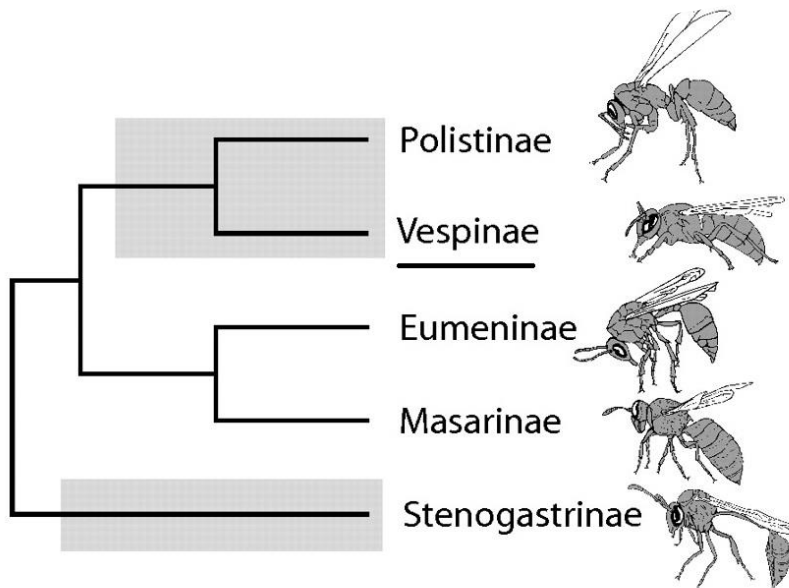


Figura 6. Relaciones a nivel de subfamilia de Vespidae. Filogenia basada en datos moleculares. Los clados eusociales están indicados con sombreado gris. El género *Vespula* spp. se encuentra dentro de la subfamilia Vespinae (subrayado). Adaptado de Hines *et al.* (2007).

Las colonias de avispas del género *Vespula* spp se caracterizan normalmente por un ciclo de vida anual y la alternancia de fases solitarias y sociales, el cual implica la producción de nuevas reinas y machos cada otoño. Las reinas abandonan el nido para aparearse con uno o varios machos y luego buscan un sitio adecuado para hibernar. En primavera, las reinas emergen para establecer nuevas colonias. Los nidos normalmente son subterráneos, aunque pueden iniciarse y crecer también en otros sitios poco convencionales (por ejemplo, cobertizos, cavidades en paredes, espacios en techos o entretechos, colmenas, vegetación densa, huecos de árboles y troncos en descomposición; Spradbery 1973). Una vez elegido el sitio de anidación, la reina fundadora comienza la construcción del nido con sus estantes (“combs”) y coloca un huevo en cada celda (Akre *et al.* 1982). Aproximadamente un mes después emergen las primeras obreras (Figura 7). Cuando estas comienzan a aprovisionar el nido, la reina deja de buscar comida y se dedica a la oviposición (Matsuura y Yamane 1990). A medida que aumenta el número de obreras el nido se agranda, se agregan celdas a los estantes y se rodea todo por una fina capa de celulosa. Cuando el nido es subterráneo,

el suelo se extrae para agrandar la cavidad y acomodar el nido en expansión (Figura 8). Así las colonias crecen desde una sola reina en primavera a varios miles de obreras durante el verano.

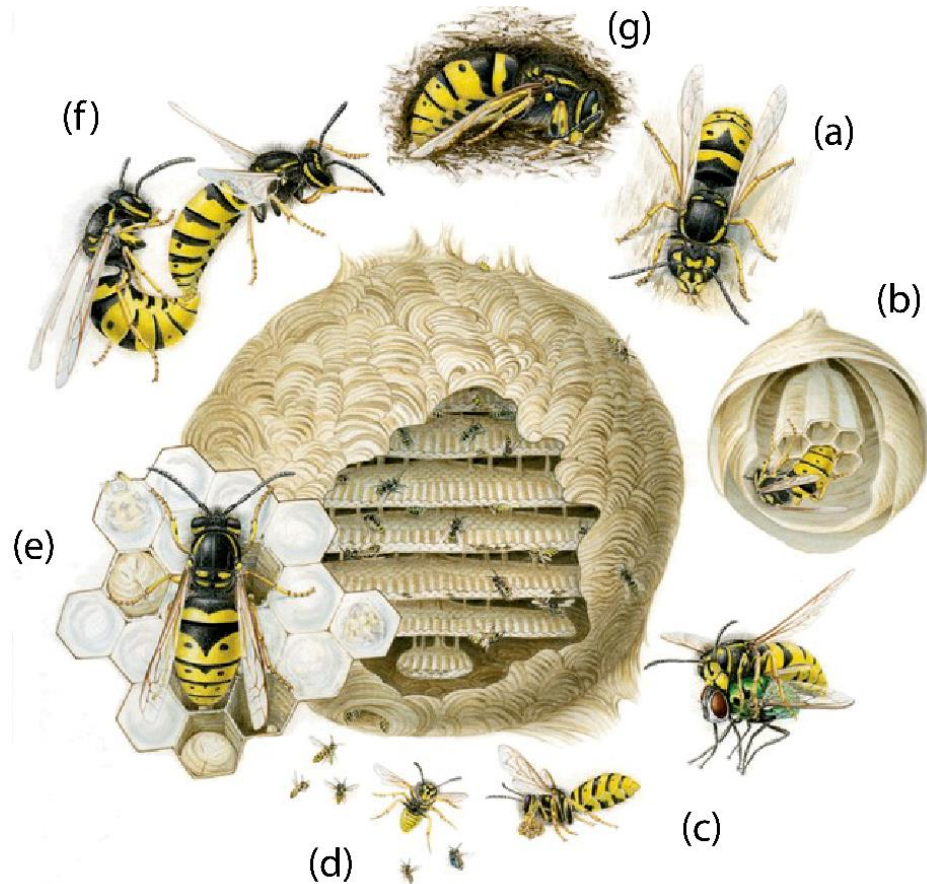


Figura 7. Ciclo de vida típico de las avispas del género *Vespula* spp. Luego del invierno, la reina comienza la construcción del nido (a). Una vez fundada la colonia la reina se encarga de todo hasta el nacimiento de las primeras obreras (b). Las obreras continúan con la construcción del nido, su mantenimiento y su defensa, así como también con la provisión de alimento a las larvas y la reina (c). Hacia finales del verano, cuando la abundancia de obreras es máxima (d), la reina comienza a producir los individuos reproductivos (zánganos y futuras reinas; e), los cuales abandonan el nido en otoño para reproducirse (f). Posteriormente, las nuevas reinas fecundadas buscan algún lugar protegido para hibernar hasta la primavera siguiente (g), mientras que las obreras y los zánganos mueren gradualmente y el nido queda abandonado.

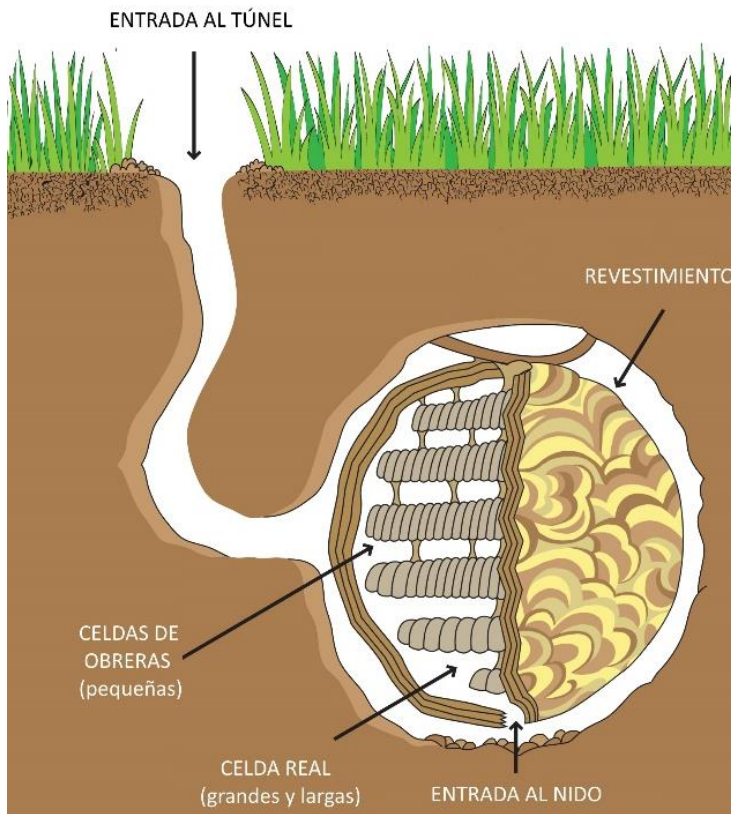


Figura 8. Nido subterráneo de las avispas del género *Vespula* spp. con sus principales compartimentos señalados.

1.3. Modelo de estudio: La avispa social *Vespula germanica* ("chaqueta amarilla")

Tres especies de avispas sociales conocidas como "chaqueta amarilla" se han establecido fuera de su área de distribución nativa, dos de ellas se han convertido en plagas en Argentina: la avispa común (*Vespula vulgaris*) y la avispa alemana (*V. germanica*). Ambas especies pertenecen al orden Hymenoptera (familia Vespidae) y son especies eusociales originarias de Europa, Asia y norte de África cuya distribución nativa abarca una gran variedad de ambientes eco-climáticos, desde el cálido norte africano hasta los bosques de la tundra (Lester y Beggs 2018). En el último siglo, estas avispas han invadido diferentes regiones templadas del mundo, mostrando una gran plasticidad para su establecimiento (Figura 9). El primer reporte de la presencia de *V. germanica* en Argentina es del año 1980 mientras que el de *V. vulgaris* del 2010

(Willink 1980, Masciocchi *et al.* 2010). Desde su arribo a la fecha, ambas especies se han convertido en uno de los insectos más abundantes en la región Patagónica Argentina (Farji-Brener y Corley 1998, Beggs *et al.* 2011, Masciocchi y Corley 2013).

Dada su dieta generalista y el comportamiento depredador, estas avispas poseen un gran impacto sobre diferentes actividades productivas rurales y urbanas. En cuanto a la apicultura, es común el ataque a *Apis mellifera*, afectando negativamente hasta un 10% de las colmenas (Clapperton *et al.* 1989, Masciocchi datos sin publicar). Además, tanto la ganadería como la actividad forestal se ven afectadas, generando en ocasiones pérdidas económicas por disminución en cantidad y calidad de la leche e interferencia con operarios forestales (Yeruham *et al.* 2002, MacIntyre y Hellstrom 2015). Las actividades al aire libre a su vez pueden verse afectadas durante los meses de alta abundancia de avispas (febrero-marzo en Patagonia) y a finales del verano y principios de otoño (marzo-abril), ya que el final del ciclo de vida de la colonia y la escasez de alimento producen un incremento en la conducta agresiva generando aún mayores problemas sanitarios ante posibles picaduras producidas cuando se sienten agredidas. El veneno que inoculan al picar es de alta toxicidad y en los seres humanos puede producir desde una leve hinchazón hasta un choque (“*shock*”) anafiláctico. La presencia de la especie en la Patagonia Argentina ha deteriorado la calidad de vida de los habitantes de zonas rurales y urbanas (Sackmann y Corley 2007).

Las obreras de estas especies, como muchos otros insectos depredadores, poseen mandíbulas de corte grandes y poderosas para capturar, someter y procesar presas, ojos grandes para detectar potenciales presas y la capacidad de volar (Sapradbery 1973). Además, poseen bandas amarillas y negras en el abdomen, patas amarillas que se pliegan al volar, antenas color negro y casi no tiene pelos en sus patas y cuerpo (Figura 10; Sapradbery 1973). El abdomen abultado posee en la parte final un aguijón

que utilizan para defensa a través de una picadura por donde inoculan el veneno (Figura 10.e). El aguijón no es utilizado para someter ni capturar presas y a diferencia de las abejas, que tienen aguijón con rebarbas, poseen un aguijón liso el cual no pierden al momento de picar. Es por eso por lo que una misma avispa puede atacar varias veces a su víctima. El aparato masticador, constituido por mandíbulas de gran poder triturador, le atribuye una mordedura poderosa (Sapradbery 1973).

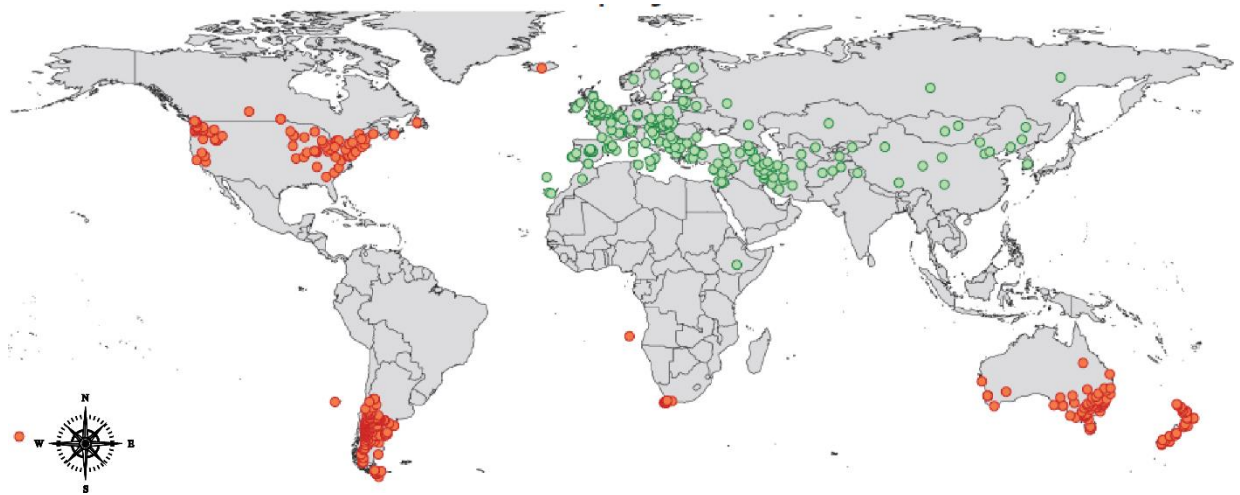


Figura 9. Distribución global de *Vespula germanica*, obtenida de registros publicados. Los símbolos verdes representan el rango nativo y los rojos el rango de invasión. Adaptado de Lester y Beggs (2018).

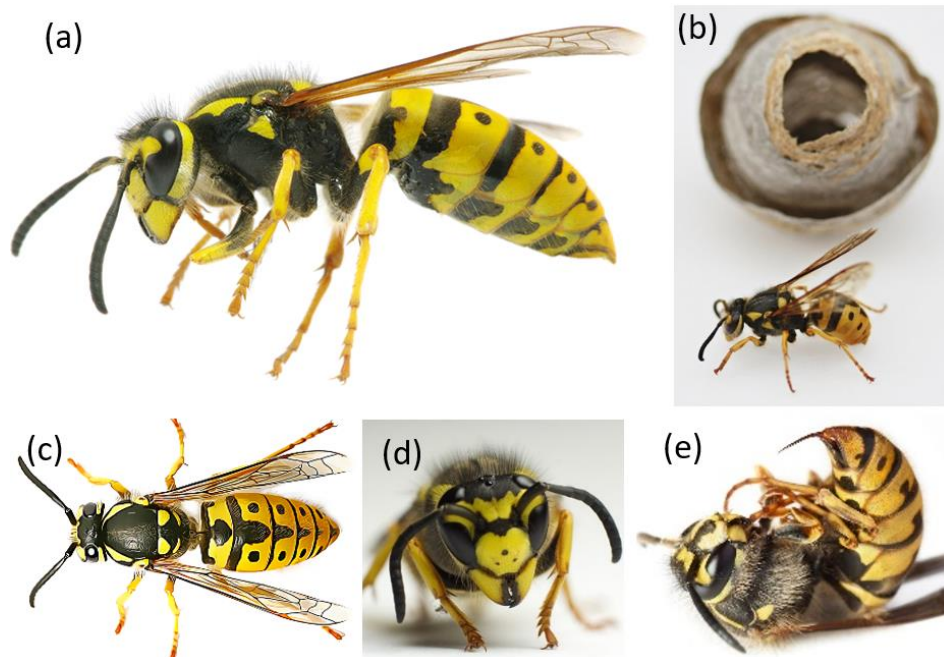


Figura 10. Chaqueta amarilla *Vespula germanica*. (a) Vista lateral. (b) Vista dorsolateral de la avispa con primordios de nido. (c) Vista dorsal. (d) Vista frontal. (e) Vista lateral con aguijón expuesto.

Las colonias de la chaqueta amarilla, como las de los otros insectos sociales, presentan diferentes castas: reinas, obreras y zánganos (machos). Generalmente hay una única reina encargada de poner los huevos y regular las actividades de la colonia; muchas obreras, responsables de la recolección del alimento y el mantenimiento del nido; y algunos zánganos cuya función es meramente reproductiva y aparecen al final de la temporada (Sapradbery 1973). En general, las colonias de chaqueta amarilla presentan polietismo etario débil con transición entre sub-castas poco marcada. Se pueden identificar principalmente 4 grupos de obreras que realizan distintas tareas según su edad: (1) nodrizas (alimentación y cuidado de las crías y la reina), (2) defensoras (ataque frente a agresiones externas al nido), (3) forrajeras (búsqueda de recursos en el exterior del nido; esto es, pulpa, fluidos como agua o néctar, y carne) y (4) guardianas (monitoreo de la entrada al nido) (Potter 1964, Edwards 1980).

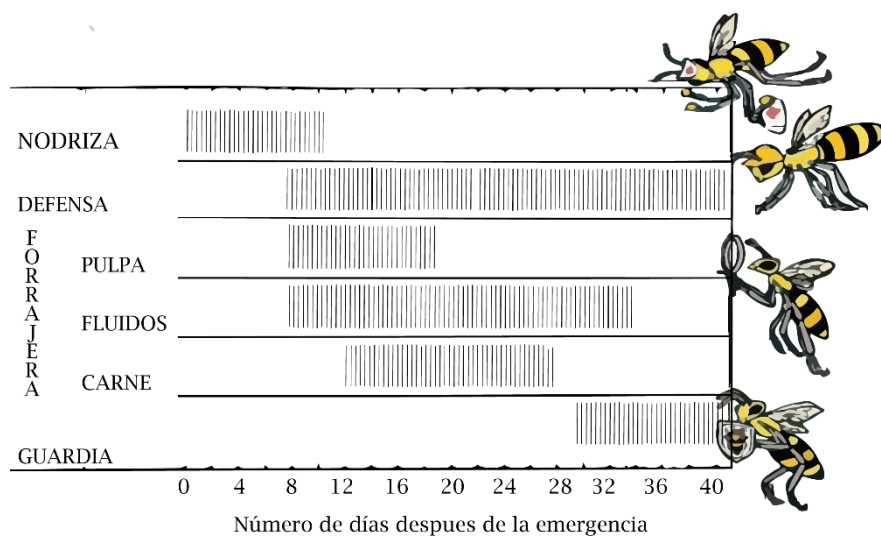


Figura 11. Polietismo etario en *Vespa* spp. Las obreras de estas especies realizan distintas tareas (eje "y") según van adquiriendo días de edad después de emerger como adultos (eje "x"). Adaptado de Edwards (1980).

Luego del invierno, las reinas post-hibernantes comienzan la construcción del nido en sitios secos y protegidos, y solamente durante este período es posible verlas en el exterior. Las colonias son fundadas en primavera y la reina se encarga de todas las tareas hasta el nacimiento de las primeras obreras. Las obreras continúan con la

construcción del nido, su mantenimiento y su defensa, así como también con la provisión de alimento a las larvas y a la reina (Sapradbery 1973). Hacia el final del verano, la reina comienza a producir los individuos reproductivos (zánganos y futuras reinas), los cuales abandonan el nido para reproducirse. Posteriormente, las nuevas reinas buscan algún lugar protegido para hibernar hasta la primavera siguiente, mientras que las obreras y los zánganos mueren gradualmente y el nido queda abandonado (Figura 12; Sapradbery 1973). Al comenzar el otoño, el nido presenta su mayor desarrollo en tamaño y en número de individuos (cada nido puede generar más de 250 nuevas reinas y hasta 10.000 obreras; Sapradbery 1973). Excepcionalmente, en áreas invadidas, las colonias pueden sobrevivir el invierno, alcanzando poblaciones hasta 20 veces mayores (Harris 1996, Lester y Beggs 2018).

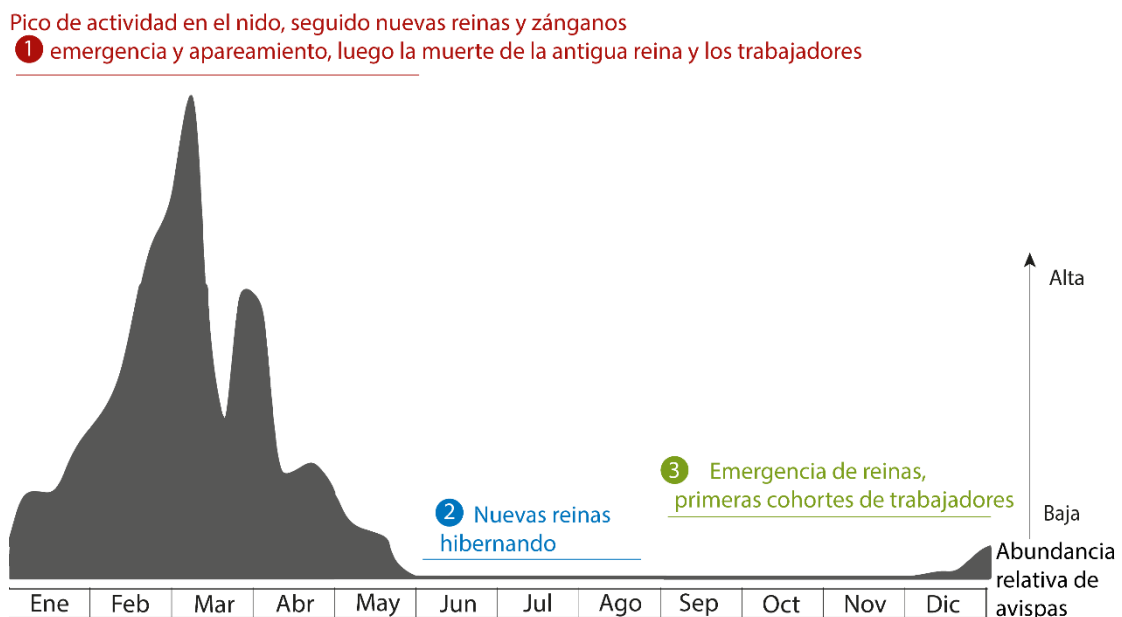


Figura 12. Línea de tiempo con la dinámica poblacional de *Vespa germanica* en el hemisferio Sur. El ciclo de vida está compuesto principalmente por tres fases: (1) el pico poblacional durante los meses de febrero y marzo, la liberación de reinas vírgenes y zánganos entre marzo y abril, (2) la fecundación e hibernación de las reinas y (3) la formación del nido en primavera (septiembre). Figura adaptada de Lester y Beggs (2018).

1.3.1. Estrategias de búsqueda y explotación de alimentos en *V. germanica*

En la chaqueta amarilla, al igual que en otras avispas sociales, la determinación del tipo de recurso a forrajear y la frecuencia de los viajes están determinados por las demandas de la colonia (Jeanne y Taylor en Jarau y Hrncir 2009). Tanto la necesidad de recursos para la construcción y reparación del nido, las demandas de la cría y la influencia de la reina; como las características genéticas, fisiológicas y la edad del individuo afectan la decisión de la obrera forrajera para abandonar el nido en un vuelo de forrajeo. Sin embargo, una vez que la avispa decide iniciar un viaje de recolección, lo hace con un objetivo específico: la obtención de pulpa de madera, líquido (agua o néctar) o proteína (Jeanne y Taylor en Jarau y Hrncir 2009).

Las obreras forrajeras de *V. germanica* utilizan una variedad de mecanismos para localizar y elegir recursos. Por un lado, adquieren información personal utilizando cualquier combinación de señales que proporcione la mayor cantidad de información (Jeanne y Taylor en Jarau y Hrncir 2009). En una primera etapa de búsqueda, las obreras se guían principalmente por señales visuales, mientras que las señales olfativas son utilizadas posteriormente para el aterrizaje sobre un recurso dado (Moreyra *et al.* 2006). Por otro lado, la adquisición de información social también contribuye a la búsqueda exitosa de recursos alimenticios; las forrajeras de *V. germanica* se sienten atraídas por la presencia de conespecíficos en las fuentes de alimentos (mejora local; D'Adamo *et al.* 2003). Dentro del nido, la información es obtenida a través de claves no intencionales como el olor de los recursos ingresados y/o a través de mecanismos de comunicación, como las vibraciones gástricas ("*gastral drumming*") y el reclutamiento (Lozada *et al.* 2016, Taylor y Jeanne 2018).

La decisión de cada individuo está influenciada por experiencias pasadas de búsqueda

y tienen la capacidad de aprender puntos de referencia a través de vuelos de orientación y de asociar rápidamente colores y olores con recompensas de alimentos (Raveret-Richter 2000). Si bien *V. germanica* es una especie generalista, sobre la base de sus habilidades cognitivas, las forrajeras regresan a los sitios de alimentación donde han tenido éxito y pueden alimentarse repetidamente del mismo recurso, actuando como especialistas facultativos (es decir, que adaptan su estrategia a la explotación de un único sitio mientras este sea rentable; Raveret-Richter, 2000). Esta fidelidad al sitio de alimentación puede persistir también después de que se agote la fuente de alimento (Spradbery 1973). La frecuencia de retorno parece depender de sus recompensas anteriores y la extinción de esta memoria está relacionada con el número de visitas realizadas anteriormente (Free 1970, Lozada y D'Adamo 2006). Por otro lado, aunque la evidencia empírica es débil, se ha informado que algunas forrajeras muestran fidelidad al sitio, mientras que otras no son constantes a una ubicación determinada, en cambio parecen buscar en áreas muy separadas (Akre *et al.* 1975). Una vez que han descubierto la comida, las forrajeras pueden mostrar un comportamiento agresivo (dirigido a los conoespecíficos o heteroespecíficos) con el fin de monopolizar el recurso (Spradbery 1973, Grangier y Lester 2011).

Tanto *V. germanica* como *V. vulgaris* son típicamente generalistas. Estas especies se caracterizan por hábitos necrófagos y carroñeros que las distinguen de otras especies de *Vespula* y avispas sociales ya que tienen la capacidad de alimentarse prácticamente de cualquier invertebrado que puedan vencer, obtener carne de animales con los que luchan, beber sangre de heridas de vertebrados, hurgar en carroña y también alimentarse de frutas y otras fuentes de carbohidratos como los exudados de áfidos (Greene 1991, Sackmann *et al.* 2000). Además, dados sus hábitos antrópicos también consumen una amplia gama de alimentos procesados (Figura 13; Spradbery 1973).

La amplia dieta de la chaqueta amarilla varía de acuerdo con los requerimientos de la colonia. En aquellos períodos de altos requerimientos energéticos (por ejemplo, durante la construcción del nido o frente a bajas temperaturas) su dieta consiste principalmente en carbohidratos; mientras que el consumo de proteínas es mayor cuando las obreras deben alimentar a las larvas y crías (D'adamo and Lozada 2005). Esta avispa puede tolerar bajas temperaturas, lo que le permite realizar la búsqueda de alimento en un amplio rango diario y estacional. Otros factores abióticos que reducen la actividad diaria de alimentación de la chaqueta amarilla incluyen la lluvia, el viento, las temperaturas extremas (bajas o altas) y la intensidad lumínica (por ejemplo, días con niebla) (Archer 2004).

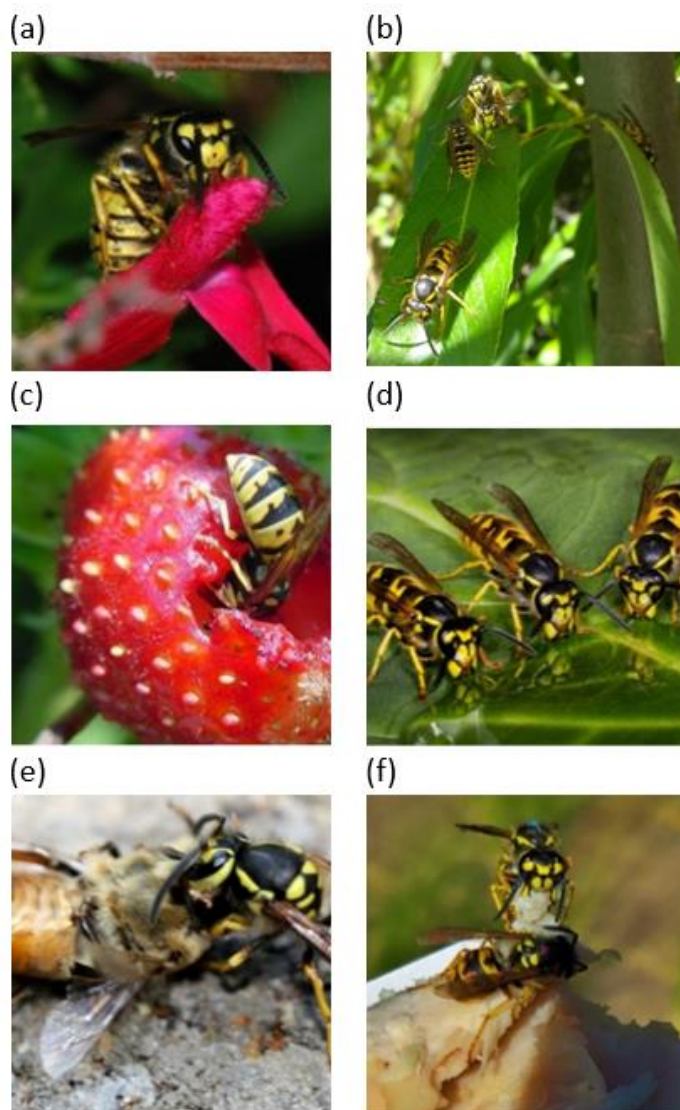


Figura 13. Obreras de *Vespula germanica* forrajeando en diversas fuentes alimenticias. Como recursos azucarados pueden explotar nectarios extra florales (a), exudados de áfidos (b), frutos maduros (c) y miel o soluciones azucaradas (d). Como recursos proteicos pueden explotar insectos muertos (e) o carroña (f).

Las habilidades perceptivas y mecanismos de adquisición de información de *V. germanica* junto con sus importantes habilidades cognitivas, la diversidad en la alimentación, la capacidad de desplazamiento de las reinas, los pocos requerimientos para sitios de nidificación, la fecundación pre-hibernación de las reinas y su comportamiento agresivo para defenderse y acaparar recursos, son algunas de las características que confieren a esta especie su gran poder invasor. Actualmente el control de las poblaciones en la Patagonia Argentina se basa en la reducción de las colonias mediante la destrucción manual de nidos y la utilización de *cebos tóxicos* caseros, los cuales consisten en un alimento atractivo con un tóxico adicionado (Sackmann *et al.* 2007, Beggs *et al.* 2011, Masciochi *et al.* 2019). Sin embargo, las limitadas herramientas disponibles para su manejo tienen un éxito muy variable, dejando en evidencia brechas en el conocimiento de su biología y ecología.

1.4. Objetivos y estructura del trabajo de tesis

El objetivo general de la tesis es conocer cuáles son y como interaccionan los factores que modulan la toma de decisiones de forrajeo en obreras de una avispa social carroñera y oportunista. Para cumplir con el objetivo general y tomando como modelo de estudio a la avispa eusocial, *V. germanica* (chaqueta amarilla) evalúo situaciones que reflejan la motivación recolectora (individual y de la colonia), y ponen en evidencia la toma de decisiones de forrajeo bajo este marco conceptual.

En la primera de las situaciones (**Capítulo 2**) propongo, por un lado, evaluar como resuelve una colonia la explotación de más de un recurso alimenticio, considerando cómo influye la experiencia previa en esta resolución. Para ello, en un primer experimento ofrezco a una colonia dos fuentes de alimento en forma simultánea, y en un segundo experimento, las mismas fuentes son ofrecidas secuencialmente, de forma tal que la primera sea descubierta y aprendida como fuente rentable. En el **Capítulo 3** analizo y describo las capacidades perceptivas vinculadas a la modalidad gustativa de la chaqueta amarilla, a la vez que evalúo si estas son moduladas por la experiencia previa y la ontogenia del individuo. Para esto, estimulo los dos órganos principales en la quimio-recepción de contacto con soluciones de distinta naturaleza y calidad, en avispas recién emergidas, avispas forrajeras y avispas de 28 días de edad. En la última situación (**Capítulo 4**) evalúo el rol de la edad y las necesidades nutricionales (individuales y de la colonia) en la explotación de recursos de distinta naturaleza. Con este fin, entreno a avispas aisladas de la colonia bajo condiciones controladas de laboratorio y a avispas en contacto con la colonia bajo condiciones naturales a una fuente de alimento que posteriormente es intercambiada por otra de distinta naturaleza (contraste de recursos).

