

Tesis Doctoral

# Ecología de la dispersión de semillas por hormigas en *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae)

Aranda Rickert, Adriana

2011

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Aranda Rickert, Adriana. (2011). Ecología de la dispersión de semillas por hormigas en *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Cita tipo Chicago:

Aranda Rickert, Adriana. "Ecología de la dispersión de semillas por hormigas en *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae)". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2011.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

***Ecología de la dispersión de semillas por hormigas  
en *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae)***

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

**ADRIANA ARANDA-RICKERT**

**Directora de tesis:** Sara Maldonado

**Consejera de estudios:** Sara Maldonado

**Lugar de trabajo:** *Centro Regional de Investigaciones Científicas y Transferencia  
Tecnológica (CRILAR), Anillaco, La Rioja, Argentina.*

Buenos Aires, 2011



## *Agradecimientos*

En primer lugar agradezco a mi directora, Sara Maldonado, por su apoyo y los sabios consejos otorgados durante el desarrollo de esta tesis. Agradezco asimismo a David Gorla, quien permitió que esta tesis tuviera como lugar de trabajo el Instituto CRILAR de Anillaco. La ayuda de campo brindada por Ana Sobral, Lucía Krapovickas y Félix Fracchia resultó invaluable dadas las condiciones extremas en que se realizaron los muestreos. También doy las gracias a Javier Torrens y a Patricia Diez del Instituto CRILAR por sus enseñanzas en cuanto a técnicas entomológicas, a Roxana Josens del Grupo de Estudio de Insectos Sociales de la FCEyN por mostrarme cómo construir los formicarios, a Sebastián Fracchia del Instituto CRILAR por la recolección de las semillas, y a Robert Johnson, de la Universidad Estatal de Arizona, quien me envió amablemente las claves para la identificación de las subespecies de *Pogonomyrmex cunicularius*.





*Ecología de la dispersión de semillas por hormigas en *Jatropha excisa*  
Griseb. (Euphorbiaceae)*

**RESUMEN**

En esta tesis se estudia la mirmecocoria o dispersión de semillas por hormigas en *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae), una planta nativa del Noroeste de Argentina. Las semillas de esta especie poseen un apéndice rico en lípidos llamado eleosoma y un sistema de dispersión diplocórico (autocoria explosiva seguida por mirmecocoria). Ensayos a campo en la región fitogeográfica del Monte de la Provincia de La Rioja mostraron que las semillas de *J. excisa* son dispersadas por hormigas, y que la presencia del eleosoma aumenta su remoción por éstas. La estimación de las distancias de dispersión mediadas por el transporte por hormigas mostraron que la mirmecocoria otorga a las plantas el beneficio de la ganancia en distancia *per se*. Mediante el ofrecimiento experimental de semillas se identificaron 11 especies de hormigas que interactuaron con las semillas de *J. excisa* en el área de estudio. Mientras que siete especies consumieron el eleosoma *in situ* sin posterior transporte de la semilla, sólo tres especies removieron las semillas, y una sola de ellas, *Pogonomyrmex cunicularius pencosensis* Forel, fue responsable del 84% de los eventos de remoción observados. La remoción de las semillas se correlacionó positivamente con la abundancia de esta especie en los sitios de muestreo. Dentro de los hormigueros de *P. cunicularius*, las semillas de *J. excisa* fueron transportadas verticalmente desde las cámaras de cría, donde el eleosoma fue consumido, hasta los basureros internos superficiales, donde la semilla fue descartada. Las semillas descartadas conservaron su viabilidad, y la germinación fue favorecida por la remoción experimental del eleosoma. Finalmente, diversos aspectos de la biología de *P. cunicularius* (dieta, ecología de la nidificación, ritmo diario y estacional de actividad, y comportamiento) son asociados a su capacidad para comportarse como la principal dispersora de semillas de *J. excisa* en el área de estudio. Los resultados aquí presentados apoyan la hipótesis de la mirmecocoria como un mutualismo desigualmente difuso, en donde una única especie mutualista domina el proceso de dispersión, en contraposición a la visión canónica de la mirmecocoria como un mutualismo igualmente difuso, en donde múltiples mutualistas son equivalentes en cuanto a la frecuencia y consecuencias de su interacción.

**Palabras claves:** mirmecocoria, dispersión de semillas, *Pogonomyrmex*, mutualismo difuso, *Jatropha*.





# *Ecology of seed dispersal by ants in *Jatropha excisa* Griseb.*

*(Euphorbiaceae)*

## **ABSTRACT**

This dissertation describes myrmecochory or seed dispersal by ants in *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae), a native plant of Northwest Argentina. The seeds of this plant species have a lipid-rich appendage called elaiosome and a diplochorous dispersal system (explosive autochory followed by myrmecochory). Field studies conducted in the Monte Desert phytogeographical region of the La Rioja Province, showed that the *J. excisa* elaiosome-bearing seeds are dispersed by ants, and that the presence of the elaiosome enhances their probability of being removed by them. The estimation of the seed dispersal distances achieved by myrmecochory showed that the distance *per se* is an important benefit of the plant associated to the ant-mediated transport. Experimental seed offering assays identified 11 ant species attracted to the *J. excisa* seeds in the study area. Whereas seven of these ant species consumed the elaiosome *in situ* without transporting the seeds, only three species removed the seeds, being one of them, *P. cunicularius pencosensis* Forel, responsible of 84% of the observed seed removal events. Seed removal in the study sites was positively correlated with the abundance of this ant species. Once inside the *P. cunicularius pencosensis* nests, the *J. excisa* seeds were transported vertically from the deep brood chambers, where the elaiosome was consumed, up to the superficial refuse chambers, where the seeds were discarded. These discarded seeds conserved their viability, and germination assays showed that the experimental removal of the elaiosome enhanced their germination. Finally, some aspects of the biology of *P. cunicularius pencosensis* are described (diet, nesting ecology, daily and seasonal activity rhythm and behaviour), and are related to the capability of this ant species to act as the most important seed disperser of the *J. excisa* seeds in the study area. The results here presented support the hypothesis of myrmecochory as an unevenly diffuse mutualism, where a single mutualist ant species dominates the dispersal process, in contraposition to the canonical view of myrmecochory as an evenly diffuse mutualism, where multiple mutualist partners are similar in terms of the frequency and consequences of their interactions.

**Key words:** myrmecochory, seed dispersal, *Pogonomyrmex*, diffuse mutualism, *Jatropha*.

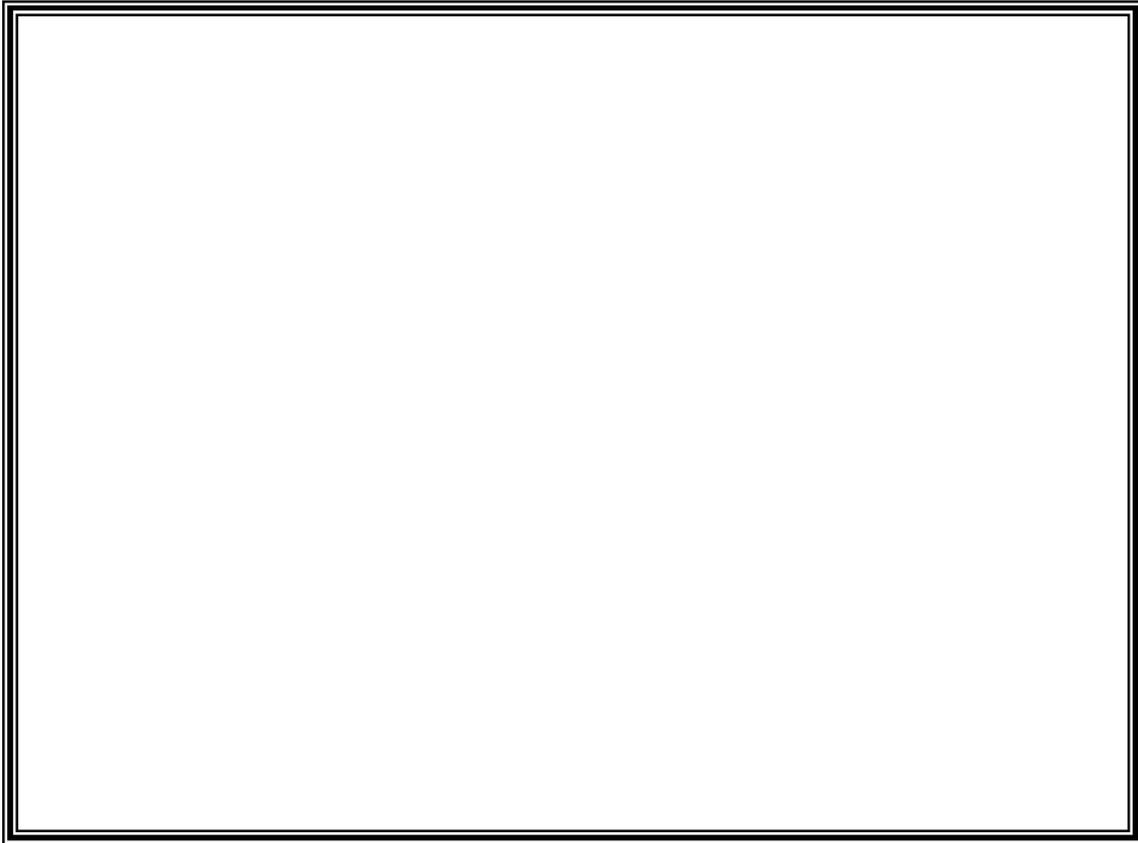






*Ecología de la dispersión de semillas por hormigas  
en *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae)*

*Un estudio sobre la mirmecocoria en el Noroeste semiárido argentino.*



*El príncipe se inclinó y contempló a una hormiga que transportaba una semilla con gran esfuerzo.*

*“Por qué lo haces?”- le preguntó.*

*“No lo sé” – dijo la hormiga.*

*El príncipe la aplastó con su bota y musitó:*

*-“El esfuerzo no sirve si no tiene un fin (biológico)\*”-.*

“Las siete verdades”, Cuento popular esloveno, circa 1590

\* agregado por la autora.







## **Trabajos publicados y presentados en Congresos durante la realización de esta tesis**

“*Diplochory in two Jatropha (Euphorbiaceae) species of the Monte Desert of Argentina*”, Aranda-Rickert A. & Fracchia S., *Austral Ecology* 2010, **35**: 226-235.

“*Pogonomyrmex cunicularius as the keystone disperser of the elaiosome-bearing Jatropha excisa seeds in semi-arid Argentina*”, Aranda-Rickert A. & Fracchia S., *Entomologia Experimentalis et Applicata* 2011, **139**:91-102.

“*Pogonomyrmex cunicularius (Hymenoptera: Formicidae): dispersora clave de un arbusto mirmecócoro del NO semiárido argentino*”. Aranda-Rickert A. *IV Reunión Binacional de Ecología*, 2010, Buenos Aires, Argentina.

“*Are subordinate ants the best seed dispersers? Linking dominance hierarchies and seed dispersal ability in myrmecochory interactions.*” Aranda-Rickert A. Aceptado para su presentación en el *XVIII International Botanical Congress*, 23-30 Julio 2011, Melbourne, Australia.



# CONTENIDOS

<i>Agradecimientos</i> .....	ii
<b>RESUMEN</b> .....	ii
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	
1. <i>La mirmecocoria o dispersión de semillas por hormigas</i> .....	5
2. <i>El eleosoma</i> .....	6
3. <i>La mirmecocoria como mutualismo</i> .....	9
4. <i>El rol de la mirmecocoria en la especiación y diversificación de las angiospermas</i> .....	12
5. <i>La distribución geográfica de la mirmecocoria</i> .....	14
<b>OBJETIVOS</b> .....	16
<b>CAPÍTULO 1. Historia natural de <i>Jatropha excisa</i> y caracterización del área de estudio</b> .....	17
<b>CAPÍTULO 2. Las distancias de dispersión</b> .....	29
<b>CAPÍTULO 3. Las hormigas dispersoras</b> .....	43
<b>CAPÍTULO 4. El destino final de las semillas: el hormiguero</b> .....	69
<b>CAPÍTULO 5. La biología de <i>P. cunicularius pencosensis</i> en relación a su comportamiento como dispersora de semillas</b> .....	107
<b>SECCIÓN 5I. El ritmo diario de actividad</b> .....	109
<b>SECCIÓN 5II. El comportamiento subordinado</b> .....	124
<b>SECCIÓN 5III. La dieta</b> .....	133
<b>CAPÍTULO 6. Efecto de la desecación del eleosoma sobre la atractividad de las semillas</b> .....	145
<b>CONCLUSIONES GENERALES</b> .....	157

<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	161
---------------------------	-----

## **ANEXO**

<i>Listado de las especies de hormigas recolectadas en trampas de caída</i> .....	193
---	-----

<i>Uso de herramientas para el transporte de alimento en P. cunicularius pencosensis</i> .....	195
--	-----

<i>Contenido de aceite y perfil de ácidos grasos de los eleosomas de J. excisa</i> .....	198
--	-----

## **LÁMINAS**

<b>Lámina 1</b> .....	21
-----------------------	----

<b>Lámina 2</b> .....	27
-----------------------	----

<b>Lámina 3</b> .....	59
-----------------------	----

<b>Lámina 4</b> .....	79
-----------------------	----

<b>Lámina 5</b> .....	81-83
-----------------------	-------

<b>Lámina 6</b> .....	91
-----------------------	----

<b>Lámina 7</b> .....	93
-----------------------	----

<b>Lámina 8</b> .....	139
-----------------------	-----

<b>Lámina 9</b> .....	153
-----------------------	-----

# INTRODUCCIÓN GENERAL

## *1. La mirmecocoria o dispersión de semillas por hormigas*

La dispersión de semillas es el movimiento espacial de los propágulos fuera del área de influencia de su planta parental, utilizando para ello vectores bióticos, abióticos o una combinación de ambos (Howe & Smallwood 1982). Aproximadamente el 56 % de las especies y el 30 % de las familias pertenecientes a las Angiospermas son dispersadas a través de agentes bióticos (Tiffney 2004), siendo los vertebrados los vectores más comúnmente utilizados (Herrera 2002). Sin embargo, ciertas familias y especies de plantas presentan un tipo particular de zoocoria, en donde son las hormigas las que actúan como vectores del proceso de dispersión. Globalmente, se estima que 11,000 especies de plantas pertenecientes a más de 80 familias son dispersadas por hormigas (Lengyel *et al.* 2009).

La mirmecocoria *sensu stricto* se define como la dispersión por hormigas de semillas con eleosoma (Handel & Beattie 1990). Eleosoma o elaiosoma (*elaios*, aceite; *soma*, cuerpo) es el término que designa al apéndice carnoso y rico en aceites que poseen las semillas dispersadas por hormigas (Sernander 1906). El proceso de dispersión por hormigas es someramente el siguiente: las hormigas encuentran la diáspora (semilla + eleosoma), la transportan a su hormiguero, y allí consumen el eleosoma. La semilla intacta es luego descartada dentro del hormiguero o fuera de él. Durante todo este proceso, la semilla y el embrión que contiene no son dañados, conservando su capacidad germinativa (Berg 1975, Handel 1976, Auld 1986).

Dos grandes aspectos distinguen a la mirmecocoria del resto de los sistemas dispersivos mediados por animales. El primero de ellos son las cortas distancias a las que son dispersadas las semillas, con una media estimada a nivel global de 1 m (Gómez & Espadaler 1998a). El segundo es el fuerte componente de direccionalidad: el destino

final de las semillas no es aleatorio, sino que es el hormiguero, un micrositio con características físico-químicas diferentes respecto del suelo circundante. Esta direccionalidad está determinada por el comportamiento de forrajeo centralizado que presentan las hormigas, tal que todo lo recolectado tiene como destino final un lugar central único, el hormiguero. La ubicuidad es otro factor que determina que las hormigas sean casi los únicos invertebrados que actúen como dispersores de semillas. Se estima que en todo el mundo más de 200 especies de hormigas pertenecientes a cuatro subfamilias (Myrmicinae, Formicinae, Dolichoderinae y Ponerinae) se comportan como dispersoras de semillas (Beattie 1983). Como consecuencia de esta ubicuidad, una semilla en el suelo tendrá una alta probabilidad de ser encontrada por una hormiga.

En ambientes tropicales y subtropicales, es frecuente que las hormigas dispersen secundariamente las semillas contenidas en frutos caídos o en las heces de los vertebrados (Levey & Byrne 1993, Pizo & Oliveira 1998, 1999, Böhning-Gaese *et al.* 1999, Vander Wall & Longland 2004). También puede considerarse como dispersión por hormigas cuando durante su transporte las semillas son perdidas accidentalmente a lo largo de su ruta al hormiguero (Gorb & Gorb 1999a, Milesi & López de Casenave 2004). Sin embargo, estos casos representan otras formas de mirmecocoria que no implican la presencia de un eleosoma.

## 2. *El eleosoma*

El criterio para determinar si una planta es mirmecócora *s.s.* es que sus semillas posean un eleosoma. Anatómicamente, los eleosomas pueden ser arilos, ariloides o carúnculas (Gorb & Gorb 2003). En su forma más simple, el eleosoma es una cobertura de la semilla rica en aceites, como ocurre en las especies de *Eucalyptus* que son dispersadas

por hormigas (Berg 1975). A partir de esta forma rudimentaria, los eleosomas se diversifican en una variada gama de formas y tamaños, representando en general un 4-5% del peso de la diáspora (Lisci *et al.* 1996). En general, todos presentan como característica común una coloración clara, que contrasta con el color usualmente oscuro del cuerpo de la semilla (Gorb & Gorb 2003), y una consistencia más o menos carnosa.

Dentro de las Angiospermas, los eleosomas pueden encontrarse tanto en monocotiledóneas como en dicotiledóneas. Comúnmente, los eleosomas se desarrollan a partir de los tegumentos externos del óvulo, aunque en algunas especies se forman a partir de los tegumentos internos o del pericarpio del fruto (Lisci *et al.* 1996, Ciccarelli *et al.* 2005). La diversidad ontogénica de los eleosomas es considerada un ejemplo de evolución convergente, indicando presiones selectivas que actuaron favoreciendo su evolución en taxones de plantas filogenéticamente no relacionados (Beattie 1985).

La composición química de las reservas contenidas en los tejidos del eleosoma es característica de éste, diferente de las reservas de la semilla, y variable entre diferentes familias, especies y aún poblaciones de una misma especie (Boulay *et al.* 2006, Fischer *et al.* 2008). En general son particularmente ricos en lípidos (Bresinsky 1963, Lanza *et al.* 1992, Hughes *et al.* 1994b, Morrone *et al.* 2000), y pueden contener carbohidratos, aminoácidos libres y Vitaminas B1 y C (Bresinsky 1963, Brew *et al.* 1989, Lisci *et al.* 1996, Mayer & Svoma 1998). A pesar de representar un 30-35% de la energía total contenida en la diáspora (Lisci *et al.* 1996), el eleosoma no funciona como órgano de almacenamiento de energía de la semilla. En cambio, su principal función es atraer a las hormigas que iniciarán el proceso de dispersión (van der Pijl 1982).

Se postula que son los ácidos grasos, y entre ellos el ácido oleico y sus derivados, los componentes del eleosoma responsables de atraer a las hormigas e inducir en ellas una respuesta de transporte al hormiguero (Marshall *et al.* 1979, Brew *et*

*al.* 1989, pero ver Midgley & Bond 1995), ya sea por ser nutrientes esenciales para su metabolismo (Marshall *et al.* 1979) o por elicitar respuestas de transporte actuando como inductores químicos de comportamiento (Skidmore & Heithaus 1988, Brew *et al.* 1989, Lanza *et al.* 1992, Hughes *et al.* 1994b, Sheridan *et al.* 1996). Se ha postulado que las respuestas inducidas por los componentes químicos del eleosoma son análogas a: 1) el transporte necrofórico, *i.e.*, el transporte de hormigas muertas de la colonia (Wilson *et al.* 1958, Howard & Tschinkel 1975, Renucci *et al.* 2010), y 2) el transporte de una presa al nido (Carroll & Janzen 1973). La inducción química de comportamientos de transporte en las hormigas dispersoras implica la explotación por parte de las plantas de señales químicas que las hormigas utilizan en un contexto diferente (Pfeiffer *et al.* 2010).

Se ha propuesto que el eleosoma cumple también funciones asociadas a la germinación de las semillas. En algunas especies, la remoción del eleosoma dispara la ruptura de la dormición (Mayer & Svoma 1998), mientras que en otras su presencia facilita la hidratación de la semilla (Bianchini & Pacini 1996). Sin embargo, el rol que cumple el eleosoma en la germinación es controvertido: mientras que en algunas especies las semillas germinan más rápido o en mayor proporción cuando el eleosoma es removido (*e.g.* Horvitz 1981, Rockwood & Bloiss 1986, Mayer & Svoma 1998, Viegi *et al.* 2003, Ohkawara 2005), en otras el efecto es el opuesto (Viegi *et al.* 2003, Imbert 2006, Passos & Ferreira 1996), o la presencia del eleosoma es neutral para la germinación (Rockwood & Bloiss 1986, Lisci *et al.* 1996, Boyd 2001, Viegi *et al.* 2003, Castro *et al.* 2010).

### 3. *La mirmecocoria como mutualismo*

La mirmecocoria *s.s.* se considera como una relación mutualista entre las plantas y las hormigas dispersoras (Handel & Beattie 1990). Mientras que el beneficio para las plantas es la dispersión de sus semillas, el beneficio para las hormigas es el consumo de los nutrientes contenidos en el eleosoma (van der Pijl 1982, Beattie 1985).

Las ventajas selectivas que confiere la mirmecocoria a las plantas han sido agrupadas en cinco hipótesis (Beattie 1985, revisadas por Giladi 2006): 1) la hipótesis de la “*dispersión por distancia*” postula que la distancia *per se* es una importante ventaja resultante del transporte mediado por hormigas. El aumento de la distancia entre la semilla dispersada y la planta parental resulta en un aumento en la probabilidad de supervivencia de los vástagos (*e.g.* Howe & Smallwood 1982, Willson & Traveset 2000), evitándose el conflicto con la planta parental, disminuyendo el riesgo de predación denso-dependiente, y aumentando la probabilidad de colonizar sitios favorables (Westoby & Rice 1981, Andersen 1988, Boyd 1996, Kalisz *et al.* 1999); 2) la hipótesis del “*escape de predadores*” postula que las semillas transportadas por hormigas encuentran refugio en los hormigueros de predadores post-dispersivos (principalmente roedores, escarabajos y hormigas granívoras) (O’Dowd & Hay 1980, Heithaus 1981, Smith *et al.* 1989, Ohkawara *et al.* 1997); 3) la hipótesis de la “*dispersión dirigida*” propone que los hormigueros representan micrositios más ricos en nutrientes y con características físicas especiales con respecto al suelo circundante, aumentando la probabilidad de germinación y establecimiento de las plántulas (Culver & Beattie 1980, Davidson & Morton 1981, Beattie & Culver 1983, Hanzawa *et al.* 1988); 4) la hipótesis del “*escape del fuego*” propone que las semillas depositadas dentro del hormiguero permanecen a salvo de ser incineradas durante un incendio en hábitats donde éstos son frecuentes (Majer 1982, Bond *et al.* 1991) y 5) la hipótesis de

“favorecer la germinación” postula que el consumo del eleosoma por las hormigas tiene un efecto positivo sobre la germinación de las semillas (Horvitz 1981; Rockwood & Bloiss 1986; Viegi *et al.* 2003; Ohkawara 2005). Las ventajas arriba mencionadas no son mutuamente excluyentes: muchas plantas obtienen más de uno de los posibles beneficios o incluso sacan ventaja de todos ellos al ser dispersadas por hormigas (Giladi 2006).

Luego de décadas de estudio, donde estas hipótesis han sido tanto aceptadas como rechazadas en diversos sistemas de estudio, no es posible definir una ventaja en particular que sea preponderante con respecto a las demás y que a la vez pueda generalizarse a todas las especies mirmecócoras en un nivel global. Ciertas ventajas, como la de protección contra el fuego, serán preponderantes en hábitats con incendios frecuentes, en hábitats con suelos infértiles cobra importancia la dispersión dirigida a micrositios con mayor concentración de nutrientes, y en hábitats donde los roedores granívoros son abundantes, una ventaja selectiva importante será evadir la predación post-dispersiva. Más aún, las ventajas selectivas pueden ser diferentes aún para especies que coexisten en un mismo hábitat. Así, la mirmecocoria habría evolucionado independientemente un número de veces en respuesta a una variada gama de presiones selectivas (Ohkawara *et al.* 1997).

Por otra parte, las hormigas dispersoras no son obligatoriamente dependientes de la mirmecocoria, ya que el eleosoma representa una de sus posibles fuentes de alimento. Asimismo, el beneficio nutricional aportado por el consumo del eleosoma no es claro. En especies de hormigas criadas en laboratorio, la adición de eleosomas a la dieta resultó en un aumento de la progenie de la colonia (Morales & Heithaus 1998, Gammans *et al.* 2005), en otras especies tal aumento no fue observado (Gammans *et al.*

2005), mientras que en otras incluso resultó en una menor descendencia con respecto a colonias alimentadas con una dieta convencional (Marussich 2006).

La mirmecocoria es considerada como una relación mutualista poco especializada y generalista o difusa (Beattie & Hughes 2002), en donde las diásporas de una especie de planta son dispersadas por múltiples especies de hormigas. El carácter generalista de la mirmecocoria se debe a: 1) la naturaleza no selectiva aunque altamente atractiva del eleosoma (Beattie & Culver 1981), 2) la dieta omnívora y generalista de la mayor parte de las hormigas, y 3) la considerable variación espacial y temporal en los ensambles de hormigas que participan en la interacción (Manzaneda *et al.* 2005). A estas tres particularidades, se les suma el hecho de que la interacción con las diásporas no requiere de una pre-adaptación o un ajuste morfológico por parte de las hormigas.

Sin embargo, los últimos trabajos publicados sobre la mirmecocoria discuten el carácter generalista de esta interacción, planteando que es menos difusa de lo que se pensaba, y que ciertos rasgos de las plantas buscan atraer a hormigas dispersoras de alta calidad o dispersoras clave (Giladi 2006, Gove *et al.* 2007, Ness *et al.* 2009). Estas especies clave tendrían un papel desproporcionalmente importante en la interacción con respecto a las demás especies de hormigas de la comunidad, ya sea por el alto número de semillas que remueven como por la calidad de dispersión que brindan. En este caso, puede plantearse que el mutualismo es desigualmente difuso, en contraposición a un mutualismo igualmente difuso, en donde múltiples mutualistas contribuyen en forma similar en cuanto a la frecuencia y calidad de sus servicios (Zamora 2000).

#### *4. El rol de la mirmecocoria en la especiación y diversificación de las angiospermas*

La extraordinaria diversificación de las angiospermas durante el Cretácico y el Terciario ha producido un número estimado en 250,000 – 300,000 especies. Se hipotetiza que uno de los principales agentes conductores de esta diversificación han sido los mutualismos con animales, ya sea como polinizadores o dispersores de semillas (Regal 1977, Stebbins 1981, Crepet 1984; pero ver Herrera 1989, Eriksson & Bremen 1992, Ricklefs & Renner 1994, Dodd *et al.* 1999).

Entre estos mutualismos, la mirmecocoria, que ha evolucionado al menos 80 veces (y posiblemente hasta 140 veces) en forma independiente dentro de las angiospermas, habría sido una innovación evolutiva clave (Lengyel *et al.* 2009). En las plantas, distancias de dispersión limitadas están asociadas a un aumento en la tasa de especiación (Tiffney 1984). Las usualmente cortas distancias de dispersión resultantes de la dispersión por hormigas reducirían el intercambio genético entre poblaciones, facilitarían las adaptaciones locales, y finalmente aumentarían la tasa de especiación con respecto a especies dispersadas por otros mecanismos (Tiffney 1984). Además, la mirmecocoria provee a las plantas dispersadas de ventajas que no están presentes en otros sistemas de dispersión, fundamentalmente el transporte al hormiguero, resultando en un aumento del *fitness* de las plantas y en un menor riesgo de extinción (Bond & Slingsby 1984, Rico-Gray & Oliveira 2007).

En un reciente trabajo, Lengyel *et al.* (2009) analizó los linajes de 101 especies de angiospermas, y al comparar los grupos hermanos, encontró que los linajes mirmecócoros tenían en promedio más del doble de especies que sus linajes hermanos no mirmecócoros. Los autores concluyen que la evolución de la mirmecocoria está

consistentemente asociada a una diversificación acelerada en las angiospermas, y predicen que las plantas dispersadas por hormigas se diversificarán más rápido que las plantas que poseen otros sistemas de dispersión.

De acuerdo a Stebbins (1970), la evolución de la mirmecocoria está determinada por la evolución del eleosoma. Teniendo en cuenta el rol dual del eleosoma en su función asociada a la germinación y en su función asociada a la dispersión, pueden plantearse dos hipótesis: 1) el eleosoma coevolucionó con las hormigas, es decir como una estructura adaptada a la dispersión por hormigas, o 2) el eleosoma es una exaptación, siendo su función original favorecer la retención y/o absorción de agua en ambientes áridos. Esta segunda hipótesis se basa en que ciertos caracteres adaptativos pueden evolucionar a partir de estructuras que surgieron en otro contexto, y con una función diferente de la observada actualmente (Darwin 1877, Gould & Vbra 1982, Armbruster 1997).

Con respecto a la primera hipótesis, Dunn *et al.* (2007), basándose en el análisis filogenético del linaje de las Monocotiledóneas y el registro fósil de hormigas, proponen que los eleosomas evolucionaron en respuesta al aumento en la abundancia ecológica de las hormigas ocurrida a fines del Eoceno.

Con respecto a la segunda hipótesis, Forest *et al.* (2007) plantean que, al menos en la familia Polygalaceae, la aparición del eleosoma hace 50-54 MA fue concomitante con un aumento global de la temperatura durante el Paleoceno–Eoceno, período en el cual se alcanzaron máximas termales hasta hoy no superadas (Zachos *et al.* 2001). Estas condiciones habrían favorecido la evolución del eleosoma como un apéndice de la semilla que favorece la retención y/o absorción de agua en ambientes áridos. El registro en ámbar de hormigas fósiles muestra un aumento en la abundancia de hormigas recién hacia fines del Eoceno medio (Grimaldi & Agosti 2000). Por tanto, la abundancia

ecológica de las hormigas fue posterior a la aparición del eleosoma, y éste habría tenido funciones originales asociadas a la retención de agua y a la dormición, ambas de extrema importancia en ambientes áridos (Bianchini & Pacini 1996, Lisci *et al.* 1996). En la familia Cactaceae, por ejemplo, la estructura esponjosa de origen funicular que recubre el *hilum* de las semillas de algunas especies tiene como función la absorción de agua (van Rheede van Oudtshoorn & van Rooyen 1999) y no sería atractiva a las hormigas (obs. pers. en especies del Monte, pero ver Bregman 1988 para la hipótesis opuesta).

### *5. La distribución geográfica de la mirmecocoria*

En una escala mundial, la mirmecocoria está presente en un número de ecosistemas y aún en ambientes donde las comunidades de hormigas son pobres en especies (Beattie 1983). Dentro de esta distribución global, la mirmecocoria es especialmente abundante en el sudoeste de Australia y en los *fynbos* de Sudáfrica. La flora australiana y sudafricana juntas concentran más del 95% de las plantas mirmecócoras de todo el mundo (Berg 1975, Bond *et al.* 1991, Rico-Gray & Oliveira 2007), y son considerados *hot-spots* para este mutualismo. La flora del SE Australiano alberga aprox. 1,500 especies mirmecócoras (Westoby *et al.* 1991), mientras que en Sudáfrica el número se estima en 1,300 (Slingsby & Bond 1981, Milewsky & Bond 1982, Bond & Slingsby 1983). Ambas regiones tienen un clima mediterráneo, suelos pobres en nutrientes, vegetación esclerófila arbustiva y alta frecuencia de incendios (Bond & Slingsby 1983). Característicamente las plantas mirmecócoras de estos ambientes son arbustos, con predominio de la diplocoria con dispersión explosiva como mecanismo de dispersión primaria, y sus semillas poseen eleosomas firmes y persistentes (Berg 1975). Tanto las causas por las cuales la mirmecocoria ha alcanzado su máximo desarrollo en estas

regiones, como las hipótesis sobre su convergencia evolutiva aún están en discusión (Dunn *et al.* 2007). En cambio, otras zonas semiáridas como la Cuenca Mediterránea y los desiertos del sur de Estados Unidos y México son pobres en plantas mirmecócoras (Berg 1966, O'Dowd & Hay 1980, Bullock 1989, Boyd 1996). Es interesante observar, sin embargo, que las pocas especies mirmecócoras de estas regiones presentan el mismo síndrome que las australianas y sudafricanas: son arbustos perennes, diplocóricas, y con eleosomas firmes y persistentes (Espadaler & Gómez 1996, Boyd 1996).

En el Hemisferio Norte, las hormigas dispersan el 35% de las especies que conforman el sotobosque en los bosques caducifolios templados de la costa este de Estados Unidos (Beattie & Lyons 1975, Culver & Beattie 1978, Handel *et al.* 1981) y el 7.2% en los bosques templados de Europa del Norte (Servigne 2008). En estos hábitats, el síndrome de la mirmecocoria presenta características diferentes al de los ambientes mediterráneos: los eleosomas son blandos y no persistentes, y las plantas mirmecócoras son herbáceas (Sernander 1906, Handel 1978).

En América del Sur, el papel de las hormigas como dispersoras de semillas ha sido estudiado principalmente en relación a su rol como dispersoras secundarias en los bosques tropicales y subtropicales (Levey & Byrne 1993, Böhning-Gaese *et al.* 1999, Pizo & Oliveira 1999), o como dispersoras accidentales de semillas no mirmecócoras (Milesi & López de Casenave 2004). La mirmecocoria *s.s.* ha sido estudiada en la región semi-árida de la Caatinga del NE de Brazil (Griz & Machado 2001, Leal *et al.* 2007), mientras que en Argentina no ha sido publicado hasta ahora un estudio que trate sobre este tema en forma específica. Aunque los trabajos taxonómicos botánicos de Argentina describen la presencia de eleosomas o arilos en ciertas especies de plantas, la dispersión de estas especies por hormigas nunca ha sido confirmada mediante ensayos a campo, y tampoco se conocen las especies de hormigas dispersoras involucradas.

## OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis es el estudio de la mirmecocoria en *Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae), haciendo especial énfasis en la biología de las hormigas dispersoras. Se plantea como hipótesis general que la dispersión de semillas por hormigas de *J. excisa* en el área de estudio es un mutualismo desigualmente difuso, donde una o unas pocas especies de hormigas dominan el proceso de dispersión.