Al principio de los capítulos 2, 3 y 4 adelanto un breve resumen de cada uno y luego desarrollo con mayor profundidad el marco conceptual, la importancia del estudio de cada situación elegida, los objetivos particulares, las hipótesis, la metodología, los resultados y una breve discusión de ellos.

Finalmente, en el **Capítulo 5** realizo una síntesis de (1) los patrones comunes que surgen del estudio de estas tres situaciones, (2) los factores que determinan la explotación de una fuente alimenticia en *V. germanica*, (3) las estrategias que utilizan las avispas eusociales para resolver la explotación-exploración de fuentes de alimento y (4) la importancia de estos resultados en la aplicación del mejoramiento de los métodos de control actualmente utilizados. Para concluir, comento los desafíos y dificultades resueltos a lo largo de la tesis y las posibles investigaciones a realizar en el futuro.

CAPÍTULO 2

Consenso y simetría en la explotación de recursos: influencia de la experiencia individual

Resumen

La flexibilidad conductual en la búsqueda y recolección de alimentos confiere a las especies una gran ventaja adaptativa en respuesta a los cambios ambientales. En insectos sociales, la retroalimentación positiva lograda a través del reclutamiento y aprendizaje podrían actuar como mecanismos a distintos niveles (colonia e individuo) que subyacen esta flexibilidad. En este capítulo propongo, por un lado, evaluar de qué forma las colonias de avispas eusociales resuelven la explotación de más de un recurso alimenticio (esto es, a través de reclutamiento o de flexibilidad en el aprendizaje individual), y por el otro, estudiar cómo influye la experiencia previa en esta resolución. Para esto utilicé a la avispa *V. germanica* como modelo de estudio y evalué la explotación, medida como número de visitas y tiempo de latencia, de dos fuentes proteicas que fueron ofrecidas de forma simultánea o no simultánea (experiencia previa). Los resultados sugieren que no existe un consenso de explotación entre dos fuentes, aun cuando una de ellas es conocida previamente, sugiriendo que *V. germanica*, a diferencia de otros insectos sociales, posee mecanismos a nivel de colonia que le permiten descubrir y explotar una o más fuentes simultáneas, independientemente de momento de aparición de estas.

Palabras clave: *reclutamiento lineal, flexibilidad conductual, chaqueta amarilla, insecto social*

2.1. Introducción

Algunos insectos construyen estructuras sociales complejas con nidos comunes que regulan su estado interno, asignan individuos a tareas específicas y responden de manera adaptativa a los cambios ambientales (Seeley 1995, Hölldobler y Wilson 2008). Los mecanismos subyacentes que sostienen la eusocialidad en los insectos son complejos, variados y en gran medida aún inciertos. Sin embargo, existen indicios que sugieren que las decisiones tomadas por los insectos sociales no son la mera suma de las elecciones individuales, sino que resultan de complejas interacciones entre los miembros de la colonia, ninguno de los cuales posee la información global (Seeley 1986, Bonabeau *et al.* 1997, Sumpter 2010).

En muchas especies de insectos sociales, la retroalimentación positiva lograda a través de la comunicación - transmisión de información a través de *señales* seleccionadas específicamente para tal fin - dentro del nido es el mecanismo central para la toma de decisiones en las colonias (Detrain y Deneubourg 2008). En los insectos sociales, los sistemas de comunicación relacionados con la motivación a explotar una determinada fuente alimenticia van desde pobres (o incluso ausentes) hasta muy sofisticados (Jarau y Hrncir 2009). Muchas especies de abejas sociales, como los abejorros y algunas abejas sin aguijón (por ejemplo, la tribu Meliponini) transmiten información sobre características de la fuente como el olor y la calidad, pero no comunican sobre la ubicación de ésta. Otras abejas sin aguijón comunican la distancia de las fuentes utilizando sonidos o, al igual que algunas hormigas, dejan rastros de feromonas para guiar a las compañeras (Biesmeijer y Slaa 2004, Nieh 2004). Finalmente, las abejas melíferas poseen uno de los comportamientos más avanzados, un “baile” donde a

través de una caminata en forma de “8” acompañada con vibraciones del abdomen, las recolectoras que regresan de una fuente de alimento rentable transmiten información sobre la presencia, el olor y la calidad, pero también sobre la ubicación de dicha fuente a sus compañeros. Este sistema particular de reclutamiento es único entre los insectos sociales ya que permite a las forrajeras exitosas comunicar dentro de la colmena la ubicación de un recurso (von Frisch 1967). Se considera **reclutamiento** a cualquier comportamiento mediante el cual una obrera que regresa al nido transmite información y convoca a otras compañeras a un sitio de interés con una ubicación particular (por ejemplo, una fuente de alimento o un sitio para anidar; Wilson 1971). Los sistemas de reclutamiento, en diferentes especies de insectos sociales, difieren en el contenido de información transmitida y en las modalidades utilizadas para su transmisión.

El reclutamiento hacia fuentes alimenticias confiere a las especies que lo poseen una gran ventaja en la explotación del ambiente ya que permite que las colonias se alimenten de manera eficiente en un entorno en el que los recursos se distribuyen irregularmente o son demasiado grandes para ser explotadas por organismos individuales (Beckers *et al.* 1990, Beekman y Ratnieks 2000, Detrain y Deneubourg 2002). Así, aquellas sociedades de insectos que recolectan alimento de forma social (esto es, donde existe una transferencia de información sobre la ubicación de las fuentes rentables) pueden explotar un área mucho mayor y de modo más eficiente, que aquellas que carecen de tales mecanismos (Beekman y Dussutour 2009).

La forma en que los potenciales reclutas son dirigidos a una fuente de alimento varía dentro de los insectos sociales. Hay tres tipos básicos de comportamiento de reclutamiento durante la recolección de alimento: (1) *carrera en tándem*, en la cual la exploradora guía a una sola recluta hacia el alimento (por ejemplo, la caminata en

tándem descripta en hormigas); (2) *reclutamiento grupal*, en el cual la exploradora guía a un grupo de compañeras a la comida (por ejemplo, la danza de las abejas melíferas); y (3) *reclutamiento masivo*, en el cual un rastro trazado por la reclutadora mientras regresa al nido guía a las reclutas a la comida (por ejemplo, el reclutamiento por senderos de feromonas en hormigas; Figura 14; Hölldobler y Wilson 1990, Cogni y Oliveira 2004, Jarau y Hrncir 2009).

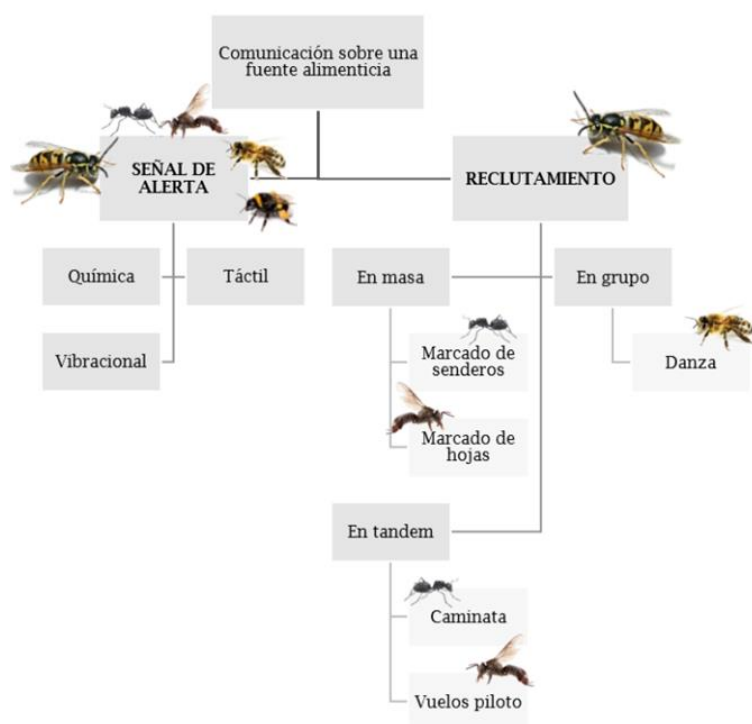


Figura 14. Principales estrategias de comunicación dentro del nido sobre fuentes rentables. En una colonia de insectos sociales, las forrajeras que regresan de una fuente de alimento rentable pueden transmitir información sobre la presencia, el olor, la calidad (señales de alerta) y/o la ubicación (reclutamiento) de ésta a sus compañeras. Indico, de forma ilustrativa, algunos de los principales grupos que presenta cada una de las estrategias (abejas de la miel, hormigas, véspidos, abejorros, abejas sin aguijón).

Mientras que el objetivo del reclutamiento, en todos los casos, es explotar de forma rápida y eficaz la fuente de alimento más rentable (sin necesidad de una visita y comparación individual de cada forrajera), en la naturaleza es frecuente encontrarse con fuentes de igual calidad en simultáneo. Varios estudios postulan que, frente a esta situación la estrategia utilizada depende del tipo de reclutamiento. Aquellas colonias

que concentran todo el esfuerzo de forrajeo en una sola de las fuentes, generalmente poseen mecanismos de reclutamiento no lineales (por ejemplo, el marcado de senderos), es decir que llegan a un consenso o “ruptura de simetría” en la explotación de dos fuentes; mientras que las colonias de especies con reclutamientos lineales (por ejemplo, la danza o las caminatas en tándem) distribuyen el esfuerzo de forrajeo de manera tal de explotar simétricamente a ambas (Beckers *et al.* 1992, Sumpter y Pratt 2003, Latty y Beekman 2013).

El **consenso** alcanzado en los *reclutamientos no lineales* es consecuencia del aumento exponencial en el reclutamiento a una fuente a medida que aumenta el número de reclutadoras a ésta (Figura 15. a.; Detrain y Deneubourg 2008, Sumpter 2010). Se ha observado el consenso en la explotación de fuentes en una variedad de animales sociales, siendo el ejemplo más común el reclutamiento por marcado de senderos (reclutamiento en masa) de las hormigas. En este tipo de reclutamiento una pequeña diferencia en la concentración de feromonas conduce a una clara preferencia por el sendero más fuerte (Sumpter y Beekman 2003). Sin embargo, es interesante notar que en ocasiones el consenso alcanzado a través del reclutamiento puede ir en contra de la maximización de la eficiencia energética, dado que, independientemente de la calidad de los alimentos, el resultado del reclutamiento se correlaciona con el número de reclutas que se encuentran explotando previamente una fuente de alimentos (Figura 15. c; Beckers *et al.* 1990, Schmidt *et al.* 2006).

Por otro lado, la **simetría** en la explotación de varias fuentes, descrita para las colonias con *reclutamientos lineales*, es consecuencia de la linealidad entre la probabilidad de reclutar hacia una fuente y el número de reclutadoras activas (Figura 15.b.; Camazine y Sneyd 1991, Sumpter y Beekman 2003, Lanan *et al.* 2012). La danza de las abejas (reclutamiento en grupo) es un ejemplo de este tipo de reclutamiento

donde un potencial recluta sólo asiste a un baile a la vez, y otros bailes no refuerzan esta señal (Seeley y Towne 1992). Los estudios en abejas melíferas sugieren que las colonias asignan el número de recolectoras de acuerdo con la calidad del alimento ofrecido, y que rápidamente reasignan el esfuerzo cuando se altera la calidad relativa del mismo (Seeley *et al.* 1991, Granovski *et al.* 2012). Por otro lado, se ha demostrado que las hormigas de la especie *Temnothorax rugatulus* - con reclutamiento en tándem - distribuyen su esfuerzo de forrajeo cuando ambas fuentes son de igual calidad, sin llegar a un consenso de explotación (Shaffer *et al.* 2013).

A pesar de estas generalidades, existen especies que responden de forma inesperada. Las colonias de, la hormiga *Myrmica sabuleti*, para la cual no se ha descrito el tipo de reclutamiento, alcanzan un consenso en la explotación de dos fuentes de igual calidad, pero cuando se encuentran explotando previamente una fuente alimenticia muestran la flexibilidad suficiente para cambiar rápidamente a otra de mejor calidad (de Biseau *et al.* 1992). Por lo tanto, aunque existen excepciones y sin bien no hay muchos estudios que contemplen la explotación simétrica de dos fuentes (Tabla 1), los conocimientos hasta el momento permiten inferir que en respuesta a los cambios ambientales en la calidad de la fuente o en la oferta de nuevas fuentes, las especies con reclutamientos en grupo o en tándem (reclutamientos lineales), podrían redistribuir el esfuerzo de forrajeo de manera más flexible que las colonias con reclutamientos en masa (Figura 15.d.).

Dentro de los insectos sociales, el reclutamiento en las avispas ha sido muy poco estudiado. No hay estudios que evalúen como estas distribuyen el esfuerzo de forrajeo frente a la disponibilidad de varias fuentes de alimento y tampoco cómo influye la experiencia previa en la explotación. Si bien anteriormente se pensaba que las avispas no poseían reclutamiento intra-nido, recientemente se ha demostrado en algunas

especies su existencia (Santoro *et al.* 2014, Lozada *et al.* 2016). La estrategia utilizada por las reclutadoras aún no se ha dilucidado, pero se ha sugerido la utilización de vuelos piloto. En este reclutamiento, análogo a las caminatas en tándem de las hormigas, las exploradoras guían a las reclutas mediante el pilotaje parcial o completo desde el nido hasta la fuente de alimento. Se ha indicado que los vuelos piloto, al igual que las carreras en tándem, podrían usarse en combinación con marcas de feromonas (Aguilar *et al.* 2005, Santoro *et al.* 2014, Lozada *et al.* 2016).

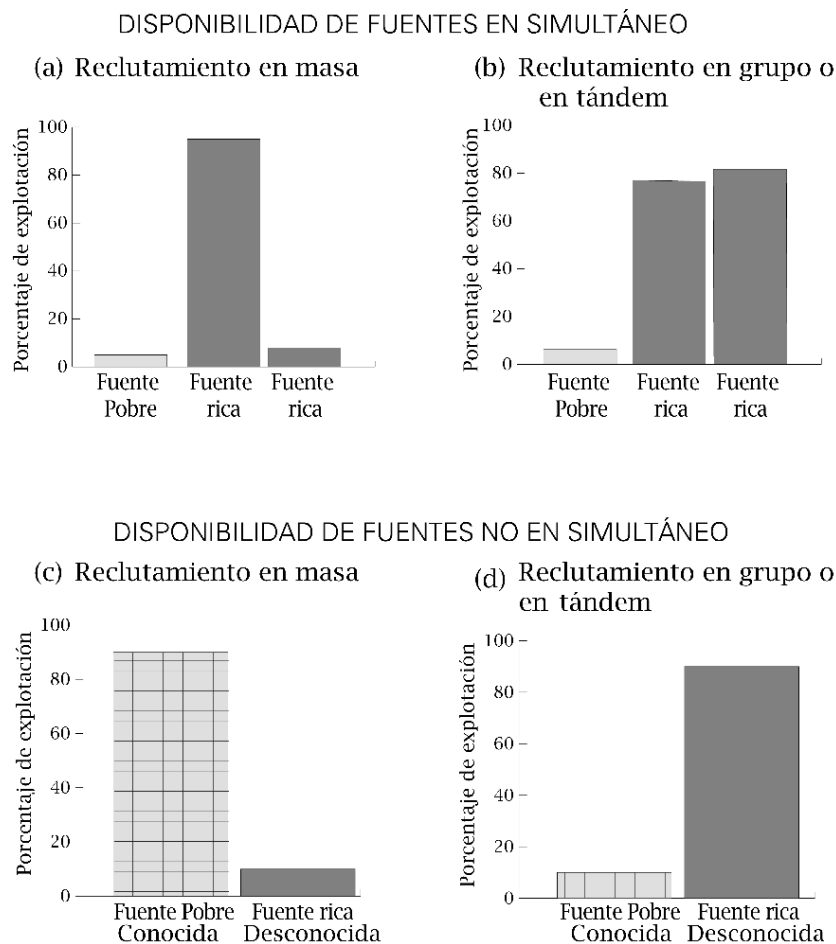


Figura 15. Representación gráfica del consenso o la simetría en la explotación de varias fuentes alimenticias. Independientemente del tipo de reclutamiento, si dos fuentes de distinta calidad aparecen en forma simultánea la fuente más rica es la más explotada (a y b, fuente pobre vs fuente rica). Cuando dos fuentes de igual calidad se encuentran disponibles, aquellas especies con reclutamiento *en masa* (no lineal) llegan a un consenso de explotación de una única fuente (a, fuente rica vs fuente rica), mientras que aquellas especies con reclutamiento *en grupo* o *en*

tándem (lineal) explotan ambas fuentes por igual (b, fuente rica vs fuente rica). Sin embargo, cuando una de las fuentes se encuentra disponible previamente, las especies con reclutamiento *en masa* explotan la fuente conocida, aunque la nueva fuente sea de mejor calidad (c); mientras que las especies con reclutamiento *en grupo* o *en tándem* explotan siempre la fuente más rica (sin importar si es una fuente previamente conocida o una fuente desconocida) (d).

Tabla 1. Consenso o simetría en la explotación de dos fuentes alimenticias en insectos eusociales. Generalmente las especies con reclutamiento *en masa* llegan a un consenso de explotación de una única fuente, y siempre se mantienen explotando la fuente conocida; mientras que las especies con reclutamiento *en grupo* o *en tándem* explotan simétricamente varias fuentes y pueden redistribuir rápidamente el esfuerzo de forrajeo hacia una fuente más rica. Esta generalización no es rígida, dado que existen algunas excepciones a esta regla (sombreadas en gris) y que faltan datos experimentales de algunas situaciones (*).

GRUPO	ESPECIE	RECLUTAMIENTO	Explotación de fuentes de igual calidad		FUENTE
			SIN EXPERIENCIA PREVIA	CON EXPERIENCIA PREVIA	
HORMIGAS	<i>Lasius niger</i>	Marcado de sendero	CONSENSO	Fuente conocida	Beckers <i>et al.</i> 1990
	<i>Pheidole megacephala</i>	Marcado de sendero	Presuntamente CONSENSO*	Fuente más rica	Latty y Beekman 2013
	<i>Pheidole longicornis</i>	Marcado de sendero	Presuntamente CONSENSO*	Fuente más rica (parcialmente)	Latty y Beekman 2013
	<i>Tetramorium caespitum</i>	Marcado de sendero	CONSENSO con flexibilidad	Fuente más rica	Beckers <i>et al.</i> 1990
	<i>Temnothorax rugatulus</i>	En tándem	SIMETRÍA	Fuente más rica	Shaffer <i>et al.</i> 2013
	<i>Rhytidoponera metallica</i>	Sin reclutamiento	Presuntamente CONSENSO*	Fuente conocida	Latty y Beekman 2013
	<i>Argonectes longiceps</i>	Sin reclutamiento	Presuntamente CONSENSO*	Fuente conocida	Latty y Beekman 2013
	<i>Notoncus ectatomoides</i>	Sin reclutamiento	Presuntamente CONSENSO*	Fuente conocida	Latty y Beekman

					2013
	<i>Myrmica sabuleti</i>	No se ha descrito	CONSENSO con flexibilidad	Fuente más rica	de Biseau <i>et al.</i> 1992
ABEJAS	<i>Trigona recursa</i>	Marcado de hojas	Presuntamente CONSENSO*	Fuente conocida	Schmidt <i>et al.</i> 2006
	<i>Apis mellifera</i>	Danza	SIMETRÍA	Fuente más rica	Velthuis 1977 Seeley y Levien 1987

2.1.1. Aprendizaje y experiencia en el forrajeo

El **aprendizaje**, definido como la modificación de la conducta individual debido a la *experiencia previa*, contribuye a la capacidad de los recolectores de responder a los cambios en la calidad o disponibilidad de los recursos (Papaj y Prokopy 1989, Eliassen *et al.* 2009, Johnston y Pietrewicz 2014). El aprendizaje no ocurre en todas las especies de animales e, incluso en especies que tienen capacidad de aprender, no ocurre en cualquier situación. El aprendizaje es crucial para maximizar la explotación de los recursos en entornos impredecibles; sin embargo, existen determinadas respuestas inflexibles específicas de la especie que impiden el aprendizaje de ciertas tareas (Krebs y Davies 2009, Minoli *et al.* 2018)

El **condicionamiento** es el tipo de aprendizaje más común en el comportamiento de búsqueda de alimentos y difiere según la influencia de la experiencia en la serie estímulo-respuesta (Papaj y Rausher 1983). Un animal "aprende a ver" el ítem de búsqueda a través del *condicionamiento de la percepción* (cuando el umbral de percepción a un set de estímulos disminuye como resultado de presentaciones repetidas del estímulo) y "aprende a preferir" el mejor ítem a través del *condicionamiento de la respuesta* (cuando la probabilidad de que un animal presente una determinada respuesta aumenta o disminuye con la presentación repetida del

estímulo). Por lo tanto, el aprendizaje proporciona un aumento en la eficiencia de alimentación al disminuir los tiempos de manipulación y búsqueda favoreciendo las fuentes que visitan los recolectores en función de su propia experiencia previa (Giurfa 2007, Raine y Chittka 2007, Reid *et al.* 2010). En entornos cambiantes el aprendizaje podría ser beneficioso siempre y cuando permita una respuesta rápida y flexible independientemente de su experiencia previa (Bell 1990); de lo contrario puede tener una influencia negativa considerable en la búsqueda de alimento en ese contexto (Stephens 1991, Graham *et al.* 2007, Zhang y Hui 2014).

Numerosos estudios sobre mecanismos de aprendizaje y memoria han sido realizados en una gran cantidad de himenópteros sociales (abejas, abejorros, avispas y hormigas). Particularmente, estudios previos en avispas sociales han demostrado que, en ocasiones, los individuos de estas colonias pueden tener un comportamiento poco flexible. Por ejemplo, en *V. germanica* la experiencia previa individual bajo ciertos contextos con claves visuales u olfativas sobresalientes dificulta la detección de sitios de forrajeo más favorables. Sin embargo, si el desplazamiento del alimento es acompañado por las claves contextuales asociadas a éste, la detección del recurso desplazado se ve facilitada (Lozada y D'Adamo 2011, D'Adamo y Lozada 2014).

En conclusión, tanto el reclutamiento lineal (en grupo o en tándem) como el aprendizaje podrían actuar como mecanismos no excluyentes, que subyacen a la flexibilidad conductual en la alimentación, confirmando a las especies que los poseen una ventaja adaptativa en respuesta a los cambios ambientales (Fisher *et al.* 2018). Sin embargo, ambos actúan a distinto nivel, el primero es un mecanismo de la colonia y el segundo un mecanismo individual.

2.1.2. Objetivos e hipótesis

En este capítulo propongo, por un lado, evaluar de qué forma las colonias de avispas eusociales resuelven la explotación de más de un recurso alimenticio (esto es, a través de reclutamiento lineal o de flexibilidad en el aprendizaje individual; *Objetivo 1*), y por el otro, estudiar cómo influye la experiencia previa en esta resolución (*Objetivo 2*). Como modelo de estudio utilicé a la avispa eusocial invasora *V. germanica*. Estudios previos sugieren que esta avispa utiliza algún tipo de reclutamiento (posiblemente en tándem) hacia las fuentes de alimento y que posee obreras forrajeras con una conducta de recolección poco flexible, modulada por fuertes habilidades cognitivas con gran influencia de la experiencia previa en el comportamiento de búsqueda y explotación, pero que a nivel de colonia posee mecanismos de explotación altamente flexibles (Lozada *et al.* 2016, Moreyra *et al.* 2016.a., Moreyra *et al.* 2016.b., Moreyra y Lozada 2018). Por lo tanto, la hipótesis del trabajo propone que *V. germanica* explota de manera simétrica dos fuentes simultáneas de igual calidad (típica respuesta de un reclutamiento lineal); pero si una fuente aparece previamente (es decir, disponibilidad de fuentes secuencial) la asignación del esfuerzo de forrajeo estará sesgada hacia el condicionamiento previo individual.

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Identificación y extracción de nidos

La metodología de identificación, extracción y cría de nidos fue la misma a lo largo de toda la tesis. Debido al ciclo de vida anual de la avispa, cada año (2017, 2018 y 2019) durante los meses de enero y febrero busqué, georreferencié y marqué en los alrededores de la ciudad de San Carlos de Bariloche, Argentina (41°9'0" S, 71°18'0" O; Figura 16) aproximadamente 220 nidos silvestres de *V. germanica* que fueron los utilizados para todos los experimentos del trabajo.

El método utilizado para la detección de nidos es visual. Este método se basa principalmente en la observación del comportamiento de las avispas. Cuando una colonia se encuentra forrajeando activamente se pueden ver a los individuos volando a aproximadamente 45° de la línea del suelo (esto es porque generalmente a nivel del suelo se encuentra la boca del nido), en línea recta en dirección ascendente y descendente (entrando y saliendo del nido). Es importante destacar que se requiere de un número significativo de avispas entrando y saliendo para poder detectar la entrada del nido.



Figura 16. Sitios de búsqueda y extracción de nidos de *V. germanica* (áreas rosadas) en la ciudad de San Carlos de Bariloche y sus alrededores. El área amarilla pertenece al predio del IFAB, en el cual realicé los ensayos. La menor área de búsqueda abarcó aproximadamente 1 km² y la mayor 7 km².

En la Patagonia Argentina se encuentran establecidas dos especies de Vespidos muy similares entre sí: *V. germanica* y *V. vulgaris*. Descarté los nidos de *V. vulgaris* del muestreo. El método utilizado para la detección de nidos no permite determinar a priori la especie, por lo que para esto capturé individuos de la entrada del nido y observé la presencia o ausencia de determinadas características distintivas de cada especie.

Una vez identificados los nidos disponibles, cada temporada de muestreo realice la extracción de estos. Para los experimentos de este capítulo en particular, excavé y extraje del suelo 20 de los nidos georreferenciados durante los meses de febrero y marzo de 2017 y 2019 (12 y 8 nidos respectivamente). Para ello anestesié con éter etílico (98% de pureza; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) a todos los individuos del nido y procedí a su remoción (Figura 17). Inmediatamente después, coloqué el nido en una caja cúbica de aluminio de 30 x 30 x 30 cm, conectada a un tubo de plástico de 25 cm de longitud y 2,5 cm de diámetro, con el fin de permitir que las avispas circulen dentro y fuera de la caja (Figura 18). La parte superior de la caja poseía una tapa de vidrio para poder observar el desarrollo y funcionamiento de éste sin producir

perturbaciones en el funcionamiento de la colonia. Las paredes restantes eran de aluminio y toda la caja estaba aislada con espuma de poliestireno de alta densidad (2,5 cm) para evitar cambios bruscos de temperatura.

Una vez ubicados los nidos en las cajas, los trasladé al predio del IFAB (Figura 16, área amarilla), donde permanecieron en condiciones naturales hasta el comienzo de los experimentos. Ensayos previos demostraron que las avispas normalmente reanudan sus actividades después de unos días y adaptan el nido a sus nuevas condiciones de vivienda (obs. pers.).



Figura 17. Extracción de nidos subterráneos de *V. germanica*. (a) Aplicación de anestésico (éter etílico) para adormecer a las avispas dentro del nido. (b) Excavado de las inmediaciones del agujero de ingreso y egreso de los individuos para alcanzar la ubicación real del nido que generalmente está alejado del orificio. (c) Extracción manual de nido de *V. germanica*.

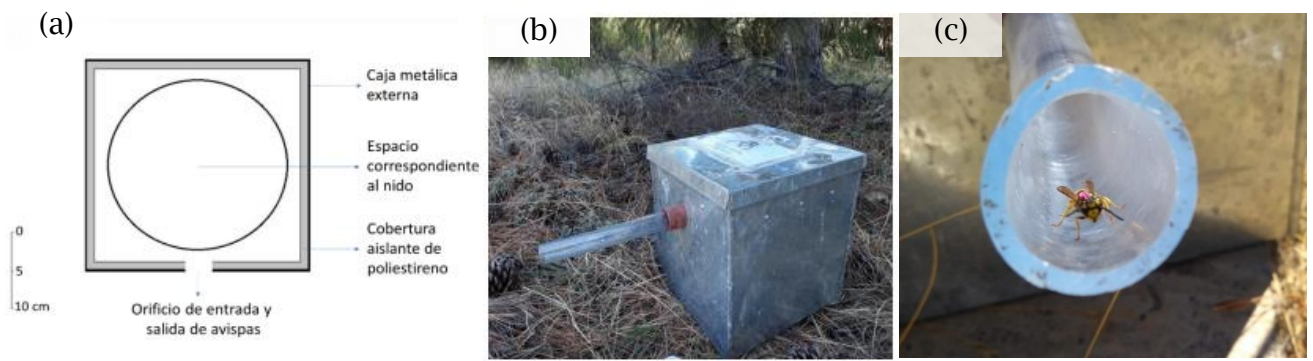


Figura 18. Cajas con nidos experimentales. (a) Esquema explicativo las cajas metálicas utilizadas para mantener los nidos durante los ensayos. (b) Imagen real de la caja experimental contenedora del nido. (c) Avispa saliendo de la caja experimental a través de la manguera de entrada y salida.

2.2.2. Protocolo experimental

Con la finalidad de asegurar que los individuos observados forrajeando en las fuentes experimentales pertenecieran al nido experimental (Figura 19), antes de comenzar cada ensayo trasladé un nido a un predio libre de otros nidos en un radio de 200 m. Tras esta perturbación, las avispas disminuyen su actividad de forrajeo y se predisponen al ataque, por lo que mantuve al nido sin disturbios durante al menos 90 minutos para su aclimatación.



Figura 19. Obrera forrajera de *V. germanica* a punto de ingresar al nido experimental con un trozo de jamón recolectado de la fuente experimental.

2.2.2.1. Obejtivo 1: Explotación de dos fuentes simultáneas

Con el objetivo de evaluar como distribuye *V. germanica* el esfuerzo de forrajeo frente a dos fuentes de alimento de igual calidad que se encuentran disponibles en simultáneo, ofrecí dos alimentadores con recursos proteicos (5gr de jamón) a 30 cm y 60 cm de la boca del nido (Figura 20). La distancia fue determinada en ensayos previos como la distancia óptima para que la fuente sea encontrada por los individuos en un tiempo prudencial antes de que pierda su atractividad. Registré cada 15 minutos el número de avispas visitando cada fuente durante 5 minutos hasta completar 45 minutos (3 mediciones por fuente). Posteriormente renové las fuentes, ya que la exposición al sol y el viento disminuyen la calidad y atractividad del recurso, y nuevamente durante los siguientes 45 minutos registré el número de visitas de la misma manera (3 mediciones de 5 minutos, cada 15 minutos). Antes de finalizar cada bloque de 45 minutos, tome un registro más de la misma forma (en total, 4 mediciones de 5 minutos para cada bloque en cada fuente; Figura 21. a.).

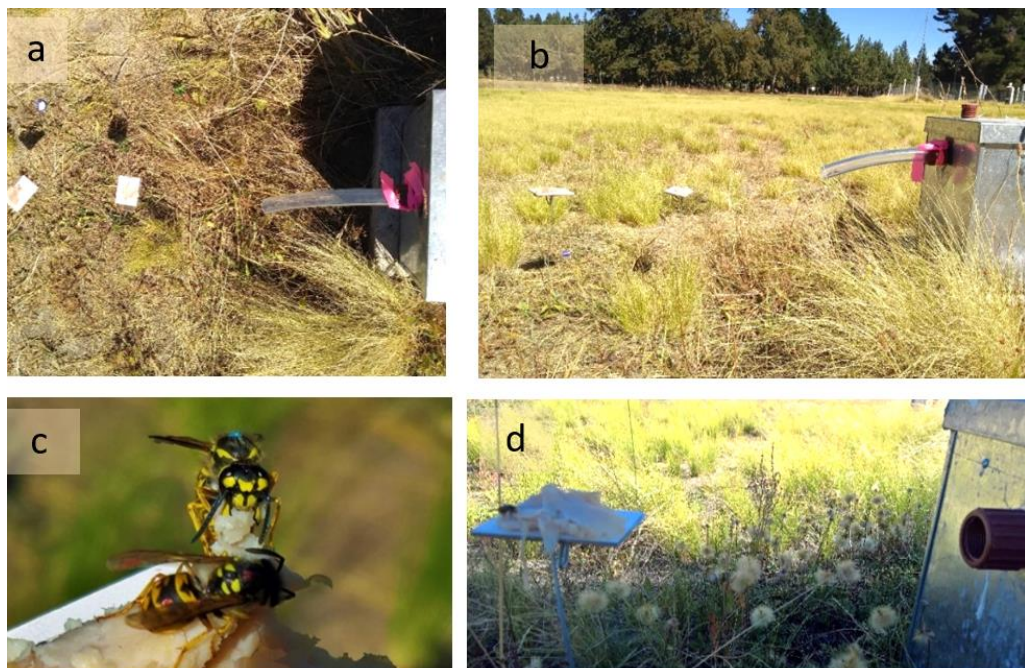


Figura 20. Fotos de diseño experimental a campo. (a) Vista superior y (b) vista lateral del ensayo montado. (c) Detalle de obreras alimentándose de la fuente ofrecida. (d) Detalle de la fuente ofrecida y la salida del nido.

2.2.2.1. Obejtivo 2: Influencia de la experiencia previa

Con el objetivo de evaluar si el conocimiento previo de una fuente alimenticia rompe con la simetría de explotación de fuentes, entrené a avispas hacia una fuente de alimentación proteica (5gr de jamón) durante 45 minutos, y registré el número de visitas en 5 minutos cada 15 minutos. Una vez finalizado el entrenamiento inicié la fase de prueba, para lo cual coloqué frente al nido otra fuente de igual calidad a 30 cm de la fuente original. Para asegurar que la misma calidad en ambas fuentes, reemplacé el cebo utilizado en la fase de entrenamiento por uno nuevo. Nuevamente durante 45 minutos registré el número de visitas en 5 minutos para cada fuente; esto se realizó cada 15 minutos y los 5 minutos previos a la finalización de cada etapa (Figura 21. b.).

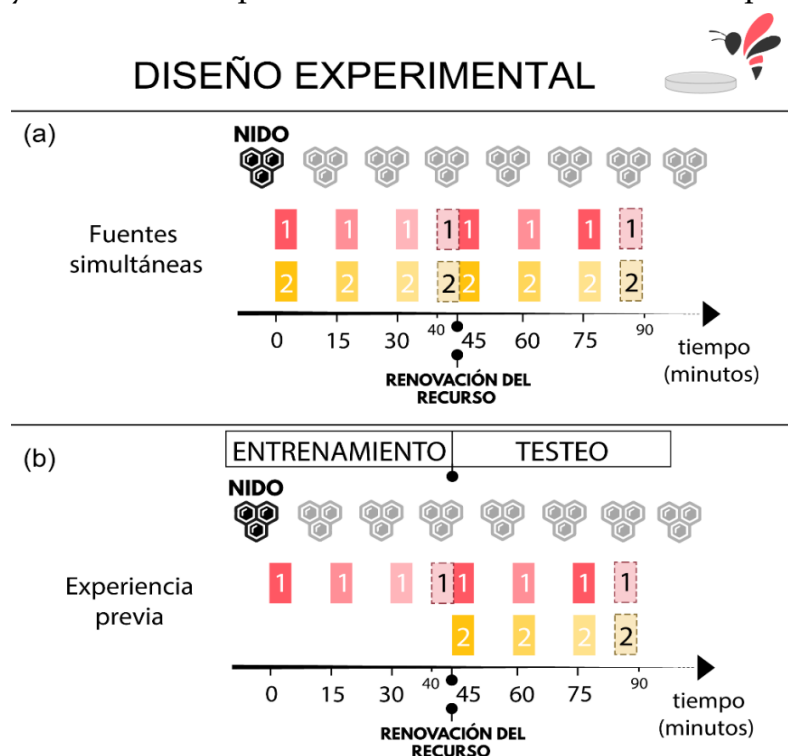


Figura 21. Diseño experimental para evaluar la asignación del esfuerzo de forrajeo de colonias de *V. germanica* en la explotación de dos fuentes simultáneas de iguales características (a) y la influencia de la experiencia previa en esta asignación (b). El eje “x” indica el tiempo al cual registré el número de visitas durante 5 minutos. Antes de finalizar cada etapa registré nuevamente el número de visitas durante 5 minutos (a los 40 y 90 minutos). Las líneas punteadas indican esta medición y el degradé de color representa la pérdida de atractividad del recurso.

2.2.1. Análisis estadístico

Para evaluar si hay diferencias en el número de visitas (variable respuesta) en cada fuente a lo largo del tiempo (variable explicatoria) utilicé un modelo lineal generalizado mixto de medidas repetidas en el tiempo con distribución de *Poisson* considerando al nido como factor aleatorio (función “*glmer*” del paquete “*lme4*”). Todos los análisis estadísticos los realicé en el software Rstudio, Versión 1.2.1335, 2019.

Por otro lado, a partir de las visitas a cada fuente calculé un **índice de probabilidad (IP)**, estimado como la diferencia de visitas entre la fuente 1 y la fuente 2, sobre el total de visitas a ambas fuentes. Este índice toma valores entre 1 (solo visitas a la fuente 1) y -1 (solo visitas a la fuente 2), siendo igual a 0 cuando la cantidad de visitas a ambas fuentes es la misma. Posteriormente con este índice realicé un “*test t*” para comparar la media de cada tiempo con el cero (función “*t.test*” del paquete “*stats*”). Todos los análisis estadísticos los realicé en el software ya mencionado, Rstudio, Versión 1.2.1335, 2019.

Con el fin de evaluar si la experiencia previa modifica el tiempo hasta encontrar una nueva fuente, comparé con un “*test t*” las medias de los tiempos de latencia (esto es, tiempo desde que la fuente está disponible hasta el primer aterrizaje) entre ambas fuentes para cada uno de los experimentos (función “*t.test*” del paquete “*stats*”). Para los estimadores con distribución *t de Student* evalué los supuestos de normalidad y homocedasticidad. Todos los análisis estadísticos los realicé en software ya mencionado, Rstudio, Versión 1.2.1335, 2019.

2.3. Resultados

2.3.1. Obejtivo 1: Explotación de dos fuentes simultáneas

El número de visitas a una fuente durante 5 minutos varió de 0 a 54 visitas, con un promedio de 7 visitas/5 min. No observé un patrón claro en la explotación de las fuentes a lo largo del tiempo ($p_{\text{tiempo}}=0.001$, $p_{\text{fuente}}<0.001$, $p_{\text{interacción}}<0.001$; **Figura 22. a**), ni una diferencia en la probabilidad de explotación de cada una de las fuentes durante los 90 minutos evaluados ($p_{t=0}=0.59$, $p_{t=15}=0.05$, $p_{t=30}=0.69$, $p_{t=40}=0.59$, $p_{t=45}=0.68$, $p_{t=60}=0.39$, $p_{t=75}=0.11$, $p_{t=90}=0.09$; **Figura 22. b**). Por otro lado, tampoco observe diferencias en el tiempo en que ambas fuentes fueron encontradas y explotadas desde su colocación ($p_{\text{latencia F1-F2}}=0.22$; **Figura 24. a**).

2.3.2. Obejtivo 2: Influencia de la experiencia previa

El número de visitas a una fuente durante 5 minutos varió de 0 a 72 visitas, con un promedio de 4 visitas/5 min. No observé un mayor número de visitas a la fuente aprendida, por el contrario, en algunos momentos (esto es, a los 45 y 90 minutos) observé una mayor explotación de la fuente desconocida ($t_{45} p_{F1-F2}=0.001$, $t_{90} p_{F1-F2} < 0.001$, $p_{\text{tiempo}}<0.001$, $p_{\text{fuente}}<0.001$, $p_{\text{interacción}}=0.39$; **Figura 23. a**). Sin embargo, al analizar la probabilidad de explotación de ambas fuentes, no encontré diferencias a lo largo de los 90 minutos evaluados ($p_{t=45}=0.48$, $p_{t=60}=0.95$, $p_{t=75}=0.29$, $p_{t=90}=0.98$; **Figura 23. b**), así como tampoco observé diferencias en el tiempo hasta encontrar una u otra fuente ($p_{\text{latencia F1-F2}}=0.62$; **Figura 24. b**).

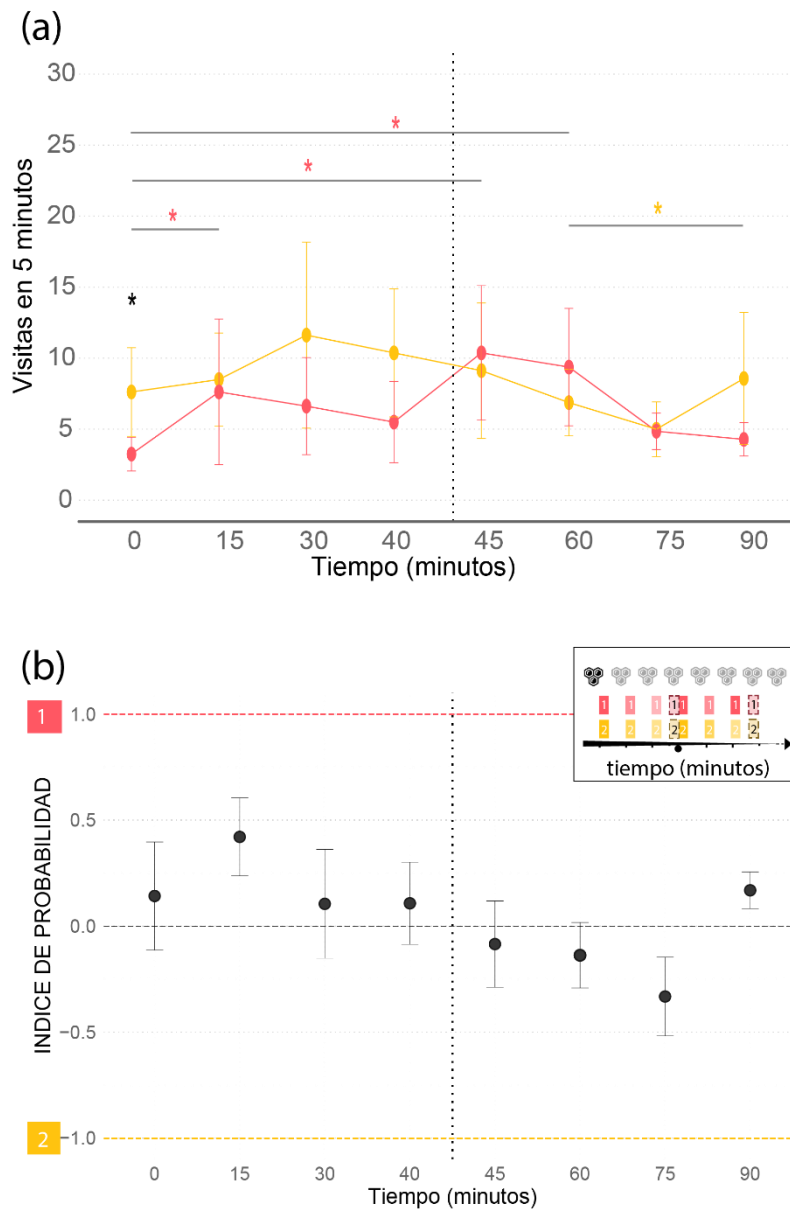


Figura 22. Esfuerzo de forrajeo asignado por colonias de *V. germanica* a la explotación de dos fuentes proteicas de igual calidad (5 gr. de carne picada) ofrecidas simultáneamente (n=8). (a) Número de visitas de obreras de *V. germanica* a cada fuente durante 5 minutos. El asterisco negro indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ambas fuentes para ese tiempo. Los asteriscos de colores indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tiempos para cada fuente. (b) Índice de probabilidad (IP) de explotación de cada fuente. No se encontraron diferencias significativas para cada tiempo entre el IP y el cero. En ambos graficos (a y b) los puntos indican la media y las barras el error estándar para cada tiempo.

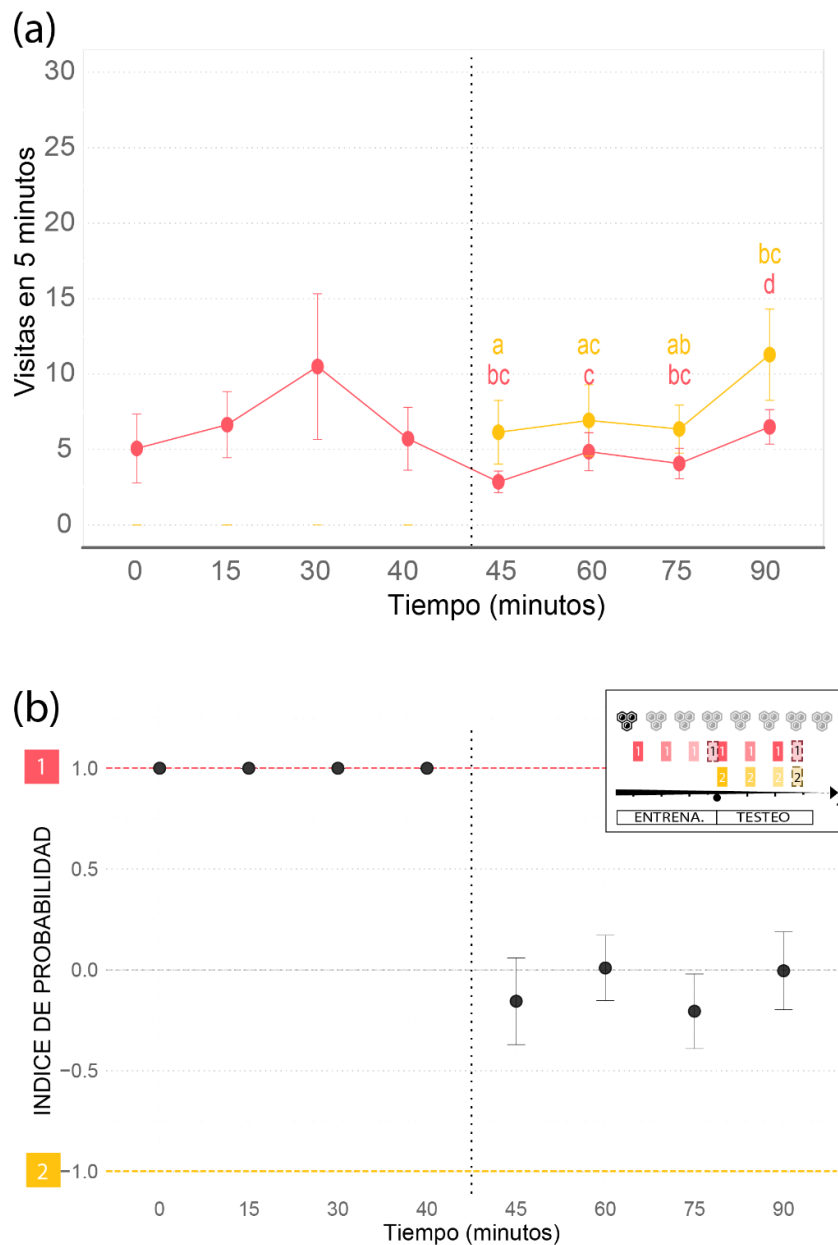


Figura 23. Influencia de la experiencia previa en la asignación de esfuerzo de forrajeo a la explotación de dos fuentes proteicas (5gr de carne picada) (n=12). (a) Número de visitas de *V. germanica* a cada fuente durante 5 minutos. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$). Las letras del mismo color indican diferencias entre los tiempos para cada fuente (en rosa la fuente 1 y en amarillo la fuente 2) y letras de distintos colores indican diferencias entre fuentes. (b) Índice de probabilidad (IP) de explotación de cada fuente durante los últimos 45 minutos del ensayo. No se encontraron diferencias significativas para cada tiempo entre el IP y el cero. En ambos graficos (a y b) los puntos indican la media y las barras el error estándar para cada tiempo.

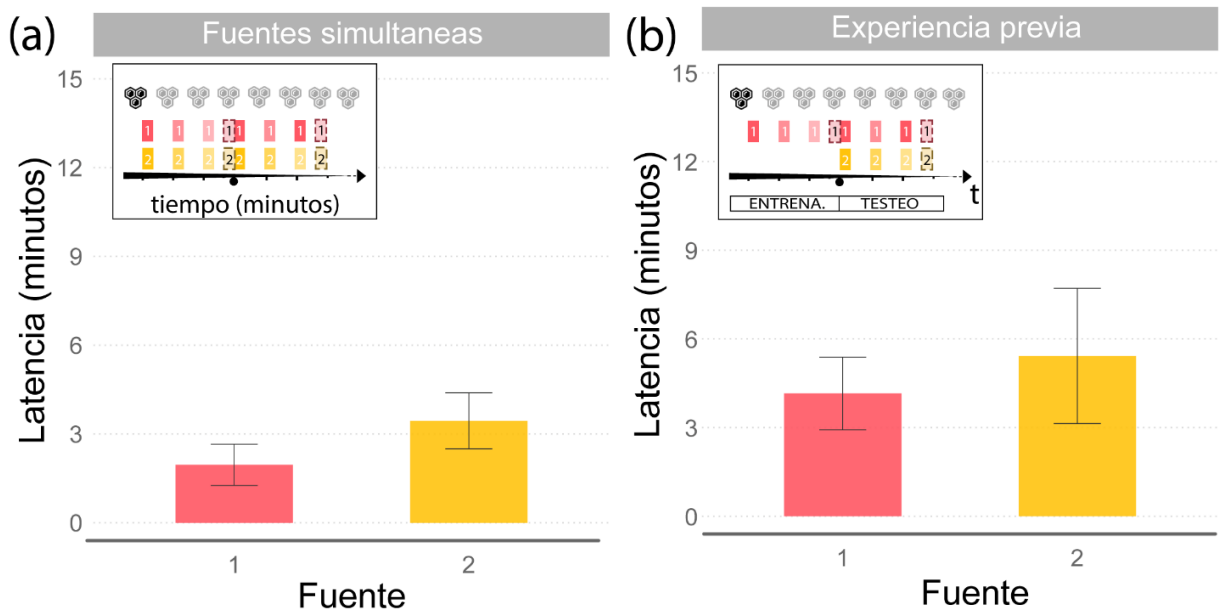


Figura 24. Tiempo transcurrido (latencia) hasta el aterrizaje de la primera obrera en dos fuentes: ambas desconocidas (fuentes simultáneas, $n=8$) y, una conocida y una desconocida (experiencia previa, $n=12$). Para el caso en que ambas fuentes son desconocidas (fuentes simultáneas) se informa la latencia a partir del minuto cero y cuando una de las fuentes es conocida (experiencia previa) se informa la latencia a partir del minuto 45 (inicio de la fase de prueba). No se encontraron diferencias significativas en los tiempos entre las fuentes independientemente del momento de aparición de cada una.

2.4. Discusión

Las colonias de la avispa social *V. germanica* resuelven la explotación de dos fuentes de alimento asignando el esfuerzo de forrajeo de manera simétrica, independientemente de que ambas fuentes sean novedosas o que una de ellas sea conocida y explotada previamente por algunos miembros de la colonia. Si bien los mecanismos por los cuales esta especie recluta a sus compañeros del nido aún no han sido dilucidados, mis resultados aportan evidencias de una explotación simétrica del recurso como la observada para reclutamientos lineales en grupo y en tándem. Estos resultados son concordantes con estudios recientes en donde se ha propuesto, como una posible hipótesis al mecanismo de reclutamiento, que las obreras de *V. germanica* y *V. vulgaris* realizan vuelos pilotos en donde obreras *naïve* (sin experiencia previa) encuentran el camino hacia una fuente de alimento siguiendo a compañeros con experiencia (Santoro *et al.* 2016, Lozada *et al.* 2018). En este tipo de reclutamiento, al igual que en la danza de las abejas y el reclutamiento en tándem de hormigas, un individuo “potencial recluta” solo realiza un vuelo piloto a la vez, y otros vuelos no refuerzan esta señal, por lo tanto, la probabilidad de reclutar a una fuente es la misma independientemente de cuántos reclutadores hacia otra fuente estén activos.

La respuesta individual de obreras de *V. germanica* durante el comportamiento de relocalización de una fuente de alimento ha sido ampliamente estudiada y los resultados indican que cuando las avispas localizan un alimento en cierto sitio continúan su búsqueda incluso cuando el recurso ya no se encuentra disponible (Lozada y D’Adamo 2006, 2011; D’Adamo y Lozada 2014). Estos descubrimientos indican que la experiencia pasada individual, bajo cierto contexto, puede dificultar la detección de sitios de alimentación más favorables. Contrariamente a lo esperado, mis resultados sugieren que, frente a la aparición de una nueva fuente, las colonias de *V.*

germanica lo explotan rápida e independientemente del esfuerzo asignado a la fuente anterior. Por lo tanto, si bien los individuos de esta especie podrían estar sesgados por su experiencia previa, las colonias de *V. germanica* han adquirido otros mecanismos que contrarrestan estas limitaciones haciendo más eficiente la explotación de ambientes dinámicos.

Otro resultado relevante de este capítulo indica que las avispas demoran el mismo tiempo en encontrar y aceptar (latencia) dos fuentes ricas de alimento. La información sobre roles de forrajeo en *V. germanica* es escasa, sin embargo, según Biesmeijer (2001) en insectos sociales con forrajeo social, el descubrimiento de nuevas fuentes de alimentos puede ser de forma activa a través de obreras exploradoras (*naïve* y/o experimentadas) que inician la búsqueda de forma espontánea, o accidental a través de obreras reclutas que pierden la guía. Mis resultados apoyan esta visión ya que, como mencioné anteriormente, se ha demostrado que *V. germanica* presenta una importante fidelidad al sitio por lo que puede identificar un micrositio y continuar regresando a él aún en ausencia de alimento (Lozada y D'Adamo 2014). Por lo tanto, si bien las obreras no fueron individualizadas en los experimentos aquí descritos, es probable que el descubrimiento de cada fuente haya sido realizado por distintos individuos potenciales reclutadores. La ausencia de diferencias entre los tiempos de latencia observada en el objetivo 2 refuerzan esta idea. Es probable que la estrategia utilizada por las colonias de *V. germanica* involucre tanto el reclutamiento intra-nido como la conservación de individuos con un fuerte impulso espontáneo por la búsqueda de nuevas fuentes de alimento (exploradoras).

La innovación en la metodología experimental utilizada para esta especie retardó los tiempos de búsqueda, obtención y mantención con vida de los nidos, y me condicionó a utilizar todos los nidos encontrados dentro de un mismo grupo experimental para

evitar disminuir el tamaño muestral. A futuro, sería importante realizar un diseño bloqueado para evaluar el efecto de variables (como por ejemplo el tamaño y la etapa ontogénica del nido) que, en otros insectos sociales, influyen en los mecanismos de reclutamiento y por lo tanto en las estrategias de explotación (Planqué *et al.* 2010).

En los experimentos solo se evaluó la respuesta de la colonia frente a recursos proteicos. Esta decisión se basó en que ésta especie obtiene principalmente las proteínas de carroña que es un recurso muy inestable, que puede cambiar su ubicación o desaparecer rápidamente y las avispas deben ser flexibles en la explotación de nuevas fuentes (Akre y MacDonald 1986). En contraste, los recursos carbohidratados son obtenidos de frutos maduros, néctar de flores, exudados de insectos homópteros o colmenas de abejas, entre otros, siendo estas fuentes más estables y confiables (Giganti 1980). Plantear los mismos objetivos con fuentes azucaradas podría arrojar resultados reveladores.

Se ha descrito que el éxito invasivo de una especie está afectado, entre otras cosas, por el desafío de afrontar la supervivencia en ambientes dinámicos, impredecibles y cambiantes. *V. germanica* se ha establecido convirtiéndose en plaga en muchas regiones del mundo. Siendo éste el primer estudio de las estrategias de explotación de varias fuentes de alimento en una avispa social a nivel de colonia, este capítulo suma evidencias a la flexibilidad conductual en la alimentación de esta especie. La flexibilidad conductual podría conferir a *V. germanica* una gran ventaja adaptativa en respuesta a los cambios ambientales. Además, pone de manifiesto que dicha flexibilidad conductual no se explica como una propiedad emergente de reglas individuales simples sino como una compleja red de interacciones entre los individuos. Los métodos de control utilizados a la fecha se basan principalmente en la aplicación de alimentos atractivos con tóxicos adicionados, los cuales muchas veces no logran

competir con la oferta del ambiente, perdiendo su eficacia. Comprender como resuelve *V. germanica* la explotación de varias fuentes alimenticias resulta crucial para entender y resolver este fenómeno, aumentando así la eficacia de estos métodos de control.

CAPÍTULO 3

Diferencias en la percepción gustativa entre obreras de *V. germanica*: influencia de la calidad, del tipo de recurso y de la experiencia previa

Resumen

Una de las principales características de los insectos sociales es la división del trabajo, dentro de la casta obrera, cada sub-casta realiza diferentes actividades comunales dentro y fuera del nido. Los mecanismos que subyacen a la división de tareas todavía están siendo estudiados, pero se ha demostrado que la nutrición, la edad y el estado reproductivo interactúan modulando la percepción de los estímulos apetitivos. En este capítulo describo y analizo la capacidad perceptiva de la avispa eusocial *V. germanica* vinculada a la modalidad gustativa y cómo influye sobre ésta la edad de las obreras. Para esto, estimulé los principales órganos de percepción en insectos (antenas y palpos), con distintas soluciones (azucaradas y proteicas) y registré la aceptación o rechazo de las mismas. Observé que, tanto para soluciones proteicas como soluciones azucaradas, existe un umbral de rentabilidad, por debajo del cual las avispas no ingieren el recurso, y que este umbral es similar entre obreras, independientemente de la edad.

Palabras clave: umbral de respuesta al azúcar, división del trabajo, chaqueta amarilla, insecto social

3.1. Introducción

El sentido del gusto se ha desarrollado como un regulador dominante y conductor del comportamiento alimentario en animales (Yarmolinsky *et al.* 2009). Cuando un insecto encuentra un potencial alimento, primero lo evalúa con las antenas, patas y piezas bucales en busca de compuestos nutricionalmente relevantes y/o nocivos. Luego, según las sustancias detectadas, se disparan comportamientos innatos que conducen a la aceptación o rechazo de éste (Yarmolinsky *et al.* 2009, Chapman 2012). Sin embargo, la percepción de diferentes sustancias químicas puede variar en función de diversos factores. Las señales recibidas por un individuo desde el medioambiente (factores externos) y las basadas en su estado fisiológico o motivación (factores internos), producto de su experiencia y su percepción, determinan de manera conjunta su salida comportamental, modelando la toma de decisiones durante la búsqueda y recolección de alimentos. Esto lleva a que la aceptación o rechazo de un alimento, al igual que lo que ocurre con el comportamiento durante la ingestión, no solo dependa de las características intrínsecas del alimento, sino que también sea modulado por el estado fisiológico del animal (esto es, estado-dependencia; McNamara y Houston 1996, Bodin *et al.* 2009).

En los insectos sociales las actividades dentro y fuera del nido se realizan de forma comunal. Para ello deben existir individuos aptos para llevar a cabo cada una de las tareas, ya sea por la formación de grupos de obreras especializadas en una tarea en particular, o mediante una población no especializada que por lo tanto sea apta para realizar la mayor parte del trabajo necesario. Dentro del nido, la amplia diversidad de tareas que deben realizar las obreras incluye la distribución y provisión de alimento a las larvas, la limpieza de las celdas y manutención del nido, la creación de corrientes de aire para enfriar el nido y la defensa de la colonia. Fuera del nido, las actividades

pueden incluir la recolección de alimentos (desde la succión de líquidos azucarados hasta la captura de presas), la recolección de materiales para la construcción y reparación del nido o la recolección de agua para el enfriamiento de este.

La división del trabajo entre las obreras se considera una de las principales razones del éxito ecológico de los insectos eusociales (Oster y Wilson 1978). En el **polietismo temporal o etario** las obreras pueden cambiar de tarea de acuerdo con su edad y el grado de especialización es muy variable dentro de los distintos grupos de insectos sociales (Oster y Wilson 1978). En algunos casos, como por ejemplo en el género *Bombus* spp., no se ha encontrado evidencia de especialización ni división del trabajo; en otros casos como en las avispas sociales, en algunas hormigas y en las abejas sin aguijón, si bien existe polietismo etario, el pasaje de una sub-casta a otra no es muy marcado (Spradbery 1973, Edwards 1980). Por último, hay casos como la abeja de la miel *A. mellifera*, donde se evidencia especialización y una división de tareas muy definida y bien estudiada (Seeley 1982).

En la mayoría de los insectos sociales con polietismo más o menos marcado se pueden reconocer al menos 2 sub-castas dentro de la casta obrera. La sub-casta de **nodrizas**, conformada por *obreras naïve* recién emergidas que permanecen dentro del nido distribuyendo el alimento, limpiando, defendiendo y reconstruyendo el mismo; y la sub-casta **forrajera** conformada por obreras de varios días de edad que se inician en la búsqueda y recolección de recursos en el exterior para toda la colonia (Detrain *et al.* 1999).

Los mecanismos que subyacen a la división de tareas en insectos sociales todavía están siendo estudiados, pero en abejas por ejemplo, se ha demostrado que la nutrición, la edad y el estado reproductivo interactúan para regular el comportamiento de las

obreras (Amdam *et al.* 2004). Se sabe que la edad a la cual una abeja comienza a forrajear se ve afectada por el estado nutricional de la colonia y esto se correlaciona con cambios en la expresión de genes implicados en el comportamiento de alimentación (Amdam *et al.* 2007, Ament *et al.* 2008). Asimismo, los cambios en el estado nutricional individual hacen que las forrajeras sean más sensibles a las señales apetitivas lo que se traduce en la respuesta exagerada a los estímulos nutricionales (Toth *et al.* 2005, Ament *et al.* 2008, Mengoni *et al.* 2016).

Los modelos de umbrales de respuesta simples suponen que cada obrera responde a un estímulo dado cuando la intensidad de ese estímulo excede el umbral de la obrera. En este sentido, uno de los aspectos más estudiados en abejas, hormigas, abejorros y abejas sin aguijón es la estimación del **umbral de respuesta al azúcar** (URA) de los individuos, dado que éste se considera una medida de la capacidad de respuesta gustativa y del estado nutricional de los mismos (Page *et al.* 1998, Pankiw *et al.* 2004, Martínez y Farina 2008). A partir de la estandarización de este protocolo se han abordado numerosos estudios al respecto. Entre otros resultados, se ha demostrado que las forrajeras de *A. mellifera* a menudo muestran una alta capacidad de respuesta a la sacarosa, mientras que en las abejas jóvenes y de mediana edad, sucede lo contrario (Scheiner *et al.* 2004).

3.1.2. Alimentación y aparato bucal de *V. germanica*

Las forrajeras de avispas sociales recolectan dos tipos principales de alimentos: carbohidratos y proteínas. Los **carbohidratos o azúcares**, incluidos los azúcares simples, el almidón y otros polisacáridos, son componentes importantes de la dieta ya que son el combustible respiratorio, se pueden almacenar como lípidos, participan en la síntesis de aminoácidos y forman parte esencial de la cutícula (Champan 2012). La

avispa chaqueta amarilla obtiene los carbohidratos mediante la succión o el lamido de exudados de homópteros o áfidos, frutas maduras, néctar de flores o savia de árboles. Los **aminoácidos** por su parte son necesarios para la producción de proteínas que se utilizan con fines estructurales, como enzimas para el transporte y el almacenamiento, y como moléculas receptoras. Además, algunos aminoácidos están involucrados en la morfogénesis, otros son neurotransmisores y varios se usan como combustible respiratorio. *V. germanica* obtiene aminoácidos principalmente de carroña u otros insectos, succionando fluidos o cortando trozos de las partes blandas, manipulándolos con la ayuda de las mandíbulas y las patas y convirtiéndolos en una bola de la cual se alimentan las larvas del nido (Berland 1928, Schremmer 1962, Matsuura y Yamane 1990).

Las obreras de *V. germanica* también utilizan las piezas bucales para cortar y raspar las fibras vegetales durante la construcción del nido, para remover el suelo y pequeñas piedras al colonizar cavidades subterráneas, y para la captación de agua. Por lo tanto, las piezas bucales están en contacto con una diversidad de sustancias químicas y son utilizadas como un conjunto de herramientas para diferentes tipos de tareas: succionar, cortar, triturar, sujetar, limpiar, acicalar y lamer (Figura 25).