Los objetivos específicos son detallados en cada capítulo en que se divide esta tesis, y comprenden:

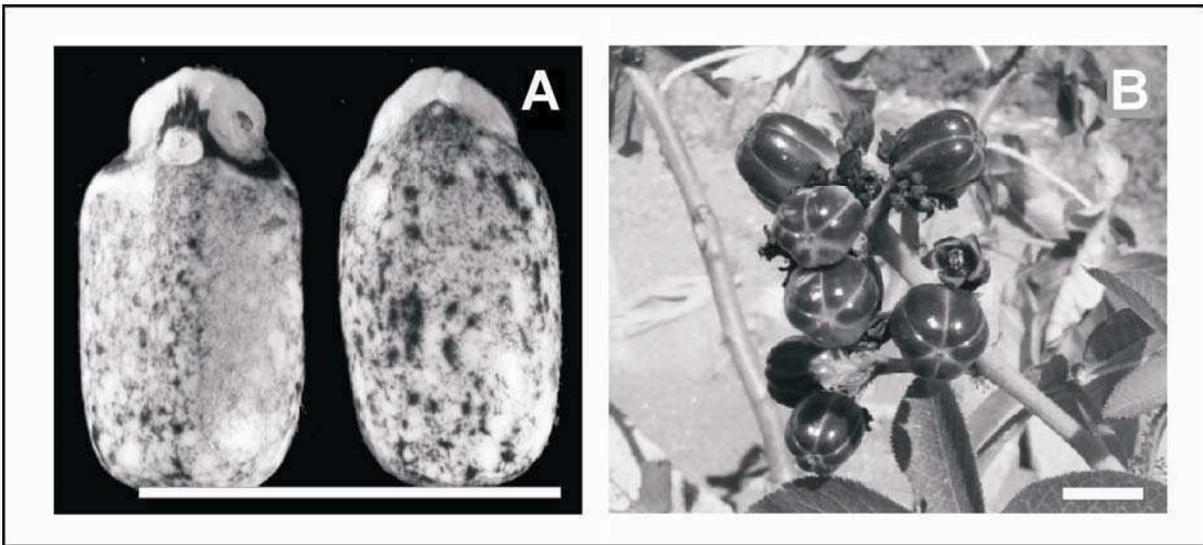
- 1) Describir la diplocoria como sistema de dispersión en *J. excisa*, y determinar la contribución de cada una de las fases de la dispersión (explosiva y por hormigas) en la distancia total de dispersión de las semillas (Capítulo 2).
- 2) Caracterizar el ensamble de hormigas que interactúan con las semillas de *J. excisa* en el área de estudio e identificar a la/s especies que se comportan como dispersoras (Capítulo 3).
- 3) Determinar el destino final de las semillas dentro de los hormigueros de su principal hormiga dispersora, *Pogonomyrmex cunicularius pencosensis* (Capítulo 4).
- 4) Estudiar diversos aspectos de la biología de *P. cunicularius pencosensis* que pudieran influir sobre su capacidad como dispersora de semillas de *J. excisa*: ritmo diario de actividad (Capítulo 5.I), comportamiento subordinado (Capítulo 5.II) y dieta (Capítulo 5.III)
- 5) Estudiar el efecto de la desecación del eleosoma sobre la atractividad de las semillas hacia *P. cunicularius pencosensis* (Capítulo 6).

# ***CAPÍTULO 1. Historia natural de *Jatropha excisa* y caracterización del área de estudio***

## ***1. Descripción de la planta***

*Jatropha excisa* Griseb. (Euphorbiaceae) es un arbusto perenne y caducifolio, con un amplio rango de distribución que abarca gran parte del Norte y Centro semiárido argentino, llegando hasta Bolivia hacia el NO y hasta Paraguay hacia el NE. En Argentina se la encuentra desde Salta hasta el sur de San Juan y desde la precordillera hasta Formosa (Lourteig & O'Donnell 1943, Font 2003). Dicha distribución comprende la provincia fitogeográfica del Chaco y la porción septentrional y central de la provincia fitogeográfica del Monte (Cabrera 1976).

Las plantas adultas alcanzan una altura de hasta 1.5 m, y el diámetro de su canopia es de hasta 1.5 m (Lám. 1B,C). Las hojas son simples y 5-partidas. Las inflorescencias son apicales y presentan flores hermafroditas y estaminadas, de color morado. Son características de la especie las numerosas glándulas en el pecíolo, hojas e inflorescencias. El cáudex es leñoso-suculento, con función de acumulación de reservas (Dehgan & Webster 1979). El fruto es un esquizocarpo de dehiscencia explosiva y está formado por tres carpelos, cada uno conteniendo una semilla (Fig. 1B). La semilla tiene forma oblonga y posee una testa dura y variegada, con una coloración desde castaño rojiza a pardo oscura (Fig. 1A). En la familia Euphorbiaceae, el eleosoma se forma en la región micropilar del tegumento externo del óvulo, donde constituye la llamada carúncula. En *J. excisa*, la carúncula es carnosa, de color blanquecino, y se encuentra firmemente unida al cuerpo de la semilla. En la Tabla 1 se describen las dimensiones y pesos de los frutos y semillas de *J. excisa*.



**Fig. 1** (A) Vista de las semillas de *J. excisa*, donde puede apreciarse el eleosoma en su porción micropilar; (B) rama con frutos de *J. excisa*. Barras de escala: 10 mm.

**Tabla 1** Caracterización morfométrica de los frutos y semillas de *Jatropha excisa*.

Los valores representan las medias  $\pm$  DE.

Peso fresco semilla (mg) <sup>†</sup>	60.7 $\pm$ 11.8
Peso fresco eleosoma (mg) <sup>†</sup>	2.32 $\pm$ 0.53
Cociente peso eleosoma/ peso semilla	0.039
Largo x ancho semilla (mm) <sup>†</sup>	7.73 $\pm$ 0.6 x 4.74 $\pm$ 0.2
Largo x ancho fruto (mm) <sup>‡</sup>	10.8 $\pm$ 0.5 x 9.14 $\pm$ 0.5

<sup>†</sup> N = 80 semillas, <sup>‡</sup> N = 30 frutos

Es común que las Euphorbiaceas presenten compuestos tóxicos en las semillas, hojas y/o frutos. Aunque no se han realizado análisis de toxicidad en *J. excisa*, el que sus hojas no sean consumidas por el ganado (obs. pers.), y el uso popular de sus

semillas como purgante (Ratera & Ratera 2007), hacen suponer que esta especie sea también tóxica para los vertebrados.

El género *Jatropha* es pantropical, comprendiendo 170 especies de las cuales 11 se encuentran en Argentina y 5 son endémicas de la región del Noroeste (*J. excisa*, *J. macrocarpa* Griseb., *J. hieronymi* Kuntze, *J. peiranoi* Lourteig & O'Donnell y *J. grossidentata* Pax & K. Hoffm.) (Lourteig & O'Donnell 1943). Todas estas especies presentan un eleosoma más o menos conspicuo y un sistema de dispersión diplocórico. Hacia el SE del área de estudio de esta tesis, es frecuente encontrar a *J. excisa* coexistiendo con *J. macrocarpa* y/o *J. hieronymi*.

Dentro de la familia Euphorbiaceae, la presencia del eleosoma es variable, aún dentro de un mismo género (Webster 1994). Se considera que los géneros con distribución en el Neotrópico y Australasia tienen más especies mirmecócoras que ornitócoras (*i.e.* dispersadas por pájaros), mientras que en el Paleotrópico la situación es la inversa (Webster 1994). También se postula que la autocoria explosiva es la condición plesiomórfica en la familia, mientras que la zoocoria es derivada y habría sido clave en la evolución y diversificación de las Euphorbiaceae del Nuevo Mundo (Webster 1994, Esser 2003).

Las especies de *Jatropha* presentes en el área de estudio presentan típicamente una distribución en parches, siendo estos parches de tamaño variable y separados por distancias también variables. Las poblaciones están frecuentemente asociadas a ríos transitorios provenientes de las sierras, los cuales suelen estar secos durante el año y excepcionalmente llenar su cauce con las lluvias del verano. Las especies de *Jatropha* no se propagan vegetativamente, en consecuencia la dispersión espacial de las poblaciones y la colonización de nuevos parches dependen exclusivamente de la dispersión de sus semillas.







## ***2. El área de estudio***

Todos los muestreos y ensayos a campo de esta tesis fueron realizados en la provincia de La Rioja, en el noroeste semiárido de Argentina. Fitogeográficamente los sitios de muestreo corresponden al Desierto del Monte, siguiendo a la delimitación realizada por Abraham *et al.* (2009). Hacia el este y siguiendo un gradiente ascendente de precipitaciones, se encuentran elementos del Chaco seco en mayor proporción que hacia el oeste, en donde predominan elementos característicos del Monte.

El Monte en esta región está caracterizado por un paisaje de sierras y bolsones, siendo éstos últimos cuencas cerradas de drenaje interno (Morello 1958, ver Abraham *et al.* 2009 para una completa descripción del bioma) (Lám. 1A). Fisionómicamente es una estepa arbustiva abierta, siendo la especie vegetal dominante *Larrea cuneifolia* Cav. (“jarilla”). Otros arbustos característicos son *Bulnesia retama* (Gillies ex Hook. & Arn.) Griseb., *Acacia furcatispina* (Burkart), *A. aroma* Gillies ex Hook. & Arn., *Senna aphylla* (Cav.) H.S. Irwin & Barneby y *Cercidium praecox* (Ruiz & Pav. ex Hook.) Harms. Típicamente los arbustos son esclerófilos, áfilos y/o espinosos, y su altura no supera los 2 m. A lo largo de los lechos de los ríos con cauce transitorio, y donde sea posible absorber agua de las capas freáticas, pueden encontrarse algarrobos (*Prosopis* spp.). La vegetación herbácea está formada por diversas especies de Cactaceae (*Opuntia* spp., *Gymnocalycium* spp., *Echinopsis* spp., *Tephrocactus* spp. y *Trichocereus* spp.), gramíneas y efímeras de verano. Hacia el piedemonte los grandes cactus columnares (*Trichocereus terscheckii* (Parm. ex Pfeiff.) Britton & Rose) se hacen abundantes. La cobertura vegetal es baja, y los suelos son arenosos, profundos y carecen de horizontes (aridisoles, Abraham *et al.* 2009). Hacia el este hay un aumento de especies características del Chaco, como *Aspidosperma quebracho-blanco* Schltld., otras especies de *Bulnesia* (*B. bonariensis* Griseb. y *B. foliosa* Griseb.), la Cactaceae

*Stetsonia coryne* (Salm-Dyck) Britton & Rose (cardón moro) y la Bromeliaceae *Deuterocohnia longipetala* (Baker) Mez (chaguar).

Climáticamente, es una zona árida a semiárida (Morello 1958), con un marcado ciclo estacional y diario de temperatura. La precipitación media anual es entre 100 y 350 mm, casi exclusivamente concentrados durante la temporada de lluvias de primavera y verano, y sujeta a una alta variación inter-anual. La temperatura media anual es de 16.6 °C, durante el verano las máximas alcanzan 40°C y durante el invierno las mínimas llegan hasta -5°C (Estación Meteorológica Anillaco, datos 2000-2008). Esta estacionalidad determina que la productividad del Monte esté limitada al período de lluvias, mientras que durante la temporada seca es característica la hibernación de muchas especies animales y el estado quiescente de las plantas.

El Monte es un desierto determinado por las sombras de montaña, donde las cadenas de las Sierras Pampeanas al este y los Andes y la precordillera al oeste impiden el paso de los vientos húmedos. A este respecto, es una zona climática y fisionómicamente muy semejante a los Desiertos de Sonora, Mojave y Chihuahua del sur de USA y México (Morello 1972). Más aún, estos dos biomas tienen un alto número de especies vegetales muy similares, como por ejemplo *Larrea tridentata* Sessé & Moc. ex DC. (*creosote bush*), que reemplaza a la jarilla como elemento dominante del paisaje.

### *Sitios de muestreo*

Los muestreos y experimentos a campo se realizaron en un total de siete sitios ubicados dentro un área de aproximadamente 2,800 km<sup>2</sup>, en dirección NE de la ciudad de La Rioja y flanqueada por las Sierras de Velazco al Oeste y las Sierras de Mazán-Ambato hacia el Este (Lám. 2). Las características generales de estos sitios se describen en la

Tabla 2, así como las abreviaturas con las que a lo largo de esta tesis se hará referencia a cada sitio de muestreo.

**Tabla 2 Localización y breve descripción de los sitios de estudio de esta tesis.**

Sitio	Coordenadas geográficas	Elevación (m.s.m.)	Tipo de hábitat	Presencia de <i>J. excisa</i>
Puerta de Huaco 1 (PH)	28°50'S 66°39'W	927	Monte semi-árido	-
Puerta de Huaco 2 (PHE)	28°54'S 66°39'W	699	Monte semi-árido	+
Anjullón (ANJ)	28°42'S 66°56'W	1389	Llanura aluvial – Monte	+
Señor de la Peña (SP)	28°47'S 66°53'W	1263	Monte árido*	-
Señor de la Peña Piedemonte (SPP)	28°46'S 66°45'W	945	Piedemonte - Monte	+
Carrizal (CAR)	29°03'S 66°41'W	669	Ecotono Monte / Chaco	+
Juan Caro (JC)	29°14'S 66°48'W	721	Piedemonte – Ecotono Monte /Chaco	+

\*Precipitación media anual < 150 mm







## *CAPÍTULO 2. Las distancias de dispersión*

### **Introducción**

Frecuentemente las semillas son dispersadas a través de procesos complejos de múltiples pasos y que involucran a más de un agente de dispersión. Una estrategia de dispersión que combina dos o más fases, donde en cada fase actúa un mecanismo de dispersión diferente, se denomina diplocoria (Vander Wall & Longland 2004). La diplocoria permite una mayor eficiencia en la dispersión de las semillas en comparación con la que putativamente obtendría la planta si utilizara un único sistema de dispersión (Vander Wall & Longland 2004). En general, en la fase I de dispersión la semilla es transportada lejos del área de influencia de su planta madre, mientras que en la fase II la semilla es transportada a sitios en donde la probabilidad de germinación y establecimiento de las plántulas es desproporcionadamente alta con respecto a una distribución azarosa (Vander Wall & Longland 2004).

La diplocoria puede combinar vectores abióticos con bióticos, o utilizar dos vectores bióticos diferentes. Un número de especies de plantas presentan un sistema de dispersión por diplocoria que combina autocoria por dispersión explosiva o balística, y mirmecocoria o dispersión por hormigas. En la fase I de la dispersión, la semilla es dispersada desde la planta madre a la superficie del suelo a través de la dehiscencia explosiva del fruto, mientras que en la fase II la semilla es redistribuida por las hormigas en un movimiento horizontal hacia los hormigueros. Esta forma de diplocoria ha sido descrita en varias familias de plantas, por ejemplo Fabaceae (*e.g.* Berg 1975, López-Vila & García-Fayos 2005), Violaceae (Beattie & Lyons 1975, Stamp & Lucas

1990, Ohkawara & Higashi 1994) y Euphorbiaceae (Berg 1975, 1990, Armbruster 1982, Lisci & Pacini 1997, Leal *et al.* 2007, Beaumont *et al.* 2009).

La dispersión explosiva o balística es un tipo de autocoria en el que las semillas son dispersadas a través de la dehiscencia súbita del fruto. Las distancias a las que son dispersadas las semillas, tanto por dispersión balística como por hormigas, son cortas en comparación con las distancias alcanzadas por semillas dispersadas por el viento o por vertebrados, siendo típicamente menores a 5 m (ver Hughes *et al.* 1994a y referencias incluidas). Mientras que las distancias por dispersión explosiva están limitadas por el mecanismo físico en sí mismo (Stamp & Lucas 1983, Willson 1993), las distancias por mirmecocoria están limitadas por las distancias a las que las hormigas son capaces de transportar las semillas.

Un serie de estudios han evaluado la importancia relativa de la dispersión explosiva respecto de la dispersión por hormigas en especies diplocóricas (Culver & Beattie 1980; Stamp & Lucas 1983; Ohkawara & Higashi 1994; Lisci & Pacini 1997; Narbona *et al.* 2005, Beaumont *et al.* 2009). Sin embargo, los beneficios resultantes de la combinación de ambos mecanismos de dispersión son poco claros, y en particular hay pocos datos cuantitativos sobre las distancias alcanzadas por dispersión explosiva.

La hipótesis de la dispersión por distancia postula que uno de los beneficios de la mirmecocoria es la distancia de dispersión *per se* (Giladi 2006 y referencias incluidas). En plantas diplocóricas, donde las semillas son dispersadas inicialmente por dispersión explosiva, es importante considerar la contribución de cada sistema de dispersión a la distancia neta de dispersión. Se ha postulado que las distancias a las que las hormigas transportan las semillas son mayores que las distancias alcanzadas por dispersión explosiva (Stamp & Lucas 1990), y que la presencia de un eleosoma en la semilla altera su aerodinámica (Beattie & Lyons 1975). En plantas diplocóricas,

existiría así un compromiso entre los requerimientos morfológicos para la dispersión explosiva y aquellos para la dispersión por hormigas, tal que las plantas deben optimizar o uno u otro mecanismo (Beattie & Lyons 1975, Stamp & Lucas 1983).

## **Objetivos**

El objetivo de este capítulo es determinar la contribución de cada fase de la dispersión diplocórica (autocoria y mirmecocoria) a la distancia total de dispersión alcanzada por las semillas de *J. excisa* mediante la combinación de ambos sistemas. Asimismo, se plantea como hipótesis que la presencia del eleosoma favorece la remoción de las semillas de *J. excisa* por hormigas. Adicionalmente, mediante experimentos de exclusión se determina si las semillas de *J. excisa* son removidas por vertebrados.

## **Materiales y Métodos**

### *Sitios de muestreo y especies vegetales*

El estudio se realizó entre febrero y abril de 2008, período en el que ocurre naturalmente la dispersión de semillas de *J. excisa* en el área de estudio. Los frutos de *J. excisa* fueron recolectados en el sitio PHE (ver Lám. 2 y Tabla 2 para la descripción de los sitios) a partir de 20 individuos elegidos al azar dentro de la población, y colocados en contenedores de plástico expuestos al sol con el fin de acelerar su maduración.

## *Dispersión por dehiscencia explosiva*

Las distancias por dispersión explosiva se estimaron mediante condiciones semi-experimentales. El sistema se armó al aire libre, en el centro de un amplio espacio abierto y libre de vegetación situado en el Instituto CRILAR, Anillaco, La Rioja. Siete ramas fructíferas de *J. excisa* (cada una portando de siete a diez cápsulas) que presentaran signos de pronta dehiscencia fueron tomadas al azar y unidas con cinta de papel a un alambre de 4 m de longitud colocado a una distancia de 1.8 m del suelo. Las ramas fructíferas se unieron en una posición erecta con respecto al suelo, siguiendo la orientación que presentan naturalmente sobre la planta. Sobre el suelo se colocó un cuadrado de tela “media sombra” (20 x 20 m) centrado en el sistema, con el fin de evitar que la semillas rueden una vez que tocaron el suelo. Se asumió que las condiciones climáticas en Anillaco son idénticas o muy semejantes a los sitios donde crece naturalmente la planta. Asimismo, todos los ensayos se realizaron en días soleados y sin viento.

Los ensayos comenzaron temprano por la mañana, cuando se seleccionaron y ataron los frutos al sistema. A lo largo del día, desde las 07:00 hasta las 19:00 h, y a intervalos de una hora, se inspeccionó el área en busca de semillas que hubieran sido eyectadas. Cuando una semilla se encontró sobre la tela, se determinó la posición de la cápsula explotada de la que fuera eyectada, y se midió con una cinta métrica la distancia desde el punto de caída hasta el punto situado inmediatamente debajo de la cápsula. Cuando más de un fruto explotó en el mismo período de tiempo, la distancia fue medida respecto de la cápsula más cercana, con el fin de evitar sobreestimaciones. Para estudiar la existencia de una correlación entre la distancia de dispersión y el peso de la semilla, cada semilla eyectada fue marcada con un código y pesada en el mismo día en una balanza electrónica.

Cada día, y a medida que las cápsulas iban explotando, éstas fueron siendo reemplazadas con nuevas cápsulas, manteniendo las posiciones de unión al alambre constantes. Las mediciones se hicieron en forma continua durante un período de dos semanas. En total, se midieron las distancias de 370 semillas.

### *Dispersión por hormigas*

Las distancias de dispersión por hormigas fueron estimadas mediante experimentos de cafetería (*i.e.* ofrecimiento de semillas) durante febrero 2008. En el sitio JC se trazaron al azar tres transectas de 80 m, separadas entre sí por al menos 20 m y alejadas al menos 2 km de la ruta más cercana. A lo largo de cada transecta, se establecieron estaciones cada 10 m (*i.e.* 8 estaciones por transecta), una distancia que asegura que cada estación sea visitada por hormigas provenientes de diferentes colonias. En cada estación de muestreo se colocaron depósitos pareados de semillas consistentes en un círculo de cartón de 10 cm de diámetro, anclado al suelo con clavos de metal. En uno de los depósitos fueron colocadas 10 semillas intactas (con eleosoma), mientras que en el depósito pareado fueron colocadas 10 semillas sin eleosoma (10 semillas x 2 tratamientos x 8 estaciones x 3 transectas = 480 semillas y 240 semillas por tratamiento). El eleosoma fue removido bajo lupa con ayuda de un escalpelo y utilizando guantes de látex, cuidando que no queden restos del mismo sobre el cuerpo de la semilla. Las semillas ofrecidas se obtuvieron de frutos abiertos el mismo día o el día anterior a la realización de los experimentos. El ensayo se llevó a cabo desde las 07:00 h hasta las 20:00 h. Al finalizar el experimento, se contó el número de semillas removidas de cada estación, considerándose que una semilla fue removida<sup>1</sup> cuando fue encontrada a más de 50 cm del depósito. Para determinar las distancias de dispersión

---

<sup>1</sup> En esta tesis el término remoción se aplica al transporte activo de las semillas por agentes bióticos.

por hormigas, las estaciones en las que se ofrecieron semillas con eleosoma fueron inspeccionadas en forma continua a lo largo de cada ensayo. Cada vez que se observó a una hormiga o grupo de hormigas removiendo una semilla, se siguió su trayecto hasta su llegada al hormiguero, o hasta que la semilla fuera abandonada o dejada caer durante el trayecto. La distancia de transporte se determinó mediante una cinta métrica.

### *Remoción de semillas por vertebrados*

Para determinar si las semillas de *J. excisa* son también removidas por vertebrados, 10 depósitos de semillas separados por al menos 10 m fueron dispuestos al azar en los sitios PHE y JC. Cada depósito consistió en la base de una caja de Petri plástica de 90 cm de diámetro, donde se colocaron 5 semillas. Para excluir a las hormigas, cada caja de Petri fue elevada del suelo aprox. 1 cm mediante un clavo de metal unido a su parte central, y sus bases y bordes fueron recubiertos con Tanglefoot, una sustancia pegajosa no tóxica. Cada depósito fue inspeccionado dos veces al día durante cuatro días consecutivos, y el ensayo se repitió tres veces ( $N = 60$ , 10 depósitos x 2 sitios x 3 repeticiones).

### *Análisis de los datos*

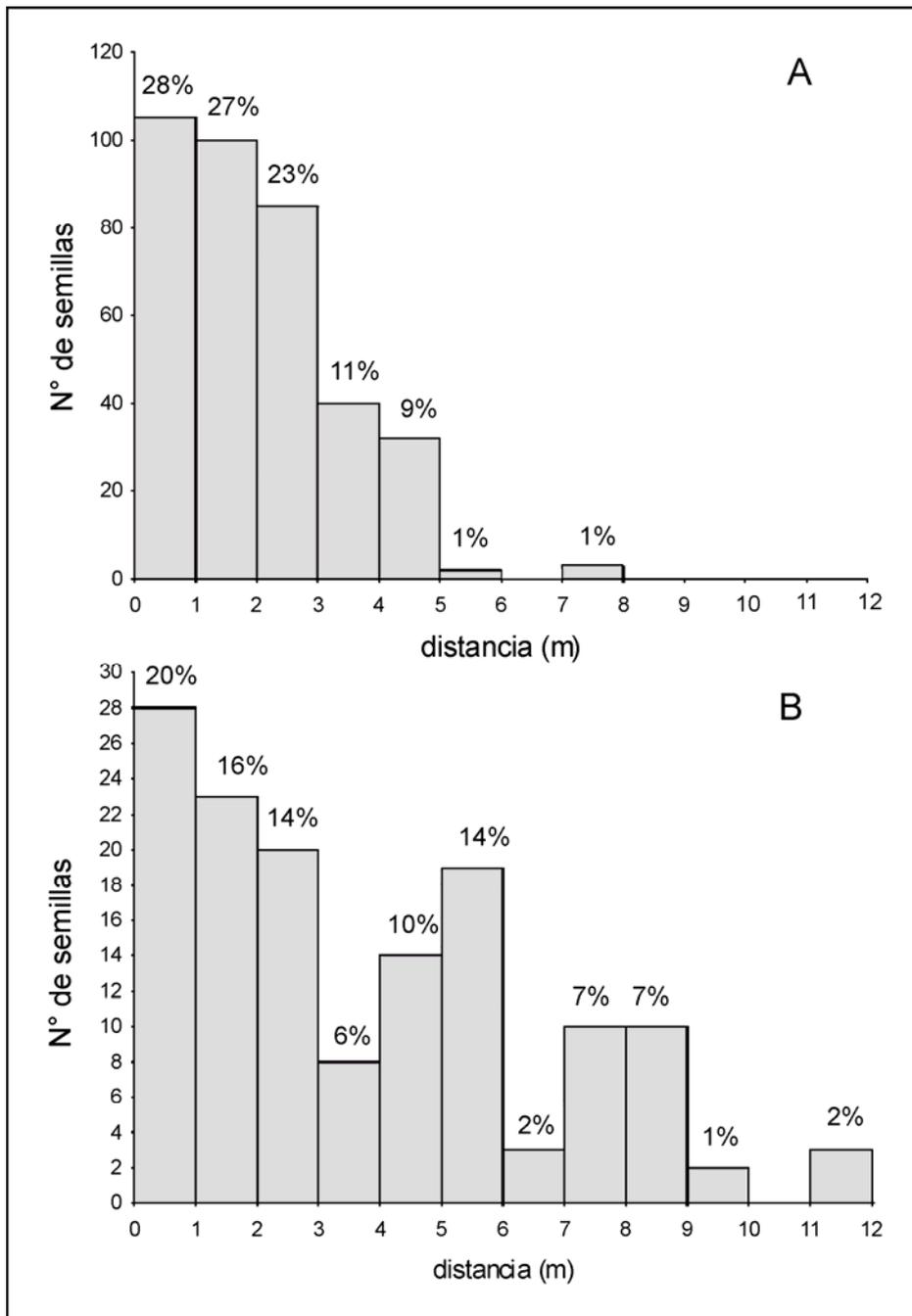
Las distancias por dispersión explosiva y por hormigas presentaron una distribución altamente sesgada, por lo que las distancias entre ambas formas de dispersión fueron comparadas mediante una prueba de Mann-Whitney-U no paramétrica. Mediante una correlación no paramétrica de Spearman se analizó si las distancias por dispersión explosiva dependieron del peso de las semillas.

La tasa de remoción de semillas por hormigas se estimó como la proporción de semillas removidas de cada estación al término de las 12 horas del ensayo. Cada estación se consideró como una unidad de muestreo y cada transecta una unidad experimental o de repetición. Mediante Modelos Lineales Generalizados Mixtos (GLZM) se analizó el efecto de la presencia/ausencia de eleosoma sobre la proporción de semillas removidas de cada estación, ajustando la variable dependiente (proporción de semillas removidas) a una distribución binomial con función logit y usando como criterio de evaluación del modelo el Criterio de Información de Akaike (AIC), donde un menor valor de AIC indica un mejor ajuste del modelo (Crawley 2007). Las transectas ( $n = 3$ ) y las estaciones ( $n = 8$ ) fueron incluidas como factores aleatorios, con las estaciones anidadas dentro de las transectas y el tratamiento (presencia/ausencia de eleosoma) fue considerado como un factor fijo. Los análisis estadísticos se realizaron con los programas STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc. 1998) y R versión 2012 (R development Core Team, 2005). Estos mismos programas estadísticos fueron usados para todos los análisis a lo largo de esta tesis.

## **Resultados**

### *Distancias de dispersión por dehiscencia explosiva*

Las semillas de *J. excisa* fueron dispersadas una distancia media de  $1.97 \pm 0.07$  m ( $\pm$  EE,  $N = 370$ ), con un rango de distancias desde 0.1 hasta 7.65 m. La curva de dispersión mostró una mediana de 1.68 m y una moda de 1.12 m. El 55 % de las semillas fueron dispersadas a distancias menores a 2 m (Fig. 2A).



**Fig. 2** Histograma de frecuencias de las distancias de dispersión de semillas de *J. excisa*. (A) Distancias de dispersión explosiva medidas bajo condiciones semi-experimentales ( $N = 370$ ), (B) distancias de dispersión por hormigas medidas a campo ( $N = 140$ ). Los valores en el eje  $x$  representan el límite máximo para cada clase. Sobre cada columna se muestra el porcentaje de semillas correspondiente a cada clase.

### *Distancias de dispersión por hormigas*

Debido a la baja cobertura vegetal del sitio de muestreo, la mayor parte de las hormigas que fueron observadas removiendo semillas de las estaciones pudieron ser seguidas a sus hormigueros, midiéndose un total de 140 distancias de transporte. Las semillas de *J. excisa* fueron transportadas una distancia media de  $3.70 \pm 0.24$  m ( $\pm$  EE), con una mediana de 2.9 m y una moda de 1.2 m. El 36 % de las semillas fueron dispersadas a distancias menores a 2 m, mientras que el restante 64% fueron dispersadas a distancias mayores a 2 m, con una máxima observada de 12 m (Fig. 1B).

### *Comparación entre las distancias de dispersión por autocoria y mirmecocoria*

Las hormigas transportaron las semillas de *J. excisa* a distancias significativamente mayores que las alcanzadas por dehiscencia explosiva (prueba de Mann Whitney,  $U = 17599$ ,  $Z = -5.58$ ,  $p < 0.001$ ).

### *Remoción de semillas por hormigas*

Las hormigas removieron aproximadamente tres veces más semillas de *J. excisa* con eleosoma que sin éste ( $83.75 \pm 2.6$  % vs.  $23.75 \pm 3.37$  %, medias  $\pm$  EE,  $n = 3$ ) luego de 12 horas de iniciarse el ensayo. El análisis mediante GLZM mostró que la presencia del eleosoma influyó significativamente sobre la probabilidad de remoción por hormigas, siendo ésta menor en aquellas semillas en las que el eleosoma fue experimentalmente removido ( $coef. = -2.54$ ,  $EE = 0.22$ ,  $z = -11.28$ ,  $p < 0.001$ ), mientras que los efectos aleatorios y sus interacciones no tuvieron efectos significativos ( $p = 0.17$  y  $0.08$  respectivamente).

## *Remoción de semillas por vertebrados*

Los ensayos de exclusión mostraron la ausencia de remoción de las semillas de *J. excisa* por vertebrados.

## **Discusión**

En primer lugar, los resultados confirman que *J. excisa* posee un mecanismo de dispersión diplocórico, en el que en una primera fase las semillas son dispersadas por la dehiscencia explosiva de sus frutos y en una segunda fase son dispersadas por hormigas. En segundo lugar, la presencia del eleosoma influyó positivamente sobre la probabilidad de remoción de las semillas por hormigas. Las semillas con eleosoma fueron removidas en mayor proporción que las semillas sin eleosoma, indicando que el eleosoma aumenta la atractividad de las semillas hacia las hormigas que iniciarán el proceso de dispersión.

La probable toxicidad de las semillas explicaría la ausencia de remoción por vertebrados, por lo que en el área de estudio las hormigas serían los únicos removedores de las semillas de esta especie. Zorros, roedores o aves nunca fueron observados alimentándose de estas semillas. Aunque no se descarta que mayores tiempos de exposición puedan resultar en que un cierto número de semillas sean removidas por vertebrados, la rápida remoción de las semillas realizada por las hormigas (84 % de las semillas con eleosoma removidas luego de 12 horas) indica que es poco probable que una semilla de esta especie permanezca expuesta en la superficie del suelo durante tiempos más prolongados.

Las distancias medias de dispersión alcanzadas a través del transporte por hormigas superaron a las distancias medias alcanzadas por dispersión explosiva. La

existencia de la mirmecocoria como segundo sistema de dispersión contribuyó en un 65% al total de la distancia alcanzada por la combinación de ambos sistemas, indicando que la mirmecocoria otorga a las plantas dispersadas el beneficio de la dispersión por distancia. Las distancias medias de dispersión explosiva (1.97 m) y las distancias medias de dispersión por hormigas (3.70 m) resultan en una distancia media total de dispersión de 5.67 m. Considerando que el escape de la inmediata vecindad de la planta madre depende de que las semillas superen el diámetro de la canopia de la planta parental (Howe & Smallwood 1982, Hughes *et al.* 1994a), siendo éste menor a 1.5 m en *J. excisa*, la existencia de la mirmecocoria como segundo sistema de dispersión asegura que el grueso de las semillas de *J. excisa* sea dispersado fuera de la influencia de la planta parental. En consecuencia, puede concluirse que la mirmecocoria en *J. excisa* otorga a la planta el beneficio de la dispersión por distancia.

Mientras que las distancias alcanzadas por dispersión explosiva se encuentran dentro del rango de las descritas para otras especies con este síndrome (Stamp & Lucas 1990, Lisci & Pacini 1997, Garrison *et al.* 2000, Narbona *et al.* 2005), las distancias de dispersión por hormigas medidas en este estudio superan a las típicamente cortas distancias descritas en general para la mirmecocoria. En un meta-análisis realizado sobre más de 2,500 distancias publicadas en la literatura sobre el tema, Gómez & Espadaler (1998a) calcularon una media global de distancias de dispersión por hormigas de 0.96 m. Sin embargo, las distancias en las que se basó este meta-análisis podrían estar sesgadas hacia distancias cortas de dispersión, al provenir los datos principalmente de zonas húmedas del Hemisferio Norte, donde las plantas mirmecócoras son mayormente herbáceas (Whitney 2002). En cambio, en zonas áridas y semiáridas, donde las plantas mirmecócoras son mayormente arbustivas, las distancias de dispersión por hormigas serían mayores que en los ambientes húmedos (Whitney 2002). Por ejemplo,

en Australia se han registrado distancias de transporte de hasta 180 m efectuadas por hormigas del género *Iridomyrmex* (Whitney 2002), y la especie de hormiga *Rhytidoponera "metallica"* (del grupo de especies "*metallica*") transporta semillas mirmecócoras distancias de hasta 10 m (Horvitz & Beattie 1980, Andersen 1988, Gómez & Espadaler 1998a).

En ambientes áridos y con suelos infértiles, las curvas de dispersión con colas más largas aumentan la probabilidad de que una semilla termine en un sitio favorable para su posterior establecimiento como planta (Green 1983). Asimismo, distancias mayores de dispersión por hormigas implican un ensamble de hormigas dispersoras sesgado hacia un tamaño corporal grande, un carácter morfológico de las hormigas que ha sido correlacionado con mayores distancias de transporte (Pudlo *et al.* 1980, Ness *et al.* 2004). Efectivamente, la especie observada más frecuentemente transportando la semilla de *J. excisa* durante los ensayos, *Pogonomyrmex cunicularius pencosensis* Forel (Myrmicinae), es una hormiga de tamaño corporal grande (9 – 9.5 mm). Por ejemplo, en Sudáfrica la invasión de la hormiga argentina *Linepithema humile*, de tamaño corporal pequeño, resultó en una disminución de las distancias medias de dispersión por mirmecocoria con respecto a aquellas áreas que conservaron su ensamble nativo (Bond & Slingsby 1984), llevando incluso a la extinción local de plantas nativas dependientes de esta interacción (Christian 2001).