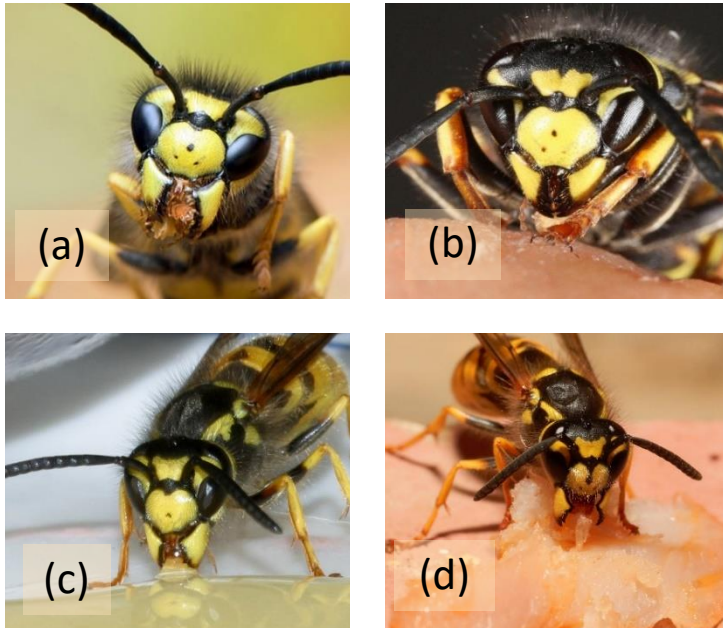


Figura 25. Detalle del aparato bucal de *V. germanica* en condiciones naturales para los comportamientos de acicalado y limpieza (a), reposo (b), ingesta de líquidos (c) y captura/corte de sólidos (d).

Si bien, la anatomía y morfología del aparato bucal de *V. germanica* es compleja, existen cuatro estructuras principales involucradas en la quimio-recepción de contacto: (1) el labrum o labro (lb) impar delante de la boca, (2) las mandíbulas (ma), (3) las maxilas (mx) pares y (4) el labium o labio (l) impar (Figura 26; Chapman 2012). El **labro**, que está oculto por el **clípeo** (cl), tiene una zona sensorial conformada por numerosos pelos y la epifaringe. Por debajo del labro y el clípeo se encuentran las **mandíbulas**, un par de piezas fuertes, muy esclerotizadas especialmente en los extremos o en sus bordes internos que se presentan dentados o aserrados y que poseen movimientos transversos destinados al corte y a la masticación. Entre las mandíbulas se encuentra un complejo característico del orden Hymenoptera, el **complejo maxilo-labial** (Figura 27). Este está formado por componentes del labio y la maxila, y es utilizado para succionar y lamer (por ejemplo, néctar u otros fluidos). Entre las estructuras que forman este complejo, se encuentran los **palpos** (maxilares y labiales), los mismos son los apéndices sensoriales utilizados para examinar y evaluar los alimentos. El complejo maxilo-labial, junto con las mandíbulas con mordida bien

desarrollada, atribuyen al aparato bucal de las avispas sociales la gran versatilidad funcional mencionada anteriormente (Spradbery 1973).

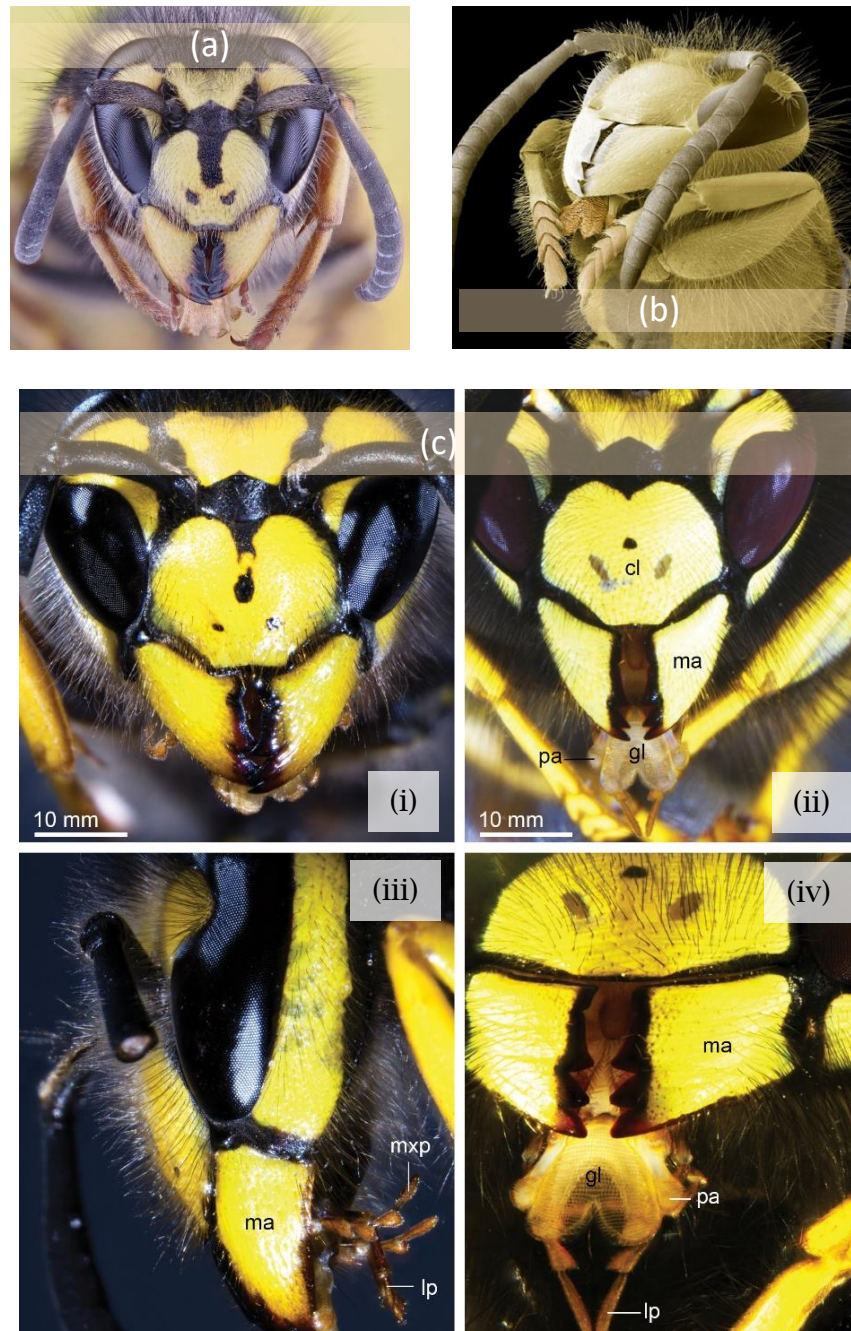


Figura 26. Foto del aparato bucal de *Vespula germanica* en vista frontal (a), vista latero-frontal (b) y detalle (c). Se pueden apreciar las antenas segmentadas, las mandíbulas fuertemente esclerotizadas y aserradas (ma; c.i), el complejo maxilo-labial extendido (gl/pa; c.ii) y los palpos labiales y maxilares (lp y mxp respectivamente; c.iii: vista lateral, c.iv: vista frontal).

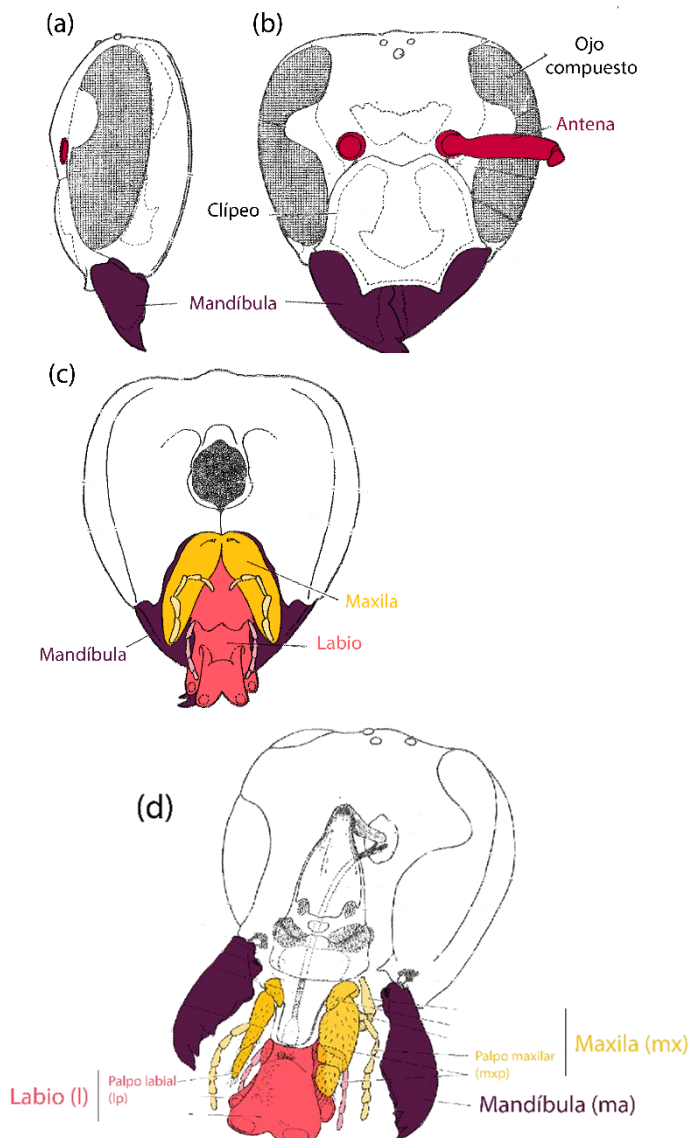


Figura 27 . Esquema de la cabeza de *Vespula* spp. Coloreado indico las estructuras del aparato bucal implicadas en este capítulo. (a) Vista lateral, (b) vista frontal, (c) vista ventral, (d) corte coronal. Adaptado de Spradbery (1973).

3.1.2. Objetivos e hipótesis

Dada la variedad de recursos alimenticios que forrajejan las avispas sociales y el escaso conocimiento sobre los factores que modulan la aceptación de esos alimentos, en este capítulo propongo describir y analizar la capacidad perceptiva de la avispa eusocial *V. germanica* vinculada a la modalidad gustativa y cómo influye sobre ésta la experiencia previa y la edad de la obrera. La hipótesis que subyace a los experimentos es que existen distintos umbrales de respuesta para cada estímulo gustativo por encima del cual se desencadena en la obrera la respuesta de alimentación. A su vez, estos

umbrales están influenciados por la percepción individual que puede ser modificada por distintos factores como la experiencia previa o la edad.

Los objetivos particulares son, en **primer** lugar, evaluar la respuesta de las obreras ante la estimulación con soluciones apetitivas, identificando la existencia de una respuesta refleja (capaz de ser evaluada sin ambigüedad) frente a la estimulación en dos estructuras de percepción distintas (palpos y antenas) y cómo influye la experiencia previa en esta. A partir de la identificación del tipo apropiado de estimulación, el **segundo** objetivo es evaluar si la respuesta refleja puede ser modulada por la estimulación consecutiva de estas estructuras. El **tercer** y último objetivo específico se desprende de los dos anteriores y consiste en evaluar la respuesta gustativa de obreras de *V. germanica* a alimentos ricos en hidratos de carbono y alimentos ricos en proteínas en obreras de distintas edades.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Respuesta refleja de alimentación

Dependiendo del modelo animal, se han establecido distintas formas de medir la respuesta a estímulos gustativos de manera controlada en el laboratorio. Existen protocolos estandarizados para medir el umbral de respuesta al azúcar (URA) en moscas y abejas (Edgecomb *et al.* 1987, Sudlow *et al.* 1987, Page *et al.* 1998, Scheiner *et al.* 2004). El valor **URA**, fue definido originalmente para abejas y es aquella mínima concentración de solución azucarada capaz de evocar en una obrera la respuesta innata de extensión de la proboscis (Pankiw y Page 2000). El procedimiento se realiza con las abejas encepadas; esto es, abejas amarradas que solo pueden mover libremente las antenas y las piezas bucales. Si bien, como mencione, el valor URA fue definido para abejas, también se ha utilizado esta técnica en otras especies modelo. En moscas, por ejemplo, los umbrales se miden mediante la extensión de la probóscide tras la estimulación en patas o piezas bucales (Edgecomb *et al.* 1987, Sudlow *et al.* 1987, Scheiner *et al.* 2004). En hormigas, sin embargo, dado que no existe una probóscide, el URA se evalúa mediante la extensión del complejo maxilo-labial como respuesta a la estimulación de palpos o antenas (o **MaLER** por su significado en inglés: “*Maxillo-Labium Extension Response*”; Guerrieri y d’Ettorre 2010, Falibene y Josens 2012).

3.2.2. Obtención de animales

3.2.2.1. Naïve

Durante enero y febrero de 2018 y 2019 busqué, georreferencié y extraje nidos de *V.*

germanica según la metodología explicada en el *capítulo 2 sección 2.2.1*. Antes de colocar el nido en las cajas de experimentación extraje estantes de celdas con pupas de obreras y los coloqué en contenedores plásticos. Mantuve los estantes en incubadoras bajo oscuridad absoluta y temperatura controlada (30°C). Cada día extraje los individuos recién emergidos, los enumeré como explico a continuación y los evalué con el protocolo correspondiente acorde al grupo experimental asignado al azar.

3.2.2.2. Avispas de edad conocida

Luego de cosechar a las avispas emergidas de los estantes (0-24 hrs de edad) las anestesié con frío (-18 C°) durante aproximadamente 5 min y las etiqueté en el tórax con un número único para tener un registro de la edad de cada individuo. Luego de realizar el protocolo experimental correspondiente, embebí a cada avispa con miel diluida para promover la aceptación de esta por las compañeras y la introduje en la misma colonia de la cual extraje el estante originalmente. Monitoreé cada una de estas colonias todos los días para confirmar la supervivencia y la actividad de forrajeo de las avispas etiquetadas.

Después de 28 días (final de la temporada), anestesié a las colonias con éter etílico (98% de pureza; Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) y capturé a las avispas etiquetadas para evaluarlas nuevamente bajo la misma serie experimental con las que las evalué a los 0 días de edad.

3.2.2.3. Avispas forrajeras (edad desconocida)

En febrero y marzo de 2018 y 2019, ofrecí alimentadores con recursos ricos en carbohidratos o proteínas en diferentes sitios próximos a la ciudad de San Carlos de

Bariloche, Argentina (41°9'0" S, 71°18'0" O), donde *V. germanica* se encuentra establecida. Capturé obreras forrajeras a medida que iban aterrizando en el alimentador y las trasladé al laboratorio del IFAB, donde permanecieron con agua *ad libitum*, en condiciones controladas de baja temperatura (5°C) y oscuridad con el objetivo de inducir una disminución en el metabolismo del individuo (Käfer *et al.* 2012). Unos minutos antes de la realización de los experimentos retiré a los individuos y los coloqué bajo condiciones naturales para su aclimatación.

3.2.3. Protocolo experimental

Con el fin de preparar a las avispas (*naïve*, de edad conocida o forrajera) para su evaluación, las anestesié con frío (-18°C) durante aproximadamente 5 min, tiempo después del cual las encepé en un tubo de plástico en el que solo las antenas y los elementos bucales podían moverse libremente (Figura 28; Bitterman *et al.* 1983). Posteriormente las coloque en oscuridad y temperatura ambiente entre 60 y 90 minutos para su aclimatación. Una vez finalizada la aclimatación realicé alguno de los siguientes experimentos, todos entre las 10 y las 19 hrs.

3.2.3.1. Objetivo 1: Respuesta refleja a la estimulación gustativa

Para probar si existe una respuesta refleja de extensión del complejo maxilo-labial frente a la estimulación gustativa y si ésta depende del órgano receptor (antena o palpo) estimulé a avispas forrajeras tocando la antena o el palpo con un capilar embebido en agua o solución de sacarosa 50% p/p.

Por otro lado, para evaluar si la respuesta se ve influenciada por la experiencia previa opuesta, en una segunda etapa estimulé a cada avispa con la misma solución en el

órgano opuesto al que había sido estimulada previamente, por ejemplo, si primero había tocado la antena entonces posteriormente estimulé el palpo y viceversa.

Para evitar los efectos de la sed, ofrecí agua corriente a cada obrera al principio de cada serie experimental y entre cada ensayo. Registré la proporción de avispas que extendieron el complejo maxilo labial luego de ser tocadas en cada tratamiento.

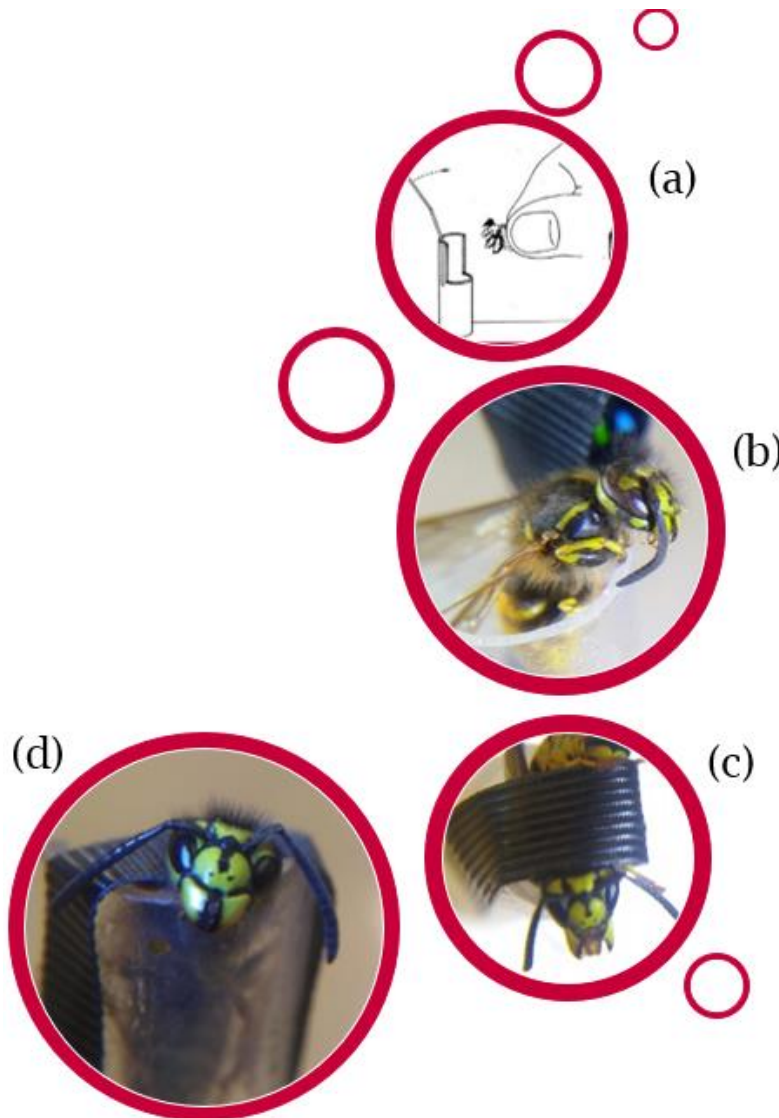


Figura 28. Técnica de encepado de obreras utilizada en los experimentos de estimulación gustativa. La misma consiste en colocar a las avispas en un tubo (a) y aprisionarlas con cinta (b) de manera tal que únicamente queden con movimiento libre las antenas y las piezas bucales (c: vista superior; d: vista frontal).

3.2.3.2. Objetivo 2: Modulación de la respuesta refleja

Por otro lado, con el fin de evaluar si esta respuesta se modifica tras la estimulación consecutiva (experiencia previa), realicé tres series experimentales según detalle en la

Tabla 2. Para esto utilicé el mismo paradigma de extensión refleja del complejo Maxilo-Labial mencionado en la *sección 3.2.1* del presente capítulo. Cada avispa forrajera fue estimulada en la antena (según resultados obtenidos del *objetivo 1* del presente capítulo) durante una de las tres series experimentales. Para evitar una posible extinción de la respuesta, después del ensayo, recompensé a toda avispa que respondió positivamente con la misma solución con la cual la estimulé. Para evitar los efectos de la sed ofrecí agua a cada obrera al principio de cada serie y entre cada ensayo. Descarté los individuos que respondieron negativamente a la estimulación con sacarosa 50% p/p debido a la posible incapacidad de extender el complejo.

Tabla 2. Diagrama del protocolo experimental realizado para cada tratamiento (agua, sacarosa y peptona de carne) para evaluar el efecto de la estimulación consecutiva en la respuesta de extensión del complejo maxilo-labial de avispas forrajeras.

Número de ensayo	1	2	3	4	5
Agua	agua	agua	agua	agua	Sac. 50%
Sacarosa (p/p)	3%	3%	3%	3%	Sac. 50%
Peptona de carne (p/p)	3%	3%	3%	3%	Sac. 50%

3.2.3.3. *Objetivo 3: Capacidad de respuesta gustativa*

Con el objetivo de evaluar la respuesta gustativa individual a distintos nutrientes y utilizando el mismo paradigma mencionado en la *sección 3.2.1* del presente capítulo estimulé en la antena a avispas *naïve*, de 28 días de edad o forrajeras durante una serie experimental con concentraciones ascendentes de soluciones de sacarosa o peptona de carne según el esquema indicado en la Tabla 3.

Después de cada ensayo recompensé a cada avispa con la misma solución para evitar una posible extinción de la respuesta y para evitar los efectos de la sed le ofrecí agua al principio de cada serie y entre cada ensayo. Al final de la serie experimental obtuve un **score o puntaje** para cada individuo. Esta puntuación se basa en si cada individuo respondió a las diferentes concentraciones o no lo hizo (Scheiner *et al.* 2001, Pankiw *et al.* 2004). La respuesta se cuantifica arbitrariamente con puntuaciones del uno al cuatro, donde uno (1) representa una avispa que sólo responde a la mayor concentración (por ej. 50% para el tratamiento 1 con sacarosa), y cuatro (4) representa una avispa que responde a todas las concentraciones evaluadas (Figura 29).

Tabla 3. Diagrama del protocolo experimental seguido en cada tratamiento (sacarosa 1, sacarosa 2 y peptona de carne) para evaluar el efecto de la calidad del recurso en la respuesta de aceptación de este en avispas *naïve*, avispas de 28 días de edad y avispas forrajeras.

Número de ensayo	1	2	3	4		TIPO DE OBRERA
Sacarosa (p/p)						
Tratamiento 1	3%	10%	20%	50%	→	<i>Naïve / Forrajeras</i>
Tratamiento 2	3%	5%	10%	15%	→	<i>Naïve/Forrajeras/28 días</i>
Peptona de carne (p/p)	3%	5%	10%	15%	→	<i>Naïve/Forrajeras</i>

En todos los casos, consideré positiva a la respuesta cuando las avispas lamieron el capilar luego de la estimulación. Excluí del análisis a aquellas avispas que, durante la serie experimental, morían o se encontraban dudosas (por ejemplo, no movían sus antenas). También excluí a aquellas avispas que respondían positivamente a todas las soluciones y al agua debido a la posible falta de capacidad perceptiva.

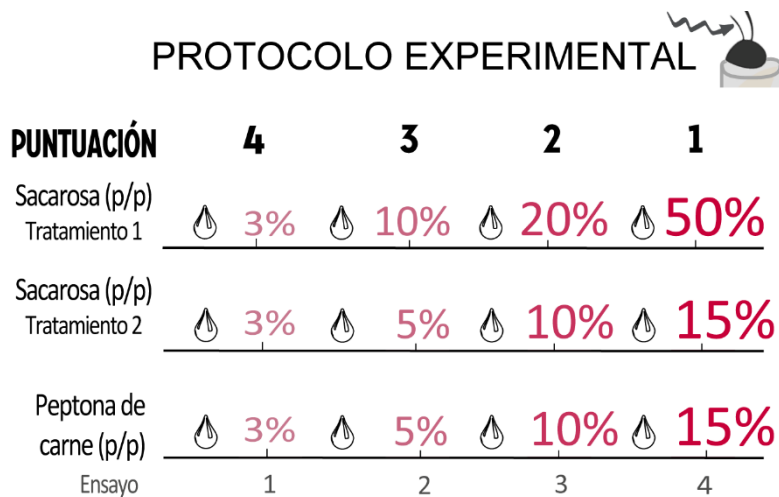


Figura 29. Puntuación (*score*) asignada a cada obrera según la respuesta observada. Una avispa que extiende el complejo frente a la presentación de una solución 3% p/p recibe un score de 4, mientras que una que solamente responde a soluciones de 15% o 50 % (p/p) recibe un score de 1.

3.2.4. Análisis estadístico

Para evaluar si la respuesta refleja de extensión del complejo Maxilo-Labial frente a la estimulación con agua o sacarosa (50% p/p) se ve influenciada por el órgano estimulado (antena o palpo) o por la experiencia previa, realicé un modelo lineal generalizado con distribución *Poisson*. Por otro lado, el efecto de la estimulación consecutiva lo evalué con un modelo lineal generalizado con distribución *Bernoulli*. Consideré "solución" y "ensayo" como efectos fijos e "individuo" como un efecto aleatorio. Cada nivel fue contrastado a posteriori con una prueba de Tuckey (en ambos casos, función "*glmer*" del paquete "*lme*" para la selección del modelo y función "*glht*" del paquete "*multcomp*" para los contrastes). Todos los análisis estadísticos los realicé en el software Rstudio, Version 1.2.1335, 2019.

Para analizar el efecto del tipo de obrera sobre la capacidad de respuesta gustativa, estimada a través de la asignación de una puntuación como expliqué anteriormente, realicé un modelo lineal generalizado con distribución *Conway-Maxwell-Poisson* dado que registré subdispersión (función "*glmmTMB*" del paquete "*glmmTMB*"). Cuando fue necesario realicé un contraste a posteriori con una prueba de Tuckey (funciones

“emmeans” y *“cld”* de los paquetes *“emmeans”* y *“multcompView”* respectivamente). Todos los análisis estadísticos los realicé en el entorno estadístico Rstudio, Version 1.2.1335, 2019.

3.3. Resultados

3.3.1. Objetivo 1: Respuesta refleja a la estimulación gustativa

En obreras forrajeras la respuesta de extensión del complejo no dependió del órgano estimulado, en todos los casos la respuesta a la sacarosa fue mayor que la respuesta al agua ($p_{\text{órgano}}=0.092$, $p_{\text{solución}}<0.001$, $p_{\text{interacción}}=0.194$; Antena $p_{\text{agua-sac}}=0.027$; Palpos $p_{\text{agua-sac}}=0.004$). Sin embargo, individuos con una experiencia previa de estimulación en los palpos, cuando fueron tocados en la antena equipararon su respuesta a la respuesta correspondiente de los individuos estimulados con agua, mientras que los individuos con experiencia previa de estimulación antenal y posteriormente evaluación en palpos no mostraron un cambio en su respuesta (Antena $p_{\text{agua-exp. prev}}=0.463$, $p_{\text{sac-exp. prev}}=0.574$; Palpos $p_{\text{agua-exp. prev}}=0.003$, $p_{\text{sac-exp. prev}}=0.999$; Figura 30).

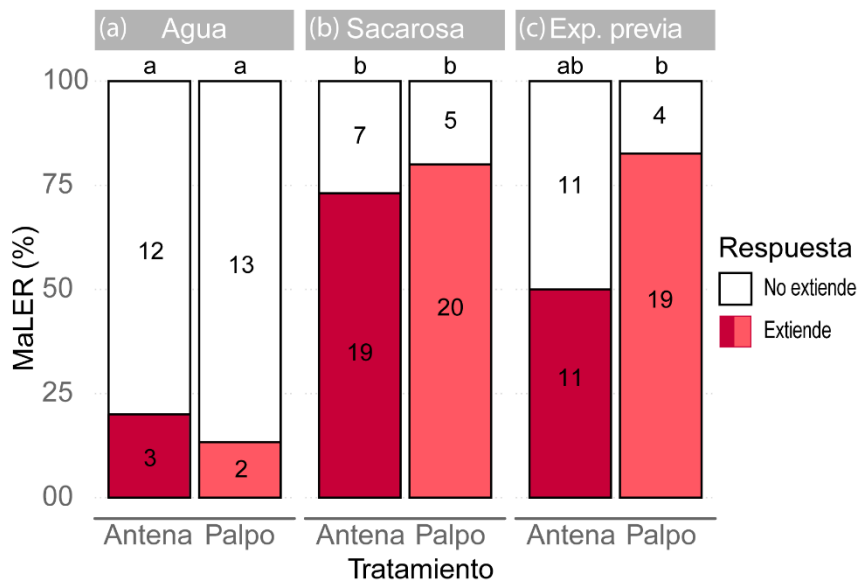


Figura 30. Porcentaje de individuos que, tras la estimulación en las antenas o los palpos, extendieron el complejo maxilo labial. Respuesta de individuos sin experiencia previa frente a la presentación de agua (a) o sacarosa 50% p/p (b) y con experiencia previa

frente a la presentación de sacarosa 50% p/p (c). Cada avispa de este grupo recibió los dos tipos de estimulaciones, pero en distinto orden: un grupo fue estimulado primero en los palpos y en segundo lugar en las antenas (antena) y el otro grupo recibió las estimulaciones en el orden inverso (palpo). Se indica en el interior de las barras el número absoluto de individuos con cada respuesta. Letras distintas indican diferencias significativas ($p<0.05$).

3.3.2. Objetivo 2: Modulación de la respuesta refleja

La respuesta de extensión no se vio modificada tras sucesivos eventos de estimulación, sin embargo, se observó una diferencia en la respuesta a cada solución utilizada ($p_{\text{ensayo}}=0.256$, $p_{\text{solución}}=0.019$, $p_{\text{interacción}}=0.158$). Si bien, tanto la sacarosa como la peptona no provocaron una respuesta distinta a la del agua ($p=0.814$ y $p=0.328$ respectivamente), la respuesta a la sacarosa fue marginalmente mayor que la respuesta a la peptona ($p=0.045$). En todos los casos, la estimulación con sacarosa en mayor concentración (50 % p/p) condujo a un aumento en la respuesta de aceptación de esta (Agua $p_{4-5} < 0.01$, Sacarosa $p_{4-5} < 0.01$, Peptona $p_{4-5} < 0.01$; Figura 31).

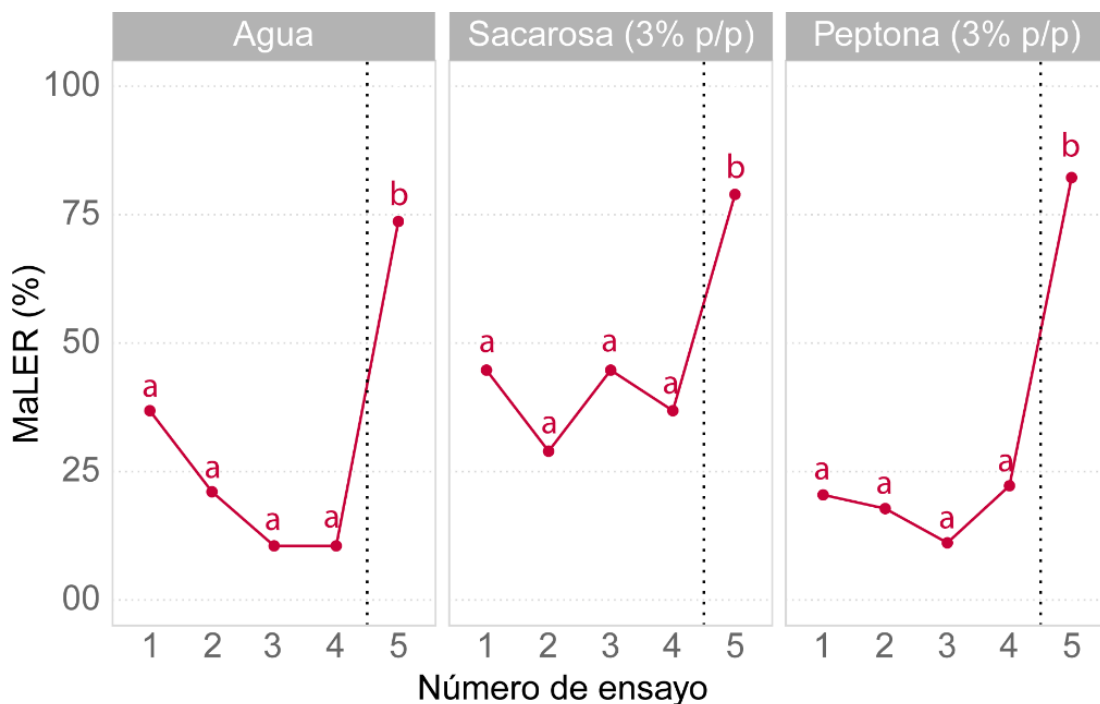


Figura 31. Efecto de la estimulación repetida en el reflejo de extensión del complejo maxilo-labial. Se observa el porcentaje de respuestas positivas (extensión) de obreras forrajeras frente a la estimulación con dos soluciones de baja concentración con distinto aporte nutricional (sacarosa, $n=38$; y peptona, $n=45$) y con agua ($n=19$), durante 4 ensayos consecutivos. El ensayo número 5 corresponde a un control positivo con solución de sacarosa 50% p/p. Letras distintas indican diferencias significativas.