En el área de estudio, las poblaciones de *J. excisa* forman típicamente parches separados por distancias que pueden superar la centena de kilómetros (obs. pers.). La colonización de nuevos parches a grandes distancias de la población parental y el intercambio genético entre poblaciones podrían entonces ocurrir sólo a través de eventos de dispersión de larga distancia (LDD) (Cain *et al.* 1998). A pesar que estos eventos son sucesos raros, la baja frecuencia en que ocurren no resta importancia a sus

consecuencias ecológicas. Por ejemplo, en los desiertos de Australia, se han descrito eventos de dispersión de larga distancia de plantas mirmecócoras a través de la ingesta ocasional de sus semillas por emúes (Calviño-Cancela *et al.* 2006, He *et al.* 2009). En el Desierto de Mojave, las semillas mirmecócoras de *Datura discolor* pueden ser dispersadas a grandes distancias a través de las correntadas transitorias que ocurren luego de una precipitación intensa (O'Dowd & Hay 1980). En el área de estudio de esta tesis, es probable que eventos de dispersión de larga distancia utilizando como medio de transporte a las correntadas que se forman en la época lluviosa, ocurran en forma más o menos frecuente. Esto explicaría la localización de las poblaciones de ambas especies en zonas adyacentes a lechos de ríos transitorios.

Es menester hacer notar que las distancias de dispersión explosiva medidas en condiciones semi-experimentales pueden diferir de las distancias de dispersión en poblaciones naturales, donde factores como la densidad de la vegetación circundante, la pendiente del terreno, obstáculos en el suelo y la velocidad del viento pueden alterar la forma de la curva de dispersión. Sin embargo, los resultados obtenidos permiten obtener una estimación del potencial de la dispersión explosiva para *J. excisa*.

## **Conclusiones**

*J. excisa* posee un mecanismo de dispersión diplocórico, en el que en una primera fase las semillas son dispersadas por la dehiscencia explosiva de sus frutos y en una segunda fase son dispersadas por hormigas. Experimentos a campo mostraron que la presencia del eleosoma aumentó la probabilidad de que las semillas sean removidas por hormigas, siendo éstas los únicos removedores de las mismas en el área de estudio. Las distancias alcanzadas por las semillas al ser transportadas por hormigas superaron a las distancias alcanzadas por dispersión explosiva, contribuyendo en un 65% a la distancia total de

dispersión por combinación de ambos sistemas. La existencia de la mirmecocoria como segundo sistema de dispersión en *J. excisa* resulta en el beneficio para la planta del aumento de la distancia de dispersión *per se*, asegurando que la mayor parte de las semillas dispersadas se alejen del área de influencia de la planta parental.

## *CAPÍTULO 3. Las hormigas dispersoras*

### **Introducción**

Las interacciones mutualistas que involucran a plantas y a hormigas, y la mirmecocoria en particular, son consideradas relaciones generalistas, en las que una especie de planta interacciona con múltiples especies de hormigas (Beattie 1985). Por ejemplo, Beattie & Culver (1981) describen 9 especies de hormigas que interaccionan con 10 especies de plantas mirmecócoras en Virginia, USA; Hanzawa *et al.* (1988) describen 9 especies atraídas por las semillas de *Corydalis aurea* en Colorado, USA, y Leal *et al.* (2007) describen 18 especies que interaccionan con semillas de 27 especies de plantas de la región de la Caatinga del NE de Brazil. Es por esto que, al caracterizar un sistema mirmecócoro, se habla de un ensamble de hormigas, refiriéndose al conjunto de especies de hormigas que en un determinado sitio interaccionan con las semillas de una o más especies de plantas.

El carácter generalista de la mirmecocoria se debe a que el eleosoma, la parte atractiva de la semilla, ofrece una recompensa en forma no selectiva (denominada por Beattie (1985) *open reward*). Es decir, el eleosoma atraerá tanto a hormigas dispersoras como a hormigas no dispersoras, que simplemente comerán el eleosoma sin transportar la semilla. Estas especies de hormigas, también llamadas estafadoras de semillas, tienen un efecto negativo sobre la interacción desde la perspectiva de la planta, ya que sus semillas no serán dispersadas (Giladi 2006). Más aún, debido al consumo parcial o completo del eleosoma, perderían atractivo ante las especies que en cambio sí actúan como dispersoras (Castro *et al.* 2010). A su vez, las hormigas dispersoras pueden clasificarse en dispersoras de alta o baja calidad, en donde una mejor calidad del

servicio de dispersión implica una mayor ganancia en *fitness* de la planta (Hughes & Westoby 1992a, Espadaler & Gómez 1996). En consecuencia, el destino de la semilla dependerá sustancialmente de la identidad de la hormiga atraída por el eleosoma (Giladi 2006).

En base a estos conocimientos, los últimos trabajos publicados sobre la mirmecocoria discuten el carácter generalista de esta interacción, planteando que es menos difusa de lo que se pensaba y que ciertos caracteres de la planta buscan atraer a hormigas dispersoras de alta calidad (Giladi 2006, Gove *et al.* 2007, Ness *et al.* 2009). Gove *et al.* (2007) nombran a estas dispersoras de alta calidad como especies dispersoras clave (*keystone species*). Las especies clave son aquellas especies de hormigas dispersoras (en el orden de una o dos dentro de una comunidad) que tienen un papel desproporcionalmente importante en la interacción, ya sea por el alto número de semillas que remueven como por la calidad de la dispersión que brindan. En estos casos, el mutualismo es desigualmente difuso, en contraposición a un mutualismo igualmente difuso, en donde múltiples mutualistas contribuyen en forma similar en cuanto a la frecuencia y calidad de sus servicios (Zamora 2000).

Una serie de trabajos han apoyado la hipótesis de la mirmecocoria como mutualismo desigualmente difuso. En Australia, *Rhytidoponera violaceae* domina la dispersión de plantas mirmecócoras (Gove *et al.* 2007), en los bosques templados de América del Norte, *Aphaenogaster rudis* es responsable de la mayor parte de los eventos de dispersión de semillas con eleosoma (Zelikova *et al.* 2008, Ness *et al.* 2009), mientras que en la Península Ibérica sólo dos especies de hormigas, *Camponotus cruentatus* y *Formica lugubris*, dispersan la mayor parte de las semillas de la planta mirmecócora *Helleborous foetidus* (Manzaneda & Rey 2009).

## Objetivos

El objetivo principal de este capítulo es identificar a las especies de hormigas que interaccionan con las semillas de *Jatropha excisa* en el área de estudio y caracterizar su comportamiento interactivo. Se plantea como hipótesis que la mirmecocoria en el sistema en estudio es un mutualismo desigualmente difuso, en donde la remoción de las semillas de *J. excisa* está dominada por una o unas pocas especies de hormigas de la comunidad. Por tanto, se espera que variaciones en la tasa de remoción de semillas en diferentes sitios de muestreo estén relacionadas positivamente con la abundancia de una o unas pocas especies de hormiga en particular, y no con variaciones en la abundancia y composición de la comunidad de hormigas en general.

## Materiales y Métodos

### *Sitios de muestreo*

El estudio se realizó durante los meses de enero y febrero de 2010, durante los cuales *J. excisa* libera sus semillas por dehiscencia explosiva y la actividad de las hormigas en la zona es alta. Como sitios de muestreo se seleccionaron seis hábitats: ANJ, PH, PHE, CAR, SP y SPP (Lám. 2, ver Tabla 2 para la descripción de los sitios), abarcando un área aproximada de 1,600 km<sup>2</sup> y con un rango de distancia entre sitios desde 5 a 46 km.

Aunque los sitios de muestreo comparten gran parte de la especies que componen su comunidad vegetal, difieren en otros aspectos tales como la elevación, el porcentaje de cobertura vegetal, la topografía y la presencia/ausencia de *J. excisa*. Mientras que los sitios PH, PHE, ANJ y SPP representan ambientes típicos del Monte, los sitios SP y CAR muestran una fisionomía diferente. El sitio SP presenta una muy

baja cobertura vegetal, probablemente por la menor disponibilidad de agua, mientras que el sitio CAR representa un ecotono Monte-Chaco, con una mayor cobertura y diversidad vegetal.

### *Caracterización de la comunidad de hormigas*

En cada uno de los seis sitios de muestreo se estimó la riqueza de especies de hormigas y su abundancia usando el método de captura por trampas de caída. Este método, que captura azarosamente artrópodos que caminan sobre el suelo, ha sido demostrado idóneo para el estudio de las comunidades de hormigas terrestres (Bestelmeyer *et al.* 2000). En cada sitio de muestreo, se establecieron al azar cinco transectas de 100 m, separadas al menos 100 m entre sí y a una distancia mínima de 2 km de la ruta o camino adyacente. En cada transecta se marcaron 10 estaciones de muestreo, separadas al menos 10 m entre sí. Cada estación representa una unidad de muestreo ( $N = 50$  por sitio), y cada transecta una unidad experimental o de repetición ( $n = 5$  por sitio).

Las trampas consistieron en potes plásticos de 4 cm de diámetro y 30 ml de volumen, conteniendo hasta la mitad de su capacidad propano-1,2-diol (propilenglicol), un preservante líquido que ni atrae ni repele a las hormigas (Andersen 1991, Bestelmeyer *et al.* 2000) (Lám. 3A). En cada estación de muestreo, las trampas de caída fueron enterradas a ras de la superficie del suelo, y dejadas por un período de 72 h. En todos los sitios, las trampas se operaron simultáneamente. Al cabo de los tres días, las hormigas atrapadas fueron contadas e identificadas a especie o morfoespecie usando claves taxonómicas de Kusnezov (1978), Fernández (2003) y Cuezso & Claver (2009). La identificación de *P. cunicularius pencosensis* a nivel de subespecie se realizó siguiendo una clave taxonómica de R. Johnson (comunicación personal).

## *Caracterización del ensamble de hormigas dispersoras y experimentos de remoción de semillas*

El ensamble de hormigas dispersoras y la tasa de remoción de semillas se determinaron mediante experimentos de cafetería. Este método de muestreo consiste en ofrecer un cebo, en este caso semillas de *J. excisa*, a lo largo de estaciones de muestreo, y mediante observaciones y recuentos determinar las especies y número de hormigas atraídas. En los seis sitios, y a lo largo de tres de las cinco transectas utilizadas en el muestreo con trampas de caída, se establecieron cada 10 m estaciones de muestreo. En cada estación se colocó un rectángulo de cartón (7 x 5 cm) de color blanco sujeto al suelo con clavos (30 estaciones por sitio) (Lám. 3B).

Sobre cada rectángulo se depositaron cinco semillas frescas de *J. excisa*, obtenidas alrededor de la fecha a partir de frutos recolectados en el sitio PHE, y conservadas dentro de bolsas de papel a 4-5°C. El ensayo se repitió para cada sitio 3 veces, con al menos tres días de diferencia entre un ensayo y el siguiente, y en la misma semana en la que se realizaron los recuentos con trampas de caída. En total se ofrecieron 2,700 semillas en los seis sitios (5 semillas x 3 ensayos = 15 semillas por estación, 150 por transecta, 450 por sitio).

Los ensayos se llevaron a cabo por la mañana, de 10:00 a 12:00 h, o por la tarde, de 16:00 a 18:00 h. Previa observaciones habían mostrado que durante estos intervalos de tiempo es alta la actividad de gran parte de las especies de hormigas diurnas. Una vez depositadas las semillas, las estaciones fueron inspeccionadas a intervalos de 15 min, y por un tiempo total de 90 min (*i.e.* 6 veces). Cada censo consistió en un período de observación de 5 min, durante el cual se registraron las especies de hormigas sobre cada estación, el número de individuos de cada especie y su comportamiento interactivo con

las semillas. Todas las hormigas observadas sobre el rectángulo interactuando con las semillas ofrecidas fueron colectadas, preservadas e identificadas en el nivel de especies o morfoespecies. En total, el esfuerzo de muestreo fue de 3,240 observaciones de 5 min en los seis sitios (30 estaciones x 6 observaciones x 3 repeticiones = 540 observaciones por sitio).

Paralelamente a las observaciones de interacción con las semillas ofrecidas, cuando durante las observaciones de 5 min fue posible observar un evento de remoción, definido como el transporte de una semilla en forma activa por fuera del rectángulo, un investigador ayudante se encargó de medir la distancia de transporte y el destino de la semilla removida (llevada al hormiguero o abandonada). Se consideró como un único evento de remoción cada vez que una semilla fue transportada ya sea individualmente o en forma cooperativa, *i.e.*, por varios individuos pertenecientes a la misma colonia.

Para caracterizar el comportamiento interactivo de las hormigas atraídas por las semillas de *J. excisa*, cada especie fue asignada a uno de los siguientes cinco grupos funcionales (modificado de Manzaneda *et al.* 2007 y Boulay *et al.* 2007a): 1) dispersoras, aquellas hormigas que removieron las semillas 2) predadoras de eleosoma, aquellas que consumieron parcial o completamente el eleosoma *in situ* sin posterior transporte de la semilla; 3) comportamiento mixto, aquellas que se comportaron indistintamente como dispersoras y predadoras (el transporte y el consumo *in situ* estuvieron igualmente representados); 4) indiferentes, aquellas hormigas que sólo antenearon las semillas, sin que el comportamiento resulte luego en su consumo o transporte, y 5) ambiguo, aquellas especies que se comportaron indistintamente como indiferentes y predadoras.

La remoción de semillas se determinó al cabo de los 90 min del ensayo, contándose el número de semillas removidas de cada estación. Una semilla se consideró

transportada cuando no fue hallada dentro de un círculo de 50 cm de radio con centro en la estación. Dada la distancia mínima de 10 m entre las estaciones, se asumió que las semillas de cada estación a lo largo de una transecta habían sido removidas por hormigas pertenecientes a diferentes colonias, y se trató a cada estación como una observación independiente.

Todas las especies colectadas fueron caracterizadas en cuanto a su tamaño corporal y estrategia de reclutamiento. La longitud total se midió en diez individuos cogidos al azar, usando un microscopio óptico con micrómetro incorporado, y se calculó como la suma de la longitud de la cabeza + longitud del mesosoma en vista lateral (longitud de Weber) + longitud del pecíolo + longitud del gáster. En especies polimórficas (*e.g. Pheidole spp.*), sólo se midió a las obreras menores, dado que éstas fueron las que predominantemente forrajeaban y/o transportaban semillas.

### *Análisis de los datos*

La riqueza de especies, sus abundancias (el número total de individuos por especie) y la actividad de las hormigas (el número total de individuos de todas las especies) se estimaron a partir de lo recolectado en las trampas de caída. La ocurrencia de una especie fue el porcentaje de trampas en que la especie fue colectada. Se consideró a cada transecta como una unidad experimental, y los valores medios de cada transecta se usaron para comparar el número de especies y sus abundancias en los seis sitios de muestreo mediante Modelos Lineales Generales Mixtos (GLMM). En el análisis las transectas fueron tratadas como factores aleatorios anidadas dentro de los sitios, y éstos últimos fueron tratados como factores fijos. Cuando las diferencias fueron significativas, se realizaron comparaciones *post hoc* mediante una prueba de Tukey.

La tasa de remoción de semillas en cada sitio se estimó como la proporción de semillas removidas de cada estación. En este análisis se sumó el total de semillas removidas de una dada estación a lo largo de los tres ensayos (5 semillas x 3 ensayos = 15 semillas por estación y 150 por transecta) y se consideró a cada estación como una unidad experimental ( $n = 30$  por sitio). El efecto del sitio, la riqueza de especies de hormigas, la actividad de las hormigas y la abundancia de las cuatro especies más comunes (*P. cunicularius pencosensis*, *C. mus*, *F. chalybaeus* y *Ph. bergi*) sobre la proporción de semillas removidas se analizó mediante Modelos Lineales Generalizados Mixtos (GLZM), ajustando la variable dependiente (proporción de semillas removidas) a una distribución binomial con función logit. Las dos especies de hormigas, *P. cunicularius* y *C. mus*, se incluyeron en el modelo ya que fueron las principales dispersoras y predadoras de eleosoma respectivamente. El mejor modelo estadístico se obtuvo mediante la reducción manual en pasos, usando como criterio de evaluación del modelo el Criterio de Información de Akaike (AIC), donde un menor valor de AIC indica un mejor ajuste del modelo a los datos.

## **Resultados**

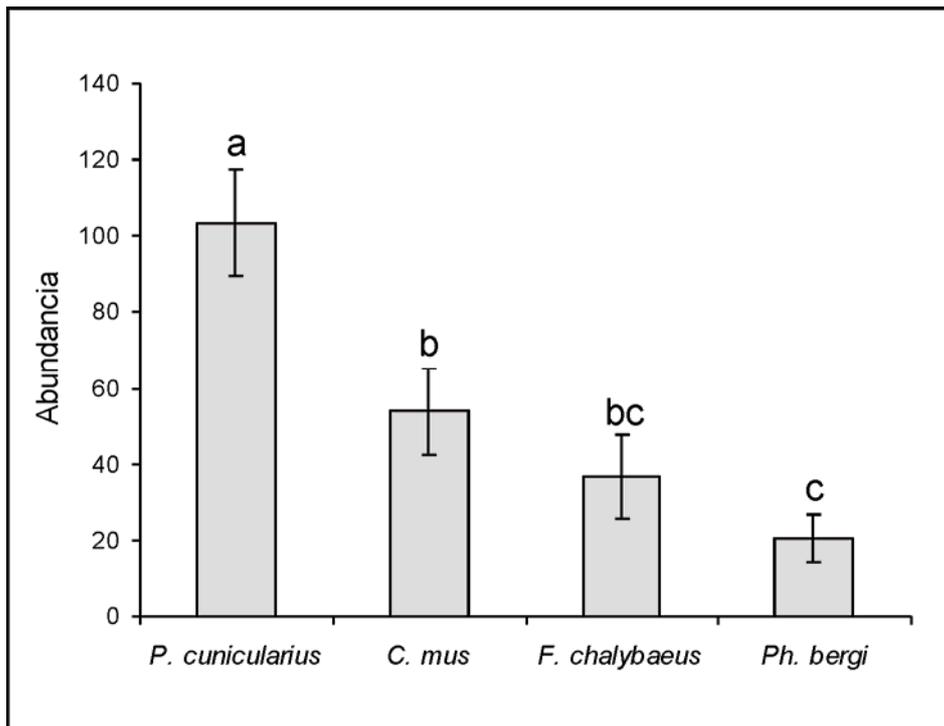
### *Caracterización de la comunidad de hormigas*

En los seis sitios de muestreo se colectó mediante las trampas de caída un total de 30 especies pertenecientes a 9 géneros y 4 subfamilias (Myrmicinae, Dolichoderinae, Formicinae y Pseudomyrmecinae) (ver ANEXO para el listado de las especies). Los sitios difirieron en la riqueza de especies a escala de las transectas (GLMM,  $F = 9.15$ ,  $gl = 5$ ,  $p < 0.001$ ) (Tabla 3). Esta diferencia no fue significativa entre los sitios PH, PHE, ANJ y SPP (prueba de Tukey  $p > 0.5$  para todas las comparaciones), pero sí para los sitios SP y CAR. Mientras que en el primero el número de especies fue el más bajo de todos los sitios, en el

sitio CAR fue el más alto ( $p < 0.05$  para todas las comparaciones). Asimismo, la actividad de las hormigas (el número total de individuos de todas las especies) difirió significativamente a escala de la transecta entre los seis sitios (GLMM,  $F = 6.48$ ,  $gl = 5$ ,  $p < 0.01$ ).

*Pogonomyrmex cunicularius pencosensis* Forel (Myrmicinae) (de aquí en más nombrada como *P. cunicularius*) fue la especie más abundante en cuanto a número total de individuos muestreados. Estuvo presente en cinco de los seis sitios, representando el 37.05 % del total de individuos de todas las especies colectados en los seis sitios ( $N = 8,383$ ). Le siguieron en abundancia *Camponotus mus* Roger (Formicinae) (19.25 % del total de individuos colectados en los seis sitios), *Forelius chalybaeus* Emery (Dolichoderinae) (13.18 %) y *Pheidole bergi* Mayr (Myrmicinae) (7.41 %). En los cinco sitios en donde fue colectada *P. cunicularius*, al menos un individuo fue hallado en cada trampa de caída, representando una ocurrencia del 100%. La abundancia de *P. cunicularius* a escala de la transecta (estimada como el número medio de individuos colectado en las 10 estaciones de una transecta), fue significativamente mayor que la abundancia de las otras tres especies más comunes (GLMM,  $F = 14.73$ ,  $gl = 3$ ,  $p < 0.001$ ; prueba de Tukey  $p < 0.001$  para todas las comparaciones) (Fig. 3).

La abundancia a escala de la transecta de *P. cunicularius* difirió significativamente entre los sitios (GLMM,  $F = 135.87$ ,  $gl = 5$ ,  $p < 0.001$ ) (Tabla 3). Aparte del sitio SP, en donde la especie no fue hallada, el sitio CAR exhibió la abundancia más baja (prueba de Tukey,  $p < 0.005$  para todas las comparaciones). Los sitios PH, PHE, ANJ y no mostraron diferencias significativas entre sí ( $p > 0.5$  para todas las comparaciones), mientras que en el sitio SPP la abundancia fue significativamente menor con respecto a estos tres últimos sitios ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 3 Abundancia de las cuatro especies de hormigas más comunes en el área de estudio.** Las columnas representan el número medio de individuos colectados por transecta en los cinco sitios de muestreo en donde *P. cunicularius* estuvo presente ( $n = 5$  transectas y  $N = 50$  trampas de caída por sitio). Las barras de error representan los EE. Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

### *Caracterización del ensamble de hormigas dispersoras*

En los seis sitios y durante 3,240 observaciones de 5 min, se registraron un total de 832 interacciones entre las hormigas y las semillas de *J. excisa* ofrecidas. De ellas, 387 (46.51%) correspondieron a eventos de remoción, 410 (49.28%) a eventos de predación de eleosoma y 35 (4.21%) a comportamientos ambiguos (Fig. 4, Tabla 5). No se observaron comportamientos mixtos (hormigas tanto predadoras como dispersoras).

Tres especies pertenecientes a la subfamilia Myrmicinae se comportaron como removedoras de las semillas de *J. excisa*. Una de ellas, *P. cunicularius*, fue responsable de la mayor parte de los eventos de remoción observados, contabilizando el 83.97 % (325 de 387) de los transportes. Las otras dos especies, *Pheidole bergi* y *Ph. spininodis*,

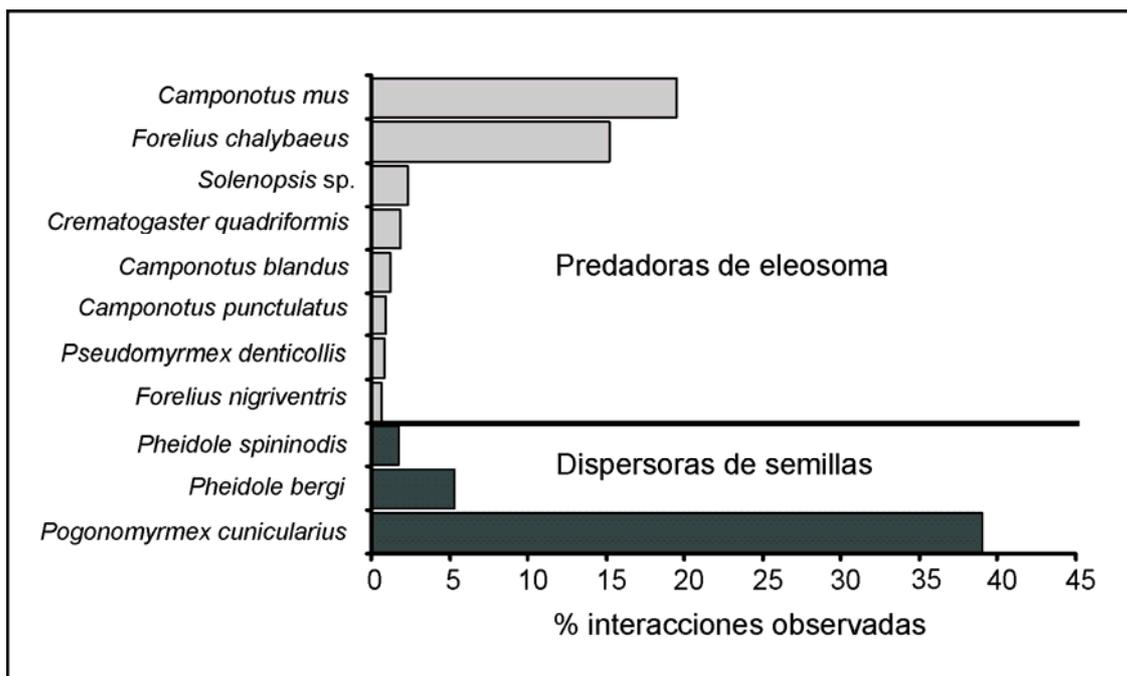
contribuyeron en un 11.36 % y un 4.67 % al total observado respectivamente. Siete especies se comportaron como predadoras de eleosoma, siendo las más frecuentes *Camponotus mus* y *Forelius chalybaeus* (45.41 % and 36.49 % de los recuentos respectivamente). Las otras cinco especies contribuyeron en porcentajes similares al total de comportamientos de consumo del eleosoma *in situ* observados. Sólo una especie, *Pseudomyrmex denticollis*, mostró un comportamiento ambiguo, actuando tanto como predadora de eleosoma como indiferente a las semillas.

Para las tres especies dispersoras, las semillas fueron altamente atractivas. Una vez encontradas y luego del anteneo inicial, el transporte fue casi inmediato y el destino de las semillas fue siempre el hormiguero. En las tres especies, el hormiguero presenta un tamaño de boca lo suficientemente grande (de 1 a 3 mm de diámetro) como para permitir la entrada de las semillas (Lám. 3D, F). *Pogonomyrmex cunicularius* y las dos especies de *Pheidole* difirieron en el método utilizado para acarrear las semillas, en la distancia a la que las semillas fueron transportadas, en su estrategia de forrajeo y en su tamaño corporal (Tabla 4).

**Tabla 3 Riqueza de especies de hormigas, actividad de hormigas y abundancia de *Pogonomyrmex cunicularius* en los seis sitios de muestreo.** Los datos provienen de trampas de caída abiertas durante 72 h ( $N = 50$  por sitio). La riqueza de especies es el número total de especies, la actividad de hormigas es el número total de individuos de todas las especies, la abundancia de obreras de *P. cunicularius* es el total de individuos capturados en cada sitio, la abundancia de *P. cunicularius* es la media de individuos capturados por transecta en cada sitio, y la ocurrencia de *P. cunicularius* es el porcentaje de trampas de caída en que al menos un individuo fue colectado. Ver Tabla 2 para las abreviaturas correspondientes a los sitios de muestreo.

	PH	PHE	ANJ	SP	SPP	CAR
Riqueza de especies	14	15	15	11	14	19
N° especies /transecta (media $\pm$ DE) <sup>†</sup>	13 $\pm$ 1.58	13 $\pm$ 2.54	12.2 $\pm$ 2.16	7.8 $\pm$ 2.38	12.2 $\pm$ 2.49	18.2 $\pm$ 1.92
Actividad de hormigas	2341	1584	1390	422	1119	1527
Abundancia de obreras de <i>P. cunicularius</i>	818	832	705	0	555	196
Abundancia de <i>P. cunicularius</i> /transecta (media $\pm$ DE) <sup>†</sup>	163.6 $\pm$ 56.85	166.4 $\pm$ 76.18	141 $\pm$ 64.9	0	111 $\pm$ 48.82	39.2 $\pm$ 13.73
Ocurrencia de <i>P. cunicularius</i> (%) <sup>††</sup>	100	100	100	0	100	100

<sup>†</sup>  $n = 5$ , <sup>††</sup>  $n = 50$



**Fig. 4** Porcentaje del total de interacciones observadas entre hormigas y semillas de *J. excisa* correspondientes a cada especie de hormiga. Por encima de la línea horizontal (barras grises) se muestran las especies que se comportaron como predadoras de eleosoma, y por debajo de ésta (barras negras), las que se comportaron como dispersoras ( $N = 832$  interacciones).

Las obreras de *Pogonomyrmex cunicularius* transportaron las semillas individualmente, tomando el eleosoma con sus mandíbulas y transportando la semilla por delante y elevada del suelo (Lám. 4E). Las semillas fueron transportadas una distancia media de alrededor de 7 m, con una distancia máxima observada de 18 m. En cambio, las dos especies de *Pheidole*, ambas de tamaño pequeño, transportaron las semillas en forma cooperativa. Grupos de 5 a 15 individuos arrastraron las semillas sobre la superficie del suelo, mientras unas se desplazaban hacia atrás tirando del eleosoma y otras empujaban el cuerpo de la semilla hacia delante (Lám. 3C, D). Las distancias medias de transporte fueron de alrededor de 1 m para ambas especies. Ocasionalmente se observó a una o dos obreras mayores contribuyendo al transporte en

las etapas finales cercanas al hormiguero, pero en las estaciones sólo fueron observadas las obreras menores.

Las especies que se comportaron como predadoras de eleosoma pertenecieron a las subfamilias Dolichoderinae (género *Forelius*), Myrmicinae (géneros *Solenopsis* y *Crematogaster*) y Formicinae (género *Camponotus*). De ellas, las predadoras más importantes fueron *Camponotus mus* y *Forelius chalybaeus* (45.41 % y 36.49 % de los eventos de predación observados respectivamente) (Fig. 4). Tanto las Dolichoderinae como las Myrmicinae, al encontrar las semillas reclutaron a otras obreras de la misma colonia. Las especies pertenecientes a estas subfamilias son de tamaño pequeño a muy pequeño (de 2 a 4 mm, Tabla 5) y característicamente muy agresivas. Las especies del género *Camponotus* también se mostraron muy dominantes y agresivas, aunque no reclutaron gran número de individuos, encontrándose por lo general de dos a siete obreras por estación. En todos los casos, las predadoras de eleosoma mordisquearon el eleosoma, arrancando pedacitos de éste y sin prestar atención al resto de la semilla. En ningún caso se observó intento de transporte. Al finalizar el experimento, se observó que el eleosoma que había sido predado por estas especies estaba parcialmente comido en su porción más externa.

La única especie que mostró un comportamiento ambiguo fue *Pseudomyrmex denticollis*. Aunque fue hallada frecuentemente anteneando las semillas, mostró a veces un comportamiento indiferente y otras un comportamiento de predadora de eleosoma, y nunca realizó transporte de las mismas.

**Tabla 4 Especies de hormigas que interactuaron con las semillas de *Jatropha excisa* en los seis sitios de muestreo.** Las especies están organizadas en grupos funcionales en base al tipo de interacción con las semillas, y caracterizadas respecto a su tamaño corporal, estrategia de forrajeo (grupal o individual), comportamiento al interactuar con las semillas y contribución al total de interacciones observadas (N = 832). Las distancias medias  $\pm$  DE de transporte solo están dadas para las especies dispersoras.

Grupo funcional	Especie (Subfamilia)	Mín-Máx tamaño corporal (mm)†	Mín-Máx N° individuos ††	Comportamiento §	% total interacciones observadas † (% interacciones para cada grupo funcional)	Distancia de transporte (rango) (m)
Dispersora de semillas	<i>Pogonomyrmex cunicularius</i> Mayr (Myrmicinae)	9.0 - 9.5	1 - 3	TI	39.06 (83.97)	7.77 $\pm$ 4.54 (N=30) (0.95 - 18.2)
	<i>Pheidole bergi</i> Mayr (Myrmicinae)	3.0 - 3.6	5- 15	TG	5.28 (11.36)	1.2 $\pm$ 0.96 (N= 25) (0.3 - 4.1)
	<i>Pheidole spininodis</i> Mayr (Myrmicinae)	3.0 - 3.5	1 - 6	TG	2.17 (4.67)	0.84 $\pm$ 0.58 (N= 14) (0.32 - 2.6)
Predadora de eleosoma	<i>Camponotus mus</i> Roger (Formicinae)	7.5 - 9.0	1-7	PG	26.97 (45.41)	-
	<i>Camponotus blandus</i> Smith F. (Formicinae)	8.0 - 13.0	1-3	PG	1.17 (4.06)	-
	<i>Camponotus punctulatus</i> Mayr (Formicinae)	8.0 - 8.5	1-3	PG	0.96 (2.29)	-
	<i>Forelius chalybaeus</i> Emery (Dolichoderinae)	2.5 - 3.5	5- 36	PM	15.26 (36.49)	-
	<i>Forelius nigriventris</i> Forel (Dolichoderinae)	2.5 - 3.6	4-32	PM	0.72 (1.72)	-
	<i>Solenopsis</i> sp1 (Myrmicinae)	2.2 - 2.4	3-15	PM	2.28 (5.45)	-
	<i>Crematogaster quadriformis</i> Roger (Myrmicinae)	3.4 - 4.0	5-20	PM	1.92 (4.59)	-
Ambiguo	<i>Pseudomyrmex denticollis</i> Emery (Pseudomyrmecinae)	6.2 - 8.3	1-3	IN/IP	4.21 (100)	-

†N = 10 individuos; ††n° de individuos por estación luego de 90 minutos de experimento; § Comportamiento al interactuar con las semillas: TI: transporte individual, TG: transporte grupal, IP: predación del eleosoma individual, PG: predación del eleosoma con reclutamiento grupal, PM: predación del eleosoma con reclutamiento masivo, IN: indiferente.