3.3.3. Capacidad de respuesta gustativa

Del total de las avispas evaluadas con la secuencia ascendente 3%, 10%, 20% y 50% sacarosa (p/p), más del 70% respondieron positivamente a partir de la solución 10% (*Naïve* 72.7%, Forrajeras 73%) y el porcentaje más alto de aceptación fue para la solución 50%, a la cual respondieron el 84% de las *naïve* y 93.2% de las forrajeras. Estos valores no difirieron significativamente de los valores observados para la solución 20% (*Naïve* $p=0.51$, Forrajeras $p=1$; Figura 32a). No encontré diferencias en la puntuación de respuesta entre obreras forrajeras y obreras *naïve*, ambos grupos presentaron una puntuación media de 3 ($p=0.61$; Figura 32b).

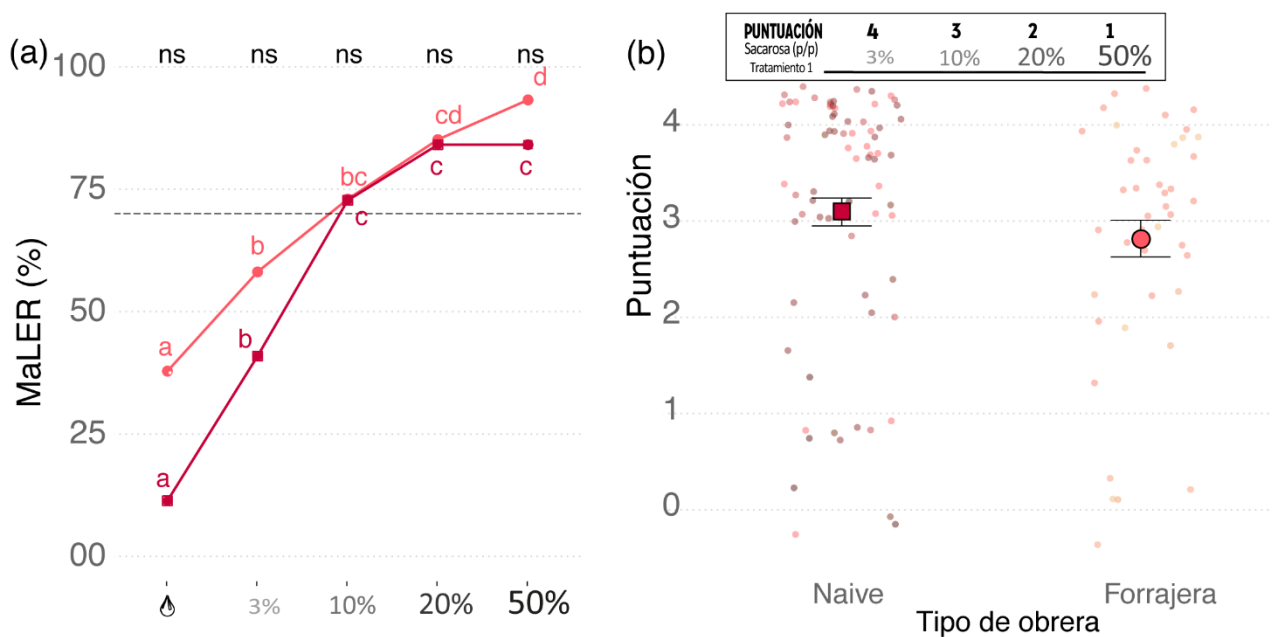


Figura 32. (a) Porcentaje de respuestas positivas de extensión del complejo maxilo-labial (MaLER) según la concentración de solución ofrecida (agua, 3%, 10%, 20% y 50% de sacarosa p/p) para obreras *naïve* (círculos rosado claro, $n=44$) y forrajeras (cuadrados rosado oscuro, $n=74$). Las letras “ns” indican que no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tipos de obreras y letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las respuestas a las concentraciones. (b) Valor medio de la puntuación obtenida en para cada tipo de obrera. Los bigotes representan en error estándar.

Por otro lado, cuando evalué la respuesta en un rango más preciso entre las concentraciones del ensayo anterior donde comienzan a responder más del 60% de los individuos (es decir, avispas evaluadas con la secuencia ascendente 3%, 5%, 10% y 15% sacarosa), observé que el 60% o más respondieron positivamente a partir de la solución 5% (*Naïve* 58%, Forrajeras 76%) y el porcentaje más alto de aceptación fue para la solución 15%, a la cual respondieron el 75.8% de las *naïve* y 89.7% de las forrajeras. Estos valores no difirieron significativamente de los valores observados para la solución 10% (*Naïve* $p=0.1$, Forrajeras $p=0.93$; Figura 33a). No encontré diferencias en las puntuaciones de respuesta entre obreras *naïve* y obreras forrajeras, ambos grupos presentaron un valor medio de 2.5 y 3 respectivamente ($p=0.19$; Figura 33b). Sin embargo, obreras que fueron marcadas al nacer, colocadas nuevamente en su nido y evaluadas 28 días después, difirieron en su respuesta. De 115 avispas marcadas y colocadas en el nido, sobrevivieron únicamente 9. De estas, el 66% respondieron positivamente a las soluciones 10% y 15% ($p=0.1$; Figura 33a. Línea amarilla) por lo tanto presentaron una puntuación media de 2, este valor no difirió significativamente de la media observada para avispas *naïve* pero si para obreras forrajeras recolectadas en el campo (*Naïve*-28 días $p=0.114$, Forrajeras-28 días $p=0.023$; Figura 33b. rombo amarillo). Es interesante resaltar que durante el monitoreo visual de estas avispas durante los 28 días nunca observé que salieran del nido en vuelos de forrajeo o realizando alguna otra actividad.

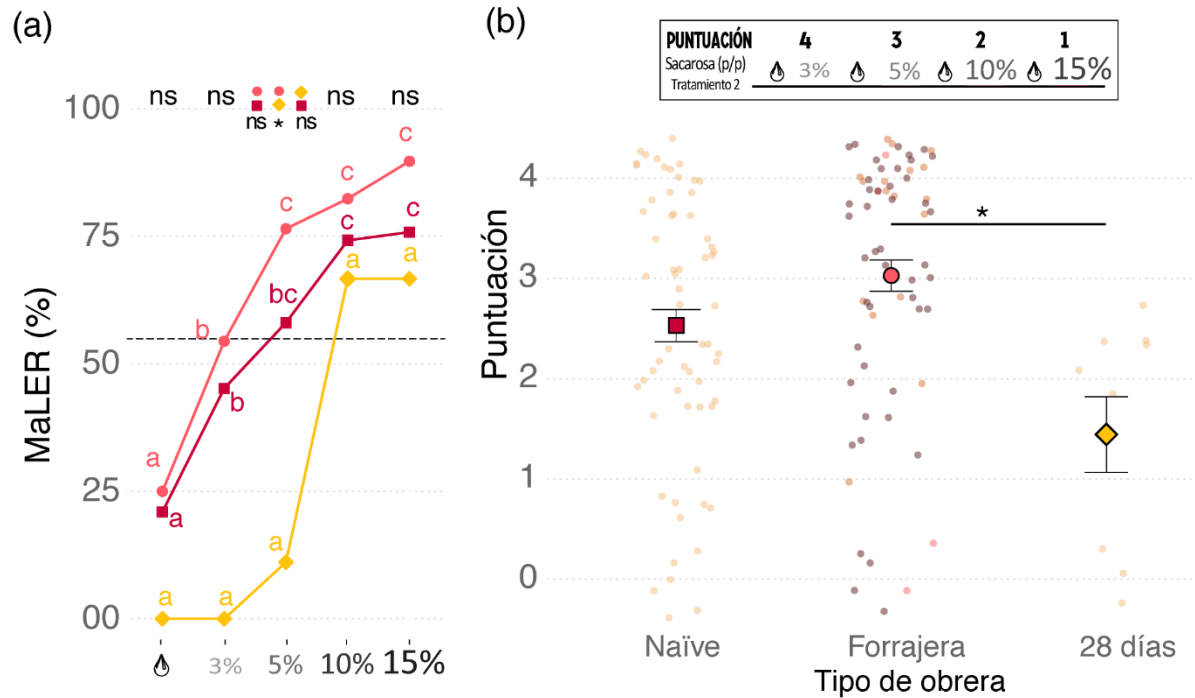


Figura 33. (a) Porcentaje de respuestas positivas de extensión del complejo maxilo-labial (MaLER) según la concentración de solución ofrecida (agua, 3%, 5%, 10% y 15% de sacarosa p/p) para obreras *naïve* (círculos rosado claro, n=62), forrajeras (cuadrados rosado oscuro, n=68) y obreras de 28 días de edad (rombos amarillos, n=9). Las letras “ns” indican que no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tipos de obreras y letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las respuestas a las concentraciones. (b) Valor medio de la puntuación obtenida en para cada tipo de obrera. El asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$). Los bigotes representan en error estándar.

En cuanto a la respuesta observada para la estimulación con peptona de carne (3%, 5%, 10% y 15% p/p) el 60% o más de las obreras *naïve* respondieron positivamente a partir de la solución 3%, mientras que las forrajeras lo hicieron a partir de la solución 10% (*Naïve* 62.5%, Forrajeras 64%). Si bien la aceptación máxima alcanzada en obreras *naïve* fue del 77.5% a la solución 15%, estos valores no difirieron significativamente de los valores observados para ninguna de las otras soluciones; por otro lado las obreras forrajeras demostraron un 75% de aceptación para esta solución y solo difirieron

significativamente en la aceptación a la solución 3% (*Naïve* $p_{15 \text{ vs } 3}=0.832$, $p_{15 \text{ vs } 5}=0.987$, $p_{15 \text{ vs } 10}=1$; Forrajeras $p_{15 \text{ vs } 3}<0.01$, $p_{15 \text{ vs } 5}=0.065$, $p_{15 \text{ vs } 10}=0.944$; **Figura 34a**). No encontré diferencias en las puntuaciones de respuesta entre obreras *naïve* y obreras forrajeras, ambos grupos presentaron un valor medio de 2 y 3 respectivamente ($p=0.10$; **Figura 34b**).

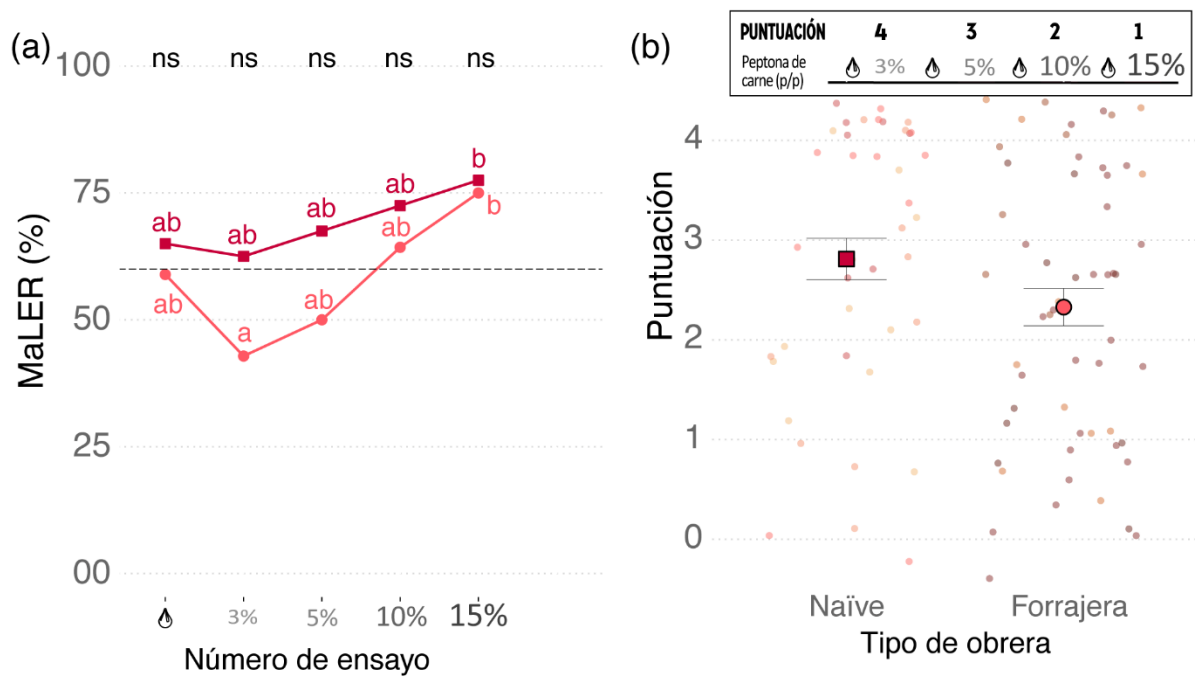


Figura 34. (a) Porcentaje de respuestas positivas de extensión del complejo maxilo-labial (MaLER) según la concentración de solución ofrecida (agua, 3%, 5%, 10% y 15% de peptona de carne p/p) para obreras *naïve* (círculos rosado claro, n=40) y forrajeras (cuadrados rosado oscuro, n=56). Las letras “ns” indican que no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tipos de obreras y letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las respuestas a las concentraciones. (b) Valor medio de la puntuación obtenida en para cada tipo de obrera. Los bigotes representan en error estándar.

3.4. Discusión

En este capítulo profundizo en el conocimiento sobre las capacidades perceptivas vinculadas a la modalidad gustativa de *V. germanica*, sugiriendo que existe una respuesta refleja a la estimulación apetitiva tanto en antenas como en palpos, que la respuesta no es modulada por la repetición del estímulo, y que existe un umbral tanto para soluciones proteicas como azucaradas por debajo del cual las obreras no logran discriminar entre éstas y agua.

Si bien los insectos poseen quimiorreceptores en todo el cuerpo, la mayor densidad de estos se encuentra en las piezas bucales y en las antenas; por lo tanto, estas dos estructuras se consideran las principales involucradas en la quimio-recepción de contacto (Chapman 2012). Los resultados del *objetivo 1* de este capítulo muestran que las obreras de *V. germanica* perciben estímulos gustativos con ambos órganos y responden a ellos de forma refleja disponiendo sus piezas bucales para la alimentación. Sin embargo, este reflejo al estímulo en las antenas disminuye si previamente la avispa contactó el alimento con los palpos. Una explicación posible a este resultado es que, si bien ambas estructuras son utilizadas para censar una potencial fuente de alimento, éstas actúan en niveles distintos (Chapman 2012). Al igual que el comportamiento descrito en el capítulo 1 sección 1.1.2 para *Phormia* sp. en donde la estimulación con azúcar de los quimiorreceptores del tarso conduce a una cascada estímulo-respuesta que finaliza en la ingestión, muchos otros insectos poseen secuencias esencialmente similares (Chapman 2012). Cuando un insecto se aproxima a una fuente de alimento, en una primera etapa realiza una valoración de ésta a partir de la información obtenida por el contacto con las antenas y posteriormente, más próximo a ser ingerido, el alimento es valorizado nuevamente a través del contacto con los palpos. De ésta manera el insecto puede analizar el alimento para evitar alimentarse

de una fuente tóxica y al mismo tiempo elegir aquellas que le resulten más nutritivas (Chapman 2012).

Sumado a la variación observada dependiente de la experiencia previa, el umbral de respuesta también puede cambiar dentro del mismo individuo según el órgano estimulado. En moscas, el umbral de respuesta al azúcar es mayor en los tarsos que en las piezas bucales (Sudlow *et al.* 1987). En abejas, sin embargo, la mayor respuesta se obtiene a partir de la estimulación de las antenas y en hormigas la respuesta al azúcar varía enormemente entre especies, aún dentro del mismo género (Page *et al.* 1998, Falibene y Josens 2012). En este estudio sugiero que en *V. germanica* el umbral de respuesta es independiente del órgano estimulado, pero puede ser modificado por la experiencia previa a corto término (uno a varios minutos). Estos hechos remarcan la importancia de identificar el sitio apropiado de estimulación para cada especie en particular.

Una respuesta refleja no siempre ocurre automáticamente de la misma forma ante la presentación repetida del mismo estímulo, dado que, en determinadas circunstancias la experiencia previa puede ocasionar un cambio conductual. Este cambio puede observarse como una disminución (fatiga motora, adaptación sensorial o habituación) o como un incremento en la respuesta (sensibilización; Maldonado 2008). Los resultados del *objetivo 2* muestran que en *V. germanica* la experiencia previa no genera tal cambio conductual, sino que la avispa vuelve a pensar y elaborar cada respuesta independientemente de la experiencia anterior. La fatiga motora, la adaptación sensorial, la habituación y la sensibilización son rasgos fundamentales en todas las especies y sistemas de respuesta que actúan como mecanismo frente a los innumerables estímulos del ambiente con el fin de reducir la reactividad a los que se vuelven irrelevantes o aumentarla a los que se vuelven altamente peligrosos

(Maldonado 2008). Estos resultados son previsibles si consideramos que las antenas son uno de los principales órganos involucrados en la percepción de contacto, que ésta es una de las principales vías de adquisición de información para la toma de decisiones de alimentación y que algunos alimentos pueden resultar incluso tóxicos. Por lo tanto, generalizar una respuesta en base a la experiencia previa no parece adaptativo.

Por otro lado, las obreras de *V. germanica*, independientemente de la tarea que realicen en la colonia, son capaces de detectar la presencia de azúcares y de proteínas en soluciones a partir de una concentración de 5% y 10% p/p respectivamente. En abejas, la sensibilidad de respuesta al azúcar está relacionada con una disposición del sujeto a responder a estímulos de diferentes modalidades sensoriales. Esta propensión para responder está asociada a un estado de activación general (“*arousal*”). Es por esto por lo que la medida de sensibilidad gustativa al azúcar es utilizada en innumerables estudios como un indicador del estado interno de los individuos (Pankiw y Page 1999,2000, 2001,2003; Guerrerri y d’Ettorre 2010, Falibene y Josens 2012, Mengoni *et al.* 2016, Ruedenauer *et al.* 2019). En este capítulo sugiero que los mismos parámetros ampliamente utilizados en otras especies pueden ser aplicados a una avispa eusocial, habilitando el camino para el estudio de muchas situaciones en las cuales una respuesta comportamental se encuentre modulada por el estado interno del individuo.

La discriminación de soluciones con diferente concentración ha sido sugerida en algunos insectos, por ejemplo, recientemente se ha demostrado que los individuos de *Bombus terrestris* son capaces de detectar distintas concentraciones de aminoácidos en una solución, pero no logran discriminar entre diferentes aminoácidos (Ruedenauer *et al.* 2019). Si bien este fenómeno podría estar ocurriendo en *V. germanica* dado que los umbrales de respuesta obtenidos entre azúcares y proteínas son similares, descarto esta situación ya que las curvas observadas son distintas, lo que indica una valoración

diferente a ambas soluciones.

Una de las limitaciones de los experimentos, consiste en que la comparación lineal entre soluciones proteicas y azucaradas es inverosímil dado el escaso conocimiento en el campo de la percepción y valoración gustativa de aminoácidos en insectos. A pesar de esto, este estudio representa un avance en este sentido, ya que es el primer trabajo que pone a punto y compara la respuesta para ambos nutrientes en un insecto social. Mis resultados muestran que, si bien en esta avispa el patrón de respuesta para concentraciones ascendentes de azúcares es similar al patrón informado para otros insectos, la respuesta a soluciones proteicas es mucho menos pronunciada (Bitterman *et al.* 1983). Encuentro dos posibles explicaciones a este hecho. Por un lado, podría deberse a que el rango de concentraciones utilizadas no fue el indicado para observar estas respuestas; o que la diferencia en el tipo de alimento, y por lo tanto en el tipo de nutriente que ofrece, podría estar relacionado con el comportamiento que desencadena cada uno. Para futuros estudios sería interesante relacionar estos umbrales con el comportamiento observado en la naturaleza.

El estudio de la percepción del gusto en insectos sociales permite relacionar la biología individual con aspectos de la biología social y la organización de la colonia (Chapman 2012). Es así como en abejas, gracias a la existencia de un protocolo bien estandarizado para medir umbrales, se ha podido estudiar la relación entre los umbrales de respuesta con el genotipo, el rol del individuo en la colonia, el estado nutricional o la calidad de alimento circulante en la colonia, entre otros (Page *et al.* 1998, Pankiw y Page 1999, 2000; Pankiw *et al.* 2001, 2004; Martinez y Farina 2008). Si bien en el resto de los insectos sociales hay algunos estudios relacionados con este tópico, aún no se han llegado a estandarizar estos protocolos. Particularmente en avispas, si bien existen varias limitaciones metodológicas por resolver, este es el primer trabajo donde se

aborda la percepción del gusto no solo para soluciones azucaradas, sino también para soluciones proteicas. Las obreras de las avispas sociales constituyen un modelo de estudio único dado que recolectan tanto azúcares, como proteínas y agua con el aparato bucal. Incluir a las avispas sociales en estudios de sensibilidad gustativa ayudará a un mejor entendimiento de muchos aspectos relacionados con las funciones individuales, la toma de decisiones de forrajeo, la estructura social, la organización del grupo, patrones de interacción y relaciones entre individuos en insectos sociales.

CAPÍTULO 4

Requerimientos nutricionales: influencia de la edad y las demandas de la colonia en la valoración del recurso

Resumen

Los animales deben ingerir los alimentos adecuados en cantidades apropiadas para el crecimiento, la reproducción y la obtención de energía. En insectos sociales, las obreras forrajeras deben relacionar sus propias necesidades nutricionales con las necesidades de la colonia considerando que estas son distintas para cada individuo que la compone. Con el objetivo de comprender cómo las forrajeras de avispas sociales resuelven la explotación de recursos con distintos aportes nutricionales (azucarados y proteicos), evalué cómo el cambio inesperado de un recurso por otro (contraste) modifica el comportamiento de ingestión de la obrera según su edad, el rol desempeñado dentro de la colonia y las demandas de esta. Para esto, entrené a avispas aisladas de la colonia (recién emergidas, de edad conocida y forrajeras) y a avispas forrajeras en condiciones naturales con un tipo de recurso y testeé la respuesta a otro. Observé que los tres grupos de obreras que no tenían contacto con la colonia ingerían hidratos de carbono independientemente de la experiencia previa. Mientras que forrajeras en contacto con la colonia priorizaron el consumo de recursos proteicos. Por lo tanto, la edad y el rol de cada obrera dentro de la colonia no modifican las decisiones de forrajeo, mientras

que los requerimientos nutricionales de la colonia influyen fuertemente en la valorización de los recursos explotados.

Palabras clave: chaqueta amarilla, contraste de recursos, insecto social, valor relativo

4.1. Introducción

Todos los organismos necesitan incorporar moléculas específicas para el crecimiento y mantenimiento de tejidos, para la reproducción y para la obtención de energía. La gran mayoría de estas moléculas se obtienen con los alimentos, por lo tanto, los animales deben ingerir los alimentos adecuados en cantidades apropiadas y evitar excesos nocivos de toxinas o nutrientes. Lograr una nutrición óptima implica una interacción compleja entre sus necesidades individuales y la oferta del ambiente.

Para regular su nutrición y elaborar respuestas conductuales y fisiológicas óptimas, un animal, necesita (i) determinar la **calidad nutricional** de las fuentes de alimento disponibles (estudiado en el *capítulo 3*); (ii) evaluar su **estado nutricional** en relación con su estado deseado e (iii) integrar sus requerimientos nutricionales con la **disponibilidad de fuentes** (Lenard y Berthoud 2008, Simpson y Raubenheimer 2012). Los alimentos ofrecen mezclas complejas de nutrientes y a su vez, cada nutriente tiene su propia implicancia funcional para el animal. Por ejemplo, en general un alto rendimiento reproductivo y una larga vida útil tienen óptimos nutricionales diferentes. En insectos, las dietas ricas en carbohidratos benefician la vida útil (por ejemplo, longevidad), mientras que las dietas altas en proteínas favorecen la reproducción, pero reducen drásticamente la vida útil (Simpson y Raubenheimer 2012).

La cantidad de nutrientes, y el equilibrio requerido es específico de cada especie (Behmer 2009). En general, los insectos solitarios no son igualmente atraídos por cada nutriente en particular, pueden compensar los cambios en la composición de los alimentos y son capaces de seleccionar entre alimentos nutricionalmente complementarios para lograr un "objetivo de ingesta" nutricional. En los insectos sociales, la regulación de la ingesta de nutrientes es mucho más compleja que en los solitarios. En estos, la recolección de alimentos la realizan principalmente las obreras forrajeras (que representan aproximadamente del 10% al 20% de la colonia) y, en consecuencia, el éxito de la colonia depende en gran medida de la eficacia de ellas para obtener recursos y compartirlos con los compañeros del nido menos móviles (Hölldobler y Wilson 1990). En consecuencia, una forrajera debe relacionar sus propias necesidades nutricionales con las **necesidades de la colonia** considerando además que los requerimientos nutricionales de algunos individuos dentro de la colonia son diferentes (Sorensen *et al.* 1985, Dussutour y Simpson 2009, Feldhaar 2014).

Los individuos de una colonia de insectos sociales tienen necesidades nutricionales que varían según su etapa de crecimiento (esto es, larva, pupa o adulto), su edad y/o su rol dentro la sociedad (Sorensen *et al.* 1985, Dussutour y Simpson 2009, Cook *et al.* 2010, Feldhaar 2014). Las obreras adultas, como las nodrizas y las forrajeras, en su mayoría necesitan carbohidratos como fuente de energía, mientras que las larvas y la casta reproductiva dependen en gran medida de proteínas para el crecimiento o para la producción de huevos, respectivamente (Hölldobler y Wilson 2009). En la abeja melífera, por ejemplo, las obreras se alimentan principalmente de néctar, recurso rico en carbohidratos, mientras que las larvas se alimentan casi exclusivamente de polen, un alimento rico en proteínas (Brodschneider y Crailsheim 2010).

Por lo tanto, una obrera forrajera debe realizar su propia evaluación independiente de

la rentabilidad de la fuente, integrando la información de su propio estado fisiológico (que depende entre otras cosas de la edad) con las condiciones fisiológicas de la colonia, la de los sistemas sensoriales (la cual puede estar sesgada por la percepción y la preferencia innata que determinan, en cierta forma, el rol de la obrera) y la memoria. En base a esto es que tomará la decisión sobre cómo asignar los esfuerzos de alimentación (Howard y Tschinkel 1980, Seeley *et al.* 1991, Sola *et al.* 2013, Ruedenauer *et al.* 2019).

Vespula germanica es una avispa eusocial que, a diferencia de otras especies de Véspidos que solo se alimentan de presas vivas, es carroñera y generalista. Se alimenta de recursos ricos en carbohidratos y proteínas, como la carroña que generalmente es impredecible e inestable (los animales muertos se pueden encontrar al azar, se descomponen pronto y son explotados por otras especies) (Akre *et al.* 1986, Pereira 2016). A su vez, las obreras forrajeras de *V. germanica* proporcionan alimento a las larvas en desarrollo dentro del nido, mientras que las larvas las recompensan a través de trofalaxia (intercambio de soluciones boca a boca) con saliva rica en azúcares y algunos aminoácidos (Kasper *et al.* 2004). Las necesidades de proteínas de las colonias aumentan hacia fines del verano y otoño debido al crecimiento en la abundancia de larvas dentro de la colonia (Sackmann *et al.* 2000, Richter 2000, Taylor *et al.* 2012).

4.1.2 OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Con el propósito de comprender cómo las avispas sociales resuelven decisiones de alimentación entre recursos con distintos aportes nutricionales (azucarados y proteicos), evalué cómo el cambio inesperado de un recurso (contraste) modifica las decisiones de explotación-exploración de las obreras de *V. germanica* según su edad, el rol desempeñado en la colonia y las demandas de ésta. Bajo la hipótesis que, en cada

evento de forrajeo las obreras de *V. germanica* deben decidir si explotar una fuente en función de la demanda de la colonia dado el comportamiento trofaláctico que ocurre en el nido, espero que la ingestión de recursos proteicos sea priorizada sobre la ingestión de recursos azucarados.

4.2. Materiales y métodos

Todos los ensayos de laboratorio (correspondientes a las *secciones 4.2.1 y 4.3.1*) los llevé a cabo durante la temporada de mayor actividad de las avispas (es decir, marzo y abril en la Patagonia Argentina) del año 2019 de 1:00 p.m. a 8:00 p.m. Mientras que todos los experimentos de campo (correspondientes a las *secciones 4.2.2 y 4.3.2*) los realicé en los años 2018 y 2019 en entornos naturales al aire libre en diferentes sitios cerca de la ciudad de Bariloche, Argentina; en días soleados, tranquilos y en los cuales las avispas eran atraídas a recursos azucarados y proteicos a la vez (es decir, en marzo), de 11:00 a.m. a 8:00 p.m. (Potter 1964, Archer 2004).

4.2.1. Decisiones de alimentación en avispas aisladas: efectos de la edad y del rol dentro de la colonia

4.2.1.1. Obtención de animales

Durante los meses de enero y febrero de 2019 busqué, georreferencié y marqué nidos de *V. germanica* en los alrededores de la ciudad de Bariloche, Argentina (41°9'0" S, 71°18'0" O) como se indica en el *capítulo 2 sección 2.2*. De los nidos identificados, 4 fueron excavados y colocados en cajas experimentales utilizando el procedimiento indicado en el mismo capítulo y sección. Las cajas experimentales con sus nidos en el interior fueron trasladadas al predio del IFAB, para su monitoreo constante.

Para evaluar el efecto de la edad y el papel dentro de la colonia en la decisión de explotación de un recurso colecté, por un lado, obreras *naïve* (recién emergidas, 0-24hs de edad) a partir de la cría bajo condiciones controladas (30°C y oscuridad absoluta) de estantes de celdas con pupas de obreras de los 4 nidos experimentales mencionados

anteriormente (para más detalle ver *capítulo 3 sección 3.2.2.2*). Por otro lado, capturé obreras forrajeras que se encontraban explotando alimentadores con recursos azucarados o proteicos. Ofrecí los alimentadores en sitios próximos a la ciudad de Bariloche. (para más detalle ver *capítulo 3 sección 3.2.2.3*).

4.2.1.2. Protocolo experimental

Con el objetivo de evaluar si el cambio inesperado de un recurso por otro modifica la respuesta gustativa de avispas obreras, entrené a avispas *naïve* y forrajeras con una solución azucarada o proteica que luego intercambié por la opuesta. El entrenamiento consistió en cuatro estimulaciones antenales consecutivas ya sea con una solución de sacarosa (15% p/p; de ahora en adelante solución azucarada) o una solución de peptona de carne (10% p/p; de ahora en adelante solución proteica). Utilicé estas concentraciones dado que los resultados del *capítulo 3 sección 3.3.3* mostraron una respuesta positiva por parte de la mayoría de los individuos para ambas soluciones. La prueba consistió en una única estimulación antenal con la misma solución que la del entrenamiento o con la solución opuesta (contraste) según el grupo experimental asignado (Figura 35). Antes de cada evaluación encepé y aclimaté a las avispas para ser evaluadas bajo el paradigma de extensión refleja del complejo maxilo-labial (MaLER) de la misma forma que describí en el *capítulo 3 sección 3.2.3*.

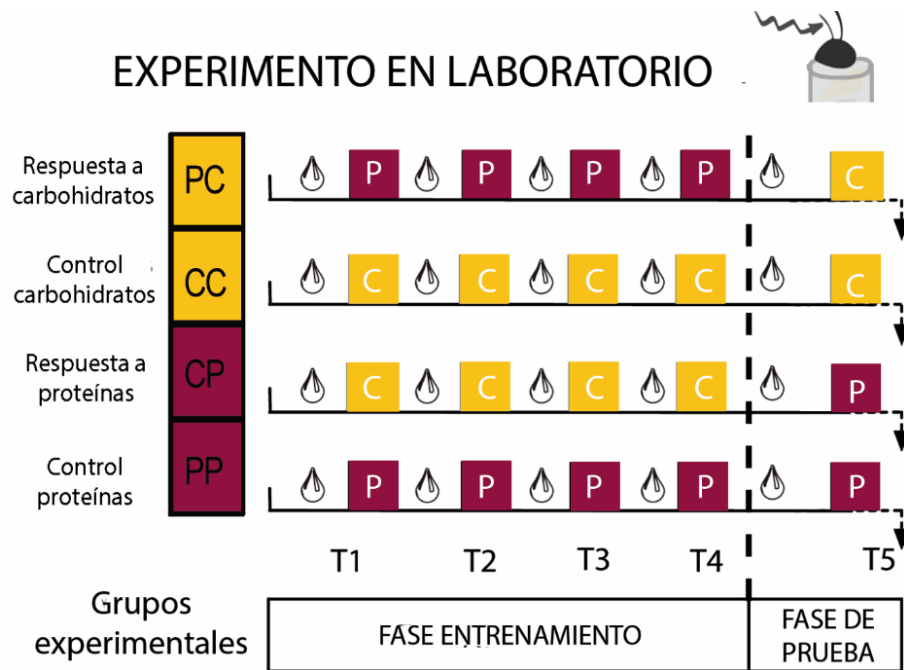


Figura 35. Diseño experimental para evaluar los efectos de la edad y del rol dentro de la colonia en la decisión de explotación de un recurso. “T1, T2, T3, T4 y T5” indican en número de ensayo, los cubos amarillos indican estimulación con solución rica en carbohidratos (“C”, sacarosa 15% p/p), los cubos morados indican estimulación con solución rica en proteínas (“P”, peptona de carne 10% p/p), la gota indica la estimulación con agua.

Después de cada estimulación, recompensé a las avispas con la misma solución para evitar una posible extinción de la respuesta. Para evitar los efectos de la sed, la sensibilización o la habituación (por la estimulación repetida) evalué la respuesta de las avispas al agua antes de cada estimulación (control negativo). Además, para confirmar la ausencia de fatiga motora y adaptación sensorial, estimulé a las avispas que respondieron negativamente en la fase de prueba con la solución opuesta (por ejemplo, entrenamiento y prueba con solución proteica, respuesta negativa a la prueba, control positivo con solución azucarada). En todos los casos, consideré la respuesta positiva si la avispa lamía el capilar. Todas aquellas avispas que murieron o no movieron sus antenas durante una serie experimental, aquellas que no respondieron a los controles positivos y aquellas que respondieron positivamente una única vez en

toda la serie, fueron excluidas de los análisis por posible deficiencia perceptiva. No hubo avispas que respondieran positivamente a todas las soluciones y al agua, así como positivamente solo al agua (y negativamente a las soluciones).

4.2.2. Decisiones de alimentación de avispas en contexto natural: efectos de las demandas de la colonia

4.2.2.1. Obtención de animales

Durante marzo de 2018 y 2019 identifiqué 15 sitios (8 en 2018 y 7 en 2019) con gran abundancia de obreras forrajeras de *V. germanica*, donde las avispas eran atraídas a recursos azucarados y proteicos a la vez. Para esto realicé una prueba preliminar ofreciendo alimentadores con ambos recursos durante 15 a 30 minutos. En cada sitio realice el protocolo experimental detallado a continuación.

4.2.2.2. Protocolo experimental

Para establecer si el cambio inesperado de un recurso por otro modifica la decisión de explotación en obreras que responden a las demandas de la colonia, realicé una fase de entrenamiento y una de prueba en cada sitio seleccionado. Coloqué simultáneamente dos estaciones de entrenamiento hacia recursos azucarados (miel 85% p/p; Figura 36. a.) y dos estaciones de entrenamiento hacia recursos proteicos (25 g de carne picada; Figura 36. b.). Cada plato de plástico se encontraba como mínimo a 15 mts de distancia de otro. Durante 20 minutos (fase de entrenamiento), marque a cada avispa que aterrizó en cada estación de entrenamiento (hasta 100 avispas por estación) en el tórax con pintura acrílica para su posterior identificación (Eckles *et al.* 2008). Identifiqué a las forrajeras de cada estación con distinto color. Inmediatamente

después de la fase de entrenamiento, reemplacé los alimentadores y di comienzo a la fase de prueba: cambié los platos por otros dos con el mismo recurso (controles) y dos con un recurso opuesto (Figura 37). Durante los siguientes 20 minutos (fase de prueba), contabilicé y succioné cada avispa marcada que aterrizaba en cada estación con un aspirador de avispas para evitar contarla nuevamente. Por observaciones previas determine 20 minutos como un tiempo considerable para marcar la mayoría de las avispas que explotaban cada alimentador. Consideré a cada estación independiente de la otra, porque nunca observé en un alimentador el aterrizaje de avispas marcadas con el color correspondiente a otra estación. Para evitar los posibles efectos del momento del día y/o la diferente abundancia de avispas en cada micrositio, los cuatro ensayos comenzaron al mismo tiempo. Antes de cada ensayo evalué que tanto los recursos proteicos, como los azucarados sean atractivos para las avispas.

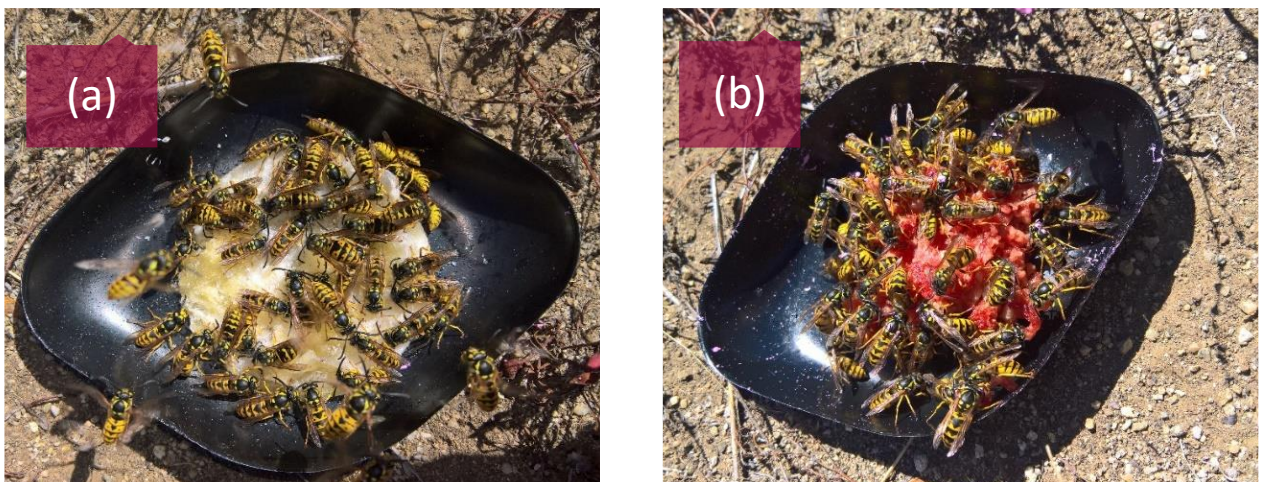


Figura 36. Alimentadores ofrecidos a campo con recursos azucarados (a) y recursos proteicos (b).

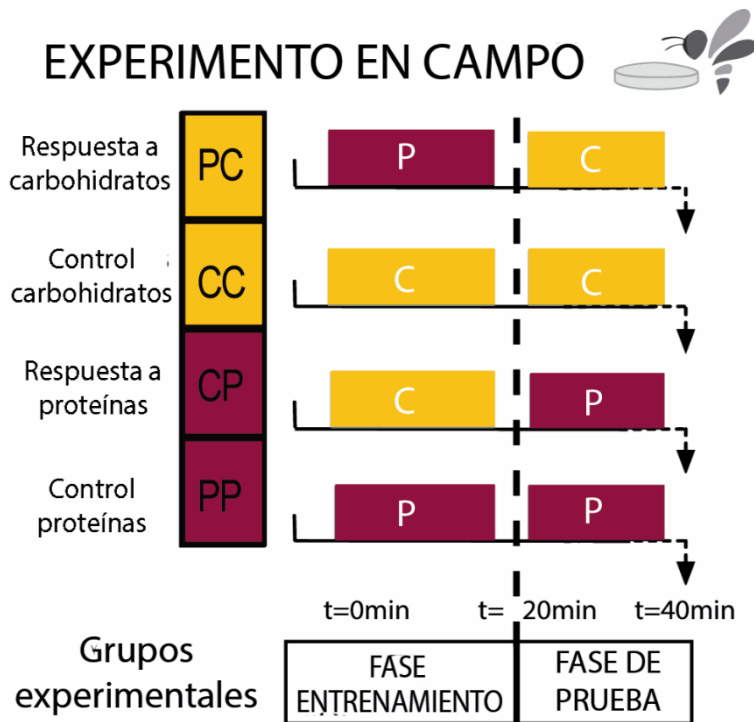


Figura 37. Diseño experimental para evaluar los efectos de las demandas de la colonia en la decisión de explotación de un recurso. Los cubos amarillos indican una fuente rica en carbohidratos ("C", miel 85% p/p), los cubos morados indican una fuente rica en proteínas ("P", 25 gr de carne picada). La letra "t" indica el tiempo.

4.2.3. Análisis estadístico

4.2.3.1. Decisiones de alimentación en avispas aisladas

Para probar el efecto del nido y del tratamiento, en las fases de entrenamiento y prueba planteé un modelo lineal generalizado con una distribución de errores *Bernoulli*. En la fase de **entrenamiento**, descarté el efecto a la estimulación consecutiva y la estimulación con agua mediante un modelo lineal generalizado con distribución *Bernoulli* y comparé cada nivel mediante una prueba de Tuckey. Consideré "tratamiento" y "ensayo" como efectos fijos e "individuo" como un efecto aleatorio (función "*glmer*" del paquete "*lme*" para la selección del modelo y función "*glht*" del paquete "*multcomp*" para los contrastes). Para evaluar las diferencias entre las respuestas de los individuos en la fase de **prueba** (variable respuesta) según el

tratamiento (variable explicatoria) realicé una prueba de hipótesis de proporciones con distribución *Bernoulli*. Consideré "exitoso" a un evento cuando el complejo maxilo-labial fue extendido y se produjo la ingesta de la solución, y un "fracaso" cuando esta respuesta no sucedió.

4.2.3.1. Decisiones de alimentación de avispas en contexto natural

Evalué el efecto del tratamiento sobre el porcentaje de avispas que aterrizaron en la estación de **prueba** para cada recurso con un modelo lineal generalizado con distribución de error *Cuasi-binomial* (detecté sobredispersión) y realicé comparaciones de Tuckey (función "*glmer*" del paquete "*lme*" para la selección del modelo y función "*glht*" del paquete "*multcomp*" para los contrastes).

Todos los análisis estadísticos los realicé con el software estadístico Rstudio (R Development Core and Team, Versión 1.2.1335, 2019).

4.3. Resultados

4.3.1. Decisiones de alimentación en avispas aisladas: efectos de la edad y del rol en la colonia

4.3.1.1. Obreras naïve (avispa recién emergidas, sin rol definido y sin contacto con la colonia)

Durante la fase de *entrenamiento*, la respuesta de las avispas al agua fue menor que la respuesta a cualquier otra solución, con excepción del *ensayo 3* en el grupo respuesta a los carbohidratos (“PC”) en el cual no se observaron diferencias (Figura 38, líneas punteadas). No se observó interacción entre los ensayos y el tratamiento, ni un efecto de las estimulaciones consecutivas ($p_{\text{Interacción}} = 0.807$, $p_{\text{ensayos}} = 0.555$, $p_{\text{tratamiento}} = 0.792$). Tampoco hubo efecto del nido ($p_{\text{nido}} = 0.621$, $p_{\text{tratamiento}} = 0.007$).

El porcentaje de obreras *naïve* que respondieron positivamente a la solución azucarada fue el mismo independientemente del recurso ofrecido durante el entrenamiento (PC= 87.5% vs CC = 88.8%, $p = 1$); sin embargo, la respuesta a la solución proteica disminuyó cuando las obreras *naïve* habían sido entrenadas con recursos azucarados (CP= 61.1% vs PP= 100%, $p = 0.011$; Figura 38, Fase de prueba).

EXPERIMENTOS EN LABORATORIO

Obreras naïve

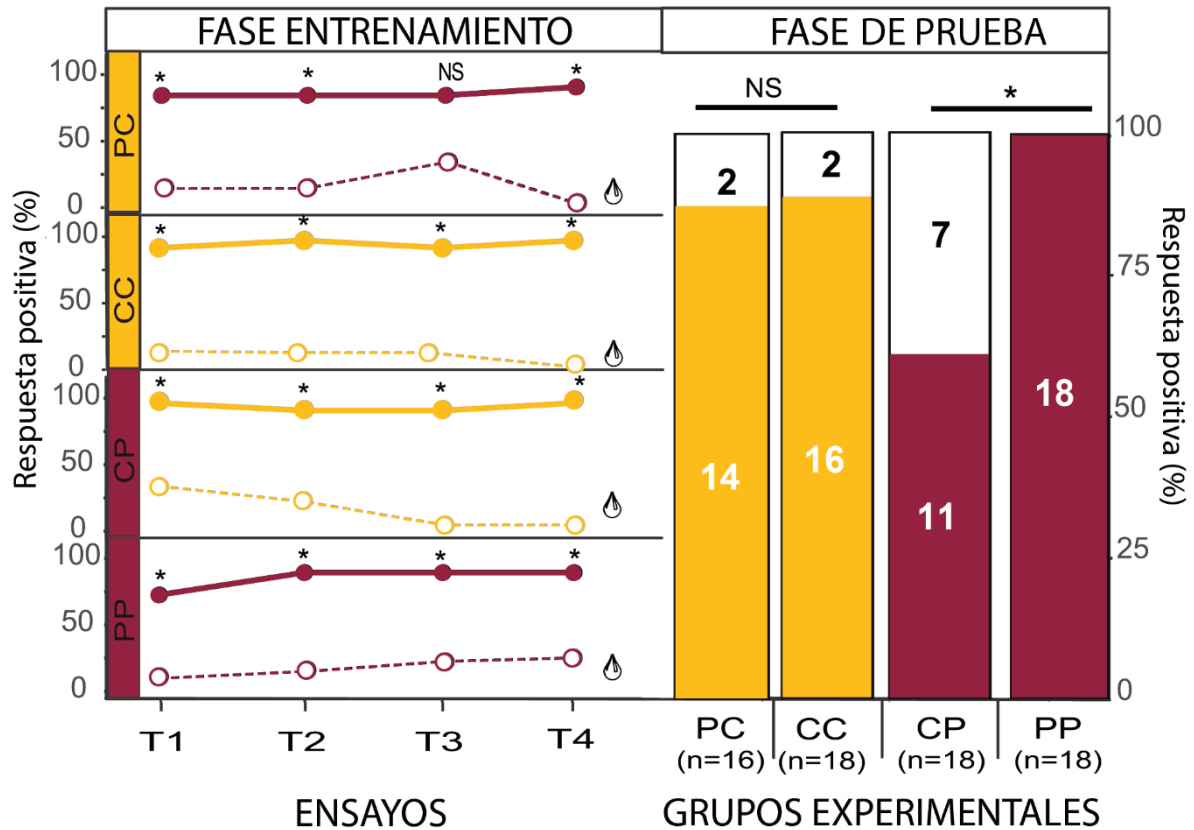


Figura 38. Porcentaje de obreras *naïve* que responden positivamente en cada ensayo. En la fase de entrenamiento, las líneas continuas indican el porcentaje de obreras de *V. germanica* que responden a la estimulación con recursos azucarados o recursos proteicos según el grupo experimental; mientras que las líneas punteadas indican el porcentaje que responden a la estimulación con agua. El color amarillo representa la solución azucarada (sacarosa 15% p/p), y el color morado representa la solución proteica (peptona de carne 10% p/p). En la fase de entrenamiento no se encontraron diferencias entre los ensayos, ni interacción entre los ensayos y el tratamiento. Las letras "NS" indican que no se encontraron diferencias significativas y el asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$). En la fase de prueba el número entre paréntesis indica la cantidad de repeticiones para cada tratamiento y el número dentro de las barras indica el valor absoluto de obreras que responden positiva (en negro) o negativamente (en blanco).

4.3.1.2. Obreras forrajeras (avispa con rol definido y sin contacto con la colonia)

Durante el procedimiento experimental la mitad de los 400 individuos recolectados se perdieron (por ejemplo, murieron o escaparon). Para la fase de entrenamiento, la respuesta al agua fue significativamente menor que a cualquier solución para todos los ensayos (Figura 39, líneas punteadas). No hubo interacción entre cada ensayo y el tratamiento, pero si hubo un efecto de la estimulación consecutiva únicamente para el grupo de respuesta a las proteínas (“CP”) entre el ensayo 1 y el ensayo 4 ($p_{\text{interacción}} = 0.787$, $p_{\text{ensayos}} = 0.0001$, $p_{\text{tratamiento}} = 0.002$, $p_{\text{ensayos-grupo CP}} = 0.017$). No hubo efecto del nido ($p_{\text{nido}} = 0.232$, $p_{\text{tratamiento}} = 0.007$).

Por otro lado, de manera similar a lo observado en las obreras *naïve*, la respuesta de las forrajeras a la solución azucarada es la misma independientemente del recurso ofrecido durante el entrenamiento (PC = 86.2% vs CC = 92.8%, $p = 0.683$), mientras que la respuesta a la solución proteica disminuye cuando las avispas fueron entrenadas a azúcares (CP = 46.9% vs PP = 73%, $p = 0.039$; Figura 39, Fase de prueba).

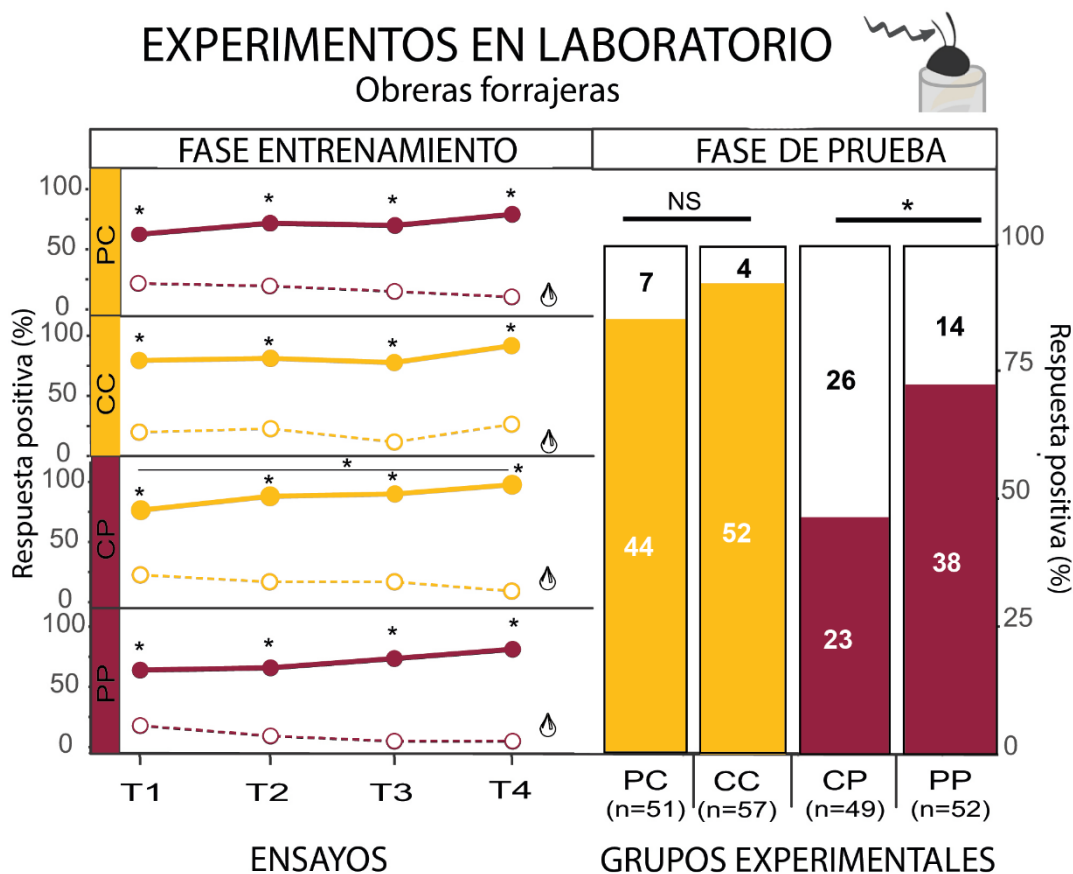


Figura 39. Porcentaje de obreras forrajeras que responden positivamente para cada ensayo. En la fase de entrenamiento, las líneas continuas indican el porcentaje de obreras de *V. germanica* que responden a la estimulación con recursos azucarados o recursos proteicos según el grupo experimental; mientras que las líneas punteadas indican el porcentaje que responden a la estimulación con agua. El color amarillo representa la solución azucarada (sacarosa 15% p/p), y el color morado representa la solución proteica (peptona de carne 10% p/p). En la fase de entrenamiento no se encontraron diferencias entre los ensayos, ni interacción entre los ensayos y el tratamiento. Las letras "NS" indican que no se encontraron diferencias significativas y el asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$). En la fase de prueba el número entre paréntesis indica la cantidad de repeticiones para cada tratamiento y el número dentro de las barras indica el valor absoluto de obreras que responden positiva (en negro) o negativamente (en blanco).

4.3.2. Decisiones de alimentación de avispas en contexto natural: efectos de las demandas de la colonia

El porcentaje de avispas aterrizando a las fuentes azucaradas disminuye cuando estas son entrenadas a fuentes proteicas (PC = $28.1 \pm 3.9\%$ vs. CC = $61.4 \pm 5.7\%$, media \pm SE; $p < 0.001$), mientras que el porcentaje de aterrizajes en fuentes proteicas es igual independientemente de los recursos ofrecidos durante el entrenamiento (CP = $30.1 \pm 5.2\%$ vs. PP = $40.8 \pm 4.9\%$, media \pm SE; $p = 0.48$; Figura 40).

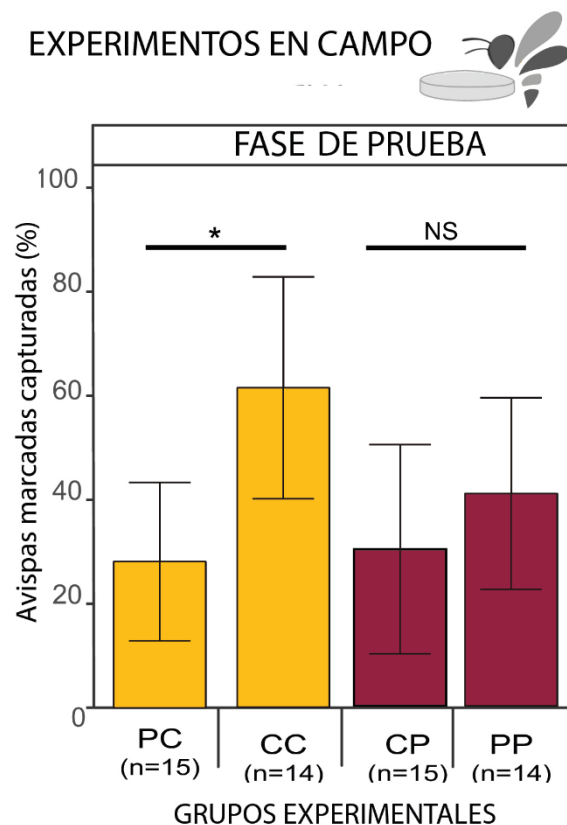


Figura 40. Porcentaje de obreras forrajeras que aterrizaron en la estación de prueba para cada grupo experimental. Las barras amarillas indican el porcentaje de forrajeras de *V. germanica* que aterrizaron en la estación con carbohidratos (miel 85% p/p) y las barras moradas indican el porcentaje de forrajeras que aterrizaron en la estación con proteínas (25 gr de carne picada). Las letras "NS" indican que no se encontraron diferencias significativas y el asterisco indica diferencias significativas ($p < 0.05$). Los bigotes indican el error estándar. El número entre paréntesis indica el número de replicas (sitios de experimentación) para cada tratamiento.

4.4. Discusión

Los resultados de este capítulo sugieren que las obreras de *V. germanica* exhiben un comportamiento flexible cuando se alimentan. Cada decisión individual está fuertemente influenciada por las demandas de la colonia, en oposición a su interés individual. Los resultados sugieren que las avispas aisladas del nido disminuyen la aceptación a los recursos proteicos (es decir, que aumentan su umbral de aceptación) si tuvieron una experiencia previa con recursos azucarados, pero los alimentos azucarados siempre son aceptados. Sin embargo, las avispas inmersas en un contexto social (contacto con el nido y tareas comunales) prefieren no recolectar carbohidratos si antes habían consumido proteínas (es decir, que aumentan su umbral de aceptación de recursos azucarados), y aceptan alimentos con proteínas, independientemente de lo que habían estado buscando antes.

El éxito de la colonia en los insectos sociales depende en gran medida de la eficiencia de la casta obrera. La decisión de las obreras de recolectar ciertos recursos está determinada por su experiencia previa, sus preferencias innatas (como, por ejemplo, la preferencia por recursos azucarados), la calidad de la fuente y las necesidades nutricionales (individuales y de la colonia). En general, los carbohidratos representan energía rápida utilizada para alimentar el vuelo y el mantenimiento del cuerpo, mientras que las proteínas y los lípidos son más importantes a nivel de la colonia, ya que son esenciales para la metamorfosis larval (Wheeler 1992, Week *et al.* 2004). Por lo tanto, para las avispas sociales cuyo comportamiento de alimentación está fuertemente influenciado por las necesidades de la colonia, los alimentos proteicos podrían adquirir un valor relativo mayor. Además, aunque los mecanismos no están claros, las larvas recompensan a las avispas que regresan al nido con una fuente rica en proteínas y azúcares, y esto podría aumentar aún más el valor relativo de dichos

recursos.

Los resultados muestran que cuando las avispas se encuentran aisladas de su contexto social natural, prefieren alimentarse con carbohidratos, mientras que cuando el contacto social está presente, se alimentan de proteínas independientemente de su experiencia previa. Es importante tener en cuenta que todos los experimentos se llevaron a cabo en el momento de máxima actividad de las avispas, que es cuando la ingesta de proteínas se vuelve más importante debido al aumento del tamaño de la colonia y a la necesidad de alimentar a las larvas y futuros reproductivos.

La preferencia a los recursos ricos en carbohidratos por las avispas individuales aisladas podría estar sugiriendo la necesidad de sobrevivir dada la ausencia de la recompensa social. Se ha demostrado que la restricción dietética (principalmente de proteínas) durante el desarrollo de insectos holometábolos adultos extiende la longevidad, a costa de la reproducción, como un mecanismo que permite al organismo resistir las limitaciones nutricionales ambientales y poder reproducirse cuando las condiciones ambientales mejoran (Kaspi Yuval 2000, Carey *et al.* 2008). Las obreras de los insectos sociales no son individuos reproductivos, por lo que la ingestión de una dieta rica en proteínas es innecesaria y una mayor longevidad, producto de una restricción dietética, da como resultado una mayor eficiencia en la búsqueda de alimentos (Nestel *et al.* 2016). Por el contrario, las deficiencias nutricionales durante la alimentación y el desarrollo de las larvas se han asociado con un tamaño adulto más pequeño, resistencia al estrés ambiental y capacidad reproductiva reducida, por lo tanto, en un contexto de alimentación social, la dieta rica en proteínas es necesaria para un nido exitoso (Nestel *et al.* 2016).

El valor relativo de un recurso dado percibido por cualquier recolector no solo está

determinado por los requerimientos nutricionales (individuales o de la colonia) sino que también, se ha demostrado que el esfuerzo de explotación invertido, las experiencias pasadas y las expectativas sobre el recurso influyen en decisión de explotación o exploración (Roces 1993, Brosnan y de Waal 2003, Guerrieri *et al.* 2005, Lydall *et al.* 2010, Aw *et al.* 2011, Oberhauser y Czaczkas 2018). Por ejemplo, las hormigas forrajeras de la especie *Lasius niger* han mostrado una aceptación diferente a la misma solución de azúcar, dependiendo de la concentración a la que hayan sido entrenados (Wendt *et al.* 2018, 2019). En insectos sociales se ha observado que la influencia social afecta la percepción relativa de los recursos como, por ejemplo, las hormigas *Camponotus mus* ingieren un alimento que es tóxico cuando están respondiendo a un llamado social (Josens *et al.* 2016). Los resultados de este capítulo sugieren que las obreras de *V. germanica* perciben el mismo recurso de manera diferente según su experiencia previa y la información disponible sobre otras posibles fuentes.

La confiabilidad a la fuente de alimento también podría modular el comportamiento de explotación de las avispas. En la naturaleza, las fuentes de carbohidratos y proteínas varían mucho en cuanto a la previsibilidad. Para la recolección de alimentos proteicos, que son una fuente menos confiable porque pueden aparecer y desaparecer repentinamente, un comportamiento flexible en el que se prioriza la exploración podría ser beneficioso. Sin embargo, para los carbohidratos, que son más confiables y predecibles espacial y temporalmente (por ejemplo, flores y frutos), un comportamiento en el que se involucre la memoria y la experiencia previa podría favorecer la explotación. El experimento de campo mostró que el número de avispas que aceptan fuentes ricas en carbohidratos es mayor cuando se les ha alimentado con la misma fuente, en comparación con aquellos que habían tenido experiencia previa

con proteínas (tratamientos “PC” versus “CC”). Este hallazgo concuerda con un estudio previo que sugiere que la fidelidad de las avispas depende del tipo de recurso visitado: las avispas que buscan fuentes proteicas tienen menos lealtad a las fuentes azucaradas que las avispas que buscan carbohidratos (Wilson-Rankin 2015). El efecto de este comportamiento no puede ser descartado en los resultados obtenidos.

En el proceso de invasión, la especie debe pasar por varias etapas para lograr el establecimiento (es decir, transporte desde el hábitat nativo, introducción a un nuevo hábitat, establecimiento y crecimiento de la población en el sitio de introducción original e invasión a nuevos sitios) y la flexibilidad conductual juega un papel importante en facilitar las invasiones (Wright *et al.* 2010). Así, las especies introducidas con alta flexibilidad conductual tendrían la capacidad de expandir o cambiar su nicho ecológico durante la invasión mediante la explotación de nuevos alimentos, refugios o hábitats (Duncan *et al.* 2003; Price *et al.* 2008). En este capítulo, sugiero que las obreras de *V. germanica* no responden a un comportamiento fijo, sino que, por el contrario, exhiben un comportamiento altamente flexible donde integran la composición del recurso y la asignación de los nutrientes de este en la decisión de alimentación (explotación-exploración).

Este es el primer estudio que evalúa la flexibilidad en la respuesta de alimentación para recursos de distinta naturaleza en *V. germanica*, a nivel individual (sin contacto con la colonia) y a nivel de colonia (en un contexto natural), utilizando el protocolo de respuesta de extensión del complejo maxilo-labial (MaLER). Se realizaron estudios previos con hormigas y abejas utilizando enfoques similares (respuesta de extensión de probóscide y MaLER respectivamente), sin embargo, evaluaron la respuesta de las obreras solo a los recursos azucarados (Bitterman *et al.* 1983, Guerrieri y d'Ettorre 2010). Mis resultados sugieren que las demandas de las colonias tienen una fuerte

influencia en el comportamiento de búsqueda de las forrajeras, lo que sugiere que la flexibilidad es una de las características que podrían promover el éxito de la invasión de esta avispa social. Las herramientas disponibles hasta la fecha para el manejo de la población de *V. germanica* en todo el mundo se limitan al uso de cebos tóxicos (alimento atractivo con un tóxico agregado), por lo que los recolectores ingresan al nido este "alimento tóxico" y lo distribuyen por trofalaxia al resto de los miembros de la colonia (Sackmann 2007, Rust y Su 2012). Por lo tanto, conocer en detalle el comportamiento de forrajeo de esta avispa invasora es una fase importante en la implementación de las estrategias de control basadas en cebos tóxicos. Los resultados de este estudio proporcionan una mejor comprensión del comportamiento de búsqueda de alimentos para mejorar la eficiencia de las estrategias de control. Subrayo la importancia de la dependencia del contexto de forrajeo y la plasticidad del comportamiento de alimentación de *V. germanica*, sin embargo, se justifica más investigación sobre el comportamiento de alimentación y las preferencias de la especie objetivo.

CAPÍTULO 5

Discusión general y conclusiones principales

5.1. Discusión

En los ambientes naturales donde se desempeñan los organismos heterótrofos, la oferta de recursos varía en tiempo y espacio, afectando profundamente distintos aspectos relacionados con la obtención de alimento. Para animales sociales como algunos insectos himenópteros, los cambios en la conducta y en la toma de decisiones por los individuos que forrajean, no solo afectan a los individuos en sí, sino que impactan también sobre las reservas de alimento, la estructura y la organización social de la colonia a la que pertenecen (Sudd y Sudd 1985, Porter 1988, Porter y Tschinkel 1993, Dussutour y Simpson 2008, Mailleux *et al.* 2011). El éxito ecológico de una colonia de insectos sociales depende entonces de la habilidad de los individuos para ajustar las estrategias de forrajeo frente a los cambios ambientales, en base a la información disponible relacionada con la oferta y los requerimientos nutricionales, tanto propios como de la colonia (Detrain y Deneubourg 2002, Hölldobler y Wilson, 2008).