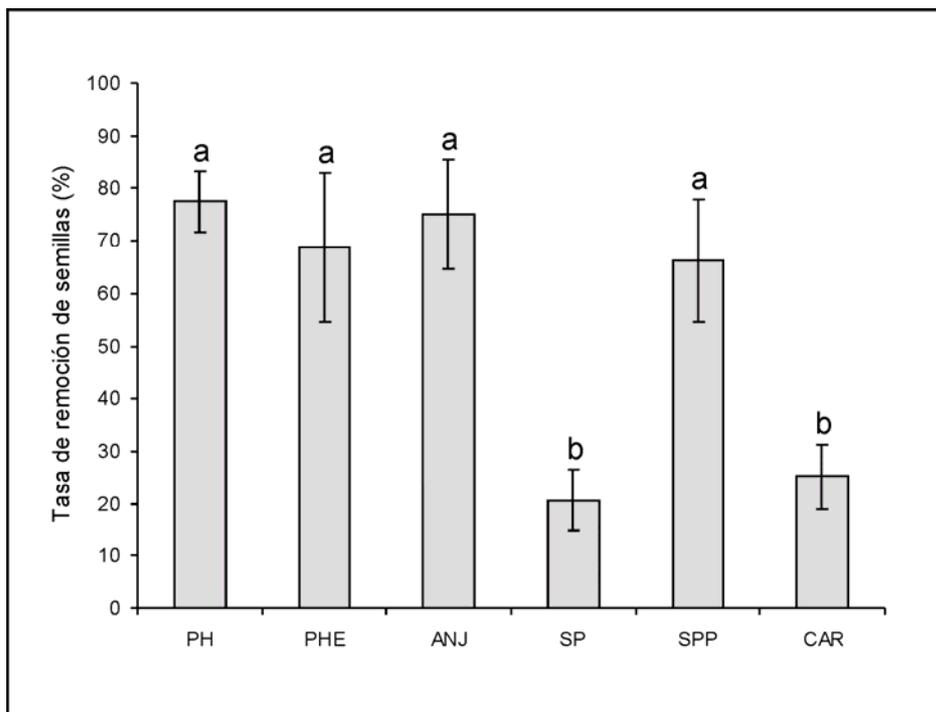




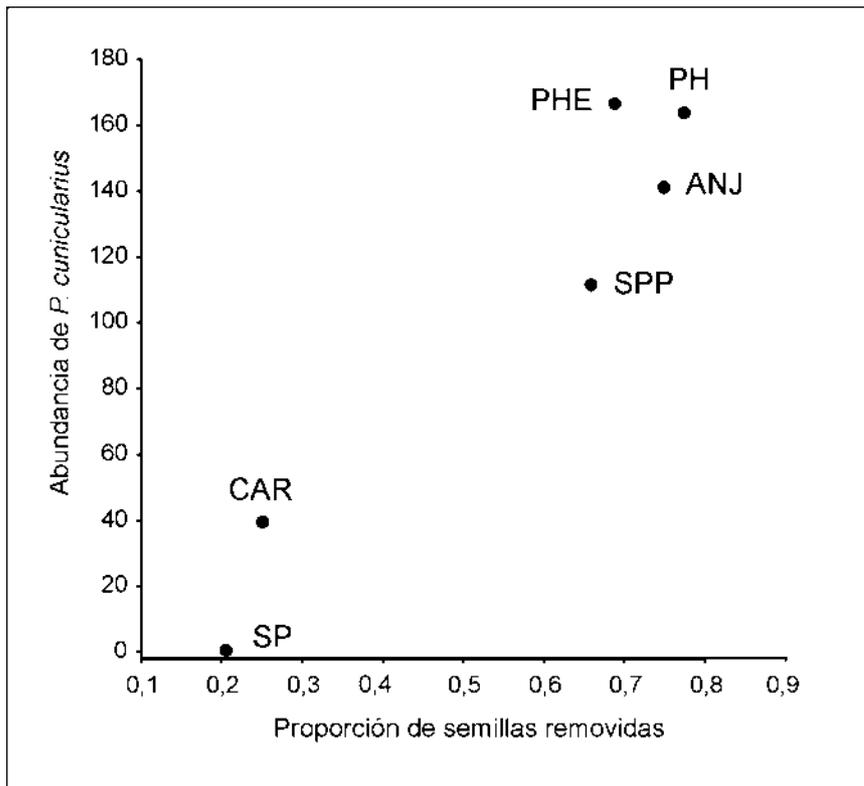


## Remoción de semillas

En los seis sitios, fueron removidas 1,425 (52.77%) de un total de 2,700 semillas de *J. excisa* ofrecidas luego de los 90 min de iniciado el ensayo. El resultado del análisis mediante GLZM mostró que las únicas variables con influencia significativa sobre la proporción de semillas removidas fueron la abundancia de *P. cunicularius* y el sitio de muestreo. La remoción de semillas aumentó significativamente al aumentar la abundancia de *P. cunicularius* (coef. = 0.013, EE = 0.02,  $z = 4.65$ ,  $p < 0.0001$ ) (Fig. 6), y en los sitios SP y CAR, donde la abundancia de *P. cunicularius* fue la más baja, la remoción de semillas fue significativamente menor que en el resto de los sitios (20.66 % y 25.11 % de las semillas ofrecidas, SP: coef. = -2.48, EE = 0.11,  $z = -7.03$ ,  $p < 0.0001$ , CAR: coef. = -2.19, EE = 0.16,  $z = -6.72$ ,  $p < 0.0001$ ) (Fig. 5).



**Fig. 5 Tasa de remoción de semillas de *J. excisa* por hormigas en los seis sitios de muestreo.** Las columnas representan el porcentaje medio de semillas removidas de cada estación luego de 90 min, sumando los datos de 3 ensayos (15 semillas por estación,  $N = 30$  estaciones por sitio). Las barras de error representan los EE. Diferentes letras denotan diferencias significativas entre los sitios ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 6** Relación entre la proporción media de semillas removidas por sitio (15 semillas por estación,  $n = 30$  estaciones por sitio) y la abundancia media de *P. cunicularius* por sitio (número medio de individuos por transecta colectados en trampas de caída,  $n = 5$  por sitio). Cada punto corresponde a un sitio de muestreo.

En cambio, los sitios PH, ANJ, PHE y SPP, caracterizados por una mayor y similar abundancia de *P. cunicularius*, no mostraron diferencias significativas en el porcentaje de semillas removidas por estación (77.55, 75.06, 68.86 y 66 % de 15 semillas por estación respectivamente,  $p > 0.1$  para todas las comparaciones). Por otra parte, la riqueza de especies (coef. = -0.15, EE = 0.06,  $z = -2.43$ ,  $p > 0.1$ ), la actividad de las hormigas (coef. = 0.001, EE = 0.05,  $z = 2.97$ ,  $p > 0.1$ ) y la abundancia de su principal predadora de eleosoma, *C. mus* (coef. = -0.01, EE = 0.04,  $z = -2.36$ ,  $p > 0.1$ ) no tuvieron una influencia significativa sobre la tasa de remoción de las semillas, y tampoco fueron significativos los términos de las interacciones.

## Discusión

El resultado más relevante de este estudio es que, en el área analizada, la remoción de semillas de *J. excisa* ofrecidas experimentalmente estuvo dominada por una única especie de hormiga, *Pogonomyrmex cunicularius*, la cual fue responsable del 84 % de los eventos de remoción observados. Variaciones en la abundancia de *P. cunicularius* se correlacionaron significativamente con variaciones en la tasa de remoción de las semillas. En los seis sitios, el número de semillas removidas aumentó al aumentar la abundancia de *P. cunicularius*, con los valores más bajos en el sitio en que esta especie estuvo ausente. Ness & Morin (2008) han propuesto que las dispersoras claves de semillas mirmecócoras tienden a ser las especies más abundantes dentro de la comunidad local de hormigas. Vázquez *et al.* (2007) también han señalado que la abundancia de las especies determina la frecuencia de sus interacciones interespecíficas. En concordancia, *P. cunicularius* fue la especie de hormiga más abundante en el área estudiada, representando el 37.1 % del total de individuos colectados en trampas de caída y con una ocurrencia del 100% en aquellos sitios en que estuvo presente.

El único sitio en que *P. cunicularius* no fue hallada (sitio SP) se caracteriza por ser un hábitat árido, y probablemente factores abióticos como la textura del suelo o la disponibilidad de agua determinen la distribución espacial de esta hormiga, como ha sido demostrado en otras especies de *Pogonomyrmex* (Johnson 2001a). Estos requerimientos abióticos serían los mismos que los de *J. excisa*, ya que los sitios con colonias de *P. cunicularius* siempre albergaron poblaciones de esta planta. Sin embargo, la presencia de la hormiga no estuvo necesariamente asociada a la de la planta, ya que en uno de los sitios (sitio PH), *P. cunicularius* fue abundante en ausencia de poblaciones de *J. excisa*. Es probable que la coincidencia de requerimientos ambientales

determine la coincidencia espacial de ambas especies, pero que no dependan una de otra para establecerse.

La predación del eleosoma fue observada en todos los sitios, y el número de semillas predadas fue aproximadamente similar al número de semillas dispersadas. Más aún, el ensamble de hormigas que actuaron como estafadoras de las semillas (*i.e.* consumidoras de la recompensa sin otorgar el beneficio de la dispersión) estuvo conformado por siete del total de las 11 especies que interaccionaron con las semillas. Las especies que se comportaron como predadoras de eleosoma fueron diversas en cuanto a su morfología y comportamiento, abarcando especies tanto de pequeño como de gran tamaño corporal, y con estrategias de reclutamiento tanto masivas como grupales.

La especie más frecuentemente hallada predando el eleosoma de *J. excisa* fue la formicina *Camponotus mus*, de tamaño grande y reclutamiento grupal, la que monopolizó las estaciones con comportamientos agresivos. Le siguió en importancia *Forelius chalybaeus*, una especie también agresiva, pero de tamaño pequeño y reclutamiento masivo. En diversos trabajos se han descrito especies de hormigas con estas mismas características, *i.e.* tamaño pequeño y reclutamiento masivo, como frecuentes predadoras de eleosoma (Manzaneda *et al.* 2007, Gove *et al.* 2007, Castro *et al.* 2010). En cambio, las especies de *Camponotus* han sido descritas como dispersoras de semillas con eleosoma (Leal *et al.* 2007, Zelikova & Breed 2008, Manzaneda & Rey 2009) o como indiferentes a éstas (Castro *et al.* 2010). El consumo del eleosoma *in situ* sin el posterior transporte de la semilla puede considerarse como una interacción negativa desde el punto de vista de la planta, ya que la recompensa (el eleosoma) es consumida sin que la planta se beneficie con el transporte de la semilla al hormiguero (Giladi 2006). Además, el mordisqueo de pequeñas porciones del eleosoma aún sin su

completo consumo haría a las semillas menos atractivas a las hormigas (Castro *et al.* 2010), por lo que este comportamiento también tendría un efecto negativo sobre la dispersión.

Las especies de hormigas cultivadoras de hongos (género *Acromyrmex*) nunca fueron observadas en las estaciones de muestreo interactuando con las semillas de *J. excisa*, a pesar de ser abundantes en todos los sitios de muestreo, y que algunas especies de este grupo han sido reportadas como dispersoras de semillas no mirmecócoras en zonas tropicales y subtropicales (Dalling & Wirth 1998, Farji-Brener & Silva 1996, Christianini *et al.* 2007). En su estudio sobre la mirmecocoria en la región de la Caatinga de Brazil, ecológicamente muy semejante a la chaqueña, Leal *et al.* (2007) tampoco reportan a especies de la tribu Attini como dispersoras de semillas mirmecócoras.

No toda remoción de semillas puede considerarse como un evento favorable de dispersión. La calidad de la dispersión depende de la especie de hormiga que interacciona con la semilla. Las dos principales especies de hormigas que removieron las semillas de *J. excisa* difieren sustancialmente en una serie de caracteres morfológicos y de comportamiento. *Pheidole bergi* es una especie pequeña, que recluta a sus compañeras a la fuente de alimento, y que transportó las semillas cooperativamente una distancia promedio de sólo 1 m. Este género ha sido repetidamente descrito como dispersor de semillas mirmecócoras en la Cuenca Mediterránea (Espadaler & Gómez 1996), en la región de la Caatinga de Brazil (Leal *et al.* 2007), en la región tropical de Costa Rica (Levey & Byrne 1993), así como en las zonas mediterráneas de Sudáfrica (Witt & Gilliomee 2005) y Australia (Hughes & Westoby 1992a). Sin embargo, las especies del género *Pheidole* han sido caracterizadas como dispersoras de baja calidad por Hughes & Westoby (1992a). Tal calificación fue

basada en las cortas distancias a las que transportan las semillas, como ocurrió asimismo en este estudio, y en la alta proporción de semillas que fueron dañadas o consumidas una vez transportadas al hormiguero (Hughes & Westoby 1992a, Levey & Byrne 1993).

Por otra parte, *P. cunicularius* es localmente abundante, de tamaño grande, y capaz de transportar las semillas una distancia media de alrededor de 7 m. Estas características han sido relacionadas con una dispersión de alta calidad (Giladi 2006), en donde la abundancia determina una mayor frecuencia de las interacciones, el tamaño grande permite una mayor capacidad de transporte, y distancias más lejanas de transporte implican una mayor distancia de dispersión y una mayor probabilidad de colonizar nuevos sitios. Asimismo, todas las semillas removidas por esta especie tuvieron como destino el hormiguero, y nunca se observó que una semilla fuera abandonada durante su transporte. Aún más, las semillas fueron tenazmente transportadas, teniendo en cuenta el relativamente gran tamaño de las mismas con respecto al cuerpo de la hormiga (aprox. 4 mg es el peso de una obrera de *P. cunicularius* vs. los 60 mg del peso de una semilla de *J. excisa*). Una especie de *Pogonomyrmex* del desierto de Sonora, *P. californicus*, también ha sido descrita como la principal dispersora de las semillas con eleosoma de *Datura discolor* (Solanaceae) (O'Dowd & Hay 1980). Dado que tanto las especies de *Pogonomyrmex* como las especies de *Pheidole* son predominantemente granívoras, y siendo la condición de una dispersión legítima que la semilla y el embrión que contiene no sean dañados, el potencial de ambas especies como dispersoras de plantas mirmecócoras debe ser evaluado a través del seguimiento de las semillas una vez transportadas al hormiguero (Capítulo 4).

La riqueza de especies y el número total de individuos de todas las especies (la actividad de las hormigas) no estuvieron relacionados con la proporción de semillas removidas en cada sitio. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Zelikova *et al.* (2008) en bosques templados de Norte América, en donde la remoción de semillas no estuvo influenciada por la riqueza de especies o el número total de individuos, sino por la abundancia y actividad de *Aphaenogaster rudis*, la especie de hormiga que se comportó como principal dispersora de las semillas mirmecócoras de ese hábitat. En cambio, Beattie & Culver (1981) encontraron una relación positiva entre la actividad de las hormigas y la remoción de semillas en los bosques templados de Norteamérica. Por otra parte, Gove *et al.* (2007) encontró en Australia que en sitios con mayor riqueza de especies de hormigas la remoción de semillas fue menor. Los autores postulan que esto fue debido al aumento en el número de especies de pequeño tamaño y comportamiento agresivo que se comportaron como predadoras de eleosomas, y rechazan una relación positiva entre la mirmecocoria y la riqueza de especies de hormigas de la comunidad. Así, en sitios con menor número de especies de hormigas disminuyen también las especies predadoras y dominantes que pudieran competir con las especies dispersoras por las semillas con eleosoma.

## **Conclusiones**

En el área de estudio, la remoción de las semillas de *J. excisa* ofrecidas experimentalmente estuvo dominada por una única especie de hormiga, *P. cunicularius*, que fue responsable del 84% de los eventos de remoción observados. La variación en la abundancia de *P. cunicularius* se correlacionó significativamente con la variación en la proporción de semillas removidas en los seis sitios de muestreo. Mientras que la remoción de las semillas aumentó con la abundancia de *P. cunicularius*, no se encontró

una influencia significativa de la riqueza de especies y la actividad total de las hormigas sobre el porcentaje de semillas removidas en cada sitio. Del total de especies atraídas por las semillas de *J. excisa* (11 de las 30 especies encontradas en las trampas de caída), la mayor parte (siete de las 11 especies) se comportó como predadora de eleosoma, y aproximadamente la mitad de las observaciones correspondieron a eventos de consumo del eleosoma *in situ* sin posterior transporte de la semilla. Los resultados demuestran que *P. cunicularius* es la principal removedora de las semillas de *J. excisa* en el área de estudio, y que existe una competencia entre las hormigas de la comunidad por el consumo de los eleosomas de *J. excisa*.

## *CAPÍTULO 4. El destino final de las semillas: el hormiguero*

### **Introducción**

Para llevar a cabo su ciclo reproductivo, las plantas requieren el movimiento espacial de sus granos de polen y sus semillas, usando en muchos casos a los animales como vectores (Herrera 2002). En el caso de la polinización por vectores animales, el destino final es el estigma de las flores conespecíficas, las cuales ofrecen como incentivo una recompensa en forma de néctar o polen (Pellmyr 2002). En cambio, en los sistemas de dispersión de semillas por vertebrados, el destino final de las semillas dispersadas es impredecible espacialmente, y no son evidentes los incentivos que indiquen al vector animal el sitio en que las semillas deben ser depositadas (Wheelwright & Orians 1982, Herrera 2002). En consecuencia, en este tipo de interacción el destino final de las semillas será muy variable, y dependerá en gran medida del comportamiento de su vector animal.

En el caso particular de la mirmecocoria, el destino de las semillas transportadas por las hormigas dispersoras es el hormiguero. Una vez dentro de él, el eleosoma es consumido, y la semilla ya no resulta atractiva a las hormigas. En esta etapa, y dependiendo del comportamiento de la especie de hormiga involucrada, la semilla está sujeta a dos destinos posibles: 1) ser descartada afuera del hormiguero, *i.e.* en basureros externos o en el borde del territorio, o 2) ser descartada adentro del hormiguero (Beattie 1985). Por ejemplo, en tanto especies caracterizadas como dispersoras de semillas descartan las semillas en basureros externos (*e.g.* *Formica* spp. (Gorb & Gorb 2003), *Myrmica* spp. (Kjellsson 1985a), *Lasius* spp. (Servigne & Detrain 2008), *P. californicus* (O'Dowd & Hay 1980) y *Aphaenogaster longiceps* (Hughes & Westoby 1992a)),

especies de *Formica* las descartan en cambio en los bordes de su territorio (e.g., Gorb & Gorb 2003), mientras que especies también dispersoras las descartan adentro del hormiguero (e.g. *Lasius niger* (Oostermejer 1989), *Messor andrei* (Boyd 1996), *Rhytidoponera* spp. (Briese & Macauley 1981, Majer *et al.* 2011) y *Ectatomma* spp. (Antoniali & Giannotti 2001)).

La hipótesis de la dispersión dirigida postula que una ventaja selectiva fundamental de la mirmecocoria es el transporte de las semillas al hormiguero, donde es mayor la probabilidad que éstas germinen y se establezcan como plántulas (Hanzawa *et al.* 1988, Wenny 2001). Esta hipótesis se basa en la premisa de que los hormigueros *son* sitios favorables para las semillas, ya sea por estar enriquecidos en nutrientes y/o por efecto de las modificaciones físicas del suelo producto de su actividad (Culver & Beattie 1980, 1083, Davidson & Morton 1981, Beattie & Culver 1982, Folgarait 1998). En particular en las regiones áridas y en donde los suelos son deficientes en nutrientes, los hormigueros representarían micrositios especialmente favorables para el establecimiento de las plantas (Westoby *et al.* 1982).

Sin embargo, existe una tremenda variación interespecífica en cuanto a la arquitectura, profundidad y longevidad de los hormigueros (Hölldobler & Wilson 1990). En relación con la mirmecocoria, la ecología de la nidificación de las especies de hormigas que se comportan como dispersoras tendrá importantes consecuencias sobre las semillas allí transportadas. Por ejemplo, una especie que construya hormigueros de larga duración acumulará más nutrientes en los mismos que una especie que emigre frecuentemente (Culver & Beattie 1980, Higashi *et al.* 1989). Asimismo, la arquitectura del hormiguero y la posición de las cámaras donde las semillas son descartadas son cruciales para el destino de las semillas. Si las semillas son depositadas a demasiada

profundidad, la consecuencia para las plántulas será que éstas no podrán emerger (Bond *et al.* 1999).

Finalmente, la dispersión sólo será efectiva si las semillas permanecen viables luego de ser manipuladas por las hormigas. En este contexto, las características de los hormigueros y la manipulación sufrida por las semillas dentro de los mismos, ambas determinadas por el comportamiento de la especie de hormiga en particular, serán cruciales para el destino final de las semillas dispersadas.

## **Objetivos**

Se plantea como objetivo determinar el destino de las semillas de *Jatropha excisa* dentro de los hormigueros de su principal especie dispersora, *Pogonomyrmex cunicularius*. Asimismo, se caracterizan por primera vez los hormigueros de *P. cunicularius*, hasta ahora sólo descritos anecdóticamente por Kusnezov (1951), y se analizan diversos aspectos de la ecología de la nidificación que pudieran influir sobre la germinación, establecimiento y crecimiento de las semillas allí transportadas. Finalmente, se estudia la influencia del eleosoma sobre la germinación de las semillas de *J. excisa*.

## **Materiales y Métodos**

El destino de las semillas dentro del hormiguero se estudió durante la temporada de dispersión de febrero del 2010 en el sitio PH, donde se encuentran colonias de *P. cunicularius* pero no poblaciones de *J. excisa*. De esta forma, se controló que las semillas encontradas dentro de los hormigueros fueran sólo las ofrecidas durante los ensayos.

En el sitio de muestreo se localizaron seis nidos de *P. cunicularius* mediante el seguimiento de obreras cargadas con alimento. A 15 cm de la entrada de cada hormiguero se depositaron 20 semillas de *J. excisa* (20 semillas x 6 hormigueros = 120 semillas). Las semillas se marcaron con un punto de esmalte blanco, para facilitar luego su reconocimiento una vez dentro del hormiguero. Al cabo de aproximadamente 30 min, se confirmó que todas las semillas hubieran sido transportadas por las hormigas dentro del hormiguero.

El movimiento de las semillas dentro del hormiguero se siguió por un período de 15 días. Luego de dos días del ofrecimiento de las semillas, dos hormigueros del total de los 6 marcados fueron seleccionados al azar, y excavados en busca de las semillas. Luego de 7 días fueron excavados otros dos hormigueros, y luego de 15 días los dos restantes. Dado que las obreras de esta especie comienzan su actividad de forrajeo relativamente tarde en la mañana (alrededor de las 09:00 h), las excavaciones se iniciaron al amanecer, de modo que todas las obreras se encontraran dentro del nido.

La excavación se inició cavando un pozo adyacente al hormiguero, a una distancia de ~ 60 cm de la entrada y de una profundidad de ~ 80 cm. A partir de éste se fueron exponiendo las cámaras progresivamente en su aspecto horizontal. Se continuó cavando unos 50 cm por debajo de las últimas cámaras, hasta que no hubo evidencia de nuevas cámaras o túneles. Durante la excavación se anotó el número de cámaras, sus dimensiones, su profundidad respecto de la superficie del suelo, y su posición relativa, realizando un esquema tridimensional del mismo. La profundidad de cada cámara se calculó como la distancia desde su base hasta la superficie del suelo. Todas las hormigas y sus crías encontradas dentro de cada cámara fueron colectadas mediante un aspirador entomológico manual, y colocadas en recipientes de plástico, uno por cámara. Las semillas marcadas de *J. excisa*, así como todo material vegetal o animal encontrado

dentro de cada cámara, fue asimismo recolectado con una pala y colocado en recipientes separados. Previo a la excavación del hormiguero, se recolectó el cráter de pequeñas piedras que rodea al hormiguero y se recorrió un área de hasta 5 m de radio alrededor del mismo, con el fin de buscar semillas que pudieran haber sido descartadas afuera del hormiguero.

Los recipientes conteniendo las hormigas y el material de las cámaras fueron llevados al laboratorio, en donde fueron analizados. Se contó el número de hormigas halladas en cada cámara, discriminando entre reinas, obreras, machos alados y cría (larvas + pupas). Las semillas recuperadas de *J. excisa* fueron examinadas bajo lupa con el fin de determinar la presencia/ausencia de eleosoma así como su estado físico. Mediante un test rutinario de cloruro de tetrazolio se determinó su viabilidad (Delouche *et al.* 1971).

Un hormiguero de *P. cunicularius* que tres días antes había sido abandonado fue aprovechado para obtener un molde tridimensional de su estructura. El material utilizado para el molde fue una suspensión de cemento y cal (2 kg de cemento y 1 kg de cal en 10 l de agua), la cual fue vertida gradualmente en el agujero de la entrada (Jacoby 1935, Verza *et al.* 2007). El cemento se dejó secar durante una semana, y luego el hormiguero fue excavado en la forma antes descrita (Lám. 5A). Luego de limpiarlo, las piezas que se hubieran roto, principalmente por sus secciones más delgadas, fueron reensambladas con POXIPOL® y reforzadas con POXILINA®.

### *Migración de las colonias de P. cunicularius*

En septiembre de 2009, en los sitios PH, ANJ y PHE fueron localizados y marcados un total de 30 hormigueros (10 por sitio). Estos hormigueros fueron visitados periódicamente (cada 15-30 días) durante toda la temporada de actividad de la colonia,

*i.e.*, desde septiembre hasta fines de mayo de 2010, y luego en la siguiente temporada, desde septiembre de 2010 hasta fines de mayo de 2011. En cada visita, se anotaron los hormigueros que fueron abandonados, confirmándose la ausencia de la colonia mediante la excavación parcial del mismo. Cuando fue posible observar eventos de mudanza, se determinó la distancia del nuevo hormiguero respecto del anterior.

### *Profundidad de emergencia de las semillas*

La profundidad de emergencia de las plántulas de *J. excisa* fue estimada a través de dos aproximaciones, una teórica y una experimental. La aproximación teórica se basa en la relación alométrica de Bond *et al.* (1999). Estos autores mostraron que cada especie de planta tiene una profundidad máxima de emergencia que depende de la masa de sus semillas, y que puede predecirse mediante la ecuación  $w^a \times b$ , donde  $w$  es la masa de la semilla y  $a$  y  $b$  son constantes, siendo  $a = 0.344$  y  $b = 27.3$ . Para las semillas de *J. excisa*, la profundidad máxima de emergencia siguiendo este modelo fue calculada a partir del peso medio de 80 semillas (60.7 mg).

La aproximación experimental tuvo como objeto confirmar los valores de profundidad de emergencia predichos por el modelo teórico en poblaciones naturales de *J. excisa*. En base a los trabajos de Christian & Stanton (2004) en *Grevillea* (Proteaceae) y de Renard *et al.* (2010) en *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae), la distribución de las profundidades de emergencia se estimó en plántulas de *J. excisa* midiendo la longitud de la porción del hipocótilo que se encuentra entre la intersección entre el hipocótilo y la corona y la superficie del suelo (Lám. 6E). La corona es una estructura presente en las especies de *Jatropha* desde donde emerge la raíz principal y cuatro raíces laterales equidistantes. Las plántulas fueron colectadas en los sitios ANJ, PHE y SPP,

seleccionándose todas aquellas que presentaran sólo las dos primeras hojas ( $N = 42$  plantas en los tres sitios).

### *Germinación de las semillas*

Para estudiar la influencia del aleosoma sobre la germinación de las semillas de *J. excisa*, se tomaron al azar 450 de un *pool* de semillas de *J. excisa* colectadas dentro de la misma semana de la realización de los experimentos, y mantenidas a temperatura ambiente. La mitad de las semillas ( $N = 225$ ) se dejaron intactas, mientras que a la otra mitad se les removió el aleosoma mediante un escalpelo y bajo lupa. Las semillas se colocaron en grupos de a 15 en cajas de Petri de 9-cm de diámetro con un papel de filtro como base y vermiculita humedecida con agua destilada estéril por encima ( $n = 15$  replicaciones y  $N = 225$  semillas por tratamiento). Las cajas se sellaron con parafilm para limitar la evaporación. En base al trabajo de Pujol *et al.* (2002) sobre las condiciones óptimas de germinación para *Manihot esculenta*, las cajas se incubaron en oscuridad continua en cámaras de cultivo a 35°C como temperatura diurna (14 h) y 25°C como temperatura nocturna (10 h), simulando temperaturas de verano. Las cajas fueron controladas cada tres días, usándose la emergencia de la radícula como criterio de germinación. Luego de tres meses de incubación, el ensayo fue dado por finalizado al no registrarse nuevas germinaciones. Las diferencias en el número de semillas germinadas entre ambos tratamientos fueron analizadas mediante una ANOVA de un factor.

## Resultados

### *Caracterización de los hormigueros*

Los hormigueros excavados presentaron un único orificio de entrada de ~2 x 2 cm, rodeado por un característico cráter de 15 a 20 cm de diámetro y hasta 3 cm de altura, constituido por pequeñas piedras de color predominantemente claro (Lám. 4A). En otras especies del género *Pogonomyrmex* este cráter tiene funciones asociadas a la termorregulación y defensa del hormiguero (Hölldobler & Wilson 1990, Gordon 1984), y su manutención implica una considerable inversión de tiempo y energía en las obreras dedicadas a esta tarea (obs. pers.). Aunque la mayor parte de los hormigueros de *P. cunicularius* presentaron una única entrada, se observaron también algunos con hasta dos entradas adyacentes separadas por una distancia aproximada de 10 cm (obs. pers.). No se encontraron basureros externos conspicuos, aunque en algunos hormigueros se observó la deposición de una cierta cantidad de material de desecho en los bordes más externos del cráter.

Los hormigueros tuvieron una profundidad de  $56.66 \pm 1.45$  cm (media  $\pm$  EE,  $n = 6$ ) (rango: 53 a 62 cm) y un diámetro de  $34.33 \pm 4.27$  cm en su eje de mayor longitud (media  $\pm$  EE,  $n = 6$ ) (Lám. 4B). En promedio estuvieron conformados por un total de  $19.5 \pm 2.54$  cámaras ( $\pm$  EE,  $n = 6$ ) (rango: 10 a 27) conectadas por medio de túneles de 0.5 a 2 cm de diámetro. La arquitectura de los hormigueros fue marcadamente asimétrica. La mayor parte de las cámaras se concentraron en su porción más superficial, formando una intrincada red interconectada por túneles más o menos horizontales. Al aumentar la profundidad, disminuyó progresivamente el número de cámaras, y la estructura del hormiguero se redujo a un túnel único a partir del cual se abrían las cámaras lateralmente a intervalos de distancia más o menos regulares (Lám. 5C). En consecuencia, de acuerdo a su arquitectura pueden distinguirse arbitrariamente

tres niveles dentro del hormiguero: el superficial, hasta 20 cm de profundidad; el intermedio, desde los 20 hasta los 40 cm; y el profundo; desde los 40 hasta los 60 cm.

El nivel superficial estuvo conformado por  $12 \pm 2.01$  cámaras (media  $\pm$  EE,  $n = 6$ ) (rango: 6 a 20), con una dimensión media de 11.02 x 5.11 x 0.87 cm (long máx. x ancho máx. x altura máx.,  $N = 52$  cámaras). La forma de estas cámaras fue predominantemente elongada y estrecha (Lám. 5B), encontrándose las más superficiales a partir de los 3 a 4 cm desde la superficie del suelo. En el nivel intermedio el número medio de cámaras fue de  $5 \pm 0.57$  ( $\pm$  EE,  $n = 6$ ) (rango: de 3 a 7), con una dimensión media de 6.54 x 5.25 x 3.48 cm ( $N = 25$ ). Estas cámaras fueron más cortas y altas, tendiendo a la forma ovalada y con sus bordes más o menos lobados. En el último nivel se encontraron de 1 a 5 cámaras, con dimensiones y forma semejantes a las del nivel intermedio (6.68 x 5.75 x 3.95 cm,  $N = 14$ ) (Lám. 5B).

El número total de individuos por colonia fue de  $728 \pm 110.6$  (media  $\pm$  EE,  $n = 6$ ) (rango: 266 a 1014). Cada colonia albergó  $568 \pm 102.35$  obreras (rango: 172 a 890) y  $140 \pm 11.65$  crías (larvas + pupas) (rango: 94 a 178) (medias  $\pm$  EE,  $n = 6$ ). Sólo en uno de los hormigueros se encontraron 119 machos alados, todos ellos en dos de las cámaras superficiales, y probablemente a punto de realizar su vuelo nupcial. En cuatro de los hormigueros pudo encontrarse una reina. Las reinas de *P. cunicularius* son ergatoginas, y sólo se distinguen externamente del resto de las obreras por su tamaño levemente mayor y la presencia de ocelos vestigiales (Johnson 2010).

La distribución de los miembros de cada colonia mostró una marcada estratificación espacial: las cámaras profundas e intermedias concentraron el  $55.27 \pm 2.88 \%$  y el  $28.32 \pm 1.49 \%$  del total de individuos de la colonia respectivamente (media  $\pm$  EE,  $n = 6$ ) (Lám. 4D). Las cámaras profundas albergaron la totalidad de la cría, acompañadas por obreras adultas y juveniles, éstas últimas fácilmente distinguibles por su color más claro. El número de obreras por cámara en el nivel intermedio fue de  $32.6 \pm 6.3$  (media  $\pm$  EE,  $n = 6$ ), mientras que en las cámaras más profundas fue de  $137.13 \pm 30.7$  (media  $\pm$  EE,  $n = 6$ ). Las reinas fueron colectadas únicamente en el nivel profundo. En cambio, las cámaras superiores albergaron un número menor de individuos, con una media de  $7.01 \pm 0.74$  obreras por cámara ( $\pm$  EE,  $n = 6$ ). Todas las obreras halladas en las cámaras superficiales eran adultas de color oscuro, y probablemente sean las encargadas de las tareas que involucren la salida al exterior del nido (forrajeo, manutención del hormiguero y vigilancia).

No todas las cámaras albergaron individuos, muchas de ellas, en particular las de la porción superficial, estaban vacías. Algunas de estas cámaras superficiales vacías contuvieron abundantes restos de diversos artrópodos, así como unas pocas semillas, material vegetal, y material orgánico indistinguible (Lám. 4C). Estas cámaras funcionan como basureros internos, en donde se descarta el material de desecho del hormiguero. La profundidad de los basureros internos fue de  $5.34 \pm 2.08$  cm (media  $\pm$  EE,  $N = 16$ ), hallándose un número de 2 a 4 por colonia.

No se encontraron granarios, *i.e.*, cámaras de almacenamiento de semillas. En cambio, se encontraron algunas semillas pertenecientes a diversas especies (*Prosopis* spp., *Acacia* spp. y *Celtis* spp. entre otras) en las cámaras de la cría y en los basureros.













### *Localización de las semillas ofrecidas de J. excisa*

A lo largo de los 15 días del experimento, pudieron ser recuperadas 100 del total de 120 semillas de *J. excisa* ofrecidas (media de semillas recuperadas por nido = 16.6). De las semillas recuperadas, un total de 10 fueron encontradas afuera del hormiguero, sobre el borde más externo del cráter que rodea la boca.

Dos días después de haber ofrecido las semillas, el 74.28% de las semillas recuperadas fueron encontradas en las cámaras más profundas que contenían la cría. También fueron encontradas algunas semillas (17.14%) en cámaras intermedias con cría y juveniles. El resto de las semillas (8.57%) fueron encontradas afuera del hormiguero.

Luego de 7 y 15 días de haber ofrecido las semillas, no se encontraron semillas de *J. excisa* en las cámaras de cría. En cambio, la mayor parte de ellas (87.69 % del total recuperadas) fueron encontradas en las cámaras superficiales que funcionan como basureros internos. El restante 10.76% fue encontrado afuera del hormiguero, mientras que una única semilla fue encontrada en una cámara intermedia.

Todas las semillas recuperadas del interior de los hormigueros, independientemente de su localización dentro del mismo, presentaban su eleosoma completamente removido. Las semillas recuperadas afuera del hormiguero presentaron su eleosoma removido o intacto en igual proporción. El examen bajo lupa de las semillas recuperadas reveló que, al consumir los eleosomas, las hormigas rasparon la testa de la semilla, en especial alrededor de la región micropilar donde se une el eleosoma (Lám. 6 A-D). Ninguna de las semillas recuperadas presentó su embrión dañado o expuesto y el 87% fueron viables por el test de cloruro de tetrazolio.

## *Migración de las colonias*

Durante la temporada de actividad 2009-2010, 21 de los 30 hormigueros marcados en los tres sitios migraron al menos una vez (70% del total), 10 de estas 21 colonias volvieron a migrar una segunda vez en la misma o en la segunda temporada, y uno de ellos migró tres veces (una en la primera y dos en la segunda temporada). El tiempo de permanencia de los hormigueros que fueron trasladados más de una vez fue de un mínimo de dos meses hasta un máximo de 14 meses.

En total fueron observados 11 eventos de migración. La distancia media a la que se trasladaron los hormigueros fue de 6.03 m, con un rango desde 1 hasta 14.7 m. El 71.43 % de los hormigueros (15 de 21) fueron abandonados en el período que va desde mediados de febrero hasta fines de abril, el resto fue abandonado durante el mes de enero. Todas las migraciones fueron observadas durante la tarde, a excepción de una observada durante la mañana. Dado que en todos los casos la migración ya estaba en marcha al momento de ser detectada, no es posible determinar el tiempo total que llevó re-localizar la colonia Sólo se puede decir a este respecto que, a partir del inicio de las observaciones, éstas fueron completadas al cabo de dos a siete días. A modo de comparación, *Pogonomyrmex mayri*, una especie que emigra frecuentemente y posee aprox. 600 obreras por colonia, completa su traslado al cabo de 5 horas (Kugler & Hincapié 1983), mientras que a las especies de América del Norte con colonias grandes completar el traslado puede llevarles desde 10 hasta 25 días (Hölldobler 1976, Van Pelt 1976).

Durante la migración, las obreras transportaban tanto a crías como a otras obreras (adultas y jóvenes). El modo en que fueron transportadas las obreras siguió la forma usualmente descrita para las Myrmicinae (Möglich & Hölldobler 1974), tomándolas con las mandíbulas por el cuello y llevándolas por encima del cuerpo hacia

atrás. Las obreras encargadas del transporte de sus compañeras siguieron un mismo camino para ir y volver desde el viejo al nuevo hormiguero. No se observó transporte de semillas. La excavación parcial de los hormigueros abandonados reveló la presencia de semillas intactas de diversas especies en los basureros superficiales. Es interesante observar que 8 de los hormigueros abandonados fueron ocupados posteriormente por colonias de *Pheidole bergi* y *Ph. spininodis*.

### *Profundidad de emergencia*

La máxima profundidad de emergencia de *J. excisa* calculada según el modelo teórico en base al peso medio de 80 semillas fue de 10.76 cm. En las plántulas recolectadas en el campo, la longitud medida entre la intersección del hipocótilo con la corona y la superficie del suelo varió entre 0.8 cm y 9.6 cm, con una media de  $4.87 \pm 2.42$  cm ( $\pm$  DE).

### *Germinación de las semillas*

En general, las semillas exhibieron un bajo porcentaje de germinación. Luego de tres meses de incubación, germinaron un total de 120 semillas (26.66 %) del total de 450 utilizadas en el ensayo. Los resultados de la ANOVA mostraron diferencias significativas entre ambos tratamientos ( $F = 26.73$ ,  $gl = 1$ ,  $p < 0.001$ ). Al término del ensayo, el número de semillas germinadas fue mayor en las semillas cuyo eleosoma fue removido experimentalmente que en las semillas dejadas intactas (media  $\pm$  EE =  $5.86 \pm 0.56$  semillas sin eleosoma vs.  $2.13 \pm 0.45$  semillas con eleosoma,  $n = 15$ ).

## Discusión

### *La arquitectura de los hormigueros*

Los hormigueros excavados de *P. cunicularius* presentaron una estructura relativamente simple y un tamaño de colonia pequeño. El número medio de obreras por colonia supera a lo descrito por Kusnezov (1951) para esta especie, en donde reporta 100 obreras por colonia, aunque se encuentra dentro del rango descrito para las especies de *Pogonomyrmex* de América del Sur (hasta 1,000 obreras por colonia, Kusnezov 1951, Kugler & Hincapie 1983, Nobua Behrmann *et al.* 2010). En cambio, muchas de las especies congénéricas de América del Norte se caracterizan por formar colonias populosas, con hasta 10,000 obreras por nido (*e.g.* Golley & Gentry 1964, Porter & Jorgensen 1981, MacKay 1981, Smith & Tschinkel 2006).

Tamaños de colonia pequeños están asociados a hormigueros con menor número de cámaras y menor desarrollo en profundidad. Así, los hormigueros de *P. cunicularius* son poco profundos, mientras que en especies de *Pogonomyrmex* con colonias grandes pueden llegar hasta los 6 m de profundidad (Tschinkel 2004). La arquitectura del nido, con una mayor área en la posición superficial que disminuye al aumentar la profundidad, es común a todas las especies del género e independiente del tamaño de sus colonias (MacKay 1981, Tschinkel 2004). La estratificación vertical de los miembros de la colonia encontrada en los nidos de *P. cunicularius*, en donde las crías y la mayor parte de las obreras se encuentran en las cámaras más profundas, ha sido también descrita para especies de *Pogonomyrmex* de América del Norte (Golley & Gentry 1964, MacKay 1981, Tschinkel 1998, 1999), pero no en hormigueros excavados de *P. inermes*, *P. rastratus* y *P. mendozanus* en el Monte Central (Nobua Behrmann *et al.* 2010). Hölldobler & Wilson (1990) señalan que esta estratificación espacial sigue una estratificación en edad. Así, en la parte más profunda se encuentran las crías y las

obreras jóvenes, las que a medida que van creciendo en edad pierden masa corporal y ascienden hacia la superficie, de modo que son las obreras de mayor edad las que realizan las tareas que implican salir del hormiguero (Hölldobler & Wilson 1990, MacKay 1981, Tschinkel 1998).

### *El movimiento de las semillas dentro del hormiguero*

La excavación de los hormigueros mostró que dentro de las primeras 48 h de haber sido transportadas, las semillas de *J. excisa* son depositadas en las cámaras de las crías. La alimentación de las larvas con eleosomas ha sido comprobada en diferentes especies de hormigas dispersoras (Bono & Heithaus 2002, Gammans *et al.* 2005, Fischer *et al.* 2005, Renard *et al.* 2010, Servigne & Detrain 2010), y se ha demostrado que la alimentación preferencial de las crías con un alimento rico en nutrientes como es el eleosoma puede aumentar el *fitness* de la colonia (Bono & Haithaus 2002, Gammans *et al.* 2005, Fokuhl *et al.* 2007).

Entre 7 y 15 días después de haber sido transportadas al nido, *P. cunicularius* descartó el 87% de las semillas de *J. excisa* en las cámaras superficiales que funcionan como basureros internos. En relación con la mirmecocoria, se ha propuesto que las condiciones de germinación son óptimas cuando la semilla permanece dentro del hormiguero (Beattie & Culver 1982, Coffin & Lauenroth 1990, Gibson 1993a), donde están protegidas de eventuales predadores (*e.g.* Heithaus 1981, Majer 1982, Higashi *et al.* 1989, Manzaneda *et al.* 2005), se encuentran en un microambiente a salvo de disrupciones y estreses ambientales (Beattie 1985), y en zonas propensas a incendiarse, corren menor riesgo de incineración (Berg 1981, Majer 1982). Este mismo comportamiento ha sido descrito en especies de hormigas caracterizadas como dispersoras de semillas mirmecócoras (Briese & Macauley 1981, Oostermeijer 1989,

Boyd 1996, Antonialli & Giannotti 2001, Majer *et al.* 2010), aunque también se han reportado especies de hormigas dispersoras que descartan las semillas en basureros externos (O'Dowd & Hay 1980, Kjellsson 1985a, Hughes & Westoby 1992a, Gorb & Gorb 2003, Servigne & Detrain 2008). Los basureros externos pueden ser sitios propicios para la germinación debido a que acumulan nutrientes provenientes del material de desecho de las hormigas, y a la vez las semillas pueden ser enterradas a cierta profundidad a medida que se adiciona material sobre ellas (Golley & Gentry 1964, Rogers & Lavigne 1974, Wenny 2001). En consecuencia, sería interesante evaluar si difieren las ventajas otorgadas por la deposición de las semillas entre ambos micrositios.

Si las semillas son abandonadas dentro del hormiguero, es crucial la profundidad a la que son descartadas. Si esta profundidad es demasiado grande, las semillas germinadas nunca alcanzarán la superficie del suelo. La profundidad media a la que se encuentran los basureros internos (5.8 cm) en los hormigueros de *P. cunicularius* permitiría la posterior emergencia de las plántulas de *J. excisa*. La máxima profundidad de emergencia que predice el modelo alométrico de Bond *et al.* (1999) para las semillas de *J. excisa* es de 10.76 cm. La profundidad desde la que las semillas emergieron en condiciones naturales (media 4.87 cm), aunque fue esperablemente variada, se aproximó a los valores teóricos sin superarlos. Por tanto, la profundidad media a la cual se encuentran los basureros superficiales de *P. cunicularius* permitiría la emergencia de las semillas de *J. excisa* allí depositadas. En concordancia con lo observado en *P. cunicularius*, en otras especies de hormigas dispersoras la mayoría de las semillas descartadas internamente fueron halladas dentro de los 8 cm de profundidad (Bond & Slingsby 1983, Hughes & Westoby 1992a).









Los desechos hallados en las cámaras basurero de *P. cunicularius* correspondieron mayormente a restos de exoesqueleto de diversos artrópodos. Estos restos representan una rica fuente de nitrógeno y fósforo, nutrientes que frecuentemente son limitantes para las plantas que crecen en zonas áridas y semiáridas (Noy-Meir 1985, Schlesinger *et al.* 1990). Su acumulación y posterior mineralización resultaría en un microambiente enriquecido en estos nutrientes (Gentry & Stiritz 1972; Wagner *et al.* 1997), y favorable para el crecimiento de las plantas de *J. excisa* que eventualmente allí germinaran.

### *Efecto de la manipulación por hormigas*

Un tercer destino posible de las semillas una vez transportadas al hormiguero es ser consumidas por las hormigas. La mayor parte de las especies de *Pogonomyrmex* tienen una dieta fundamentalmente granívora, y se caracterizan por coleccionar y guardar semillas adentro del hormiguero para luego consumirlas (“hormigas cosechadoras”) (Hölldobler & Wilson 1990). En los hormigueros de *P. badius*, la hormiga cosechadora de Florida, las cámaras con semillas o granarios se encuentran a profundidades entre 40 y 100 cm, en las cámaras más profundas del hormiguero (Tschinkel 1999). Las especies de *Pogonomyrmex* del Monte Central poseen asimismo granarios ubicados a profundidades intermedias (Nobua Behrmann *et al.* 2010). En cambio, no se encontraron granarios en los hormigueros excavados de *P. cunicularius*. La ausencia de granarios en los hormigueros de esta especie es congruente con la prevalencia de insectos muertos en su dieta (Kusnezov 1951, esta tesis Capítulo 5.III). Lo mismo se ha observado en *Pogonomyrmex mayri*, una especie de zonas semiáridas del Nordeste de Colombia cuya dieta está constituida principalmente por artrópodos muertos (Kugler & Hincapié 1983).

Las semillas recuperadas de los hormigueros de *P. cunicularius* conservaron su viabilidad luego de ser manipuladas por las hormigas. Las semillas de *J. excisa* poseen una testa dura y lisa, una característica compartida con otras especies mirmecócoras. La testa dura en las semillas mirmecócoras representa un mecanismo de defensa mecánico y tendría valor adaptativo, al evitar que el embrión sea dañado o consumido por las hormigas (Rodgerson 1998). Asimismo, el raspado de la testa en la región micropilar, correspondiente a la zona en donde emerge la radícula, semeja una escarificación, y podría aumentar la probabilidad de germinación de las semillas y/o actuar como señal de ruptura de la dormición si ésta existiera (Hutchinson & Ashton 1979, Horvitz 1981; Ohkawara 2005).

Otra posible consecuencia de la manipulación por hormigas se relaciona con la defensa antifúngica. Las hormigas poseen una glándula metapleuraleal en el mesosoma, que produce ácido fenilacético y otras sustancias antibióticas activas contra hongos y bacterias (Maschwitz 1974, Beattie *et al.* 1986). Siendo el hormiguero un sitio en donde las condiciones de humedad y oscuridad favorecen la colonización por microorganismos, las secreciones antibióticas y antifúngicas son cruciales para el mantenimiento de la higiene del nido (Hölldobler & Wilson 1990). Estas secreciones antibióticas podrían también tener un rol en la supervivencia de las semillas que fueron transportadas al hormiguero y manipuladas por las hormigas. En semillas de especies tropicales, la manipulación por hormigas del género *Pheidole* tuvo como efecto reducir el desarrollo de esporas e hifas sobre la testa de las semillas (Ohkawara & Akino 2005). Leal & Olivera (1998) encontraron asimismo que en semillas de especies tropicales de Brazil dispersadas secundariamente por hormigas, la limpieza de la pulpa que las recubre tiene un impacto positivo sobre su supervivencia y germinación.

Los resultados obtenidos en los ensayos de germinación indican que el consumo del eleosoma por las hormigas favorecería la germinación de las semillas de *J. excisa*. En algunas especies, la presencia del eleosoma está ligada a la dormición de las semillas, y su remoción actúa como clave para romperla (Horvitz 1981; Rockwood and Bloiss, 1986; Viegi *et al.* 2003; Ohkawara 2005). También se ha propuesto que la posición que ocupa la carúncula en las Euphorbiaceae, *i.e.*, directamente sobre el punto de emergencia del ápice de la radícula, actuaría como una barrera física para su emergencia (Ciccarelli *et al.* 2005). Los ensayos de germinación de las semillas de *J. excisa* mostraron además que el eleosoma es propenso a ser atacado por hongos cuando las condiciones de humedad son altas. El consumo del eleosoma por las hormigas, así como la limpieza antibiótica y antifúngica aparejada, podría tener consecuencias positivas sobre la supervivencia de las semillas. Este efecto en particular sería aún más importante si las semillas forman un banco persistente a menor o mayor plazo de tiempo.

### *Migración de las colonias*

La mayor parte de las colonias de *Pogonomyrmex cunicularius* estudiadas migraron al menos una vez al año durante las dos temporadas de observación. En las hormigas, la relocalización periódica de los hormigueros es un fenómeno común, descrito para diversas especies y en diferentes hábitats (*e.g.* Darwin 1859, De Vita 1979, Smallwood 1982a, Gordon 1992, McGlynn *et al.* 2004). Entre los factores asociados a la migración de una colonia, se señalan el cambio en las condiciones microclimáticas del nido (Carlson & Gentry 1973, Smallwood 1982b), la competencia intra- o interespecífica (deVita 1979, Brown 1999), el escape de enemigos naturales (predadores o parásitos)

(McGlynn *et al.* 2004) y el deterioro del nido en cuanto a sus condiciones higiénicas o estructurales (Wilson 1971, Gordon 1992).

En algunas especies, la relocalización de los hormigueros sigue un ritmo estacional. Herbers (1985) describe a especies de Formicinae y Myrmicinae que emigran en otoño hacia sitios de hibernación, para volver a mudarse en primavera. En *Aphaenogaster rudis*, la relocalización es máxima a mitad del verano (Smallwood 1982b) y en *Pogonomyrmex mayri* sigue los ritmos estacionales de la época seca y lluviosa (Kugler & Hincapié 1983). En *P. cunicularius*, las migraciones ocurrieron en la mayor parte de los casos observados entre el fin del verano y el principio del otoño, y los nuevos sitios de nidificación estuvieron ubicados mayormente en suelo desnudo. En especies del desierto, la relocalización antes del comienzo de la temporada invernal hacia zonas de suelo desnudo y alta exposición solar tendría como objeto aumentar la insolación del hormiguero y así prepararse para la hibernación (MacKay 1981).

Otra de las causas de la relocalización en *P. cunicularius* podría ser la infestación por ácaros (Acarina). En dos de los hormigueros excavados, se observaron unos pocos individuos cuyo cuerpo estaba casi completamente cubierto por estos artrópodos (Lám. 7A, B). Asimismo, los hormigueros y en particular los basureros, contuvieron gran número de individuos pertenecientes a este grupo. Los ácaros son uno de los taxa de artrópodos encontrados más frecuentemente en los hormigueros, comportándose algunas especies como ectoparásitos que se alimentan de las secreciones de los cuerpos de las hormigas o inclusive de su hemolinfa (Hölldobler & Wilson 1990).

En general, se considera que cuanto más grande sea el tamaño de las colonias, mayor será la duración de su nido, y menor su tasa de relocalización. Géneros como *Camponotus*, *Atta*, y *Formica* permanecen en un mismo sitio por años (Hölldobler & Wilson 1990). Los nidos de las especies de *Pogonomyrmex* del Hemisferio Norte con

colonias formadas por varios miles de individuos, como *P. badius* y *P. californicus*, pueden permanecer en el mismo sitio hasta 17 años (Hölldobler & Wilson 1990, Tschinkel 1999). La vida media de los hormigueros está directamente relacionada con la complejidad y tamaño de éstos. Así, una colonia que invierta una gran cantidad de energía en construir su nido se mudará menos que aquellas especies con nidos menos elaborados y con colonias más chicas (Freitas 1995). La migración frecuente de *P. cunicularius* es congruente con la relativamente simple estructura y poca profundidad de sus hormigueros.

Las consecuencias de la relocalización de los hormigueros sobre la mirmecocoria son importantes. En primer lugar, si la construcción de hormigueros modifica las propiedades físicas y químicas del suelo, diferenciándolos de los suelos adyacentes, estos cambios serán más pronunciados cuanto mayor sea el tamaño y el tiempo de residencia de la colonia (Culver & Beattie 1983, Higashi *et al.* 1989). Si el principal beneficio de la mirmecocoria para las plantas es el transporte a micrositios enriquecidos en nutrientes, entonces evolutivamente serán favorecidas aquellas especies con hormigueros de larga vida media. Sin embargo, especies de hormigas consideradas como importantes dispersoras de semillas (e.g. *Aphaenogaster rudis*, *Myrmica rubra* y *Lasius niger*) relocalizan sus nidos frecuentemente (Culver & Beattie 1978, Smallwood & Culver 1979, Higashi *et al.* 1989, Hughes & Westoby 1990, Rühren & Dudash 1996). Por ejemplo, *Aphaenogaster rudis* emigra cada 30 días (Smallwood 1982b, McGlynn *et al.* 2004) y es poco probable que sus nidos estén enriquecidos con nutrientes. Esto explicaría la información controvertida acerca de si los hormigueros son o no islas de fertilidad: dentro de una misma especie, el enriquecimiento en nutrientes variará dependiendo de la longevidad del hormiguero analizado. Finalmente, en los hormigueros abandonados, la ausencia de la colonia dispara cambios en la humedad y

aireación del suelo, así como en el nivel de nutrientes. Aún cuando las propiedades físico-químicas del hormiguero pueden persistir varios meses después de haber sido abandonado, al cabo de un período de tiempo más o menos variable retornan a los niveles característicos del suelo circundante (King 1977, Petal 1980).

En segundo lugar, la relocalización podría tener como consecuencias disminuir la probabilidad de agregación de las semillas en un mismo sitio. Las colonias de ciertas especies de *Pogonomyrmex* del hemisferio Norte, al mudarse transportan las semillas de sus granarios al nuevo hormiguero (Hölldobler 1976, Van Pelt 1976). En cambio, *P. cunicularius* no guarda semillas en granarios y nunca fue observada transportando las semillas al nuevo hormiguero. Si luego de la mudanza las semillas son abandonadas, entonces las nuevas semillas recolectadas serán transportadas a un nuevo sitio, disminuyendo así la probabilidad de competencia tanto inter- como intraespecífica (Higashi *et al.* 1989). Si las colonias de *P. cunicularius* tienden a mudarse a fin del verano, entonces es probable que las semillas dispersadas al comienzo del período de fructificación de *J. excisa* (enero-febrero) sean llevadas a un sitio diferente al de las semillas dispersadas al final del período de fructificación (marzo-abril). En consecuencia, la sincronización entre ambos eventos, dispersión y relocalización, resultaría en el beneficio para la planta de evitar que semillas de una misma planta parental compitan entre sí por el mismo nicho.

Una tercera consecuencia de la relocalización a espacios abiertos es que la competencia por luz y nutrientes será menor para las plantas que se establezcan en ese sitio, y proveerá de condiciones favorables para el crecimiento de plantas con requerimientos de alta luminosidad. Las especies pioneras que se especializan en la colonización de espacios abiertos resultan así favorecidas por este comportamiento (Oostermeijer 1989). Sin embargo, en los desiertos es más favorable para las plántulas

de ciertas especies crecer bajo la canopia de una planta para reducir la insolación durante sus primeras etapas de desarrollo. El fenómeno de las plantas facilitadoras está bien estudiado en los desiertos (revisado por Callaway 1995), y en la zona de estudio es frecuente observar estas islas de fertilidad separadas por parches de suelo desnudo. En consecuencia, es necesario realizar más estudios a campo para determinar si las semillas de *J. excisa* realmente se benefician con la relocalización a parches de suelo desnudo.

Muchas semillas de plantas dispersadas por hormigas presentan dormición, y pueden permanecer largo tiempo formando un banco de semillas sin que disminuya su viabilidad. Para estas semillas, un hormiguero abandonado representaría un sitio ideal de almacenamiento, al resguardo de la intemperie y de eventuales predadores. Estas semillas germinarán cuando las condiciones de humedad y temperatura sean apropiadas, y/o factores externos rompan su dormición cuando ésta exista (Berg 1981, Majer 1982, Bond & Slingsby 1983). La formación de bancos de semillas es una estrategia altamente favorable en ambientes desérticos, donde los sitios favorables para el establecimiento de las plantas son escasos e impredecibles en el tiempo (*e.g.* Aguiar & Sala 1997). Las semillas de *J. excisa* conservan su viabilidad al menos tres años (*obs. pers.*), y probablemente más, teniendo en cuenta la prolongada conservación de la viabilidad en especies emparentadas (*e.g.* *Manihot esculenta* (Euphorbiaceae) puede permanecer en dormición hasta 40-50 años, Pujol *et al.* 2002).

### *La Hipótesis de la dispersión dirigida. Son los hormigueros micrositios favorables para las plantas?*

La dispersión dirigida puede definirse como el arribo desproporcionado de las semillas a sitios especialmente favorables para su supervivencia (Howe & Smallwood 1982). La

mirmecocoria es un excelente ejemplo de dispersión dirigida, y el transporte al hormiguero es considerada la ventaja selectiva más importante en la evolución de la mirmecocoria (Beattie 1985, Wenny 2001). En este mutualismo, la hipótesis de la dispersión dirigida se basa en la premisa que los hormigueros representan micrositios en donde la probabilidad de germinación y establecimiento de la plántula se verá aumentada (Hanzawa *et al.* 1988). El mecanismo subyacente a esta hipótesis más frecuentemente propuesto es que los hormigueros son sitios favorables para las plantas por estar enriquecidos en nutrientes (Beattie 1985), siendo este enriquecimiento producto de la acumulación de detritos y restos animales y vegetales (Petal 1978).

Sin embargo, la hipótesis del enriquecimiento en nutrientes ha sido corroborada en cierto número de trabajos (Culver & Beattie 1980, Davidson & Morton 1981, Beattie & Culver 1983, Passos & Oliveira 2003) y rechazada en otros (Horvitz & Schemske 1986, Rice & Westoby 1986, Bond & Stock 1989, Gibson 1993a). Los suelos del SO de Australia y los suelos de Sudáfrica son característicamente deficientes en P, K, N y otros micronutrientes. Esto llevó a proponer que la mirmecocoria es más abundante en suelos infértiles que en suelos fértiles, y que la dispersión por hormigas es una respuesta adaptativa a la deficiencia en nutrientes (Milewski & Bond 1982, Davidson & Morton 1981). Sin embargo, en suelos infértiles de Australia la mirmecocoria no es más común que en suelos fértiles, y las plantas dispersadas por hormigas no crecen en suelos con más nutrientes que los suelos adyacentes (Rice & Westoby 1986, Horvitz & Schemske 1986). Gibson (1993a) encontró que el aumento en la probabilidad de germinación de las semillas observado en los hormigueros se debió a condiciones del suelo pre-existentes, presentes antes de que el sitio fuera colonizado por las hormigas. También los resultados obtenidos en otros trabajos acerca del patrón de distribución de las plantas mirmecócoras con respecto a los hormigueros es diversa y controvertida: en tanto

algunos autores encontraron una mayor densidad de plantas creciendo sobre o en los bordes de los nidos de hormigas dispersoras (Sernander 1906, Davidson & Morton 1981, Kjellson 1985b, Rissing 1986, Andersen 1988, Oostermeijer 1989, Levey & Byrne 1993, Gómez & Espadaler 1998b, Bonte *et al.* 2003), otros no encontraron tal asociación (Lehouck *et al.* 2004), mientras que otros encontraron incluso una relación negativa (Culver & Beattie 1983, Schütz *et al.* 2008).

El efecto de las hormigas sobre el suelo al construir el hormiguero no se limita a cambios en la concentración de nutrientes. Las hormigas, al construir cámaras y túneles, actúan como bioturbadores, provocando un constante movimiento y redistribución del suelo, modificando sus propiedades físicas, y homogeneizando su perfil. Los suelos de los hormigueros tienen mayor penetrabilidad, mayor porosidad, mayor contenido de agua, mayor aireación y una textura diferente respecto del suelo circundante (Petal 1978, Laundré 1990). Aún más, los hormigueros suelen estar termo-regulados, por lo que la temperatura a una profundidad dada también será diferente respecto a la de un suelo sin hormiguero (Hölldobler & Wilson 1990). Todos estos factores pueden influenciar la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas con una importancia equivalente a la del aumento en la concentración de nutrientes.

La hipótesis de la dispersión dirigida ha sido puesta generalmente a prueba a través de ensayos de germinación de semillas en suelos provenientes de hormigueros y con suelos sin hormigueros como control (*e.g.* Leal *et al.* 2007), o cuantificando las plántulas que crecen en el hormiguero de la especie dispersora en relación a un cuadrado de suelo al azar (*e.g.* Lehouck *et al.* 2004). La utilización de este último método se complica en el caso de sistemas en los que interaccionan una planta perenne como *J. excisa* y una especie de hormiga que relocaliza sus nidos frecuentemente como *P. cunicularius*. En este sistema, no será posible encontrar una correlación espacial

entre las plantas y los hormigueros activos, ya que raramente coincidirán temporalmente. A esto debe sumarse el bajo número de plántulas observado a campo y su baja tasa de germinación en condiciones de laboratorio, lo que sugiere una baja tasa de reclutamiento en condiciones naturales.

Por otra parte, también deben considerarse los efectos adversos asociados al transporte de las semillas al hormiguero. Por ejemplo, el transporte y el abandono de las semillas en un mismo hormiguero pueden resultar en la agregación de las plántulas emergentes, con la consecuente competencia por espacio y nutrientes (Culver & Beattie 1980). Muchas especies mirmecócoras muestran este patrón de agregación en poblaciones naturales (Handel 1976, Pudlo *et al.* 1980). Esta agregación fue observada frecuentemente en plantas adultas y plántulas de *J. excisa* creciendo naturalmente en el área de estudio (Lám. 7 C- E). Dado que las semillas de *J. excisa* son sobredispersadas por la dehiscencia explosiva de sus frutos, se puede inferir que las plántulas agregadas provienen de semillas que fueron transportadas a un hormiguero. Sin embargo, no es posible determinar si estas plantas provienen de hormigueros de *P. cunicularius* que fueron posteriormente abandonados. En el área de estudio, se observaron hormigueros de *Pheidole bergi* y *Ph. spininodis* asociados a plantas de *J. excisa* creciendo en forma agregada. Aunque no puede descartarse que estas especies de hormigas hayan sido responsables del transporte de las semillas a su hormiguero, también puede hipotetizarse que provienen de hormigueros de *P. cunicularius* que fueron abandonados y posteriormente ocupados por estas especies de *Pheidole*. Asimismo, si el hormiguero está siendo sujeto a una continua actividad de disturbio por efecto de movimientos internos de tierra producidos por la excavación de nuevos túneles y cámaras, el efecto sobre las plantas será negativo, en particular durante las primeras fases de la germinación (Culver & Beattie 1978). En consecuencia, el establecimiento de las

plantas dispersadas será más favorable una vez que el hormiguero haya sido abandonado.

## **Conclusiones**

Las semillas de *J. excisa* transportadas a los hormigueros de *P. cunicularius* sufrieron un transporte vertical desde las cámaras profundas donde se encuentran la cría de la colonia, donde el eleosoma fue consumido, hasta las cámaras superficiales que funcionan como basureros, donde fueron descartadas como material de desecho. Las semillas descartadas no mostraron signos de daño embrionario y conservaron su viabilidad. Asimismo, los ensayos de germinación mostraron que ésta fue favorecida en las semillas cuyo eleosoma fue experimentalmente removido. La profundidad de los basureros internos permitiría la posterior emergencia de las plántulas, y el material allí acumulado proveería condiciones de nutrientes propicias para su crecimiento. La frecuente relocalización de los hormigueros de *P. cunicularius* tendría efectos favorables sobre el proceso de la dispersión, evitando la agregación de las semillas en un mismo hormiguero, y disminuyendo la competencia intra- e interespecífica de las plantas. Asimismo, las semillas en un hormiguero abandonado tienen la posibilidad de formar un banco a menor o mayor lapso de tiempo, en un sitio a cubierto de disrupciones ambientales y a salvo de la predación por otros animales. En ambientes desérticos y sujetos a condiciones ambientales impredecibles y variables de año a año, la formación de una reserva de semillas en el suelo representa una dispersión en el tiempo, y provee a la población la oportunidad de explotar futuras condiciones favorables para el establecimiento de las plántulas.



## *CAPÍTULO 5. La biología de P. cunicularius pencosensis en relación a su comportamiento como dispersora de semillas*

### **Introducción**

En la mirmecocoria, el eleosoma actúa como la recompensa del mutualismo (Beattie 1985), con una función análoga a la que tiene el néctar en la polinización (Faegri & van der Pijl 1979) y la pulpa en los frutos dispersados por vertebrados (Jordano 1992). Sin embargo, en los mutualismos en general y en la mirmecocoria en particular, la recompensa es de una naturaleza no selectiva (*e.g.* Beattie 1980, Thompson 1994, Garrido *et al.* 2002), por lo que son atraídos tanto los vectores mutualistas como los no mutualistas. Estos últimos son también llamados “estafadores” ya que consumen la recompensa sin intercambiar un beneficio para la planta (Giladi 2006, Boulay *et al.* 2007a). A su vez, dentro de los que se comportan como mutualistas, algunos brindan mejores servicios que otros, y estos mutualistas de alta calidad son los que otorgan mayores beneficios a la planta, con un papel desproporcionadamente importante en la interacción (Giladi 2006, Ness *et al.* 2009, Gove *et al.* 2007). En este contexto, puede esperarse que ciertos caracteres de la planta sean favorecidos evolutivamente para aumentar la probabilidad de interacción con aquellos mutualistas claves o de alta calidad (Irwin *et al.* 2004, Giladi 2006). Entre los caracteres de la planta con influencia sobre la probabilidad de interacción con especies de hormigas mutualistas se han señalado la fenología de liberación de las semillas (Oberrath & Böhning-Gaese 2002, Guitián & Garrido 2006), el tamaño y la composición química del eleosoma (Garrido *et al.* 2002, Boulay *et al.* 2006, Alcántara *et al.* 2007), y el patrón espacial de presentación de las semillas (Hughes & Westoby 1992b, Boulay *et al.* 2007b).

En general, los trabajos publicados sobre la mirmecocoria han estudiado a esta interacción desde la perspectiva de la planta, y con especial énfasis en las posibles ventajas selectivas obtenidas por efecto de la dispersión por hormigas (*e.g.* Beattie & Hughes 2002, Beattie 1983, Gorb & Gorb 2003, Giladi 2006, Rico-Gray & Oliveira 2007). Otros trabajos han analizado cómo ciertos aspectos específicos de la interacción se relacionan con las hormigas dispersoras, tales como las distancias de transporte (Berg 1975, Beattie 1985, Boulay *et al.* 2007), y la asociación entre la morfología de las diásporas y la de las hormigas (Berg 1975, Rodgerson 1998, Garrido *et al.* 2002).

En los últimos años, y acompañando el concepto de la mirmecocoria como un mutualismo desigualmente difuso, una serie de trabajos han puesto en foco al componente animal de la interacción, *i.e.* las hormigas dispersoras (Gove *et al.* 2007, Ness *et al.* 2009, Lubertazzi *et al.* 2010, Majer *et al.* 2010). Si el éxito de la dispersión depende de la identidad de la especie de hormiga que interacciona con la planta, entonces los caracteres de la planta dispersada deben ajustarse a los caracteres de aquellas hormigas que otorguen los mayores beneficios de la dispersión. La estructura y longevidad de los nidos, el tipo de alimentación, la estrategia de forrajeo y otros diversos aspectos ecológicos y comportamentales de las hormigas pueden ser relacionados con una mayor eficiencia en la dispersión de semillas. Así, el estudio de la biología de las hormigas dispersoras resulta fundamental para la comprensión integral de la ecología y evolución de la mirmecocoria.

## **Objetivos**

El objetivo de este capítulo es describir diversos aspectos de la biología de *P. cunicularius* en relación a su comportamiento como la dispersora más importante de semillas de *J. excisa* en el área de estudio. La biología de esta especie es descrita por

primera vez en esta tesis, siendo hasta ahora las únicas referencias disponibles las observadas por Kusnezov (1951) en su estudio sobre el género *Pogonomyrmex*. A lo largo de las tres secciones de este Capítulo, se describe el ritmo diario y estacional de actividad (Sección I), la dieta (Sección II) y la posición dentro de la jerarquía de dominancia comportamental (Sección III) de *P. cunicularius*, discutiéndose su influencia sobre la interacción mutualística con *J. excisa*.

### *Sección 1. El ritmo diario de actividad*

En las plantas, la fenología de fructificación y liberación de las semillas tiene un componente filogenético y un componente ambiental. En un determinado hábitat, las plantas dispersan sus semillas cuando las condiciones son favorables tanto para su dispersión como para su eventual germinación (Howe & Smallwood 1982). En relación con la mirmecocoria, la coincidencia temporal entre el momento de liberación de las semillas y la actividad de las hormigas dispersoras constituye un pre-requisito para la existencia de una interacción mutualista. Esta sincronización ha sido descrita en sistemas mirmecócoros tanto a escala estacional (Thompson 1981; Ohkawara *et al.* 1997; Oberrath & Böhning-Gaese 2002; Giladi 2004, Guitián & Garrido 2006) como a escala diaria (Turnbull & Culver 1983, Espadaler & Gomez 1996, Boulay *et al.* 2007b).

Un ejemplo de sincronización a escala estacional se encuentra en ciertas especies mirmecócoras de los bosques templados del Hemisferio Norte. Estas plantas liberan sus semillas temprano en la primavera, cuando la actividad de las hormigas es alta y las fuentes de comida alternativas (principalmente insectos) son escasas, una estrategia que aumenta la probabilidad de que sus semillas sean removidas por hormigas (Thompson 1981, Ohkawara *et al.* 1997, Oberrath & Böhning-Gaese 2002, Guitián & Garrido

2006). Un ejemplo de sincronización a escala diaria se encuentra en *Viola nuttallii*, una hierba de las Montañas Rocosas de Colorado, cuyas cápsulas se abren por la mañana, coincidiendo con el horario de máxima actividad de sus dos principales hormigas dispersoras (Turnbull & Culver 1983).

El objetivo de esta sección es determinar la existencia de una sincronización entre el ritmo diario de liberación de las semillas de *J. excisa*, y el ritmo diario de actividad de su principal hormiga dispersora, *P. cunicularius*. Se plantea como hipótesis que la liberación de semillas de *J. excisa* ocurre con un ritmo diario que favorece su remoción por su principal hormiga dispersora, *P. cunicularius*. Por tanto, se espera una sincronización a escala diaria entre la liberación de las semillas de *J. excisa* por dispersión explosiva y la actividad de forrajeo de *P. cunicularius*, así como una relación lineal positiva entre la tasa de remoción diaria de las semillas de *J. excisa* y la actividad diaria de forrajeo de *P. cunicularius*.