El objetivo de esta tesis fue evaluar como la recopilación de información ambiental, la rentabilidad de las fuentes ofrecidas y los requerimientos nutricionales (de los individuos y de la colonia) influyen en la toma de decisiones de forrajeo de obreras de *V. germanica*, una avispa eusocial generalista, y estudiar como estas decisiones se ven

moduladas por la experiencia previa, la edad y su papel dentro de la colonia (Capítulo 1). En base a los resultados obtenidos bajo tres diseños experimentales distintos, sugiero que *V. germanica* soluciona la toma de decisiones de explotación en ambientes cambiantes y con recursos diversos, conservando dentro de la misma colonia individuos con comportamientos rígidos e individuos con comportamientos flexibles. De esta forma, a nivel colonia, logran explotar varias fuentes de alimento simultáneamente de forma rápida a través de la transferencia de información dentro del nido y de forma variada manteniendo individuos con un fuerte impulso espontáneo por la búsqueda de nuevas fuentes. Por otro lado, a nivel individuo, las obreras de *V. germanica* presentan una respuesta innata de ingestión de determinados recursos que superen un umbral de aceptación determinado. Los resultados además sugieren que este umbral no varía con la edad, pero que puede ser modulado por otros factores como, por ejemplo, las demandas de la colonia. Más aún las necesidades de la colonia son primordiales incluso cuando estas van en contra de los requerimientos individuales. Para relacionar el comportamiento de forrajeo a nivel individual y de colonia, aborde el estudio desde una perspectiva ecológica y fisiológica, ya que considero que la interacción entre estas dos ramas del estudio de la biología de los animales es esencial para lograr la comprensión de procesos emergentes que observamos en la naturaleza. La relación entre el nivel colonia y el nivel individuo es la base de la cual emerge la compleja organización de las tareas colectivas que presentan los insectos sociales (Seeley 1989, Hölldobler y Wilson 2008).

5.1.1. Recopilación de información sobre nuevos sitios de alimentación

Las colonias de *V. germanica* distribuyen su esfuerzo de forrajeo de forma tal de explotar en simultáneo dos fuentes alimenticias, a pesar de poseer información previa

sobre una de ellas (Capítulo 2). Para decidir con eficacia dónde alimentarse los animales necesitan información sobre las diversas alternativas más aún cuando las condiciones no son constantes. La información puede ser adquirida de forma individual o de forma social, cuando esta última se basa en señales seleccionadas con tal fin se dice que existe un proceso de comunicación. Las modalidades de comunicación son muy variadas en insectos sociales donde el forrajeo es social y muchos trabajos han focalizado su estudio en la importancia que dan las obreras al uso de esta información por sobre la información personal. En las colonias de insectos sociales la información recibida de otros compañeros dentro del nido cobra tal importancia que puede llegar al punto de perjudicar al receptor. Por ejemplo, en hormigas se ha demostrado que una obrera ingiere una fuente con el mismo olor al que ha recibido por su compañera dentro del nido, aun cuando esta resulta tóxica (Josens *et al.* 2016). *V. germanica* presenta mecanismos de transferencia de información dentro del nido y algún tipo de reclutamiento, aunque mis resultados demuestran que estos mecanismos no cobran gran fortaleza ya que existen obreras que continúan recopilando información ambiental para la búsqueda y recolección de fuentes alternativas.

Los resultados aquí descritos son esperables si consideramos que la información social puede ser una inversión de energía innecesaria en determinados casos como, por ejemplo, si los recursos son comunes y fáciles de ubicar. En este tipo de ambientes el costo de la exploración probablemente sea más bajo en comparación con el costo potencial del seguimiento a un recurso que podría estar superpoblado o agotado. Esta situación suele ser muy habitual en los ambientes naturales de forrajeo de *V. germanica*. La gran mayoría de los sitios de alimentación de esta especie implican incertidumbre ya que, por ejemplo, dado el hábito carroñero de esta avispa, una fuente

alimenticia localizada puede ser desplazada o removida, cambiando de esta manera las claves contextuales asociadas a ese recurso (Lozada y D'Adamo 2011, D'Adamo y Lozada 2014). Además, la modificación y el desplazamiento de claves contextuales asociadas al alimento también son una experiencia frecuente debido a su hábito periurbano (Lozada y D'Adamo 2011, D'Adamo y Lozada 2014). Por lo tanto, conservar individuos que mantengan un impulso espontáneo por la adquisición de información personal y la búsqueda de nuevas fuentes puede resultar adaptativo en ambientes impredecibles.

5.1.2. Evaluación de la rentabilidad de las fuentes disponibles

En insectos sociales los modelos de umbral de respuesta simple suponen que cada obrera responde a un estímulo dado cuando la intensidad del estímulo excede su umbral. Así, los individuos de bajo umbral realizan determinada tarea a un nivel de estímulo más bajo que los individuos de alto umbral. Teniendo en cuenta este marco teórico cuando un insecto encuentra un potencial alimento, primero lo evalúa y luego, dependiendo de si las sustancias detectadas superan el umbral necesario, se disparan comportamientos innatos que genera su aceptación o rechazo (Yarmolinsky *et al.* 2009, Chapman 2012). Las obreras de *V. germanica* presentan una respuesta refleja tanto para recursos azucarados como para proteicos y, contrariamente a lo esperado, el umbral de respuesta a cada uno no depende la edad de la obrera (Capítulo 3). Este resultado difiere además de lo observado para las obreras de la abeja de la miel, en donde obreras más jóvenes tienen un umbral de respuesta a la sacarosa mayor que obreras forrajeras (Scheiner *et al.* 2004).

No obstante, ninguna de las obreras de *V. germanica* evaluadas 28 días después de su emergencia fue observada realizando actividades fuera del nido lo que podría estar

correlacionado con la disminución del umbral de respuesta a la sacarosa observado entre estas y obreras *naïve* y forrajeras. La técnica de marcado (previa evaluación de umbrales) de obreras recién emergidas con etiquetas que deben ser pegadas en el abdomen y posterior introducción en la colonia, si bien es muy utilizada en abejas, rara vez se utiliza en avispas como modelo de estudio (Gary y Page 1978, Cox y Wilson 1984, Elekonich *et al.* 2001, Oxley *et al.* 2010). Esta técnica requiere un mayor estudio para lograr conclusiones robustas.

El polietismo etario aun no es claro en *Vespula* spp.; los resultados obtenidos por distintos autores son contradictorios (Spradbery 1973, Edwards 1980, Hurd *et al.* 2007, Santoro *et al.* 2019). La ausencia de una marcada diferencia entre los umbrales de percepción de azúcares y proteínas de obreras de distintas edades es una explicación posible a estas contradicciones. Es posible que el principal mecanismo por el cual las obreras de *V. germanica* realizan una u otra tarea no esté relacionado con los umbrales de percepción. Santoro *et al.* (2019) muestran que dentro de las colonias de *V. vulgaris* hay individuos sumamente especializados e individuos generalistas para la tarea de recolección de recursos, una evaluación de umbrales diferenciando estos dos grupos podría ser concluyente en este aspecto. La ausencia de una marcada diferencia de umbrales entre obreras, sumado a la diversidad de estrategias de recolección dentro de las forrajeras, apoyan la idea de que *V. germanica* es una especie altamente plástica sin una estrategia de forrajeo definida.

5.1.3. Valoración relativa de las fuentes disponibles: influencia de los requerimientos nutricionales

Las decisiones de forrajeo de los animales sociales pueden estar sujetas a

consideraciones no sólo del estado nutricional y del aporte de nutrientes de un individuo, sino también del grupo social en el que viven. En los insectos eusociales, las decisiones de forrajeo son tomadas por las obreras considerando tanto sus propias necesidades nutricionales como las de la colonia. Las obreras de *V. germanica* (*naïve* y forrajeras) asignan a cada fuente un valor relativo según si el evento de forrajeo responde a las necesidades nutricionales propias o de la colonia, adquiriendo un mayor valor relativo las soluciones proteicas para este último caso, y las soluciones azucaradas en caso contrario.

Dos nutrientes críticos que influyen en el comportamiento y el rendimiento de la búsqueda en un insecto son las proteínas y los carbohidratos (Cassill *et al.* 1998; Cassill y Tschinkel 1999). Para un insecto solitario, la menor parte de las proteínas son necesarias para la producción de enzimas o neurotransmisores, mientras que la gran mayoría está involucrada en procesos metabólicos relacionados con el crecimiento y la puesta de huevos; estos últimos procesos no son realizados por una obrera en insectos sociales (Chapman 2012). Por lo tanto, los requerimientos nutricionales individuales de proteínas son escasos. Así mismo, se sabe que las obreras de insectos sociales al regresar al nido entregan el alimento recolectado a las larvas quienes lo procesan, digieren y retribuyen nuevamente a las obreras vía trofalaxia (intercambio de soluciones entre individuos boca a boca). En avispas, este procesado retribuido es rico en aminoácidos y carbohidratos (Chapman 2012). Es probable que esta sea la razón por la cual las obreras que mantienen una comunicación con el nido asignen un valor relativo mayor a fuentes proteicas. En un contexto social, los recursos ricos en proteínas podrían cumplir una doble función: asegurar el crecimiento de la colonia y mantener un reservorio de azúcares brindados por la regurgitación de las larvas.

En contraposición, los azúcares constituyen la principal fuente de energía esencial para

mantener la actividad y, para un insecto social forrajero, el consumo de azúcares es importante dados los grandes gastos metabólicos involucrados en los viajes de forrajeo y la carga de alimentos por grandes distancias. Por lo tanto, como se observa en los resultados del Capítulo 4, para un insecto que se encuentra aislado de la colonia, los azúcares adquieren un valor relativo mayor que las proteínas. En este contexto, la explotación y consumo individual de soluciones azucaradas en la naturaleza estaría restringido a los grandes viajes de alimentación donde deban recargar energía durante el trayecto.

Estos resultados suman evidencias contundentes a la idea de que *V. germanica* es una especie altamente plástica. Por un lado, a nivel de colonia, manteniendo individuos con distintas respuestas comportamentales (Capítulo 2 y 3), y por otro a nivel individual con obreras capaces de integrar información externa e interna, asignar un valor relativo al recurso encontrado y en base a esto tomar la decisión de explotar o seguir explorando un dado recurso (Capítulo 4).

5.2. Restricciones y problemas encontrados

Gran parte de la información referida al comportamiento de forrajeo disponible sobre avispas sociales, particularmente *Vespinae*, provienen del estudio de un número limitado de especies y de réplicas. La mayoría de los trabajos en *Vespula* spp se han visto restringidos por los desafíos impuestos por ser una especie silvestre y por su ecología específica. Uno de los factores que dificultan su estudio es que la actividad de las colonias se concentra en una ventana de tiempo relativamente estrecha (Lester y Beggs 2018). Sumado a esto, la motivación recolectora de las avispas varía considerablemente por la influencia de factores ambientales como viento, nubosidad

o lluvia (como también se observó con otros himenópteros, incluidas las abejas melíferas (von Frisch 1967). Por ejemplo, en días de viento para *V. germanica*, la actividad de las colonias experimentales disminuía a 1 o 2 avispas por minuto entrando y saliendo del nido, mientras que en días calmos y soleados estos valores alcanzaban entre 20 a 25 avispas por minuto (obs. pers.).

Además, las reinas comienzan sus nidos solas y las colonias tempranas son pequeñas, frágiles y difíciles de localizar, lo que disminuye aún más la ventana temporal para la realización de experimentos (Donovan 1991). En el curso de esta tesis, mis intentos de establecer colonias de laboratorio a partir de reinas fecundadas no tuvieron éxito, coincidiendo mis dificultades con las encontradas por investigadores anteriores que utilizaron unidades de cría en interiores (Ross *et al.* 1981; Leathwick 1997). El tiempo limitado disponible en cada verano y la metodología de búsqueda, extracción, traslado y manutención de nidos en laboratorio, sumado al hecho de la compleja estructura de los nidos de *V. Germanica*, dificultó la cría masiva de colonias e individuos con historia conocida. Por ejemplo, la extracción de estantes con cría más de una vez durante el desarrollo del nido es casi imposible; una vez que el nido estaba adaptado a una caja experimental, el daño y estrés generado por una sucesiva extracción de pupas debilitaba a la colonia hasta llevarla a la muerte. Es por esto por lo que la mayoría de los estudios sobre el comportamiento de búsqueda y explotación de recursos se han realizado principalmente en obreras de colonias situadas en lugares desconocidos con historia de vida desconocida, con las limitaciones que este enfoque tiene (por ejemplo, D'Adamo *et al.* 2000, Lehrer y Campan 2004, Lozada y D'Adamo 2011).

Existe la posibilidad de que en este trabajo el rendimiento a nivel de colonia e individual esté subestimado ya que la inevitable manipulación de los nidos de experimentación implica la pérdida de parte de las obreras y además el cambio en la

ubicación original, la anestesia de la colonia con éter y la manipulación del nido posiblemente provoquen un efecto negativo en el desarrollo general de las colonias. Dado que una colonia se reproduce generando más reinas que fundaran nuevas colonias el número de reproductivos al final del ciclo es una variable utilizada para estimar el éxito y la salud de la colonia. Durante mi trabajo de tesis, gran parte de las colonias experimentales que eran mantenidas adentro de las cajas produjo al final de la temporada celdas reales con pupas de reinas y zánganos. Estos resultados son un indicio para creer que la manipulación experimental de las colonias no afectó su desarrollo de modo sustancial.

Otro desafío en la realización de este trabajo lo presentó la dificultad de entrenar obreras a sitios de alimentación. Un experimento de estimación del área de forrajeo del nido utilizando la técnica de captura, marcado y recaptura (ampliamente utilizada en el estudio de otros insectos) realizado durante el primer año de la tesis tuvo que ser abandonado por el poco éxito de las técnicas probadas. Por otro lado, el entrenamiento se vio limitado a causa del débil reclutamiento de las avispas, en comparación con abejas melíferas u hormigas (observación personal, Santoro 2016). Por otro lado, los métodos de identificación de individuos como el pintado del tórax mientras forrajean requiere que las avispas muestren una gran motivación recolectora para que esta técnica no modifique su comportamiento. Sumado a esto, si las fuentes de entrenamiento de hidratos de carbono no son monitoreadas constantemente otros insectos nectívoros (principalmente hormigas, abejas o abejorros) las monopolizan, disminuyendo la atractividad para las avispas.

Por otro lado, los experimentos con cebos protéicos y de hidratos de carbono hechos a campo también presentaron grandes desafíos. Además del disturbio ya mencionado que ocasiona el marcado de individuos con baja motivación recolectora, el

entrenamiento a dos recursos de distintas propiedades nutricionales puede fracasar puesto que, en la especie estudiada, se observa una marcada preferencia estacional por uno u otro recurso a lo largo del ciclo de vida. Los experimentos requieren ser realizados dentro la corta ventana temporal durante la cual ambos cebos son igualmente atractivos para las colonias.

Por último, el hecho de que *V. germanica* posea una picadura venosa que podría despertar una peligrosa reacción alérgica, obliga a trabajar utilizando traje, guantes, calzado y escafandra. Estos elementos de seguridad dificultan la visión y motricidad fina del operador durante la manipulación de los insectos.

5.3. Investigaciones a futuro

Esta tesis aporta avances significativos relacionados por un lado con la cría y el mantenimiento de colonias de *Vespula* spp en ambientes experimentales, y por el otro con la comprensión del comportamiento de forrajeo de la avispa chaqueta amarilla. Sobre la base de las metodologías y los resultados aquí presentados, se abren nuevos interrogantes que alientan posteriores esfuerzos de investigación.

Dada la biología carroñera y oportunista de *V. germanica*, los recursos protéicos que recolecta generalmente están distribuidos en parches inestables e impredecibles, como por ejemplo lo es un trozo de carroña. Sin embargo, si bien esta especie se alimenta de azúcares de origen antrópico, la mayor parte de su ingesta la obtiene de frutas maduras, de las excreciones de los árboles o de exudados de áfidos. Se desconoce si la estrategia de explotación de fuentes estables e inestables difiere entre ellas, por ejemplo, no sería inesperado que frente a un recurso que permanece en el tiempo y espacio el reclutamiento cobre mayor importancia para una explotación más eficiente.

Considero que evaluar la respuesta de esta avispa a la explotación de fuentes azucaradas y fuentes de distintas calidades ayudaría en la comprensión de la flexibilidad de explotación de las colonias de *V. germanica*.

Por otro lado, otros estudios han sugerido que bajo un contexto natural las obreras de *V. germanica*, al igual que la mayoría de los himenópteros, poseen fuertes habilidades cognitivas. La estandarización de un método de evaluación de la respuesta apetitiva que puede ser medido sin subjetividades como el logrado en esta tesis abre las puertas a más investigaciones que indaguen en como la historia de vida del individuo modifica estas habilidades o cuales otras capacidades perceptivas se encuentran asociadas a esta modalidad. Por ejemplo, evaluar los umbrales de respuesta a sacarosa y peptona en avispas con distinto grado de inanición, podría complementar los resultados de esta tesis, en los que propongo que la respuesta de cada obrera está determinada por su motivación recolectora. Otra idea interesante por evaluar a partir de la puesta a punto de la técnica de MaLER es, si la división de trabajo entre obreras forrajeras se relaciona con una diferencia en los umbrales de respuesta entre las diferentes sub-castas (esto es, recolectoras de hidratos de carbono, de proteínas o de agua).

Por último, si bien los grandes avances en materia de búsqueda, obtención y mantenimiento de nidos en un entorno controlado posibilitan una infinidad de caminos hacia el estudio de esta avispa en todos los campos, otros avances que considero interesantes a realizar en materia metodológica y siguiendo en el marco del forrajeo es la implementación de una antecámara para observar las interacciones entre avispas que arriban al nido tras una recolección exitosa y avispas que se encuentran inactivas a la espera de estímulos.

5.4. Conclusiones principales

- Frente a la disponibilidad de más de una fuente alimenticia las colonias de *V. germanica* aumentan el esfuerzo de forrajeo (número de visitas a la fuente) de manera tal de explotar ambas simétricamente (reclutamiento lineal). Contrariamente a lo esperado, el conocimiento previo de una de las fuentes no le confiere a esta un valor adicional. Aun teniendo información sobre la presencia, la calidad y la ubicación de una fuente rentable, las obreras de *V. germanica* continúan recopilando información ambiental sobre otras fuentes (Capítulo 2).
- Las obreras de *V. germanica*, independientemente de su edad, presentan una respuesta refleja de extensión de las piezas bucales frente a la estimulación apetitiva en antenas y palpos, censando y evaluando el alimento todas las veces que el mismo contacta estos órganos (independientemente de la experiencia previa). Por otro lado, esta respuesta es provocada tanto por soluciones azucaradas como por soluciones proteicas, siempre y cuando superen a la concentración umbral (10% y 5% p/p respectivamente) (Capítulo 3).
- Las obreras de *V. germanica* responden al cambio en las propiedades nutricionales de una fuente de alimento de manera distinta según si cuentan con retroalimentación de la colonia. Los resultados muestran que obreras aisladas de la colonia (*naïve* y forrajeras) priorizan la ingestión de soluciones azucaradas mientras que obreras que se encuentran en un contexto de forrajeo natural, y por lo tanto en contacto con la colonia, forrajean proteínas, independientemente de su experiencia (Capítulo 4).

Implementar a *V. germanica* como modelo de estudio trae aparejadas varias ventajas. Al ser insectos con alta sociabilidad presentan un tipo de organización sumamente compleja que se refleja en el repertorio de comportamientos registrados a la fecha, así como en sus canales de comunicación. La gran diversidad de comportamientos de forrajeo y comunicación que presentan las 800 especies de avispas sociales las posicionan como candidatos ideales para la realización de estudios comparados. A diferencia de las abejas y hormigas, las avispas no son un modelo universal y generalmente no se dispone de protocolos unificados. La unificación de protocolos y la incorporación de estas avispas como modelo de estudio de procesos de aprendizaje, incluso los que incluyen la mediación de un compañero (aprendizaje social), permiten poner a prueba teorías sobre la fisiología del aprendizaje en insectos. En lo que respecta a estudios de comunicación, la avispa chaqueta amarilla permite el estudio de tópicos relacionados con la integración de información de diferentes modalidades sensoriales y la evaluación de la influencia de procesos plásticos como el aprendizaje en dichas vías de comunicación.

Finalmente, la avispa *V. germanica* es una especie con gran poder invasor que ha logrado establecerse en la Patagonia Argentina, donde se ha convertido en un problema ecológico y es responsable de importantes pérdidas económicas en actividades como la apicultura, fruticultura, cría de ganado y turismo (Beggs 2001, Rust y Su 2012). Se ha sugerido que las invasiones biológicas son uno de los principales disturbios de origen antrópico que contribuyen al cambio global, pudiendo afectar además negativamente tanto el funcionamiento de los ecosistemas como las interacciones que lo forman (Didham *et al.* 2005, Traveset y Richardson 2006, Crowl *et al.* 2008). Hasta el momento, en Argentina, solamente se utilizan estrategias de control químico mediante cebos tóxicos, los cuales han demostrado un detrimento de su efectividad

bajo situaciones variadas. El éxito de un cebo tóxico depende fundamentalmente de la aceptación y traslado al nido por las obreras, por lo tanto, resulta imprescindible comprender cuales son los mecanismos que regulan la aceptación o rechazo del mismo para poder mejorar la efectividad y reducir la magnitud de aplicación, con los consiguientes beneficios ambientales.

Comprender las estrategias de recolección de los insectos sociales resulta indispensable para mejorar el manejo de estos, tanto cuando resultan benéficos como perjudiciales para las actividades humanas. Los resultados obtenidos a lo largo de esta tesis, los cuales sugieren principalmente que *V. germanica* es una especie con un comportamiento de forrajeo altamente plástico, pueden ser utilizados para explicar la variación en la eficacia de la administración de tóxicos en alimentos para su control. Esto proporciona el punto de inicio para poder predecir el comportamiento de las avispas y lograr mejorar las técnicas utilizadas.

Como se observa en esta tesis, la motivación recolectora de las obreras forrajeras, y por lo tanto la aceptación y recolección de cebos, es dependiente de diversos factores que fluctúan constantemente. Cuando la oferta de fuentes naturales es alta, la aceptación de cebos tóxicos puede verse disminuida, reduciendo así la eficiencia del tratamiento de control. Entonces, bajo condiciones fluctuantes es necesario distinguir cuándo la motivación recolectora se encuentra en altos niveles para así garantizar una mayor aceptación e ingestión del tóxico. En el control químico a nivel domiciliario, es posible medir la motivación recolectora indirectamente mediante una evaluación rápida de las respuestas comportamentales de las forrajeras (por ejemplo, evaluando umbrales de aceptación o rechazo de una solución muy diluida). De esta tesis surge la necesidad de considerar dentro de los métodos de control, parámetros que reflejen la motivación del individuo que, en el caso de insectos sociales, está íntimamente ligada

al estado interno de la colonia en general.

Para concluir, esta tesis abarca el estudio del comportamiento de forrajeo de un insecto social considerando la interacción de dos enfoques distintos; uno es un enfoque ecológico en donde cobra mayor importancia las respuestas a nivel de colonia, y otro es un enfoque fisiológico en el cual el foco se pone en los procesos individuales. Si bien la selección natural actúa a nivel de colonia por la variación entre colonias y no entre individuos, la acción de las obreras determina si una colonia tendrá o no suficientes recursos para producir más reinas. Esta relación es indispensable para comprender como actúan las sociedades de insectos. En particular, los resultados obtenidos sugieren que *V. germanica* es una especie que no mantiene, durante el forrajeo, un patrón comportamental rígido, sino que tiene una conducta altamente plástica y flexible que le permite adaptarse a los distintos contextos ambientales (**Figura 41**).

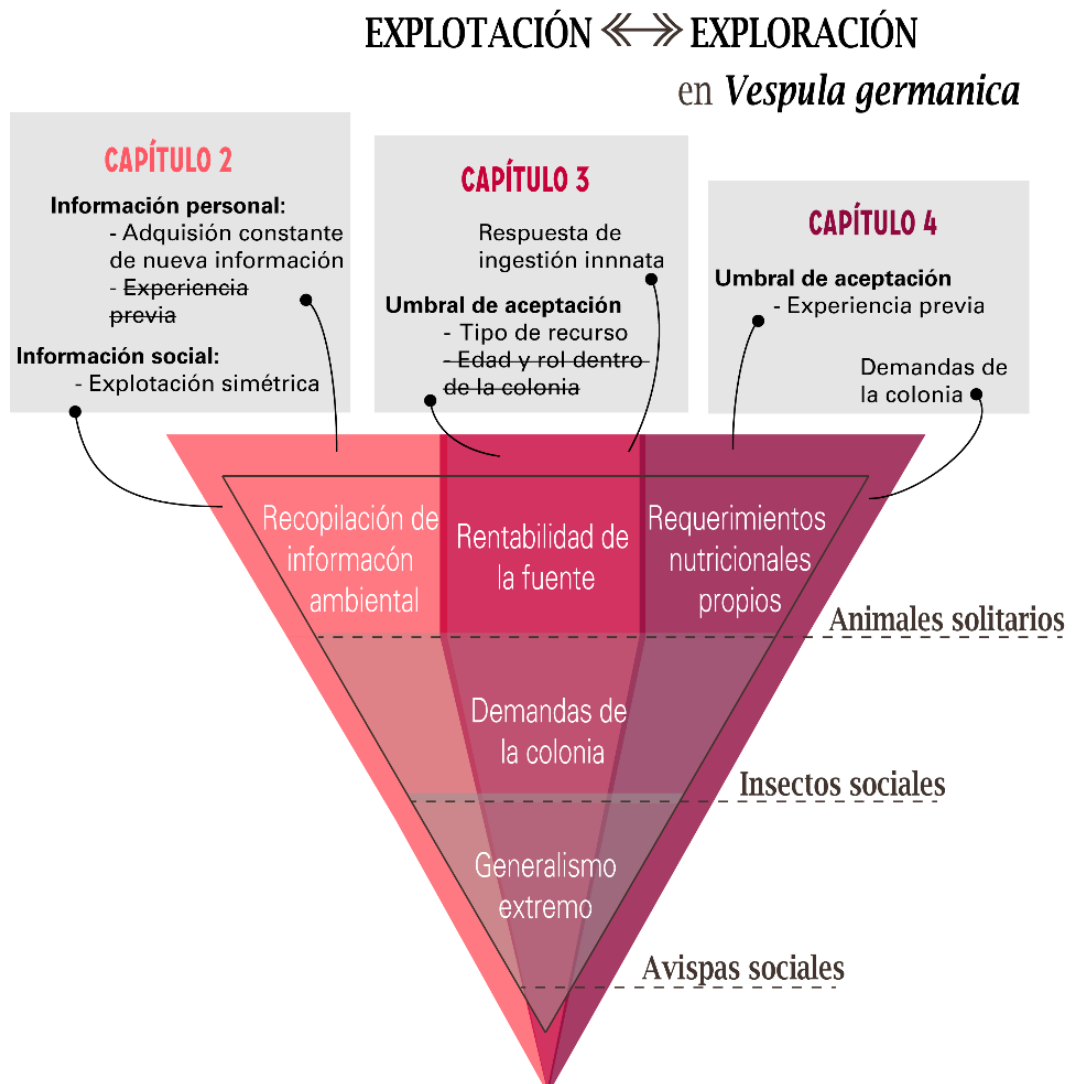


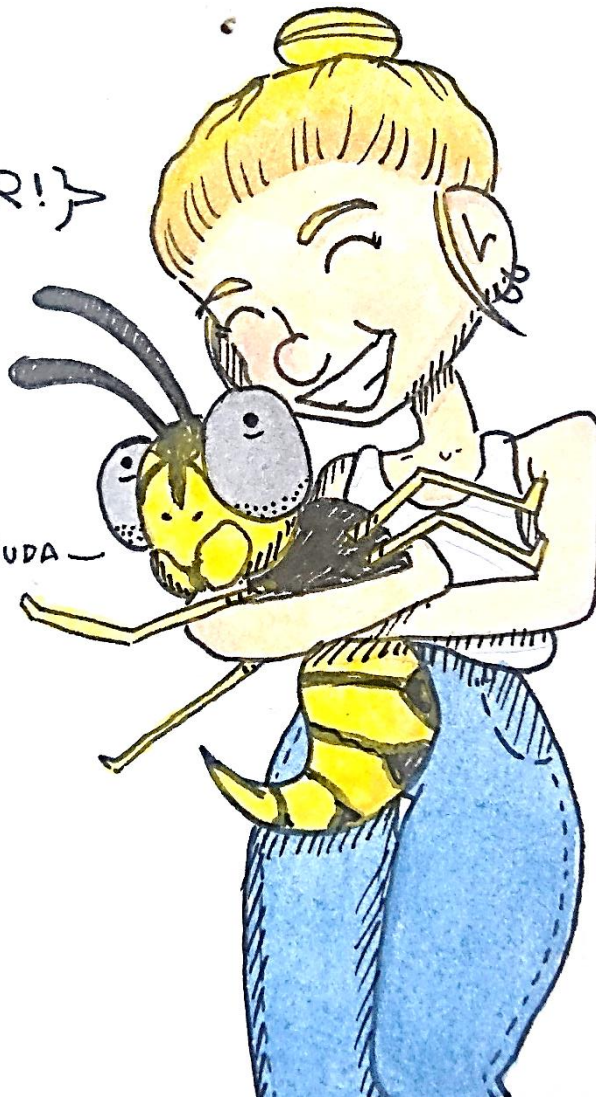
Figura 41. Resumen del marco teórico abordado en la tesis con los principales resultados obtenidos. La avispa eusocial *V. germanica* soluciona la toma de decisiones de explotación y exploración en ambientes cambiantes y con recursos diversos conservando dentro de la misma colonia individuos con comportamientos altamente rígidos e individuos con comportamientos altamente flexibles.

“Los ecólogos a menudo intentamos predecir lo que sucederá con un organismo, una población, una comunidad o un ecosistema bajo un conjunto particular de circunstancias: y sobre la base de estas predicciones, intentamos controlar la situación. Intentamos minimizar los efectos de las plagas de langosta prediciendo cuándo es probable que ocurran y tomando las medidas adecuadas. Tratamos de proteger los cultivos prediciendo cuándo las condiciones serán favorables para el cultivo y desfavorables para sus enemigos. Intentamos mantener las especies en peligro de extinción prediciendo la política de conservación que les permitirá persistir. Intentamos conservar la biodiversidad para mantener los "servicios" de los ecosistemas, como la protección de la calidad química de las aguas naturales. Algunas predicciones y controles pueden llevarse a cabo sin explicación o entendimiento. Pero solo se pueden hacer predicciones confiables, predicciones precisas y predicciones de lo que sucederá en circunstancias inusuales cuando podamos explicar lo que está sucediendo. El modelado matemático ha desempeñado, y continuará desempeñando, un papel crucial en el desarrollo de la ecología, particularmente en nuestra capacidad para predecir resultados. Pero lo que nos interesa es el mundo real, y el valor de los modelos siempre debe juzgarse en términos de la luz que arrojan sobre el funcionamiento de los sistemas naturales”

BEGON, HARPER Y TOWNSEND (2006).