## **Materiales y Métodos**

### *Ritmo diario de dehiscencia de J. excisa*

El ritmo diario de dehiscencia de *J. excisa* se determinó durante febrero de 2010 en el sitio PHE, donde se seleccionaron 30 plantas adultas que presentaran aspecto vigoroso. En cada planta se marcaron con una cinta roja entre 15 y 20 frutos maduros. Cada hora, desde las 08:00 hasta las 20:00 h (*i.e.* 12 intervalos de tiempo), se contó el número de cápsulas marcadas en cada planta, considerándose la ausencia de las cápsulas marcadas como evidencia de dehiscencia. Las observaciones se realizaron tres días consecutivos y en días secos y soleados (3 días x 12 sesiones,  $N = 36$ ).

### *Ritmo diario de actividad de P. cunicularius*

El ritmo de diario actividad de *P. cunicularius* fue determinado mediante cebos con atún y complementado con la observación directa de los hormigueros. El atún es utilizado comúnmente como cebo para caracterizar el ensamble de hormigas que interactúan con plantas mirmecócoras, ya que tanto éste como el eleosoma contienen diglicéridos, el compuesto postulado como atractor químico de las hormigas (Heithaus & Humes 2003, Ness & Morin 2008). Previa observaciones mostraron que *P. cunicularius* es atraída rápidamente por el atún. Los ensayos se realizaron en el mismo sitio y en el mismo mes que las observaciones del ritmo de dehiscencia. Se establecieron al azar tres transectas de 100 m, separadas al menos por 100 m, a lo largo de las cuales se colocaron cada 10 m rectángulos de cartón blanco (7 x 5 cm) con una cucharada (c. 3g) de atún en aceite enlatado.

Las sesiones de muestreo se realizaron a lo largo de un mismo día durante seis períodos consecutivos de una hora cada uno: mañana (08:00–09:00 h); media mañana (10:00–11:00 h), mediodía (12:00–13:00 h), media tarde (15:00–16:00 h), tarde (17:00–18:00 h) y crepúsculo (19:00–20:00 h). Previa observaciones habían mostrado que *P. cunicularius* es estrictamente diurna, por lo que no se realizaron muestreos nocturnos. Para evitar acostumbramiento a la fuente de comida, al finalizar cada sesión el atún fue retirado y una nueva estación colocada al menos a 2 m de distancia y en dirección al azar. Durante cada sesión de muestreo, 5 min después de colocar el cebo y cada 15 min, se anotó la ocurrencia y el número de individuos de las especies de hormiga presentes sobre cada estación. La ocurrencia de cada especie se anotó sólo una vez durante cada sesión de 60 min, independientemente de cuántas veces fue observada su presencia en la misma estación. En total el estudio se basó en 30 unidades de muestreo (10 estaciones x

3 transectas) y 180 observaciones por sesión de muestreo (30 estaciones x 6 observaciones).

### *Ritmo diario de remoción de las semillas de *J. excisa**

Los experimentos de remoción de semillas se llevaron a cabo en el mismo sitio y en el mismo mes que las observaciones de dehiscencia y de actividad de las hormigas. Para realizar los ensayos se utilizaron semillas frescas de *J. excisa*, obtenidas a partir de cápsulas maduras colectadas en los sitios de muestreo. Se usaron las mismas transectas arriba descritas, colocándose en cada estación de muestreo 5 semillas de *J. excisa* sobre rectángulos de cartón blanco de 7 x 5 cm. Las observaciones se realizaron en los mismos intervalos de tiempo descritos para las observaciones del ritmo de actividad diaria de las hormigas (5 semillas x 10 estaciones x 3 transectas x 6 sesiones = 900 semillas en total). Luego de 60 min se contaron las semillas removidas de cada estación, considerándose a una semilla removida cuando no fue hallada dentro de 50 cm de radio alrededor de la estación.

### *Análisis de los datos*

El ritmo diario de dehiscencia de *J. excisa* se calculó como el número de cápsulas abiertas entre dos censos consecutivos, expresado como la proporción del total de cápsulas que explotaron a lo largo de las 24 h de cada sesión. El ritmo de actividad diaria de las hormigas se estimó como la proporción de estaciones en las que al menos una obrera fue observada durante cada sesión, relativa al total de ocurrencias registradas a lo largo de las seis sesiones. Este cálculo se realizó para el total de especies observadas en las estaciones, para *P. cunicularius*, y para *C. mus*, la especie observada

más frecuentemente predando los eleosomas de las semillas de *J. excisa*. El ritmo diario de remoción de semillas se calculó como la proporción de semillas removidas de cada estación durante cada sesión, relativa al total de semillas removidas a lo largo de las seis sesiones.

El efecto del ritmo diario de actividad de *P. cunicularius* y el ritmo diario de actividad de *C. mus* sobre el ritmo diario de remoción de semillas se analizó mediante Modelos Lineales Generalizados Mixtos (GLZM) con distribución binomial y función logit. Las transectas ( $n = 3$ ) fueron tratadas en el modelo como factor aleatorio. El mejor modelo estadístico se obtuvo mediante la reducción manual en pasos, de acuerdo al mínimo valor de AIC.

## **Resultados**

### *Ritmo diario de dehiscencia de J. excisa*

El ritmo diario de dehiscencia de *J. excisa* fue observado en un total de 515 frutos. La mayor parte de las cápsulas (81.34 % de las 515) se abrieron entre las 10:00 y las 15:00 h, con un pico de dehiscencia entre las 11:00 y las 12:00 h (Fig. 7). El número de cápsulas abiertas disminuyó progresivamente a lo largo de la tarde hasta aproximarse a 0 durante la noche.

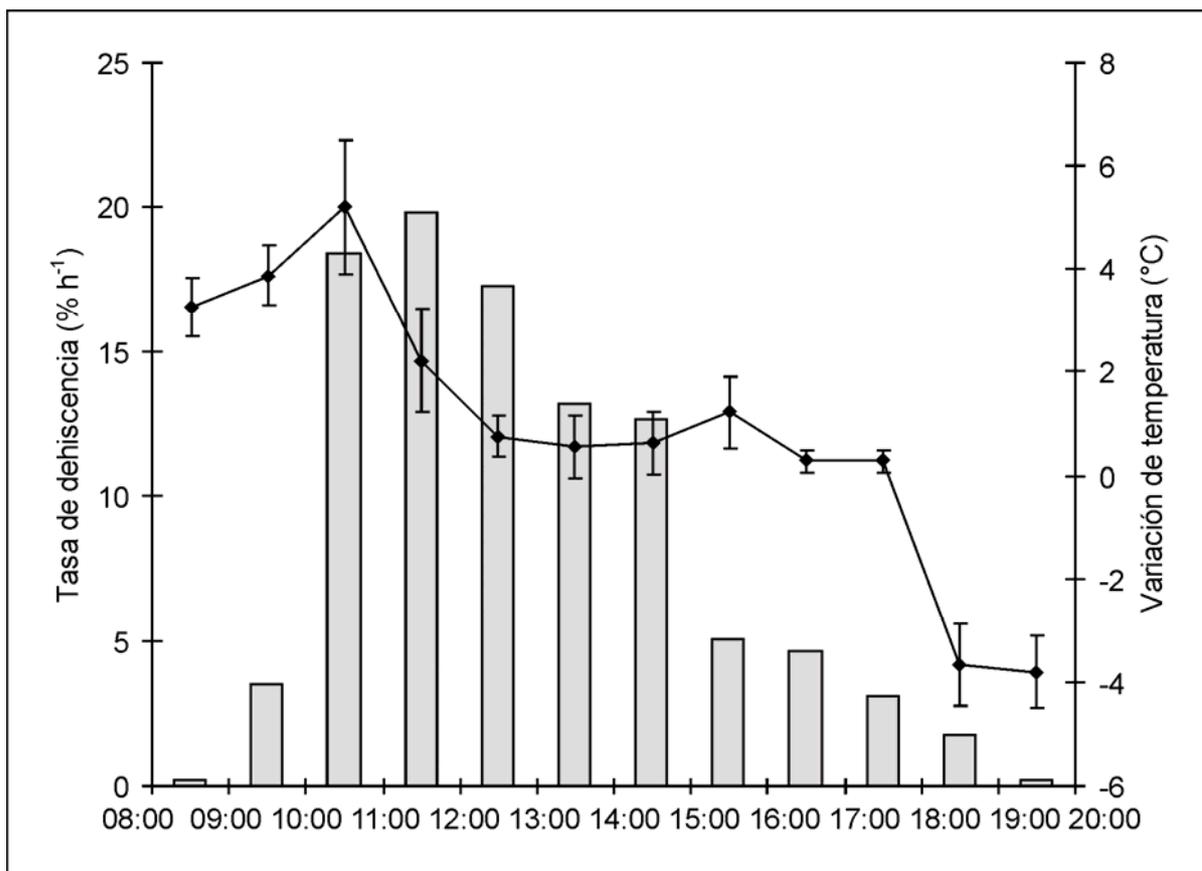
### *Ritmo diario de actividad de P. cunicularius*

Un total de 15 especies de hormigas fueron observadas sobre las estaciones de muestreo a lo largo de las seis sesiones, de las cuales 11 fueron observadas interactuando en los ensayos anteriores con las semillas de *J. excisa* (Tabla 5). *Camponotus mus* y *Pogonomyrmex cunicularius* fueron las especies más frecuentes en cuanto a su

ocurrencia. Otras especies comúnmente observadas fueron *Forelius chalybaeus*, *F. nigriventris*, y *Pheidole bergi*.

La ocurrencia de todas las especies en las estaciones mostró el típico patrón bimodal de los ambientes desérticos, con picos de actividad durante la mañana (de 10:00 a 11:00 h) y durante la tarde (de 17:00 a 18:00 h), y un marcado descenso durante el mediodía. La ocurrencia de todas las especies durante la tarde fue mayor que durante la mañana.

*Pogonomyrmex cunicularius* mostró ser una especie termofílica. Mientras que no se registró presencia de obreras en las estaciones de muestreo durante las sesiones de mañana y de crepúsculo, el pico de actividad se registró desde las 15:00 hasta las 18:00 h (Fig. 8). Durante las sesiones de la tarde temprana y las sesiones de la tarde la ocurrencia fue similar. Durante el mediodía la presencia de obreras en las estaciones fue baja pero no nula, mientras que por la mañana fue menor que en ambas sesiones de la tarde. Durante la tarde temprana (de 15:00 a 16:00), la temperatura del suelo alcanza valores que pueden superar los 60°C (obs. pers.). A esta hora del día, la única especie que fue capaz de tolerar las altas temperaturas además de *P. cunicularius* fue *Forelius nigriventris*, una especie de hormiga también reportada como termofílica por Bestelmeyer (2000).

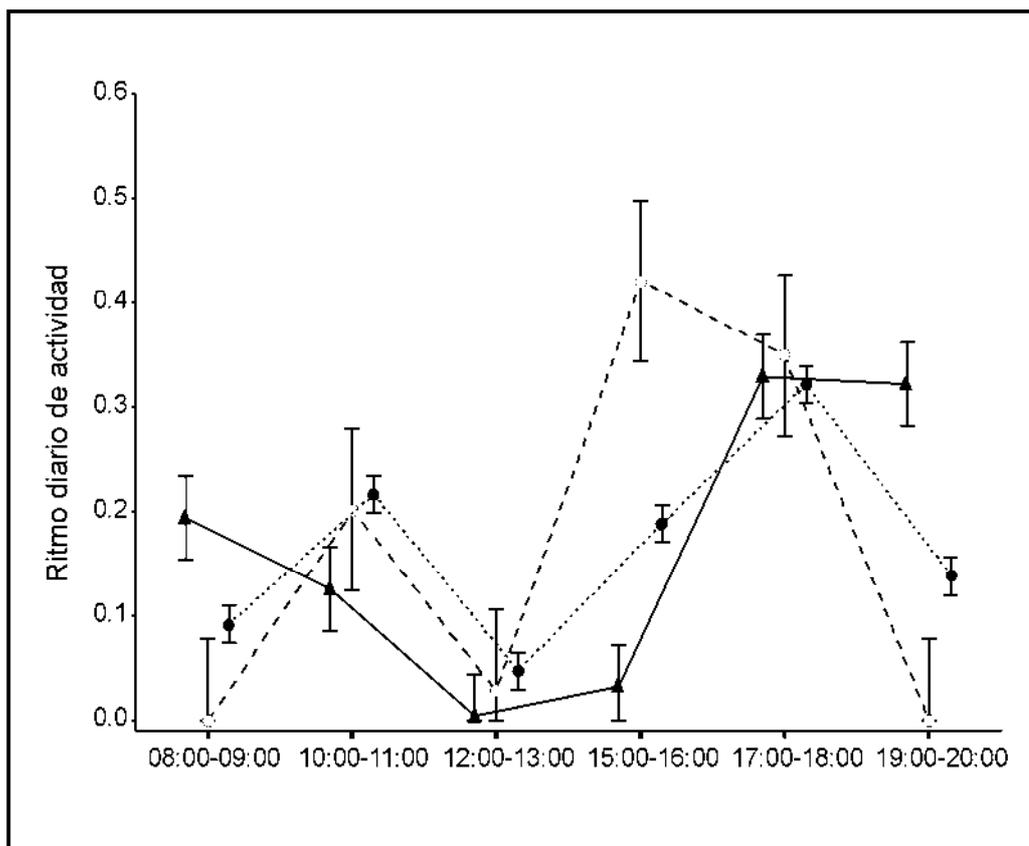


**Fig. 7 Ritmo diario de dehiscencia de las cápsulas de *J. excisa*.** Las columnas muestran el porcentaje acumulativo de frutos abiertos durante cada intervalo de tiempo relativos al total abiertos durante 24 h de observación y a lo largo de tres días ( $N = 515$  frutos). La línea representa la variación media ( $\pm$  DE) de la temperatura bajo la canopia entre dos intervalos de tiempo consecutivos, estimada como la diferencia entre el mínimo y el máximo valor medido entre cada intervalo y el siguiente ( $N = 30$ ).

La proporción de estaciones ocupadas por obreras de *C. mus* fue asimismo influenciada en forma significativa por la sesión del día. Contrastando con *P. cunicularius*, esta especie mostró un bajo grado de termofilia, evitando las horas más calurosas del día y mostrando máxima actividad en las sesiones de la tarde y del crepúsculo (Fig. 8).

**Tabla 5 Ocurrencia total de las especies de hormiga del área de estudio en las estaciones de muestreo con atún.** La ocurrencia es la proporción de estaciones ( $N = 540$ ) en que se observó al menos un individuo de cada especie en los tres sitios de muestreo y durante seis sesiones consecutivas diurnas. En negrita se señalan las especies utilizadas en los análisis comportamentales (Sección II), y con un asterisco aquellas observadas interaccionando con las semillas de *J. excisa*.

Especies (Subfamilia)	Ocurrencia
<b><i>Pogonomyrmex cunicularius pencosensis</i> Forel</b>	<b>0.36</b>
(Myrmicinae)*	
<b><i>Pheidole bergi</i> Mayr (Myrmicinae)*</b>	<b>0.11</b>
<b><i>Pheidole spininodis</i> Mayr (Myrmicinae)*</b>	<b>0.044</b>
<i>Solenopsis</i> sp1 (Myrmicinae)*	0.059
<i>Crematogaster quadriformis</i> Roger (Myrmicinae)*	0.055
<b><i>Camponotus mus</i> Roger (Formicinae)*</b>	<b>0.47</b>
<b><i>Camponotus blandus</i> Smith F. (Formicinae)*</b>	<b>0.059</b>
<i>Dorymyrmex ensifer</i> Forel (Dolichoderinae)	0.022
<i>Dorymyrmex exsanguis</i> Forel (Dolichoderinae)	0.042
<i>Dorymyrmex</i> sp.1 (Dolichoderinae)	0.015
<i>Dorymyrmex</i> sp.2 (Dolichoderinae)	0.009
<b><i>Forelius chalybaeus</i> Emery (Dolichoderinae)*</b>	<b>0.24</b>
<b><i>Forelius nigriventris</i> Forel (Dolichoderinae)*</b>	<b>0.118</b>
<i>Forelius albiventris</i> Forel (Dolichoderinae)*	0.096
<b><i>Pseudomyrmex denticollis</i> Emery (Pseudomyrmecinae)*</b>	<b>0.109</b>



**Fig. 8 Ritmo diario de actividad de las especies de hormigas en el área de estudio.**

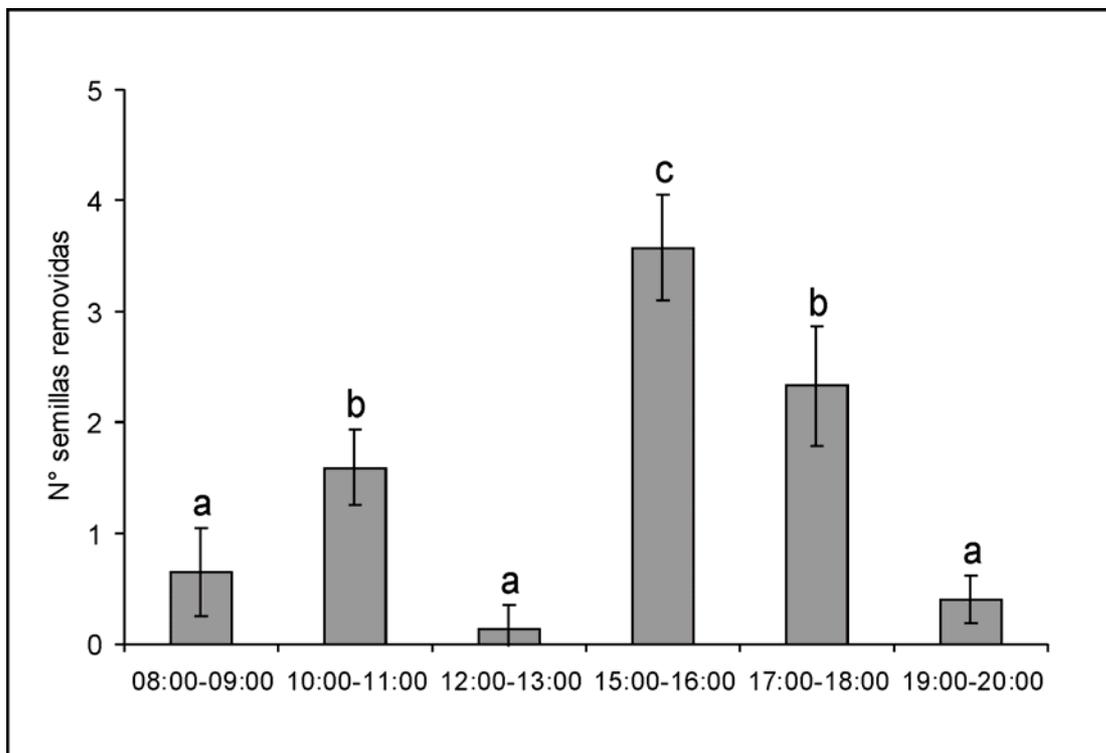
El ritmo diario de actividad se calculó como la proporción de estaciones ocupadas en cada intervalo de tiempo sobre el total de estaciones ocupadas a lo largo del día. Los datos muestran las medias  $\pm$  EE ( $n = 3$  transectas,  $N = 30$  estaciones), y se muestran para todas las especies (● círculos llenos), para *Pogonomyrmex cunicularius* (○ círculos vacíos) y para *Camponotus mus* (▲ triángulos llenos).

### *Ritmo diario de remoción de las semillas de J. excisa*

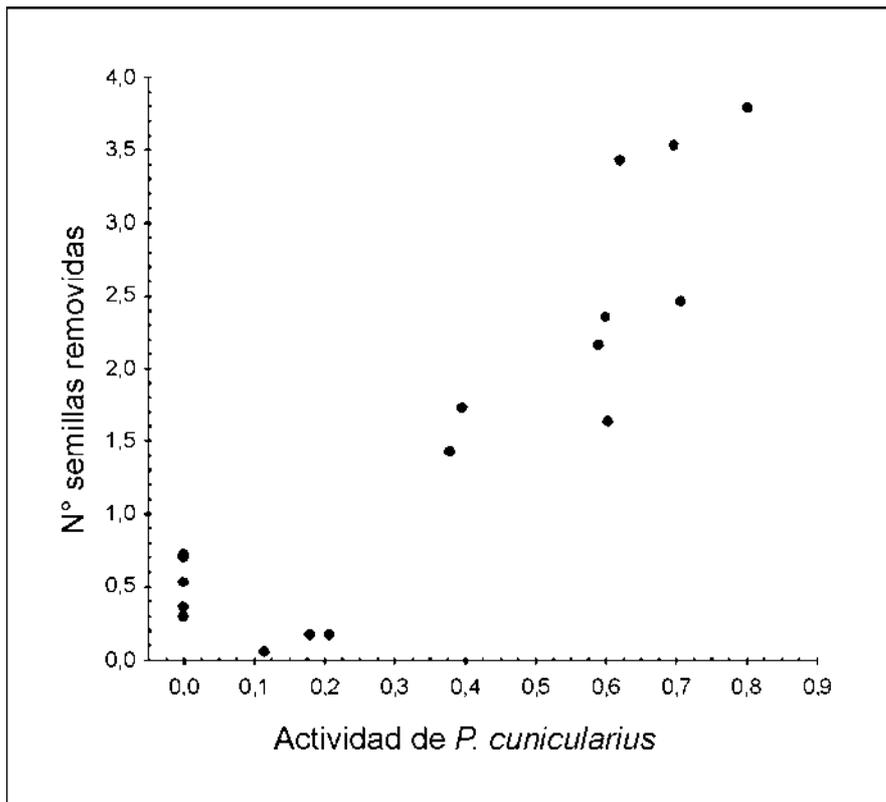
La proporción de semillas removidas por estación fue asimismo influenciada por la sesión del día (Fig. 9). La remoción fue máxima durante la tarde temprana, mientras que los valores más bajos se registraron durante la mañana temprana, el mediodía y el crepúsculo. A la media mañana los valores fueron intermedios, y similares a los de la tarde.

Los resultados del análisis mediante GLZM analizando el efecto del ritmo de actividad de *P. cunicularius* y el ritmo de actividad de *C. mus* sobre el ritmo de

remoción de las semillas mostró que la remoción aumentó significativamente al aumentar la actividad de *P. cunicularius* (coef. = 8.26, EE = 0.48,  $z = 17.05$ ,  $p < 0.001$ ) (Fig. 10). En cambio, el ritmo de actividad de *C. mus* se correlacionó en forma negativa y significativa con la remoción de las semillas (coef. = -2.62, EE = 0.65,  $z = -6.14$ ,  $p < 0.01$ ), así como el término de la interacción entre ambos efectos (coef. = -9.28, EE = 2.13,  $z = -4.35$ ,  $p < 0.001$ ).



**Fig. 9 Ritmo diario de remoción de semillas de *J. excisa* por hormigas.** Las columnas representan el número medio  $\pm$  EE de semillas removidas por estación (5 semillas por estación,  $n = 3$ ,  $N = 30$  estaciones,) durante cada intervalo de tiempo. Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 10** Relación entre la actividad de *P. cunicularius* y la remoción de semillas de *J. excisa*. Los puntos representan el número medio de semillas removidas de cada estación (5 semillas por estación,  $N = 10$  estaciones,) y la proporción media de estaciones ocupadas por *P. cunicularius* ( $N = 10$ ) para cada intervalo de tiempo y para cada transecta ( $n = 18$ ).

## Discusión

Los resultados de este estudio muestran que la liberación de semillas de *J. excisa* ocurre con un ritmo diario que favorece su remoción por su principal hormiga dispersora, *P. cunicularius*. La remoción de semillas de *J. excisa* en el área de estudio se correlacionó positivamente con la actividad de forrajeo de *P. cunicularius*, y negativamente con la actividad de la principal especie predadora de eleosoma, *Camponotus mus*. Aunque no se encontró sincronización entre el período de máxima dehiscencia y el período de máxima actividad de *P. cunicularius*, el pico de dehiscencia de las semillas de *J. excisa* precedió al pico de actividad de *P. cunicularius*. La consecuencia ecológica es que,

cuando la actividad de forrajeo de *P. cunicularius* es máxima, la mayor parte de las semillas ya han sido dispersadas en forma explosiva, por lo que es alta la probabilidad de que sean removidas por una hormiga de esta especie.

Esta alta probabilidad de remoción está relacionada con un importante carácter de la ecología de esta especie: la termofilia. El ritmo diario de actividad de *P. cunicularius* muestra que es capaz de forrajear a aquellas horas del día en que la temperatura del suelo alcanza valores extremos. Por tanto, antes que el resto de las especies recomience su actividad luego del hiato del mediodía, *P. cunicularius* ya ha comenzado su búsqueda de comida, siendo altamente probable que encuentre y transporte una semilla de *J. excisa* antes que lo hagan especies que se comportan como no dispersoras o dispersoras de baja calidad. Así, la principal especie depredadora de eleosoma, *Camponotus mus*, relegó su actividad de forrajeo a las horas del día con temperaturas más moderadas, ya sea por la mañana temprano o a partir de la tarde. *Pheidole bergi* y *Ph. spininodis*, las otras dos especies que removieron semillas de *J. excisa* en el área de estudio, mostraron asimismo un patrón de actividad similar al de *C. mus*.

El patrón diario de actividad de *P. cunicularius* durante el verano fue confirmado mediante la observación directa de 10 hormigueros marcados en el área de muestreo. Durante la mañana, la actividad de esta especie comienza relativamente tarde con respecto a las demás especies de hormigas de la comunidad, y sólo cuando el sol irradia directamente la entrada del nido (aprox. entre las 9:00 y 9:30 h). Las primeras actividades de la colonia están abocadas al mantenimiento del hormiguero y al patrullaje del área inmediata a su entrada. Luego de aproximadamente una hora, comienzan a salir forrajeras en busca de comida, hasta que al mediodía (entre las 12:30 y 13:00 h) se produce un hiato en la actividad de 1 a 2 horas de duración, aunque ocasionalmente

pueden verse algunas obreras en busca de comida. Durante la tarde, la actividad de forrajeo comienza también relativamente temprano con respecto a las demás especies (aprox. 14:00 h), y continúa hasta que el sol se oculta tras las sierras (aprox. 19:00 h). Las últimas tareas de nuevo están dedicadas al mantenimiento del nido, y a partir de las 20:00 h las actividades exteriores cesan hasta el día siguiente. Este mismo patrón bimodal diario durante el verano ha sido descrito para especies de *Pogonomyrmex* del Monte central (*P. pronotalis* y *P. rastratus*) (Pol & López de Casenave 2004) así como en especies congénéricas de América del Norte (e.g. Whitford & Ettershank 1975, Crist & MacMahon 1991), con picos de actividad de forrajeo cuando la temperatura del suelo asciende a 30- 45 °C y capacidad de tolerar temperaturas de hasta 60°C (MacMahon *et al.* 2000).

El género *Pogonomyrmex*, tanto en las especies de América del Norte como en las de América del Sur, es estrictamente diurno, y característico de zonas áridas y semiáridas (Kusnezov 1951, 1963, MacMahon *et al.* 2000). Por tanto, son especies adaptadas a las características climáticas de estos ambientes: altas fluctuaciones de temperatura entre el día y la noche, y temperaturas extremas durante los meses de verano. En el área de estudio, la baja cobertura del suelo y la estrategia de forrajeo por fuera de las copias de las plantas que exhibe *P. cunicularius*, implican que durante su búsqueda de alimento las obreras de esta especie están expuestas a temperaturas del suelo extremas.

Es necesario hacer notar que en el sistema estudiado también existe una sincronización estacional entre la fenología de fructificación de *J. excisa* y la fenología de actividad de las colonias de *P. cunicularius*. En el Desierto del Monte, el período invernal se caracteriza por sus bajas temperaturas y precipitaciones casi nulas. Las lluvias recomienzan hacia mediados de primavera (octubre-noviembre) y continúan

durante el verano. A partir de abril, las precipitaciones disminuyen gradualmente acompañadas por la disminución también gradual de la temperatura. Tanto *J. excisa* como *P. cunicularius* (así como la mayor parte de los organismos nativos de este hábitat) siguen este ritmo estacional. *Jatropha excisa* comienza su floración entre fines de septiembre y principios de octubre, la que continúa durante todo el período de primavera-verano hasta fines de febrero. La liberación de las primeras semillas ocurre a principios de enero, y continúa hasta fines de abril. En esta época, las plantas comienzan a secarse, entrando en un estado de quiescencia en el que conservan sólo el cáudex y el sistema radical hasta reiniciar el ciclo de crecimiento en la primavera siguiente.

Asimismo, *P. cunicularius* hiberna durante toda la temporada invernal, registrándose las últimas actividades de las colonias a fines de abril. A partir de allí, no es posible ver una obrera forrajeando fuera del nido. La actividad externa de la colonia recomienza en septiembre–octubre, aunque en esta época se dirige mayormente al mantenimiento y reacondicionamiento del nido. La actividad de forrajeo aumenta gradualmente hasta alcanzar un pico durante el verano, desde diciembre hasta marzo. Finalmente, el último mes de actividad de la colonia está dedicado de nuevo al acondicionamiento del hormiguero. En consecuencia, la liberación de las semillas de *J. excisa* coincide también estacionalmente con la actividad de forrajeo de su principal hormiga dispersora. El mismo patrón de actividad estacional ha sido descrito en *P. mendozanus* y *P. rastratus* (Pol & López de Casenave 2004) y en *P. occidentalis* del Hemisferio Norte (Crist & MacMahon 1991).

Uno de los temas cruciales en el estudio de los mutualismos entre plantas y animales es determinar si los mecanismos y estructuras que aumentan la interacción con los mutualistas más efectivos derivan de presiones selectivas ejercidas por los mutualistas, o constituyen exaptaciones que favorecen la evolución del mutualismo

(Thompson 1982, 1994; Herrera 1995, Irwin *et al.* 2004, Giladi 2006). La correspondencia temporal entre la liberación de las semillas de *J. excisa* y la actividad de forrajeo de *P. cunicularius* bien puede ser explicada por factores abióticos y caracteres filogenéticos actuando independientemente sobre ambas especies. Así como el ritmo diario de actividad de *P. cunicularius* puede ser explicado por causas fisiológicas (grado de tolerancia térmica), competitivas (evación de la competencia interespecífica mediante la partición temporal de la actividad de forrajeo) y ecológicas (disponibilidad de alimento) (Cros *et al.* 1997, Sanders & Gordon 2000, Albrecht & Gotelli 2001), el ritmo diario de dehiscencia de *J. excisa* puede ser explicado por causas físicas (*i.e.* la variación en la temperatura ambiental) relacionadas con el mecanismo higroscópico de la dehiscencia de los frutos de esta especie (Giliberto *et al.* 1980; Boulay *et al.* 2007a). Sin embargo, estar en el lugar y en el momento adecuado puede tener importantes consecuencias sobre las interacciones en general, constituyendo el paso inicial para la potencial coevolución de los mutualistas involucrados.

En plantas mirmecócoras de los bosques de América del Norte (Turnbull & Culver 1983) y de la Cuenca Mediterránea (Boulay *et al.* 2007a) se ha propuesto que la liberación matinal de las semillas en sincronización con la actividad de forrajeo de sus hormigas dispersoras, conlleva como principal beneficio disminuir el riesgo de predación de las semillas por vertebrados, principalmente roedores nocturnos. En el caso de *J. excisa*, la hipótesis de escape de predación por vertebrados es poco probable, ya que las semillas no son consumidas por vertebrados como zorros o roedores (esta tesis, Capítulo 2). En este caso, la ventaja más importante sería el escape de la predación por aquellas especies de hormigas consumidoras del eleosoma, y el aumento en la probabilidad de ser transportadas por una especie dispersora de alta calidad como *P. cunicularius*. Esto mismo ha sido propuesto por Giladi (2004) en relación a la

mirmecócora *Hexastylis arifolia*, que libera sus semillas coincidiendo con la máxima actividad de *Aphaenogaster* spp, una hormiga dispersora de alta calidad, y con la mínima actividad de *Prenolepis imparis*, una hormiga dispersora de baja calidad.

## *Sección II. El comportamiento subordinado*

### **Introducción**

Dentro de una comunidad de hormigas, la competencia por interferencia ocurre cuando una especie excluye a otras del acceso a un recurso limitado mediante el uso de repelentes o agresión explícita (Wilson 1971, Fellers 1987, Hölldobler & Wilson 1990, Davidson 1998). En el campo, puede observarse un ejemplo de competencia por interferencia cuando se ofrece una fuente de alimento rica en proteínas, por ejemplo atún. Entre las varias especies atraídas por el cebo, surge una jerarquía de dominancia como resultado de la competencia por su control. Las especies que se comportan como dominantes rechazan a las especies más subordinadas mordiendo, aguijoneando o secretando repelentes químicos, provocando en la mayoría de los casos su retirada de la fuente de alimento, y en algunos incluso su muerte (Fellers 1987, Savolainen & Vepsäläinen 1988).

Una característica comportamental de las especies reportadas como subordinadas en la jerarquía de dominancia, es que una vez encontrada su presa ésta es rápidamente transportada al hormiguero con el fin de evitar el enfrentamiento con especies más dominantes (Fellers 1987). Por otra parte, la condición necesaria del éxito de la dispersión por mirmecocoria es que las semillas sean transportadas al nido, *i.e.*, es el consumo *ex situ* del eleosoma lo que determina que una semilla sea considerada

efectivamente dispersada (Beattie 1985, Hanzawa *et al.* 1988). En consecuencia, puede esperarse que las hormigas que se comporten como dispersoras sean especies subordinadas, y que éste sea un carácter sujeto a selección en relación con la mirmecocoria. La relación entre el comportamiento subordinado y la capacidad para dispersar semillas en sistemas mirmecócoros ha sido sugerida por algunos autores (Ruhren & Dudash 1996, Ohkawara *et al.* 1997; Giladi 2006; Gove *et al.* 2007, Servigne 2008), y especies consideradas como dispersoras de alta calidad como *Rhytidoponera violaceae* y *Aphaenogaster rudis* han sido caracterizadas como subordinadas dentro de la jerarquía de dominancia de las comunidades en que habitan (Fellers 1987, Andersen 1997, Vepsäläinen & Savolainen 1990).

## **Objetivos**

Los objetivos de esta sección son determinar la posición que ocupa *P. cunicularius* dentro de la escala de dominancia de la comunidad de hormigas del área de estudio. Se plantean dos hipótesis: que existe una relación lineal negativa entre la posición que ocupan las especies en la jerarquía de dominancia y su capacidad como dispersoras de las semillas de *J. excisa*, y 2) que existe una relación lineal positiva entre la posición que ocupan las especies en la jerarquía de dominancia y su capacidad como predadoras de los eleosomas de *J. excisa*.”

## **Materiales y métodos**

La caracterización de la jerarquía de dominancia se realizó conjuntamente con los estudios sobre el ritmo diario de actividad y el ritmo diario de remoción de semillas de *P. cunicularius* descrita en la sección anterior de este capítulo. La asignación a cada

especie atraída por el atún de su posición dentro de la jerarquía de dominancia se basó en observaciones de 5 min y cada 15 min, realizadas durante los mismos seis períodos consecutivos de una hora a lo largo del día de los ensayos anteriores (*i.e.* mañana, media mañana, mediodía, media tarde, tarde y crepúsculo). Durante cada observación se anotó la especie y número de individuos presentes sobre cada estación, así como toda interacción comportamental entre obreras de diferentes especies.

Las relaciones de dominancia se basaron en las interacciones observadas entre pares de especies, y cada interacción fue caracterizada como: 1) ataque, cuando un individuo de una especie muerde, aguijonea o agrede químicamente causando que el individuo de la otra especie se retire de la estación; 2) retirada, cuando una especie abandona la estación por causa de la amenaza, ataque explícito o simplemente por la presencia de otra especie; y 3) coexistencia, cuando no se observa interacción entre las especies y ambas comparten la estación (modificado de Fellers 1987). De acuerdo con esta caracterización, el índice de dominancia de cada especie se calculó como el porcentaje de todas las interacciones observadas entre pares de especies en que la especie se comportó como dominante, *i.e.*, cuando atacó o elicó un comportamiento de retirada de la otra especie. En una interacción dada, si por ejemplo una especie mordió a otra provocando su retirada, la atacante se marcó como agresiva y la víctima como sumisa. Para cada observación, se tuvo en cuenta sólo la primera interacción observada entre especies durante cada período de 5 min. En total se realizaron 900 observaciones (30 estaciones x 6 sesiones x 5 observaciones).

Para cuantificar la capacidad de cada especie para comportarse como dispersora de semillas, se anotó cada evento de remoción observado durante cada sesión de muestreo. Para cuantificar la capacidad de cada especie para comportarse como predadora de

eleosoma, al final de cada sesión de 60 min se anotó el número de estaciones ocupadas por cada especie consumiendo el eleosoma *in situ*.

### *Análisis de los datos*

El índice de dominancia de cada especie se calculó como el cociente entre el número de interacciones agresivas y la suma de todas las interacciones (ataque, retirada y coexistencia) observadas para cada especie, agrupando las observaciones para todas las sesiones. El índice de dominancia comportamental se expresó como porcentaje, donde “0” indica que una especie fue siempre sumisa, y “100” que una especie fue siempre dominante.

La capacidad de dispersar semillas se estimó como el porcentaje de eventos de dispersión observado para cada especie sobre total de eventos de dispersión observados durante todas las sesiones. La capacidad de preda de semillas se estimó como el porcentaje de estaciones en las que cada especie fue observada consumiendo el eleosoma *in situ* sobre el total de estaciones ocupadas por predadoras de eleosoma durante todas las sesiones. Mediante correlaciones no paramétricas de Spearman se analizaron la relación entre la capacidad de dispersión y la capacidad de predación, y el índice de dominancia de cada especie.

## **Resultados**

De las 15 especies registradas en las estaciones de muestreo, sólo se consideraron para el análisis de las relaciones de dominancia aquellas involucradas en más de cinco interacciones. Las ocho especies utilizadas en los análisis se muestran en la Tabla 5 (Sección I). En total fueron observadas 1,101 interacciones interespecíficas. Las más frecuentes fueron en forma de agresiones o retiradas (95% del total), mientras que las

interacciones neutrales (coexistencia) fueron escasas, representando el restante 5 % de los registros. La forma más común de comportamiento agresivo fue el ataque físico mediante la mordida del otro individuo. En el caso de ataques de hormigas de tamaño pequeño y con reclutamiento masivo como *F. chalybaeus*, contra hormigas de tamaño grande como *P. cunicularius*, las primeras treparon sobre el cuerpo de las segundas mordeándolas repetidamente en las patas y antenas.

En la Tabla 6 se muestran los resultados de las interacciones observadas para las ocho especies consideradas en el análisis. *Pogonomyrmex cunicularius* fue la especie más subordinada, seguida por *Ps. denticollis*. La especie más dominante fue *C. mus*, seguida por *C. blandus*. Ambas son hormigas de tamaño grande (hasta 13 mm), que atacaron a las demás especies mordeándolas con sus mandíbulas. *Forelius chalybaeus*, *F. nigriventris* y *Ph. bergi* mostraron índices de dominancia intermedios. En cinco ocasiones, las obreras de *C. mus* causaron la muerte de varias obreras de *F. chalybaeus* cuando atacaron estaciones monopolizadas por ésta última especie.

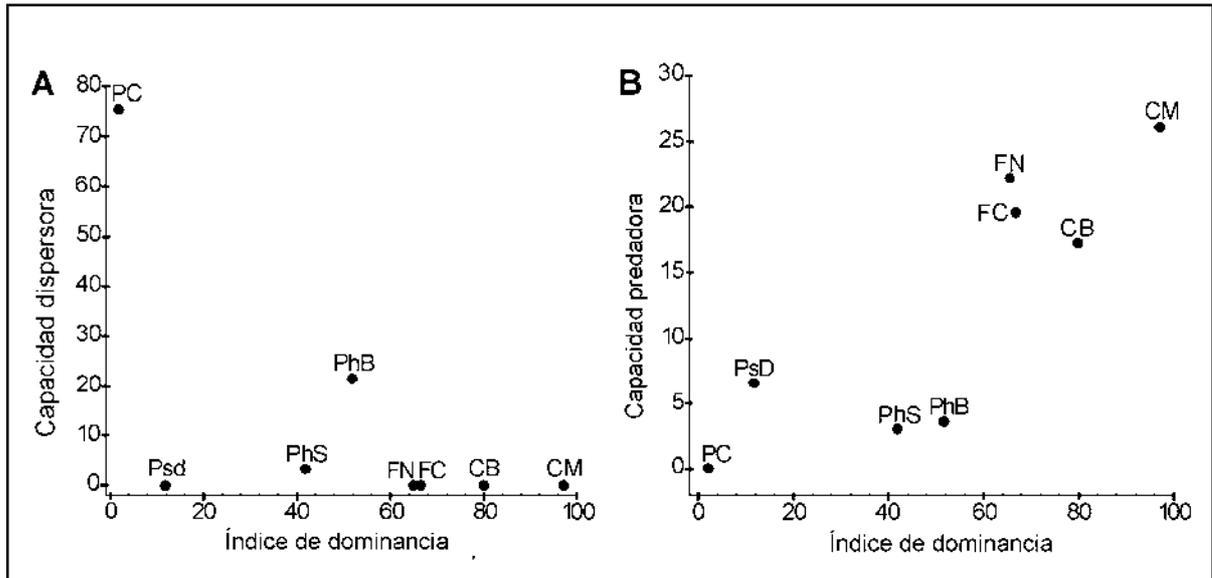
**Tabla 6 Índice de dominancia comportamental para las especies de hormigas atraídas por la fuente de atún.** El índice de dominancia es el porcentaje de interacciones entre pares de especies ganadas por cada especie ( $N = 1,101$  interacciones)

Especie	Nº de interacciones observadas	Índice de dominancia	Mín-Máx Nº de obreras por estación
<i>Pogonomyrmex cunicularius</i>	325	1.84	1 – 20
<i>Pheidole bergi</i>	112	51.78	5- 15
<i>Pheidole spininodis</i>	12	41.8	1-21
<i>Camponotus mus</i>	348	97.12	1-7
<i>Camponotus blandus</i>	15	80	1-3
<i>Forelius chalybaeus</i>	126	66.6	5- 50
<i>Forelius nigriventris</i>	57	64.91	4-32
<i>Pseudomyrmex denticollis</i>	51	11.76	1-3

## *Remoción y predación de semillas*

Agrupando los datos para los seis intervalos de tiempo, *P. cunicularius* fue responsable del 75.52 % de un total de 617 eventos de transporte de las semillas de *J. excisa* observados. El resto de las remociones fueron realizadas por *Pheidole bergi* (21.43 %) y *Ph. spininodis* (3.06 %). Las demás especies no removieron las semillas de las estaciones, actuando ya sea como predadoras de eleosoma o como indiferentes hacia las semillas en el caso de *Ps. denticollis*. Un total de 110 estaciones de las 180 (61.1%) observadas durante las seis sesiones estuvieron ocupadas luego de los 60 min del ensayo por especies que consumían el eleosoma *in situ*. Agrupando los datos para las seis sesiones, la especie más frecuentemente encontrada consumiendo el eleosoma *in situ* fue *C. mus* (27.3% de las 110 estaciones), seguida por *Forelius nigriventris* (21.8%), *F. chalybaeus* (19.1%) y *C. blandus* (17.27%). Durante el mediodía y la media tarde, la única especie observada predando las semillas fue *F. nigriventris*.

El índice de dominancia de cada especie no se relacionó significativamente con la capacidad dispersora de las especies de hormigas (correlación de Spearman,  $r_s = -0.65$ ,  $p = 0.078$ ,  $n = 8$ ) (Fig. 11A). En cambio, se encontró una relación significativa y positiva entre el índice de dominancia y la capacidad predadora de las especies analizadas ( $r_s = .0.83$ ,  $p = 0.01$ ,  $n = 8$ ) (Fig. 11B).



**Fig. 11** Relación entre el índice de dominancia, y (A) la capacidad de dispersar semillas y (B) la capacidad de predar semillas para las ocho especies de hormigas utilizadas en los análisis. Ver texto para el significado de las variables analizadas. PC = *Pogonomyrmex cunicularius*, PB = *Pheidole bergi*, PS = *Ph. spininodis*, CM = *Camponotus mus*, CB = *C. blandus*, FC = *Forelius chalybaeus*, FN = *F. nigriventris*, PD = *Pseudomyrmex denticollis*

## Discusión

Los resultados obtenidos muestran la ausencia de una relación significativa entre la posición de las especies en la jerarquía de dominancia y su capacidad como dispersoras de las semillas de *J. excisa*. Esta falta de correlación se debe a que la mayor parte de las especies analizadas se comportaron como predadoras de eleosoma, es decir que su capacidad dispersora igualó a cero. Sin embargo, *P. cunicularius* fue la dispersora más importante de semillas y la que ocupó la posición más subordinada dentro de la jerarquía de dominancia. En cambio, fue significativa la relación entre el índice de dominancia de cada especie y su capacidad como predadora de eleosoma, *i.e.* las especies más dominantes fueron a su vez las especies que ocuparon una mayor proporción de estaciones consumiendo las semillas *in situ*.

*Pogonomyrmex cunicularius* fue la especie más subordinada en la jerarquía de dominancia de la comunidad de hormigas del área de estudio. Típicamente esta especie abandonó las estaciones ante la presencia de las demás especies, siendo frecuentemente atacada por éstas. Por otra parte, los ataques de las demás especies no terminaron nunca con la muerte de un individuo de *P. cunicularius*, mientras que se observaron verdaderas masacres entre las especies más agresivas (por ejemplo entre *C. mus* y *F. chalybaeus*). Asimismo, *P. cunicularius* utilizó una táctica de “robo”: cuando una estación estaba monopolizada por otra especie, rápidamente tomaba un trozo de atún esquivando los ataques de la otra especie, y regresaba con su botín rápidamente al nido. Estas observaciones concuerdan con las de Andersen (1997) en su caracterización de las comunidades de hormigas de Norteamérica, donde clasifica a las *Pogonomyrmex* de esa región como termofílicas y comportamentalmente subordinadas.

Las especies más dominantes fueron las Formicinae pertenecientes al género *Camponotus*. Mientras que en el Nordeste de Argentina las especies de *Camponotus* han sido también caracterizadas como altamente competitivas y dominantes (Calcaterra *et al.* 2008), en Norteamérica (Andersen 1997) y en Australia (Andersen 1995) ha sido descrito como un género subordinado y de baja agresividad. En este estudio, en particular *C. mus* se comportó como una especie sumamente agresiva, y la única que provocó la muerte de otras especies de hormigas al intentar controlar las estaciones. Las especies de *Forelius* también fueron muy agresivas, monopolizando las estaciones mediante su estrategia de reclutamiento masivo. Por otra parte, las especies de *Pheidole* han sido reportadas como sub-dominantes (por debajo de las Dolichoderinae) en Australia (Andersen 1995), pero dominantes en Norte América (Andersen 1997). En este estudio, fueron intermedias en su índice de dominancia, y explotaron en grupos sólo aquellas estaciones situadas cerca de sus nidos. *Pseudomyrmex denticollis* fue la

única especie que mostró comportamiento neutro, aunque también fue agresiva en algunos encuentros.

La especie más subordinada, *P. cunicularius*, fue la especie que se comportó como la dispersora más importante de las semillas de *J. excisa* y la especie más dominante, *C. mus*, fue la especie que se comportó la predadora más importante de eleosomas. Las consecuencias para la mirmecocoria es que las semillas de *J. excisa*, siendo presentadas en el suelo a aquellas horas del día en que la actividad de forrajeo está limitada sólo a las especies termofílicas, aumentan la probabilidad de ser dispersadas por una especie subordinada como *P. cunicularius*, que transportará las semillas a su hormiguero y no las consumirá *in situ*. Si las semillas en cambio fueran presentadas mayormente cuando las temperaturas son moderadas, *e.g.* durante el crepúsculo, es más probable que sean predadas y no dispersadas por especies más dominantes como *C. mus*.

En ambientes desérticos, las temperaturas extremas son consideradas las formas más serias de stress ambiental que afectan a organismos ecotermos de cuerpo pequeño como son las hormigas (Lighton & Feener 1989). La termofilia en hormigas puede ser atribuida a una mayor tolerancia térmica asociada a una especialización fisiológica (Fellers 1989; Gehring & Wehner 1995, Cros *et al.* 1997) o a una especialización ecológica, en donde las especies subordinadas tienen similares tolerancias termales que las dominantes, pero las primeras se ven forzadas a forrajear en un rango de temperaturas más amplio para evitar competir con las dominantes (Savolainen & Vepsäläinen 1988; Cerdá *et al.* 1997, 1998b, Bestelmeyer 2000). Kusnesov (1963) sugirió que *P. cunicularius* habría radiado de ancestros de habitats méxicos, y que su termofilia habría evolucionado en respuesta a la interacción competitiva con las especies dominantes en esos ambientes. Esta adaptación le habría permitido colonizar

secundariamente zonas progresivamente más áridas. La termofilia también ha sido asociada con caracteres ecológicos como una estrategia de forrajeo individual (Ruano *et al.* 2000) y una dieta mayormente carroñera (Cerdá *et al.* 1989). En consecuencia, la termofilia en *P. cunicularius* puede ser atribuida tanto a caracteres fisiológicos que permiten a los individuos de esta especie soportar temperaturas extremas (*e.g.* tamaño corporal grande, color de tegumento claro o cutícula gruesa (Rissing & Pollock 1984, Hood & Tschinkel 1990)), como a caracteres ecológicos tales como una dieta especializada en insectos muertos (Capítulo 5. III) y un comportamiento subordinado.

### *Sección III. La dieta*

#### **Introducción**

Aunque los eleosomas pueden ser importantes componentes de la dieta de las hormigas, aumentando el *fitness* de la colonia (Fischer *et al.* 2005, Marussich 2006) y aportando nutrientes esenciales para su metabolismo (Brew *et al.* 1989, Gammans *et al.* 2005), no parece existir una especie de hormiga cuya dieta esté exclusivamente compuesta por eleosomas. Por el contrario, las especies de hormigas que han sido caracterizadas como dispersoras de semillas (así como aproximadamente la mitad de las especies de hormigas de todo el mundo) se caracterizan por ser omnívoras (Tobin 1993, Beattie & Hughes 2002, Boulay *et al.* 2005). Las especies omnívoras se alimentan de un amplio espectro de comidas que contienen carbohidratos, lípidos y proteínas, y que obtienen a partir de las secreciones de las plantas, de insectos vivos o muertos, o de semillas. Sin embargo, las especies omnívoras muestran preferencias por ciertos tipos de alimentos, y estas preferencias tendrían importantes influencias sobre la dinámica de remoción de las semillas mirmecócoras. Por ejemplo, especies omnívoras del género *Lasius* cuya

alimentación se basa mayormente en secreciones de áfidos, son pobres dispersoras de semillas con eleosomas en comparación con especies omnívoras de los géneros *Formica* y *Myrmica* cuya dieta es mayormente carnívora (Gorb & Gorb 1999b, Servigne & Detrain 2008).

La relación entre la dieta carnívora o mayormente carnívora y la mirmecocoria ha sido puesta en evidencia desde la formulación de la hipótesis que postula al eleosoma como un análogo químico de un insecto muerto (Caroll & Janzen 1973). Al comparar la composición química de eleosomas de especies europeas, australianas y norteamericanas con la de la hemolinfa de diversos taxa de Hymenoptera se encontró una alta semejanza en sus niveles de ácidos grasos conformados por 16 y 18 carbonos (Hughes *et al.* 1994b). Esto implicaría que los eleosomas mimetizan bioquímicamente a las presas de las hormigas, elicitando una respuesta de transporte de la presa al nido. Esta hipótesis es reforzada por el hecho de que las hormigas atraídas por las semillas con eleosoma son ya sea carnívoras especializadas, como las Ponerinae *Odontomachus* y *Pachycondyla* (Horvitz & Beattie 1980, Horvitz 1981, Pizo & Oliveira 1998, 2001), o con un importante componente carnívoro en su dieta, como *Aphaenogaster rudis* (Hughes *et al.* 1994b, Boulay *et al.* 2007b), *Rhytidoponera violaceae* (Lubertazzi *et al.* 2010, Majer *et al.* 2010), y *Myrmica* spp. (Gorb & Gorb 2003). La atracción de especies carnívoras o mayormente carnívoras por sobre especies granívoras o mayormente granívoras resulta en el beneficio para la planta que la única porción apetecible de la diáspora es el eleosoma y no la semilla en sí misma, asegurando que ésta sea descartada intacta una vez consumido el eleosoma (Hughes & Westoby 1992a, Hughes *et al.* 1994b, Boulay *et al.* 2005, 2007b, Pizo & Oliveira 2001).

## Objetivos

El objetivo de esta sección es estudiar la dieta de *P. cunicularius*. De acuerdo con lo planteado en la introducción, se espera que la dieta de esta especie sea mayormente carnívora.

## Métodos

El estudio se llevó a cabo en el sitio ANJ, donde fueron marcados 10 nidos separados por al menos 30 m. Las observaciones se realizaron en enero de 2009 y en marzo de 2009, en coincidencia con la temporada de dispersión de *J. excisa* y con la temporada de actividad de forrajeo de *P. cunicularius*. Cada nido fue observado por un período de 60 min durante la mañana (de 11:00 a 12:00 h) o durante la tarde (de 16:00 a 17:00 h) durante tres sesiones de muestreo (10 nidos x 3 sesiones x 2 temporadas = 60 observaciones). Durante cada observación, todas las obreras retornando al nido que portaran carga fueron aspiradas a un vial, donde se les quitó el ítem de comida de las mandíbulas, para luego ser liberadas. Los ítems obtenidos fueron posteriormente contados e identificados bajo lupa, y clasificados dentro de los siguientes grupos: 1) insecto (vivo, muerto o fragmento), 2) semilla (incluyendo diásporas y frutos uniseminados), 3) parte vegetal (hoja, tallo, o flor), 4) parte animal (heces, mudas) y 5) otros (material no identificable y material inorgánico).

Cada hormiguero se consideró una unidad experimental ( $n = 10$ ), y las tres sesiones de 60 min sobre el mismo nido fueron combinadas, calculándose para cada colonia el porcentaje de ítems coleccionados de cada tipo sobre el total de ítems coleccionados durante las tres sesiones. Estos porcentajes fueron comparados mediante una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis seguida por contrastes de Dunn. Las diferencias en el porcentaje de cada tipo de ítem coleccionado entre las dos temporadas

de muestreo se analizaron mediante una prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras pareadas, considerando a las sesiones realizadas sobre cada nido como dependientes de las realizadas en el mismo nido en la siguiente fecha de muestreo. Las semillas obtenidas enteras fueron pesadas en balanza electrónica con el fin de determinar el rango preferido de tamaños de las semillas coleccionadas.

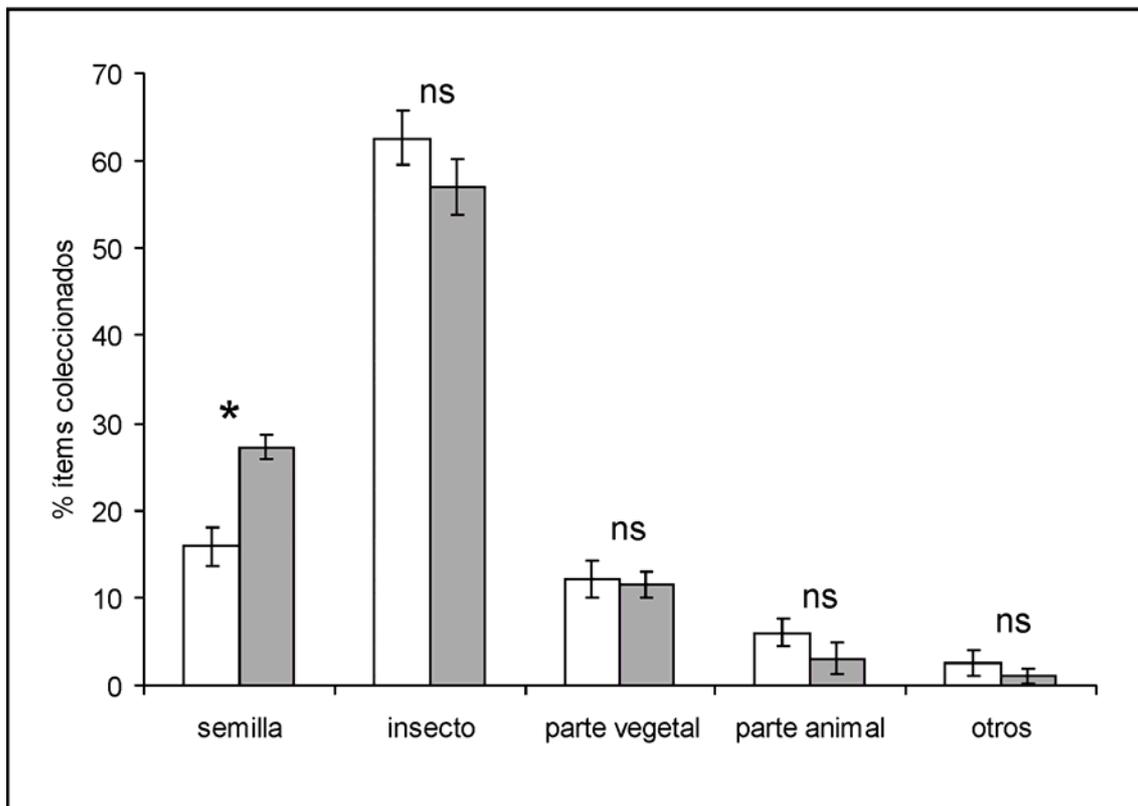
## Resultados

En total, fueron colectados 1,684 ítems durante las 60 observaciones de 60 min realizadas durante las dos temporadas de muestreo (Lám. 8 A-G). El 61.59 % fueron insectos, 22.33 % semillas, 12.3 % partes vegetales, 2.12% partes animales, y 1.64 % material no identificable o inorgánico. Tanto en enero como en marzo, las hormigas difirieron en el porcentaje de ítems coleccionados de cada tipo (prueba de Kruskal Wallis enero:  $H_{4,50} = 43.7$ ,  $p < 0.001$ ; marzo:  $H_{4,50} = 46.06$ ,  $p < 0.001$ ). En ambas temporadas, las hormigas colectaron un porcentaje significativamente mayor de insectos (prueba de Dunn,  $p < 0.001$  para todas las comparaciones) que del resto de los ítems (Fig. 12). El porcentaje de semillas colectado fue a su vez significativamente mayor que el del resto de los ítems (prueba de Dunn  $p < 0.001$  para todas las comparaciones) y fue seguido en importancia por las partes vegetales ( $p < 0.001$  para todas las comparaciones). El porcentaje coleccionado de partes animales no difirió significativamente de los ítems no identificables o inorgánicos ( $p > 0.1$  para ambas temporadas).

Durante enero fue colectado un porcentaje significativamente menor de semillas que en marzo (prueba de Wilcoxon,  $Z = 2.8$ ,  $p < 0.005$ ,  $N = 10$ ), mientras que estas diferencias no fueron significativas para el resto de los ítems ( $p > 0.05$ ).

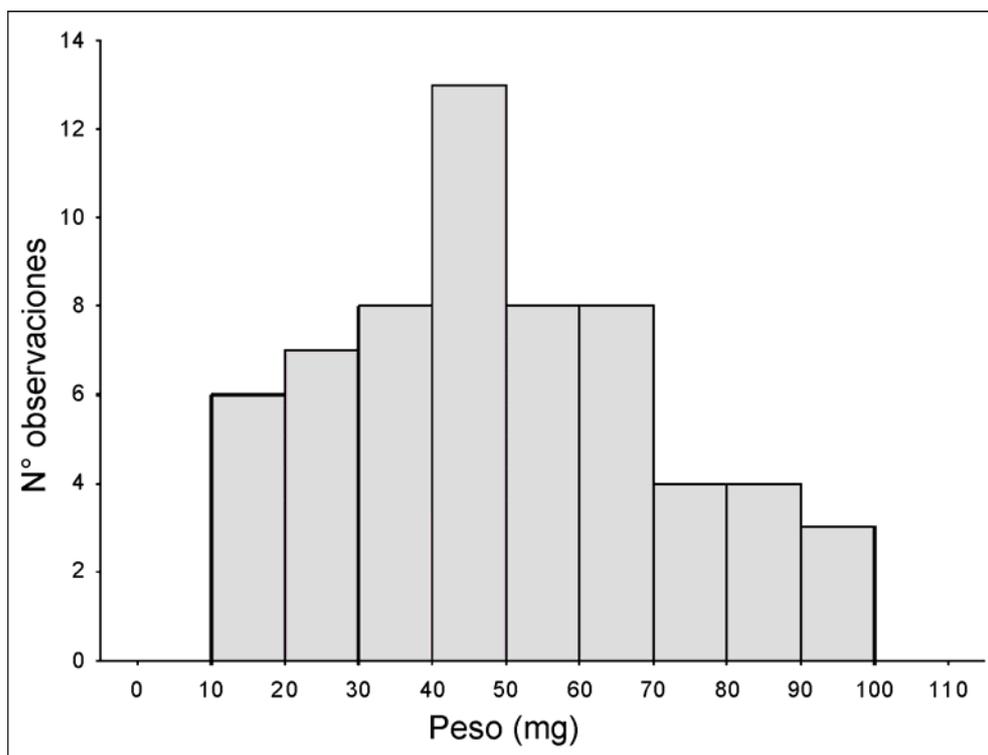
Durante enero fue colectado un porcentaje significativamente menor de semillas que en marzo (prueba de Wilcoxon,  $Z = 4.22$ ,  $p < 0.0001$ ,  $N = 30$ ), mientras que estas diferencias no fueron significativas para el resto de los ítems ( $p > 0.05$ ).

La mayor parte de los insectos colectados estaban muertos, y la mayor parte de ellos fueron hormigas de diferentes especies, con preponderancia de *Camponotus* spp., y *Acromyrmex* spp. Entre las partes animales, las heces de roedores y de aves fueron los ítems más frecuentemente colectados, mientras que las partes vegetales fueron mayormente flores y líquenes.



**Fig. 1. Porcentaje medio ( $\pm$  EE) de cada tipo de ítem colectado por *P. cunicularius pencosensis* durante enero (columnas blancas) y marzo (columnas grises) ( $n = 10$  colonias). Los porcentajes fueron calculados sobre el total de ítems colectados por cada colonia durante tres sesiones de muestreo de 60 min. \* Diferencias significativas (prueba de Wilcoxon,  $p < 0.05$ ), ns = no significativo (prueba de Wilcoxon,  $p > 0.05$ ).**

Las semillas colectadas por las hormigas durante el total de observaciones tuvieron un peso medio de  $50.55 \pm 22.6$  mg ( $\pm$  DE,  $N = 60$ ), siendo las más frecuentes las pertenecientes a especies arbustivas o arbóreas (Fig. 13). Las semillas pertenecieron a diversas especies, pudiendo identificarse *J. excisa*, *Opuntia sulphurea* Gillies ex Salm-Dick, *Tephrocactus alexanderi* (Britton & Rose) Backeb., *Celtis ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm., *Larrea cuneifolia* Cav., *Maytenus viscifolia* Griseb., *Acacia* spp., *Zuccagnia punctata* Cav., *Prosopis* spp., y *Cercidium praecox* (Ruiz & Pav. ex Hook.) Harms (Lám. 8 D- G).



**Fig. 13** Histograma de frecuencias del peso de las semillas colectadas por *P. cunicularius* durante las dos temporadas de muestreo ( $N = 60$  semillas).





## Discusión

Los datos obtenidos muestran que *P. cunicularius* es una especie con una dieta mayormente carroñera, siendo el componente principal de su alimentación artrópodos muertos de diversas especies. Las semillas conformaron un porcentaje menor de la dieta, y fueron coleccionadas preferentemente aquellas con un tamaño relativamente grande (entre 40 y 50 mg) pertenecientes a especies arbustivas o arbóreas.

La mayor parte de las especies del género *Pogonomyrmex*, tanto de América del Norte como de América del Sur, tienen una alimentación mayormente granívora, aunque muchas de ellas incluyen también a los insectos en un porcentaje variable de sus dietas (Kusnezov 1951, Whitford 1978, Hölldobler & Wilson 1990, MacMahon *et al.* 2000, Pirk & López de Casenave 2006). Sin embargo, *P. cunicularius* se ha especializado en la colección de insectos muertos, una especialización que también se ha reportado para *P. mayri*, una especie de las zonas semiáridas de Colombia (Kugler & Hincapié 1983). Asimismo, la dieta de *Rhytidoponera violaceae*, una importante dispersora de semillas de Australia, está conformada en un 65 % por insectos (Lubertazzi *et al.* 2010).

Kusnezov (1951) ya había remarcado en su estudio sobre el género *Pogonomyrmex* que *P. cunicularius* difiere del resto de las especies del género en su dieta carroñera. Las otras especies de *Pogonomyrmex* que coexisten con *P. cunicularius* en los sitios de muestreo (*P. laticeps* y *P. brevibarbis*), así como las del Monte Central (*P. rastratus*, *P. mendozanus* y *P. inermis*), son en cambio especies mayormente granívoras y especializadas en el consumo de semillas de gramíneas (Kusnezov 1951, Pirk & López de Casenave 2006, Pirk *et al.* 2009a, obs. pers.).

Asimismo, la dieta de *Pogonomyrmex cunicularius* se ajusta a la estrategia de forrajeo individual comúnmente observada en esta especie. Durante los muestreos se

observó que, aparentemente, cada obrera sigue una ruta azarosa hasta encontrar cualquier ítem de comida que se ajuste a sus requerimientos, sea éste un insecto muerto, una semilla o materiales animales y vegetales diversos. El tipo de sistema de forrajeo utilizado por *P. cunicularius* se ajusta a su dieta omnívora y mayormente carroñera, especializada en la búsqueda de presas circunstancialmente muertas y que no pueden ser localizadas en forma predecible (Cerdá *et al.* 1989). Más aún, las semillas dispersadas en forma explosiva típicamente se presentan sobre la superficie del suelo en forma sobredispersada, y esta forma de presentación favorecería su remoción por especies de hormigas con estrategia de forrajeo individual, y especializadas en bajas densidades de alimento (Davidson 1977, Crist & Haefner 1994, Giladi 2006). Así, la estrategia de forrajeo individual también es un carácter que puede asociarse a la capacidad de una especie de hormiga para comportarse como dispersora, y que ha sido descrito en especies de hormigas caracterizadas como dispersoras de alta calidad (Hughes & Westoby 1992a, Espadaler & Gómez 1996, Giladi 2006).

La variación en el porcentaje de semillas colectadas entre las dos temporadas de muestreo reflejaría fluctuaciones estacionales en la abundancia de semillas en el área de estudio. Estas fluctuaciones temporales en la dieta también han sido descritas para las especies de *Pogonomyrmex* del Monte Central: cuando hay menor abundancia de semillas (durante la primavera) se vuelven más generalistas, aumentando la proporción de insectos en su dieta (Pirk *et al.* 2009b).

Durante la excavación de hormigueros de *P. cunicularius*, las semillas encontradas en los basureros se encontraban intactas y limpias de su arilo, pulpa o eleosoma en aquellas especies que lo tuvieran (*e.g.* *J. excisa*, *Maytenus* sp., *Celtis tala* y *Opuntia sulphurea*), indicando que las semillas en sí mismas no son consumidas y que la parte nutritiva es el apéndice carnosos. Asimismo, Pizo & Oliveira (2001) encontraron

que las hormigas de la selva Atlántica de Brazil coleccionaron preferentemente las semillas con algún tipo de arilo o pulpa, encontrando que éstas tenían un alto contenido de lípidos y una composición química similar a la de los eleosomas. Kugler & Hincapié (1983) también reportan la colección preferencial de semillas ariladas por la especie mayormente carroñera *P. mayri*.

La colección preferencial de semillas con algún tipo de arilo, eleosoma o pulpa rico en lípidos por hormigas mayormente insectívoras apoya la hipótesis que postula al eleosoma como un análogo químico o nutricional de un insecto (Carroll & Janzen 1973, Hughes *et al.* 1994b), (ver ANEXO para la composición química de los eleosomas de *J. excisa*). Hughes *et al.* (1994b) pusieron a prueba esta hipótesis comparando el perfil químico de los eleosomas con el de diversos órdenes de insectos, y encontrando que los niveles de ácidos grasos saturados y monoinsaturados entre 16 y 18 carbonos (*i.e.* palmítico, esteárico, oleico y palmitoleico) era muy similar entre ambos. Más aún, se ha demostrado que la fracción de diglicéridos de los eleosomas de *Ulex* spp. atrae sólo a especies de hormigas mutualistas y no a especies granívoras (Gammans *et al.* 2006). La atracción de especies carnívoras por sobre especies granívoras puede considerarse como una importante ventaja adaptativa de los eleosomas, mientras que la dieta mayormente insectívora sería un carácter de la hormiga sujeto a selección en relación a la mirmecocoria (Horvitz & Beattie 1980, Hughes *et al.* 1994b, Boulay *et al.* 2005, 2007a, Giladi 2006).

## **Conclusiones**

A lo largo de las tres secciones que conforman este capítulo, se han estudiado caracteres de *P. cunicularius* con potencial influencia sobre su capacidad como dispersoras de las semillas de *J. excisa* en el área de estudio.

*Pogonomyrmex cunicularius* es una especie diurna, termofílica y con un carácter subordinado. El carácter subordinado tendría importantes consecuencias sobre la dispersión de las semillas mirmecócoras, ya que las especies subordinadas tienden a llevar a sus presas al nido para evitar el enfrentamiento con especies dominantes. Por otra parte, el ritmo diario de dehiscencia de las semillas de *J. excisa* aumenta la probabilidad de que las semillas sean removidas por *P. cunicularius* antes que por especies dominantes y activas a temperaturas más moderadas, que se comportan como predadoras de eleosomas. La dieta mayormente carroñera de *P. cunicularius* y su estrategia de forrajeo individual también son caracteres que influyen en forma positiva la remoción de las semillas de *J. excisa*. A éstos deben agregarse un tamaño corporal grande, que permite el transporte de semillas de un amplio rango de tamaños (Kaspari 1996), distancias de forrajeo de hasta 20 m (obs. pers.), y diversos aspectos de su nidificación que influyen positivamente sobre la dispersión de las semillas de *J. excisa* (Capítulo 4).