(A COMER!) →

AIUDA —



— TONEE —

Referencias bibliográficas

1. Aguilar, I., Fonseca, A. & Biesmeijer, J. C. Recruitment and communication of food source location in three species of stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Apidologie* 36, 313–324 (2005).
2. Akre, R. D., Hill, W. B., Mac Donald, J. F. & Garnett, W. B. Foraging Distances of *Vespula pensylvanica* Workers (Hymenoptera: Vespidae). *Source J. Kansas Entomol. Soc.* 48, 12–16 (1975).
3. Akre, R. D. Social Wasps. in *Social Insects* (1982).
4. Akre, R. D. & MacDonald, J. F. Chapter 14, Biology, economic importance and control of yellow jackets. in *Economic impact and control of social insects* 353–412 (1986).
5. Amdam, G. V. et al. Hormonal control of the yolk precursor vitellogenin regulates immune function and longevity in honeybees. *Exp. Gerontol.* (2004).
6. Amdam, G. V., Nilsen, K. A., Norberg, K., Fondrk, M. K. & Hartfelder, K. Variation in endocrine signaling underlies variation in social life history. *Am. Nat.* (2007).
7. Ament, S. A., Corona, M., Pollock, H. S. & Robinson, G. E. Insulin signaling is involved in the regulation of worker division of labor in honeybee colonies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2008).
8. Archer, M. E. All-day foraging characteristics of successful underground colonies of *Vespula vulgaris* (Hymenoptera, Vespidae) in England. *Insectes Soc.* 51, 171–178 (2004).
9. Archer, M. E. & Penney, D. *Vespine wasps of the world: behaviour, ecology & taxonomy of the Vespinae.* (Siri Scientific Press, 2012).
10. Aw, J. M., Vasconcelos, M. & Kacelnik, A. How costs affect preferences: Experiments on state dependence, hedonic state and within-trial contrast in starlings. *Anim. Behav.* 81, 1117–1128 (2011).
11. Beckers, R., Deneubourg, J. L., Goss, S. & Pasteels, J. M. Collective decision making through food recruitment. *Insectes Soc.* 37, 258–267 (1990).
12. Beckers, R., Deneubourg, J.-L. L. & Goss, S. Trail laying behavior during food recruitment in the ant *Lasius niger* (L). *Insectes Soc.* 39, 59–72 (1992).
13. Beekman, M. & Dussutour, A. How to tell your mates: costs and benefits of different recruitment mechanisms. In *food exploitation by social insects: ecological, behavioral, and theoretical approaches*

- (2009).
14. Beekman, M. & Ratnieks, F. L. W. Long-range foraging by the honeybee, *Apis mellifera* L. *Funct. Ecol.* (2000).
 15. Beggs, J. The ecological consequences of social wasps (*Vespula* spp.) invading an ecosystem that has an abundant carbohydrate resource. *Biol. Conserv.* (2001).
 16. Beggs, J. R. et al. Ecological effects and management of invasive alien Vespidae. *BioControl* 56, 505–526 (2011).
 17. Begon, M., Harper, J. L. & Townsend, C. R. *Ecology: Individuals, Populations and Communities.* Blackwell science 3rd Editio, (2006).
 18. Behmer, S. T. Animal Behaviour: Feeding the Superorganism. *Current Biology* (2009).
 19. Bell, W. J. *SEARCHING BEHAVIOUR: The behavioural ecology of finding resources.* Chapman and Hall animal behaviour series. (Springer Science+Business Media Dordrecht, 1990).
 20. Berland, L. Hyménoptères Vespiformes. II . (Eumenidae; Vespidae, Masaridae, Bethyridae, Dryinidae, Embolemidae). *Faune de France* (1928).
 21. Biesmeijer, J. C. & de Vries, H. Exploration and exploitation of food sources by social insect colonies: a revision of the scout- recruit concept. *Behav Ecol Sociobiol* 49, 89–99 (2001).
 22. Biesmeijer, J. C. & Slaa, E. J. Information flow and organization of stingless bee foraging. *Apidologie* (2004).
 23. De Biseau, J. C., Pasteels, J. M. & Deneubourg, J. L. Collective Flexibility During Mass Recruitment in the ant *Myrmica Sabuleti* (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* (New York) 98, 323–336 (1991).
 24. Bitterman, M. E., Menzel, R., Fietz, A. & Schafer, S. Classical conditioning of proboscis extension in honeybees (*Apis mellifera*). *J. Comp. Psychol.* 97, 107–119 (1983).
 25. Bonabeau, E., Theraulaz, G., Deneubourg, J. L., Aron, S. & Camazine, S. Self-organization in social insects. *Trends Ecol. Evol.* 12, 188–193 (1997).
 26. Braendle, C., Hockley, N., Brevig, T., Shingleton, A. W. & Keller, L. Size-correlated division of labour and spatial distribution of workers in the driver ant, *Dorylus molestus*. *Naturwissenschaften* 90, 277–281 (2003).
 27. Brodschneider, R. & Crailsheim, K. Nutrition and health in honebees. *Apidologie* (2010).
 28. Brosnan, S. F. & de Waal, F. B. M. Monkeys reject unequal pay. *Nature* 425, 297–299 (2003).
 29. Busher, C. E., Calabi, P. & Traniello, J. F. A. Polymorphism and Division of Labor in the Neotropical Ant *Camponotus sericeiventris* Guerin (Hymenoptera: Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* (1985).
 30. Seeley, T. D., Camazine, S. & Sneyd, J. Collective decision-making in honeybees: how colonies choose

- among nectar sources. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 28, 277–290 (1991).
31. Cassill, D. L. & Tschinkel, W. R. Regulation of diet in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *J. Insect Behav.* 12, 307–328 (1999).
 32. Cassill, D. L., Stuy, A. & Buck, R. G. Emergent properties of food distribution among fire ant larvae. *J. Theor. Biol.* (1998).
 33. Chapman, R. F. *The Insects: Structure and Function*. Cambridge University Press (2012).
 34. Clapperton, B. K., Alspach, P. A., Moller, H. & Matheson, A. G. The impact of common and german wasps (Hymenoptera: Vespidae) on the new zealand beekeeping industry. *New Zeal. J. Zool.* (1989).
 35. Cogni, R. & Oliveira, P. S. Recruitment behavior during foraging in the neotropical ant *Gnamptogenys moelleri* (Formicidae: Ponerinae): Does the type of food matter? *J. Insect Behav.* 17, 443–458 (2004).
 36. Cook, S. C., Eubanks, M. D., Gold, R. E. & Behmer, S. T. Colony-level macronutrient regulation in ants: mechanisms, hoarding and associated costs. *Anim. Behav.* 79, 429–437 (2010).
 37. Corley, J. C. Host Density Signal in Relation To Aggregation in the Parasitoid *Venturia Canescens*. *Netherlands J. Zool.* 49, 97–109 (1999).
 38. Sackmann, P. & Corley, J. C. Control of *Vespula germanica* (Hym. Vespidae) populations using toxic baits: Bait attractiveness and pesticide efficacy. *J. Appl. Entomol.* 131, 630–636 (2007).
 39. Cox, R. L. & Wilson, W. T. Effects of Permethrin on the Behavior of Individually Tagged Honey Bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Environ. Entomol.* 13, 375–378 (1984).
 40. Crawl, T. A., Crist, T. O., Parmenter, R. R., Belovsky, G. & Lugo, A. E. The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. *Frontiers in Ecology and the Environment* (2008).
 41. D'Adamo, P., Lozada, M. & Corley, J. C. Conspecifics enhance attraction of *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) foragers to food baits. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 96, 685–688 (2003).
 42. D'Adamo, P. & Lozada, M. How Context Modification can Favor the Release of Past Experience in *Vespula germanica* Wasps, Enabling the Detection of a Novel Food Site. *J. Insect Behav.* 27, 395–402 (2014).
 43. D'Adamo, P., Corley, J. C., Sackmann, P. & Lozada, M. Local enhancement in the wasp *Vespula germanica*: Are visual cues all that matter? *Insectes Soc.* 47, 289–291 (2000).
 44. Dall, S. R. X., Giraldeau, L.-A., Olsson, O., McNamara, J. M. & Stephens, D. W. Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends Ecol. Evol.* 20, 187–193 (2005).
 45. Danchin, É. Public Information : From Nosy Neighbors to. 487, 487–491 (2010).
 46. Detrain, C., Deneubourg, J. L. & Pasteels, J. M. Information processing in social insects. (1999).

47. Detrain, C. & Deneubourg, J. L. Complexity of environment and parsimony of decision rules in insect societies. in *Biological Bulletin* (2002)
48. Detrain, C. & Deneubourg, J.-L. Collective decision-making and foraging patterns in ants and honeybees. *Adv. In Insect Phys.* 35, 123–173 (2008).
49. Didham, R. K., Tylianakis, J. M., Hutchison, M. A., Ewers, R. M. & Gemmill, N. J. Are invasive species the drivers of ecological change? *Trends in Ecology and Evolution* (2005).
50. Donovan, B. J. Nest initiation by German and common wasp queens (Hymenoptera: Vespidae) and nest fate at Christchurch, New Zealand. *New Zeal. J. Zool.* 18, 95–99 (1991).
51. Dukas, R. Evolutionary Biology of Insect Learning. *Annu. Rev. Entomol.* 53, 145–160 (2008).
52. Duncan, R. P., Blackburn, T. M. & Sol, D. The Ecology of Bird Introductions. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34, 71–98 (2003).
53. Dussutour, A. & Simpson, S. J. Carbohydrate regulation in relation to colony growth in ants. *J. Exp. Biol.* (2008).
54. Dussutour, A. & Simpson, S. J. Communal Nutrition in Ants. *Curr. Biol.* (2009).
55. Edgecomb, R. S., Murdock, L. L., Smith, A. B. & Stephen, M. Regulation of Tarsal Taste Threshold in the Blowfly, *Phormia Regina*. *J. Exp. Biol.* 127, 79 LP – 94 (1987).
56. Edwards, R. *Social Wasps: Their Biology and Control*. (Rentokil, 1980).
57. M. Elekonich, M., Schulz, D. J., Bloch, G. & Robinson, G. E. Juvenile hormone levels in honeybee (*Apis mellifera* L.) foragers: foraging experience and diurnal variation. *J. Insect Physiol.* 47, 1119–1125 (2001).
58. Eliassen, S., Jørgensen, C., Mangel, M. & Giske, J. Quantifying the adaptive value of learning in foraging behavior. *Am. Nat.* (2009).
59. Falibene, A. & Josens, R. Sucrose acceptance threshold: A way to measure sugar perception in ants. *Insectes Soc.* 59, 75–80 (2012).
60. Farji-Brener, A. G. & Corley, J. C. Successful invasions of hymenopteran insects into NW Patagonia. *Ecol. Austral* (1998).
61. Feldhaar, H. Ant nutritional ecology: Linking the nutritional niche plasticity on individual and colony-level to community ecology. *Current Opinion in Insect Science* (2014).
62. Fisher, K., West, M., Lomeli, A. M., Woodard, S. H. & Purcell, J. Are societies resilient? Challenges faced by social insects in a changing world. *Insectes Soc.* 0, 0 (2018).
63. Gary, N. E. & Page, R. E. Phenotypic variation in susceptibility of honey bees, *Apis mellifera*, to infestation by tracheal mites, *Acarapis woodi*. *Exp. Appl. Acarol.* 3, 291–305 (1987).
64. Gigantí, H. E. Una molesta avispa (*Vespula (Paravespula) germanica* Fab.) se ha introducido en

- Argentina. Gac. Agronómica 27, 24:28 (1980).
65. Giurfa, M. Behavioral and neural analysis of associative learning in the honeybee: A taste from the magic well. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* (2007).
 66. Goss-Custard, J. D. The Responses of Redshank (*Tringa totanus* (L.)) to Spatial Variations in the Density of their Prey. *J. Anim. Ecol.* (1970).
 67. Graham, P., Durier, V. & Collett, T. The co-activation of snapshot memories in wood ants. *J. Exp. Biol.* 210, 2128 LP – 2136 (2007).
 68. Grangier, J. & Lester, P. J. A novel interference behaviour: Invasive wasps remove ants from resources and drop them from a height. *Biol. Lett.* (2011).
 69. Granovskiy, B., Latty, T., Duncan, M., Sumpter, D. J. T. & Beekman, M. How dancing honeybees keep track of changes: The role of inspector bees. *Behav. Ecol.* 23, 588–596 (2012).
 70. Greene, A. *Dolichovespula* and *Vespula*. in *The social biology of wasps* (eds. Ross, K. G. & Matthews, R. W.) 263–305 (Ithaca and London, Comstock Publishing Associates., 1991).
 71. Grüter, C. & Leadbeater, E. Insights from insects about adaptive social information use. *Trends Ecol. Evol.* 29, 177–184 (2014).
 72. Guerrieri, F., Schubert, M., Sandoz, J. C. & Giurfa, M. Perceptual and neural olfactory similarity in honeybees. *PLoS Biol.* 3, 0718–0732 (2005).
 73. Guerrieri, F. J. & d’Ettorre, P. Associative learning in ants: Conditioning of the maxilla-labium extension response in *Camponotus aethiops*. *J. Insect Physiol.* 56, 88–92 (2010).
 74. Hahn, D. A. & Wheeler, D. E. Seasonal Foraging Activity and Bait Preferences of Ants on Barro Colorado Island, Panama. *Biotropica* (2002).
 75. Harder, L. D. Effects of nectar concentration and flower depth on flower handling efficiency of bumble bees. *Oecologia* (1986).
 76. Harris, R. J. Frequency of overwintered *Vespula germanica* (Hymenoptera: Vespidae) colonies in scrubland-pasture habitat and their impact on prey. *New Zeal. J. Zool.* 23, 11–17 (1996).
 77. Hassell, M. P. & May, R. M. Aggregation of Predators and Insect Parasites and its Effect on Stability. *J. Anim. Ecol.* (1974).
 78. Heyes, C. M. Social Learning in Animals: Categories and Mechanisms. *Biol. Rev.* 69, 207–231 (1994).
 79. Hines, H. M., Hunt, J. H., O’Connor, T. K., Gillespie, J. J. & Cameron, S. A. Multigene phylogeny reveals eusociality evolved twice in vespid wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 3295 LP – 3299 (2007).
 80. Hölldobler, B. & Wilson, E. O. *The ants.* (Harvard University Press, 1990).

81. Hölldobler, B. & Wilson, E. O. The superorganism: the beauty, elegance, and strangeness of insect societies. (W.W. Norton & Company, 2009).
82. Howard, D. F. & Tschinkel, W. R. The effect of colony size and starvation on food flow in the fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 7, 293–300 (1980).
83. Hurd, C. R., Jeanne, R. L. & Nordheim, E. V. Temporal polyethism and worker specialization in the wasp, *Vespula germanica*. *J. Insect Sci.* 7, 1–13 (2007).
84. Jaffe, K. & Sanchez, C. On the nestmate-recognition system and territorial marking behaviour in the ant *Camponotus rufipes*. *Insectes Soc.* (1984).
85. Jarau, S. & Hrnčir, M. Food Exploitation By Social Insects: Ecological, Behavioral, and Theoretical Approaches. (2009).
86. Jeanne, R. & Taylor, B. Individual and Social Foraging in Social Wasps. in *Food Exploitation by Social Insects: Ecological, Behavioral, and Theoretical Approaches* (ed. Hrnčir, S. J. and M.) 53–79 (CRC Press. Boca Raton (Florida): Taylor & Francis, 2009).
87. Johnson, B. R. et al. Phylogenomics resolves evolutionary relationships among ants, bees, and wasps. *Curr. Biol.* 23, 2058–2062 (2013).
88. Johnston, T. & Pietrewicz, A. *Issues in the Ecological Study of Learning*. (Psychology Press, 2014).
89. Josens, R. B., Farina, W. M. & Roces, F. Nectar feeding by the ant *Camponotus mus*: Intake rate and crop filling as a function of sucrose concentration. *J. Insect Physiol.* 44, 579–585 (1998).
90. Josens, R., Mattiacci, A., Lois-Milevicich, J. & Giacometti, A. Food information acquired socially overrides individual food assessment in ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 70, 2127–2138 (2016).
91. Käfer, H., Kovac, H. & Stabentheiner, A. Resting metabolism and critical thermal maxima of Vespine wasps (*Vespula* sp.). *J. Insect Physiol.* 58, 679–689 (2012).
92. Kasper, M. L., Reeson, A. F., Cooper, S. J. B., Perry, K. D. & Austin, A. D. Assessment of prey overlap between a native (*Polistes humilis*) and an introduced (*Vespula germanica*) social wasp using morphology and phylogenetic analyses of 16S rDNA. *Mol. Ecol.* 13, 2037–2048 (2004).
93. Kay, A. D., Scott, S. E., Schade, J. D. & Hobbie, S. E. Stoichiometric relations in an ant-treehopper mutualism. *Ecol. Lett.* 7, 1024–1028 (2004).
94. Krebs, J. R. & Davies, N. B. *BEHAVIOURAL ECOLOGY: An Evolutionary Approach*.
95. Lanan, M. C., Dornhaus, A., Jones, E. I., Waser, A. & Bronstein, J. L. The trail less traveled: individual decision-making and its effect on group behavior. *PLoS One* 7, (2012).
96. Latty, T. & Beekman, M. Keeping track of changes: the performance of ant colonies in dynamic environments. *Anim. Behav.* 85, 637–643 (2013).
97. Leathwick, D. M. Growth and development of queen colonies of *Vespula germanica* and *V. vulgaris*.

New Zeal. J. Zool. 24, 17–23 (1997).

98. Lehrer, M. & Campan, R. Shape discrimination by wasps (*Paravespula germanica*) at the food source: Generalization among various types of contrast. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sensory, Neural, Behav. Physiol.* (2004).
99. Lenard, N. R. & Berthoud, H. R. Central and peripheral regulation of food intake and physical activity: Pathways and genes. *Obesity* (2008).
100. Lester, P. J. & Beggs, J. R. Invasion Success and Management Strategies for Social *Vespula Wasps*. 1–21 (2019).
101. Lihoreau, M. et al. Nutritional ecology beyond the individual: A conceptual framework for integrating nutrition and social interactions. *Ecol. Lett.* 18, 273–286 (2015).
102. Lozada, M., Adamo, P. D., Buteler, M. & Kuperman, M. N. Social learning in *Vespula germanica* wasps: Do they use collective foraging strategies? *PLoS One* 11, 1–17 (2016).
103. Lozada, M. & D'Adamo, P. How long do *Vespula germanica* wasps search for a food source that is no longer available? *J. Insect Behav.* 19, 591–600 (2006).
104. Lozada, M. & D'Adamo, P. Past Experience: A Help or a Hindrance to *Vespula germanica* Foragers? *J. Insect Behav.* 24, 159–166 (2011).
105. Lydall, E. S., Gilmour, G. & Dwyer, D. M. Rats place greater value on rewards produced by high effort: An animal analogue of the “effort justification” effect. *J. Exp. Soc. Psychol.* 46, 1134–1137 (2010).
106. MacIntyre, P. & Hellstrom, J. An evaluation of the costs of pest wasps (*Vespula* species) in New Zealand. (2015).
107. McGaugh, J. & Roozendaal, B. Modulation of memory. *Scholarpedia* (2008).
108. Mackintosh, N. J. *Animal Learning and Cognition*. Animal Learning and Cognition. Elsevier (1994).
109. Mailleux, A.-C., Buffin, A., Detrain, C. & Deneubourg, J.-L. Recruitment in starved nests: the role of direct and indirect interactions between scouts and nestmates in the ant *Lasius niger*. *Insectes Soc.* 58, 559 (2011).
110. Maldonado, H. et al. *La memoria animal: adquisición, persistencia y olvido*. (Eudeba, 2008).
111. Martinez, A. & Farina, W. M. Honeybees modify gustatory responsiveness after receiving nectar from foragers within the hive. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 62, 529–535 (2008).
112. Masciocchi, M. & Corley, J. C. Distribution, dispersal and spread of the invasive social wasp (*Vespula germanica*) in Argentina. *Austral Ecol.* 38, 162–168 (2013).
113. Masciocchi, M., Unelius, C. R. & Buteler, M. Foraging niche separation of social wasps in an invaded area: Implications for their management. *J. Appl. Entomol.* (2019).

114. Matsuura, M. & Yamane, S. Biology of Vespine Wasps. (1990).
115. May, P. G. Nectar uptake rates and optimal nectar concentrations of two butterfly species. *Oecologia* (1985).
116. Mengoni Goñalons, C., Guiraud, M., De Brito Sanchez, M. G. & Farina, W. M. Insulin effects on honeybee appetitive behaviour. *J. Exp. Biol.* (2016).
117. Menzel, R. Associative learning in honeybees. *Apidologie* (1993).
118. Michener, C. D. Comparative Social Behavior of Bees. *Annu. Rev. Entomol.* (1969).
119. Minoli, S. et al. Learning spatial aversion is sensory-specific in the hematophagous insect *Rhodnius prolixus*. *Front. Psychol.* (2018).
120. Moreyra, S., D'Adamo, P. & Lozada, M. Odour and visual cues utilised by German yellowjackets (*Vespula germanica*) while relocating protein or carbohydrate resources. *Aust. J. Zool.* 54, 393–397 (2006).
121. Moreyra, S., D'Adamo, P. & Lozada, M. Learning in *Vespula germanica* social wasps: situations of unpredictable food locations. *Insectes Soc.* 63, 381–384 (2016).
122. Moreyra, S., D'Adamo, P. & Lozada, M. Long-term spatial memory in *Vespula germanica* social wasps: the influence of past experience on foraging behavior. *Insect Sci.* 24, 853–858 (2016).
123. Moreyra, S. & Lozada, M. How single events can influence decision-making in foraging *Vespula germanica* (Hymenoptera Vespidae) social wasps.pdf. (2018).
124. Nestel, D. et al. Resource allocation and compensation during development in holometabolous insects. *J. Insect Physiol.* 95, 78–88 (2016).
125. Nieh, J. C. Recruitment communication in stingless bees (Hymenoptera, Apidae, Meliponini). *Apidologie* (2004).
126. O'Donnell, S. & Bulova, S. J. Worker connectivity: a review of the design of worker communication systems and their effects on task performance in insect societies. *Insectes Soc.* 54, 203–210 (2007).
127. Oberhauser, F. B. & Czaczkes, T. J. Tasting the unexpected: Disconfirmation of expectations leads to lower perceived food value in an invertebrate. *Biol. Lett.* 14, 3–7 (2018).
128. Oxley, P. R., Spivak, M. & Oldroyd, B. P. Six quantitative trait loci influence task thresholds for hygienic behaviour in honeybees (*Apis mellifera*). *Mol. Ecol.* 19, 1452–1461 (2010).
129. Pacala, S. W. & Hassell, M. P. The persistence of host-parasitoid associations in patchy environments. II. Evaluation of field data. *Am. Nat.* (1991).
130. Page Jr, E. R., Erber, J. & Fondrk, K. M. The effect of genotype on response thresholds to sucrose and foraging behavior of honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Comp. Physiol. A* 182, 489–500 (1998).

131. Pankiw, T., Nelson, M., Page, R. E. & Fondrk, M. K. The communal crop: Modulation of sucrose response thresholds of pre-foraging honeybees with incoming nectar quality. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 55, 286–292 (2004).
132. Pankiw, T. & Page, E. J. The effect of genotype, age, sex, and caste on response thresholds to sucrose and foraging behavior of honey bees (*Apis mellifera* L.). 207–213 (1999).
133. Pankiw, T. & Page, R. E. Genotype and colony environment affect honeybee (*Apis mellifera* L.) development and foraging behavior. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (2001).
134. Pankiw, T. & Page, R. E. Effect of pheromones, hormones, and handling on sucrose response thresholds of honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sensory, Neural, Behav. Physiol.* 189, 675–684 (2003).
135. Pankiw, T. & Page, R. E. Response thresholds to sucrose predict foraging division of labor in honeybees. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 47, 265–267 (2000).
136. Papaj, D. R. & Prokopy, R. Ecological and Evolutionary Aspects of Learning in Phytophagous Insects. *Annu. Rev. Entomol.* 34, 315–350 (1989).
137. Papaj, D. R. & Rausher, M. D. Individual Variation in Host Location by Phytophagous Insects. in *Herbivorous Insects* (1983).
138. Pereira, A. J. Efectos de la presencia de la avispa *Vespula germanica* sobre el proceso de invasión de *Vespula vulgaris* en el NO de la Patagonia. (2016).
139. Porter, S. D. Impact of temperature on colony growth and developmental rates of the ant, *Solenopsis invicta*. *J. Insect Physiol.* (1988).
140. Potter, N. B. A Study on the Biology of the Common Wasp, *Vespula vulgaris* L., with Special Reference to the Foraging Behaviour. 168 (1964).
141. Price, T., Yeh, J.-J. & Harr, B. Phenotypic Plasticity and the Evolution of a Socially Selected Trait Following Colonization of a Novel Environment. *Am. Nat.* 172 Suppl, S49-62 (2008).
142. Pyke, G. H., Pulliam, H. R. & Charnov, E. L. Optimal Foraging: A Selective Review of Theory and Tests. *Q. Rev. Biol.* 52, 137–154 (1977).
143. Raine, N. E. & Chittka, L. Pollen foraging: Learning a complex motor skill by bumblebees (*Bombus terrestris*). *Naturwissenschaften* (2007).
144. Richter, M. R. Social wasp (hymenoptera: vespidae) foraging behavior. 121–150 (2000).
145. Reid, A. L., Seebacher, F. & Ward, A. J. W. Learning to hunt: the role of experience in predator success. *Behaviour* 147, 223–233 (2010).
146. Roces, F. Both evaluation of resource quality and speed of recruited leaf-cutting ants (*Acromyrmex lundii*) depend on their motivational state. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 33, 183–189 (1993).

147. Roces, F. & Núñez, J. A. Information about food quality influences load-size selection in recruited leaf-cutting ants. *Anim. Behav.* (1993).
148. Ross, K. G., Matthews, R. W. & Morse, R. A. Laboratory culture of four species of yellowjackets, *Vespula* spp. foundress nest initiation. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74, 247–254 (1981).
149. Roubik, D. W. & Buchmann, S. L. Nectar selection by *Melipona* and *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and the ecology of nectar intake by bee colonies in a tropical forest. *Oecologia* (1984).
150. Ruedenauer, F. A., Leonhardt, S. D., Lunau, K. & Spaethe, J. Bumblebees are able to perceive amino acids via chemotactile antennal stimulation. *J. Comp. Physiol. A Neuroethol. Sensory, Neural, Behav. Physiol.* 0, 0 (2019).
151. Rust, M. K. & Su, N.-Y. Managing Social Insects of Urban Importance. *Annu. Rev. Entomol.* 57, 355–375 (2012).
152. Sackmann, P., D’Adamo, P., Rabinovich, M. & Corley, J. C. Arthropod prey foraged by the German wasp (*Vespula germanica*) in NW Patagonia, Argentina. *New Zeal. Entomol.* 23, 55–59 (2000).
153. Santoro, D., Hartley, S., Suckling, D. M. & Lester, P. J. Nest-based information transfer and foraging activation in the common wasp (*Vespula vulgaris*). *Insectes Soc.* 62, 207–217 (2015).
154. Santoro, D., Lester, P. J., Hartley, S. & Suckling, D. M. Foraging Behaviour and Individuality in the Common Wasp (*Vespula vulgaris*). (Victoria University of Wellington, 2016).
155. Santoro, D., Hartley, S. & Philip, J. L. Behaviourally specialized foragers are less efficient and live shorter lives than generalists in wasp colonies. 1–10 (2019).
156. Scheiner, R., Page, R. E. & Erber, J. The effects of genotype, foraging role, and sucrose responsiveness on the tactile learning performance of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Neurobiol. Learn. Mem.* (2001).
157. Scheiner, R., Page, R. E. & Erber, J. Sucrose responsiveness and behavioral plasticity in honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie* (2004).
158. Schmidt, V. M., Dirk, D. L., Hrncir, M., Zucchi, R. & Barth, F. G. Collective foraging in a stingless bee: dependence on food profitability and sequence of discovery. *Anim. Behav.* 72, 1309–1317 (2006).
159. Schremmer, F. *Wespen und Hornissen: die einheimischen sozialen Faltenwespen.* (A. Ziemsen, 1962).
160. Seeley, T. D. Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 11, 287–293 (1982).
161. Seeley, T. D. Social foraging by honeybees: how colonies allocate foragers among patches of flowers. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (1986).
162. Seeley, T. D. Social foraging in honeybees: how nectar foragers assess their colony’s nutritional status. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (1989).

163. Seeley, T. D. *The Wisdom of the Hive*. Harvard University Press (1995).
164. Seeley, T. D., Camazine, S. & Sneyd, J. Collective decision-making in honeybees: how colonies choose among nectar sources. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 28, 277–290 (1991).
165. Seeley, T. D. & Towne, W. F. Tactics of dance choice in honeybees: do foragers compare dances? *Behav. Ecol. Sociobiol.* (1992).
166. Shaffer, Z., Sasaki, T., Pratt, S. C., Latty, T. & Beekman, M. Linear recruitment leads to allocation and flexibility in collective foraging by ants. *Anim. Behav.* 86, 967–975 (2013).
167. Shettleworth, S. J., Krebs, J. R., Stephens, D. W. & Gibbon, J. Tracking a fluctuating environment: a study of sampling. *Anim. Behav.* 36, 87–105 (1988).
168. Simpson, S. J. & Raubenheimer, D. *The Nature of Nutrition*. The Nature of Nutrition (2012).
169. Sola, F., Falibene, A. & Josens, R. Asymmetrical behavioral response towards two boron toxicants depends on the ant species (Hymenoptera: Formicidae). *J. Econ. Entomol.* 106, 929–38 (2013).
170. Sorensen, A. A., Busch, T. M. & Vinson, S. B. Control of food influx by temporal subcastes in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (1985).
171. Spradbery, J. *Wasps. An Account of the Biology and Natural History of Solitary and Social Wasps*. Sidgwick and Jackson, London and University of Washington Press, Seattle (1973).
172. Stein, M. B., Thorvilson, H. G. & Johnson, J. W. Seasonal changes in bait preference by red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Florida Entomol.* 117–123 (1990).
173. Stephens, D. W. Chnage, regularity, and value in the evolution of animal learning. *Behav. Ecol.* (1991).
174. Sudd, J. H. & Sudd, M. E. Seasonal changes in the response of wood-ants (*Formica lugubris*) to sucrose baits. *Ecol. Entomol.* (1985).
175. Sudlow, L. C., Edgecomb, R. S. & Murdock, L. L. Regulation of labellar and tarsal taste thresholds in the black blowfly, *Phormia regina*. *J. Exp. Biol.* 130, 219–234 (1987).
176. Sumpter, D. T. *Collective animal behavior*. *Collective Animal Behavior* (2010).
177. Sumpter, D. J. T. & Beekman, M. From nonlinearity to optimality: Pheromone trail foraging by ants. *Anim. Behav.* 66, 273–280 (2003).
178. Sumpter, D. & Pratt, S. A modelling framework for understanding social insect foraging. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 53, 131–144 (2003).
179. Taylor, B. J., Nordheim, E. V. & Jeanne, R. L. Allocation of Colony-Level Foraging Effort in *Vespula germanica* in Response to Food Resource Quantity, Quality, and Associated Olfactory Cues. *Ethology* 118, 594–605 (2012).
180. Taylor, B. J. & Jeanne, R. L. Gastral drumming: a nest-based food-recruitment signal in a social wasp.

- Sci. Nat. 105, 1–9 (2018).
181. Thiel, A. & Hoffmeister, T. S. Selective information use in parasitoid wasps. *Anim. Biol.* 56, 233–245 (2006).
 182. Toth, A. L., Kantarovich, S., Meisel, A. F. & Robinson, G. E. Nutritional status influences socially regulated foraging ontogeny in honeybees. *J. Exp. Biol.* (2005)
 183. Traveset, A. & Richardson, D. M. Biological invasions as disruptors of plant reproductive mutualisms. *Trends in Ecology and Evolution* (2006).
 184. Von Frisch, K. The dance language and orientation of bees. (1967).
 185. Weeks, R. D., Wilson, L. T., Vinson, S. B. & James, W. D. Flow of Carbohydrates, Lipids, and Protein Among Colonies of Polygyne Red Imported Fire Ants, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97, 105–110 (2004).
 186. Wendt, S., Strunk, K. S., Heinze, J., Roider, A. & Czaczkes, T. J. Relative value perception in an insect: positive and negative incentive contrasts in ants. *bioRxiv* 330241 (2018).
 187. Wendt, S., Strunk, K. S., Heinze, J., Roider, A. & Czaczkes, T. J. Positive and negative incentive contrasts lead to relative value perception in ants. *Elife* 8, e45450 (2019).
 188. Wheeler, D. E. & Buck, N. A. Protein, lipid and carbohydrate use during metamorphosis in the fire ant, *Solenopsis xyloni*. *Physiol. Entomol.* 17, 397–403 (1992).
 189. Wilson, E. O. *The Insect Societies*. (Belknap Press of Harvard University Press, 1971).
 190. Wilson, E. O. Caste and division of labor in leaf-cutter ants (Hymenoptera: Formicidae: *Atta*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* (1980).
 191. Wilson-Rankin, E. E. Level of experience modulates individual foraging strategies of an invasive predatory wasp. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 69, 491–499 (2015).
 192. Wright, T. F., Eberhard, J. R., Hobson, E. A., Avery, M. L. & Russello, M. A. Behavioral flexibility and species invasions: The adaptive flexibility hypothesis. *Ethol. Ecol. Evol.* (2010).
 193. Yarmolinsky, D. A., Zuker, C. S. & Ryba, N. J. P. Common Sense about Taste: From Mammals to Insects. *Cell* (2009).
 194. Yeruham, I., Schwimmer, A. & Brami, Y. Epidemiological and bacteriological aspects of mastitis associated with yellow-jacket wasps (*Vespula germanica*) in a dairy cattle herd. *J. Vet. Med. Ser. B* (2002).
 195. Zhang, F. & Hui, C. Recent experience-driven behaviour optimizes foraging. *Anim. Behav.* 88, 13–19 (2014).