Todos estos caracteres descritos para *P. cunicularius* también están presentes en especies de hormigas caracterizadas como importantes dispersoras en otros hábitats, como *Aphaenogaster rudis* (Ness *et al.* 2009) y *Rhytidoponera violaceae* (Gove *et al.* 2007, Lubertazzi *et al.* 2010), y todos ellos han sido relacionados a una dispersión de alta calidad (Giladi 2006, Gove *et al.* 2007). Asimismo, Rico-Gray & Oliveira (2007) han señalado que el efecto acumulativo de una serie de caracteres y comportamientos, y no un carácter en particular, es lo que determina que una especie de hormiga se comporte como una dispersora efectiva de semillas.

## *CAPÍTULO 6. Efecto de la desecación del eleosoma sobre la atraktividad de las semillas*

### **Introducción**

Los eleosomas de las especies mirmecócoras pueden separarse en dos grandes grupos en base a sus características generales y al tipo de ambiente en que habitan. Las especies de hábitats xéricos (como las zonas de clima mediterráneo de la Cuenca Europea, Australia y Sudáfrica) poseen eleosomas firmes, persistentes, y que conservan su atraktividad por largo tiempo (Berg 1975, Beattie & Hughes 2002). En cambio, las especies de hábitats templados (como los bosques de Europa del Norte y América del Norte) tienen eleosomas blandos, unidos débilmente al cuerpo de la semilla, y atractivos por un corto período de tiempo (Sernander 1906, Berg 1958, Kjellsson 1985a).

Las diferencias entre ambos tipos de eleosomas reflejan el tipo de hábitat al que se han adaptado las plantas. Los eleosomas de plantas de zonas templadas y ambientes mésicos son *sensu* Berg (1966) “evanescentes”: luego de un corto período de exposición al aire seco colapsan, pierden su aspecto original, y lo más importante, dejan de ser atractivos para las hormigas (Kjellsson 1985a, Smith *et al.* 1986, Mark & Olesen 1996, Guitián *et al.* 2003, Servigne & Detrain 2009). Esto sugiere que en especies de ambientes mésicos, la desecación del eleosoma tiene un efecto negativo sobre la probabilidad de dispersión, y que la atraktividad de las semillas está limitada a un breve período de tiempo desde que es liberada del fruto.

Asimismo, en zonas desérticas las condiciones ambientales pueden afectar en el lapso de unos pocos minutos las características físicas del eleosoma una vez que la semilla es liberada de la cápsula. Sin embargo, los eleosomas desecados de las plantas

mirmecócoras de estos hábitats no perderían su atractividad ante los eleosomas frescos, y esto constituiría una importante ventaja adaptativa específica de las plantas mirmecócoras de las zonas xéricas (Beattie & Hughes 2002). Aunque anecdóticamente se ha señalado en especies australianas la conservación de la atractividad de las semillas desecadas por varios años (Berg 1975), ningún estudio lo ha corroborado empíricamente.

En el capítulo 5I de esta tesis se determinó que las semillas de *J. excisa* son liberadas en el momento del día en que las temperaturas y la irradiación solar alcanzan sus valores máximos. En consecuencia, los eleosomas pierden en cuestión de minutos su aspecto original, tornándose amarillos y de consistencia dura, y ésta es la forma en que se presentan a las hormigas en condiciones naturales. Si la atractividad de los eleosomas frescos es mayor que la de los desecados, entonces la probabilidad de remoción de las semillas dependerá de que sean encontradas dentro de un corto lapso de tiempo desde que son liberadas de las cápsulas. Por el contrario, si la desecación no afecta su atractividad, la remoción no se verá afectada por el tiempo en que la semilla permanezca expuesta a las condiciones del ambiente.

## **Objetivos**

El objetivo de esta sección es determinar el efecto de la desecación del eleosoma sobre la atractividad de las semillas de *J. excisa*. Dado que en el campo las semillas pierden en el lapso de un corto tiempo de exposición al sol las características de las semillas recién liberadas, se decidió realizar los ensayos de preferencia en el laboratorio, con colonias de *P. cunicularius* mantenidas en formicarios. Se plantea como hipótesis que la desecación del eleosoma disminuye la atractividad de las semillas a las hormigas. Adicionalmente, se seguirá el destino de las semillas una vez transportadas al formicario.

## Materiales y Métodos

### *Formicarios*

Cuatro colonias de *P. cunicularius* fueron excavadas en el área de estudio durante marzo de 2010 y llevadas completas (con obreras, cría y reina) al laboratorio, donde fueron contadas y colocadas en formicarios (ver Capítulo 4 para la descripción del proceso de excavación de los hormigueros). Las colonias contuvieron entre 890 y 417 obreras (media 628) y entre 154 y 124 crías (larvas + pupas).

Los formicarios consistieron en contenedores de plástico (24 x 35 x 11 cm) forrados por fuera con papel madera y con una base de yeso de París de aproximadamente 1 cm. Los bordes superiores del contenedor se pincelaron con Fluon (Bioqip Products) para evitar que las hormigas trepen por las paredes, y la parte superior se cubrió con un folio rojo transparente para bajar la intensidad lumínica. Tapas de placas de Petri invertidas de 5 cm de diámetro y tubos de ensayo de 15 cm de longitud cubiertos de papel de aluminio se colocaron adentro para ser usados como cámaras (Lám. 9 A). Las colonias fueron provistas con agua azucarada *ad libitum* y alimentadas tres veces por semana con una dieta artificial (huevo, miel, y suplemento vitamínico en agar-agua) provista como un cubo de 6 mm<sup>2</sup> (Bhatkar & Whitcomb 1970). Los formicarios se mantuvieron a una temperatura de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $35 \pm 5\%$  de humedad relativa, y un fotoperíodo constante de 12 h por día.

Para la realización de los bioensayos, los formicarios se conectaron mediante tubos de polivinilo de 50 cm de longitud y 1 cm de diámetro a arenas de forrajeo, consistentes en contenedores (20 x 30 x 6 cm) con bordes recubiertos con Fluon (Lám. 9 B).

## *Diseño experimental*

Las diferencias de atractividad entre las semillas frescas y desecadas de *J. excisa* fueron estudiadas mediante experimentos de dos opciones. Las semillas desecadas se obtuvieron mediante la exposición en estufa a 60°C por 24 h. Antes y después de someterlas a la desecación, el peso fue determinado en una balanza electrónica. Las semillas frescas fueron obtenidas a partir de frutos maduros en el momento de realización de los ensayos. Las semillas desecadas se marcaron con un pequeño punto de esmalte blanco sobre el cuerpo de la semilla para diferenciarlas de las semillas frescas.

Los bioensayos consistieron en el ofrecimiento simultáneo de seis semillas frescas y seis semillas desecadas de *J. excisa* a cada una de las colonias de *P. cunicularius*. Los ítems de cada tipo se dispusieron en forma alternada sobre un semicírculo de cartón blanco de 10 cm de diámetro colocada en la arena de forrajeo y a 1 cm de la boca del tubo de conexión con el formicario. Mediante una cámara de video se filmó en forma continua la respuesta de las hormigas durante 45 min, registrándose el número de veces en que cada ítem fue anteneado, mordido o transportado fuera del círculo. Cada experimento dio comienzo en el momento del primer contacto de una hormiga con una semilla. Se consideró como anteneación sólo aquellas respuestas en que la hormiga se detiene y antenea más de tres veces el ítem y como transporte cuando una semilla fue removida activamente al menos 5 cm fuera del semicírculo. Al término de los 45 min del ensayo, cada 2 h y por 24 h se registró el número de ítems de cada cada tratamiento transportados ya sea afuera del semicírculo o al formicario.

Las cuatro colonias fueron testeadas en el mismo día en un orden azaroso, y los ensayos se repitieron tres veces para cada colonia, con al menos cuatro días de diferencia entre una repetición y la siguiente ( $4 \times 3 = 12$  replicaciones). Antes de

realizar los ensayos, las colonias fueron privadas de comida (pero no de agua azucarada) durante tres días. El día anterior al ensayo los formicarios se conectaron a la arena de forrajeo, dejando a las hormigas circular libremente. Los ensayos se realizaron en horarios del día en que las hormigas están naturalmente activas en esta época del año (desde las 11:00 hasta las 18:00 h), y dos semanas después de haber colectado las colonias en el campo para permitir su acostumbramiento. Antes de colocar los ítems en la arena de forrajeo, se contó el número de hormigas presentes en la misma, con el fin de determinar diferencias en la actividad de las hormigas que pudieran influir sobre los resultados.

Finalmente, se siguió el destino de las semillas que fueron transportadas al formicario. Luego de 24, 48 y 72 h se determinó el número de semillas de cada tratamiento en las que el eleosoma fue consumido, así como su localización y movimiento dentro del formicario.

### *Análisis de los datos*

El número de hormigas presentes al comienzo de cada ensayo fue comparado entre repeticiones ( $n = 3$ ) y entre colonias ( $n = 4$ ) mediante una prueba de Kruskal Wallis no paramétrica.

El número de anteneaciones, mordidas y transportes luego de 45 min y luego de 24 h del experimento fueron comparados entre ambos tratamientos mediante el test no paramétrico de Wilcoxon para muestras pareadas (Vaillant & Derridj 1992). La misma prueba estadística se utilizó para comparar el número de semillas de cada tratamiento encontradas en las cámaras de las larvas y en los basureros luego de 24, 48 y 72 h.

## Resultados

Las semillas de *J. excisa* perdieron un  $15.8 \pm 1.63$  % de su peso inicial (media  $\pm$  DE,  $N = 30$  semillas) luego de ser sometidas a 24 h de desecación a 60°C. Mientras que en las semillas frescas el eleosoma es de color blanco y de textura blanda, en las semillas desecadas éste se torna amarillento y de consistencia dura (Lám. 9 C).

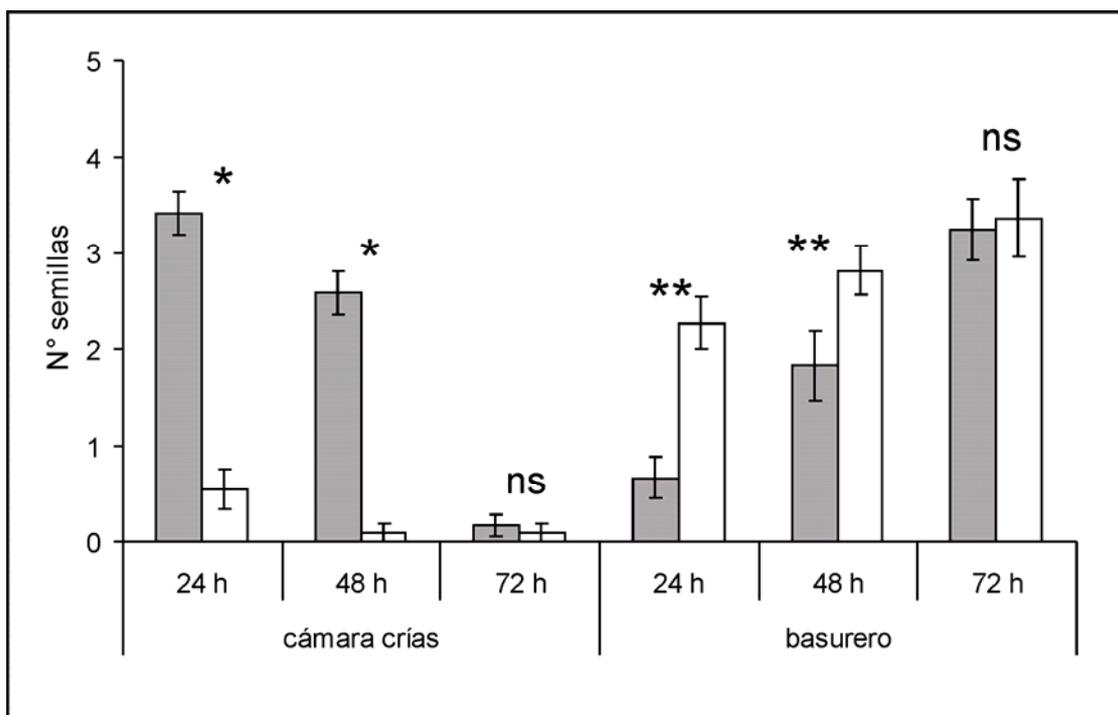
No se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de hormigas presentes en el formicario al comienzo de cada ensayo entre las colonias (prueba de Kruskal Wallis,  $H_{3,12} = 0.89$ ,  $p = 0.82$ ) y entre las repeticiones ( $H_{2,12} = 1.07$ ,  $p = 0.58$ ). No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al número de semillas anteneadas (prueba de Wilcoxon,  $Z = 1.02$ ,  $p = 0.3$ ,  $N = 12$ ), mordidas ( $Z = 1.32$ ,  $p = 0.18$ ) y transportadas luego de 45 min ( $Z = 0.25$ ,  $p = 0.79$ ) y de 24 h ( $Z = 1.02$ ,  $p = 0.31$ ). Luego de 24 h, las hormigas removieron el 72.2 % de las semillas frescas (52 de un total de 72 ofrecidas en los 12 ensayos) y el 62.5% de las semillas desecadas (45 de un total de 72 ofrecidas).

No todas las semillas removidas del semicírculo de la arena de forrajeo fueron transportadas al hormiguero artificial. Del total de semillas removidas del semicírculo de la arena, el 94.23% (49 de 52) de las semillas frescas y el 75.55% (34 de 45) de las semillas desecadas fueron transportadas al formicario.

Una vez adentro del formicario, se encontraron diferencias en cuanto al destino final de las semillas entre los diferentes tratamientos. Durante las primeras 24 y 48 h, las semillas frescas fueron transportadas en significativamente mayor número que las desecadas a la cámara de las larvas (luego de 24 h, 78.84 vs 13.33% respectivamente del total de los 12 ensayos, prueba de Wilcoxon  $Z = 3.06$ ,  $p < 0.001$ ; luego de 48 h, 59.61 vs. 2.22% respectivamente,  $Z = 3.06$ ,  $p < 0.001$ ) (Fig. 14). Durante ese mismo lapso de tiempo, las semillas desecadas fueron transportadas en significativamente

mayor número que las frescas al basurero (luego de 24 h, 62.2 vs 15.38% respectivamente, prueba de Wilcoxon  $Z = 2.66$ ,  $p < 0.01$ ; luego de 48 h, 75.55 vs. 23.07% respectivamente,  $Z = 2.84$ ,  $p < 0.01$ ). Todas las semillas desecadas encontradas en los basureros tuvieron su eleosoma intacto.

Luego de 72 h, la mayor parte de las semillas fueron depositadas en los basureros, sin encontrarse diferencias significativas entre el número de semillas frescas y desecadas (75 vs 88.8% respectivamente, prueba de Wilcoxon  $Z = 0.77$ ,  $p = 0.44$ ). Un número variable de semillas, tanto frescas como desecadas, no fueron consumidas en la cámara de las larvas, sino por obreras y en espacios fuera de los sitios usados como cámaras.



**Fig. 14** Número medio de semillas de *J. excisa* frescas (columnas grises) y desecadas (columnas blancas) encontradas dentro de la cámara de las crías y en el basurero de colonias cautivas de *Pogonomyrmex cunicularius* luego de 24, 48 y 72 h de experimento ( $n = 12$ ,  $N = 6$  semillas por tratamiento). Las barras representan EE. \*  $p < 0.001$ , \*\*  $p < 0.01$ , ns = no significativo ( $p > 0.05$ ).

## Discusión

Los resultados de los bioensayos hacen rechazar la hipótesis postulada: las semillas desecadas de *J. excisa* son igualmente atractivas y con igual probabilidad de ser removidas que las semillas frescas. Estos resultados concuerdan con observaciones realizadas en otras especies mirmecócoras de ambientes xéricos (Beattie & Hughes 2002). Por ejemplo, Berg (1975) describe especies australianas cuyos eleosomas han permanecido atractivos luego de 5 años. Si los compuestos químicos contenidos en el eleosoma juegan un papel en la atraktividad de las semillas, la conservación de la atraktividad luego de la deshidratación del eleosoma apoya la hipótesis de sustancias lipídicas como principales atractoras, ya que los compuestos lipofílicos son menos sensibles a la deshidratación que los hidrofílicos (Servigne & Detrain 2009). La persistencia de la atraktividad de los eleosomas de *J. excisa* puede considerarse como una adaptación al hábitat de la planta, en donde el eleosoma de una semilla expuesta directamente al sol sobre el suelo desnudo se deshidratará en un corto período de tiempo.

Durante los bioensayos, las hormigas antenearon varias veces los ítems antes de tomar una decisión. En general, la secuencia de comportamiento fue anteneación–mordida–transporte. El comportamiento de transporte siempre fue precedido por la mordida *in situ* del eleosoma, a veces por un período de varios minutos. Este comportamiento contrasta con el observado a campo con esta misma especie de hormiga, donde el transporte de las semillas de *J. excisa* una vez anteneadas fue casi inmediato, y luego de 45 min la mayor parte de las semillas fueron removidas de las estaciones. Las diferencias en el comportamiento para con las semillas observada en las condiciones de laboratorio podría deberse a la ausencia de competencia inter- o intraespecífica, o a la presencia de hormigas no forrajeras en la arena del experimento,





inexpertas en cuanto al transporte de semillas. Con respecto a la experiencia individual de las hormigas, se ha demostrado que las hormigas pueden aprender cómo manejar ciertas semillas y así aumentar su tasa de remoción (Johnson 1991, Gorb & Gorb 1999a). En consecuencia, los resultados de los bioensayos deben tomarse con cautela, considerando que el comportamiento de las hormigas de colonias cautivas puede diferir de lo que ocurre en condiciones naturales.

Las observaciones realizadas durante los bioensayos mostraron que es necesario el contacto directo de la hormiga con la semilla (*i.e.* la anteneación), para que ocurra la respuesta de transporte. Esto indicaría ausencia de orientación visual hacia el eleosoma, y/o la ausencia de percepción de componentes volátiles en el mismo que pudieran orientar a las hormigas a distancia. Mediante bioensayos y electroanteneogramas, Sheridan *et al.* (1996) demostraron en cuatro especies de hormigas dispersoras la ausencia de reacción ante eleosomas mediante claves olfatorias a distancia. El único estudio que ha demostrado la existencia de una atracción a distancia por compuestos volátiles presentes en las semillas se refiere a la simbiosis obligada entre la especie constructora de jardines de hormigas *Camponotus femoratus* y semillas epífitas sin eleosoma, las que establecen un tipo de interacción planta-hormiga diferente de la mirmecocoria (Youngsteadt *et al.* 2008).

Una vez transportadas las semillas dentro del hormiguero, las semillas frescas fueron consumidas preferentemente ante las desecadas. Los eleosomas frescos tienen una consistencia más blanda que aumentaría su palatabilidad y facilitaría su consumo por las hormigas. Las semillas desecadas, en cambio, fueron en su mayor parte descartadas durante las primeras 24 h en los basureros internos y con su eleosoma intacto. En los formicarios, todo el material descartado (restos de artrópodos, restos de semillas y obreras muertas de la colonia) fue apilado en un único sitio, alejado de las

cámaras con cría. Este comportamiento concuerda con el hallazgo de basureros internos dentro de los hormigueros de *P. cunicularius* (Capítulo 4). Luego de 72 h, casi todas las semillas, tanto frescas con su eleosoma consumido como desecadas e intactas, fueron descartadas en el basurero.

## **Conclusiones**

La atraktividad hacia las hormigas y el destino final dentro del hormiguero de las semillas de *J. excisa* no fueron afectados por la desecación de su eleosoma. Los eleosomas desecados fueron transportados en igual número que los frescos, y el destino final de las semillas en ambos casos fue el basurero. Las diferencias entre ambos tratamientos sólo fueron evidentes en cuanto a su palatibilidad: los eleosomas frescos fueron comidos, y los desecados no. Esta diferencia podría no encontrarse en condiciones naturales, en donde el consumo del eleosoma puede ser influenciado por factores tales como la disponibilidad de comida o el tamaño de la progenie de la colonia. Los resultados indican que la desecación del eleosoma no afecta el proceso de dispersión por hormigas en el sistema *J. excisa* y *P. cunicularius*.

## CONCLUSIONES GENERALES

La dispersión de semillas por hormigas o mirmecocoria es un tipo de mutualismo planta-animal de distribución global, ecológicamente importante, y que, desde su primera descripción por Sernander en 1906, ha sido objeto de numerosos estudios tanto ecológicos como evolutivos. En América del Sur, y en particular en Argentina, el estudio de este mutualismo ha sido relegado, principalmente debido a que son escasas las especies de plantas mirmecócoras *s.s* (*i.e.* con eleosoma). Sin embargo, la comparación de ecosistemas en donde la mirmecocoria es rara con aquellos en donde la mirmecocoria es abundante, por ejemplo en los ambientes mediterráneos de Australia y Sudáfrica, puede contribuir a dilucidar el camino evolutivo que llevó a su convergencia en diferentes regiones del mundo.

En esta tesis, se describe por primera vez la mirmecocoria en *Jatropha excisa* Griseb., un arbusto nativo del noroeste semiárido de Argentina cuyas semillas poseen un conspicuo eleosoma. A través de una serie de estudios realizados a campo y en condiciones de laboratorio, se determinó que las semillas de *J. excisa* son dispersadas por hormigas y que la presencia del eleosoma aumenta su remoción por éstas. La estimación de las distancias de dispersión por autocoria explosiva y por hormigas mostró que la existencia de la mirmecocoria como segundo sistema de dispersión en *J. excisa* contribuyó en un 65% a la distancia de dispersión de las semillas por combinación de ambos sistemas, indicando que la distancia *per se* es una importante ventaja otorgada por el transporte mediado por hormigas.

El ofrecimiento experimental de semillas de *J. excisa* mostró que, de las 11 especies de hormigas observadas interactuando con las semillas, la mayor parte de ellas se comportaron como predadoras de eleosoma, *i.e.*, consumieron el eleosoma *in situ* sin posterior transporte de la semilla. Sólo tres especies removieron las semillas, y una sola

de ellas, la Myrmicinae *Pogonomyrmex cunicularius pencosensis*, fue responsable del 84% de los eventos de remoción observados. El seguimiento de las semillas dentro de los hormigueros de *P. cunicularius* permitió determinar que éstas fueron transportadas verticalmente desde las cámaras más profundas, donde el eleosoma fue consumido en las cámaras de cría, hasta las cámaras más superficiales que funcionan como basureros, donde las semillas fueron descartadas. Las semillas descartadas conservaron su viabilidad, y los ensayos de germinación mostraron que ésta fue influenciada positivamente por la remoción experimental del eleosoma. La profundidad de los basureros internos permitiría la posterior emergencia de las plántulas, y la frecuente re-localización de los hormigueros de *P. cunicularius* tendría efectos favorables sobre la germinación y posterior establecimiento de las plántulas.

El estudio del ritmo diario de liberación de las semillas de *J. excisa* por dehiscencia explosiva mostró que ésta ocurre de una forma que favorece la remoción de las semillas por *P. cunicularius* antes que por aquellas especies de hormigas que se comportan como predadoras de eleosoma. Bioensayos realizados en laboratorio con colonias cautivas de *P. cunicularius* mostraron que la desecación del eleosoma no tiene consecuencias negativas sobre la atractividad de las semillas, por lo que el lapso de tiempo transcurrido entre la liberación de las semillas hasta que son encontradas por una hormiga de esta especie no afectaría su probabilidad de remoción.

La dieta mayormente carroñera, la posición subordinada en la jerarquía de dominancia, la estrategia de forrajeo individual, la ecología de la nidificación y la alta abundancia de *P. cunicularius* en el área de estudio son caracteres que en conjunto pueden asociarse a una dispersión efectiva de semillas con eleosoma. Estos caracteres han sido asimismo descritos en hormigas que se comportan como dispersoras de alta

calidad en otros hábitats, y todos ellos aumentan la probabilidad de que ocurra la interacción entre las hormigas dispersoras y las plantas mirmecócoras.

Los resultados aquí presentados apoyan la hipótesis general de esta tesis que plantea a la mirmecocoria como un mutualismo desigualmente difuso, en donde una única especie mutualista domina la interacción. La frecuencia de interacción con las semillas de *J. excisa*, el transporte al hormiguero y la conservación de la viabilidad de las semillas luego de ser consumido el eleosoma demuestran que *P. cunicularius* es la dispersora más importante de las semillas de *J. excisa* en el área de estudio.

Finalmente, desde el punto de vista evolutivo sería interesante aprovechar el amplio rango de distribución de *J. excisa*, que a su vez coincide con el de *P. cunicularius*, con el fin de estudiar variaciones en caracteres relacionados con la mirmecocoria tanto en la planta como en la hormiga, dentro de la visión de mosaico geográfico de coevolución planteada por Thompson (1994). La idea principal que subyace a esta hipótesis es que la evolución de cualquier interacción no puede entenderse si ésta se explora sólo localmente, siendo necesario extender el análisis a un rango geográfico amplio. Así, variaciones geográficas en caracteres del eleosoma (*e.g.* composición lipídica) o de la semilla (*e.g.* tamaño) entre poblaciones de una misma especie serían evidencia de presiones selectivas ejercidas por las hormigas de cada comunidad, direccionando caracteres de las semillas mirmecócoras hacia una mayor adaptación a sus hormigas dispersoras o alternativamente, serían resultado de variaciones azarasas actuando independientemente sobre ambos mutualistas (Boulay *et al.* 2006, Garrido *et al.* 2002).



## BIBLIOGRAFÍA

- Abraham E., del Valle HF, Roig F, Torres L, Coronato F & Godagnone R. 2009. Overview of the geography of the Monte Desert biome (Argentina). *J. Arid Envir.* 73: 144-153.
- Aguiar MR & Sala OE. 1997. Seed distribution constrains the dynamics of the Patagonian steppe. *Ecology* 78: 93-100.
- Albrecht M & Gotelli NJ. 2001. Spatial and temporal niche partitioning in grassland ants. *Oecologia* 126: 134-141.
- Alcántara JM, Rey PJ, Manzaneda AJ, Boulay R, Ramírez JM, Fedriani JM. 2007. Geographic variation in the adaptive landscape for seed size at dispersal in the myrmecochorous *Helleborus foetidus*. *Evol. Ecol.* 21: 411-430.
- Andersen AN. 1988. Dispersal distance as a benefit of myrmecochory. *Oecologia* 75: 507-511.
- Andersen AN. 1991. Seed harvesting by ants in Australia. In: *Ant-plant interactions*, Huxley CR, Cutler DF (eds.), Oxford University Press, Oxford, 493-503.
- Andersen AN. 1995. A classification of Australian ant communities, based on functional groups which parallels plant life-forms in relation to stress and disturbance. *J. Biogeogr.* 22: 15-29.
- Andersen AN. 1997. Functional groups and patterns of organization in North American ant communities: a comparison with Australia. *J. Biogeogr.* 24: 433-460.
- Antoniali WF Jr. & Giannotti E. 2001. Nest architecture and population dynamics of the Ponerine ant *Ectatomma edentatum* (Hymenoptera, Formicidae). *Sociobiology* 38: 475-486.
- Armbruster WS. 1997. Exaptations link evolution of plant-herbivore and plant-pollinator interactions: a phylogenetic inquiry. *Ecology* 78: 1661-1672.

- Armbruster WS. 1982. Seed production and dispersal in *Dalechampia* (Euphorbiaceae): divergent patterns and ecological consequences. *Am. J. Bot.* 69:1429-1440.
- Auld TD. 1986. Population dynamics of the shrub *Acacia suaveolens* (Sm.) Willd.: dispersal and the dynamics of the soil-seed bank. *Aust. J. Ecol.* 11: 235-254.
- Banschbach VS, Brunelle A, Bartlett KM, Grivetti JY & Yeamans RL. 2006. Tool use by the forest ant *Aphaenogaster rudis*: Ecology and task allocation. *Insect. Soc.* 53: 463-471.
- Barber JT, Ellgaard EG, Thien LB & Stack AE. 1989. The use of tools for food transportation by the imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Anim. Behav.* 38: 550-552.
- Beattie A.J. 1985. *The Evolutionary Ecology of Ant-plant Mutualisms*. Cambridge University Press, New York.
- Bathkar A & Whitcomb WH. 1970. Artificial diet for rearing various species of ants. *Fl. Entomol.* 53: 229-232.
- Beaumont KP, Mackay DA & Whalen MA. 2009. Combining distances of ballistic and myrmecochorous seed dispersal in *Adriana quadripartita* (Euphorbiaceae). *Acta Oecol.* 35: 429-436.
- Beattie AJ. 1983. Distribution of ant-dispersed plants. *Sonderbd. Naturwiss. Ver. Hamburg* 7: 249-270.
- Beattie AJ. 1985. *The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms*. Cambridge University Press, New York.
- Beattie AJ & Lyons N. 1975. Seed dispersal in *Viola* (Violaceae): adaptations and strategies. *Am. J. Bot.* 62: 714-722.
- Beattie AJ & Culver DC. 1981. The guild of myrmecochores in the herbaceous flora of West Virginia forests. *Ecology* 62: 107- 115.

- Beattie AJ & Culver DC. 1982. Inhumation: how ants and other invertebrates help seeds. *Nature* 297: 627.
- Beattie AJ & Culver DC. 1983. The nest chemistry of two seed-dispersing ant species: effect of nest-chemistry on survivorship of seeds. *Oecologia* 56: 99-103.
- Beattie AJ, Turnbull CL, Hough T & Knox RB. 1986. Antibiotic production: a possible function for the metapleural glands of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 448-450.
- Beattie AJ & Hughes L. 2002. Ant-plant interactions. En: *Plant-Animal Interactions – An Evolutionary Approach*. Herrera CM, Pellmyr O (eds.), Blackwell Science, Oxford, UK, 211-235.
- Berg RY. 1958. Seed dispersal, morphology, and phylogeny of *Trillium*. *Skr. Norske Vidensk-Akad. Mat-Naturvidensk.* 1: 1-36.
- Berg RY. 1966. Seed dispersal of *Dendromecon*: its ecologic, evolutionary and taxonomic significance. *Am. J. Bot.* 53: 61-76.
- Berg RY. 1975. Myrmecochorous plants in Australia and their dispersal by ants. *Aust. J. Bot.* 23: 475-508.
- Berg RY. 1981. The role of ants in seed dispersal in Australian lowland heathland. En: *Heathlands and related shrublands: analytical studies. Ecosystems of the world*. Specht RP (ed.), Elsevier Scientific Pub. Co., Amsterdam, 51-59.
- Berg RY. 1990. Seed dispersal relative to population structure, reproductive capacity, seed predation, and distribution in *Euphorbia balsamifera* (Euphorbiaceae), with a note on sclerendochory. *Somerfeltia* 11: 35-63.
- Bestelmeyer BT. 2000. The trade-off between thermal tolerance and behavioural dominance in a subtropical South American ant community. *J. Anim. Ecol.* 69: 998-1009.

- Bestelmeyer BT, Agosti D, Alonso LE, Brandão CRF, Brown WL Jr., Delabie JHC & Silvestre R. 2000. Field Techniques for the Study of Ground-Dwelling Ants: An Overview, Description, and Evaluation. En: *Ants: Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*, Agosti D, Majer JD, Alonso LE, Schultz TR (eds.), Smithsonian Institution Press, 122-144.
- Bhatkar A & Whitcomb WH. 1970. Artificial diet for rearing various species of ants. *Fla. Entomol.* 53: 229-232.
- Bianchini M & Pacini E. 1996. The caruncle of *Ricinus communis* L. (Castor bean): its development and role in seed dehydration, rehydration and germination. *Int. J. Plant Sci.* 157: 40-48.
- Bligh EG & Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.
- Böhning-Gaese K, Gaese BH & Rabemanantsoa SB. 1999. Importance of primary and secondary seed dispersal in the Malagasy tree *Commiphora guillaumini*. *Ecology* 80: 821-832.
- Bond WJ & Slingsby P. 1983. Seed dispersal by ants in shrublands of the Cape Province and its evolutionary implications. *S. Afr. J. Sci.* 79: 231-233.
- Bond WJ & Slingsby P. 1984. Collapse of an ant-plant mutualism: the Argentine ant (*Iridomyrmex humilis*) and myrmecochorous Proteaceae. *Ecology* 65: 1031-1037.
- Bond WJ & Stock WD. 1989. The costs of leaving home: ants disperse myrmecochorous seeds to low nutrient sites. *Oecologia* 81:412-417.
- Bond WJ, Yeaton RI & Stock WD. 1991. Myrmecochory in Cape Fynbos. En: *Ant-plant interactions*. CHD Cutler (ed.), Oxford University Press, Oxford, 448-462.
- Bond WJ, Honig M & Maze KE. 1999. Seed size and seedling emergence: an allometric relationship and some ecological implications. *Oecologia* 120: 132-136.

- Bono JM & Heithaus ER. 2002. Sex ratios and the distribution of elaiosomes in colonies of the ant *Aphaenogaster rudis*. *Insectes Soc.* 49: 320-325.
- Bonte D, Dekonink W, Provoost S, Cosijns E & Hoffmann M. 2003. Microgeographical distribution of ants (Hymenoptera: Formicidae) in coastal dune grassland and their relation to the soil structure and vegetation. *Anim. Biol.* 53: 367-377.
- Boulay R, Fedriani JM, Manzaneda AJ & Cerdá X. 2005. Indirect effects of alternative food resources in an ant-plant interaction. *Oecologia* 144: 72-79.
- Boulay R, Coll-Toledano J & Cerdá X. 2006. Geographic variations in *Helleborus foetidus* elaiosome lipid composition: implications for dispersal by ants. *Chemoecol.* 16: 1-7.
- Boulay R, Carro F, Soriguer RC & Cerdá X. 2007a. Synchrony between fruit maturation and effective disperser' foraging activity increases seed protection against seed predators. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 274: 2515-2522.
- Boulay R, Coll-Toledano J Manzaneda AJ & Cerdá X. 2007b. Geographic variations in seed dispersal by ants: are plant and seed traits decisive? *Naturwissenschaften* 94: 242-246.
- Boyd RS. 1996. Ant-mediated seed dispersal of the rare chaparral shrub *Fremontodendron decumbens* (Sterculiaceae). *Am. J. Bot.* 88: 234-241.
- Boyd RS. 2001. Ecological benefits of myrmecochory for the endangered chaparral shrub *Fremontodendron decumbens* (Sterculiaceae). *Am. J. Bot.* 88: 234-241.
- Bregman R. 1988. Forms of dispersal in Cactaceae. *Acta Bot. Need.* 37: 395-402.
- Bresinsky A. 1963. Bau, Entwicklungsgeschichte und Inhaltsstoffe der Elaiosomen. Studien zur myrmekochoren Verbreitung von Samen und Früchten. *Bibliot. Bot.* 126: 1-54.

- Brew CR, O'Dowd DJ & Rae ID. 1989. Seed dispersal by ants: behaviour-releasing compounds in elaiosomes. *Oecologia* 80: 490-497.
- Briese DT & Macauley BJ. 1981. Food collection within an ant community in semi-arid Australia, with special reference to seed harvesters. *Aust. J. Ecol.* 6: 1-19.
- Brown MJF. 1999. Nest relocation and encounters between colonies of the seed-harvesting ant *Messor andrei*. *Insectes Soc.* 46: 66-70.
- Bullock JM. 1989. Life history and seed dispersal of the short-lived Chaparral shrub *Dendromecon rigida* (Papaveraceae). *Am. J. Bot.* 76: 1506-1517.
- Cabrera A.L. 1976. Regiones Fitogeográficas Argentinas. En: *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*, vol.1, Kugler WF (ed.), Buenos Aires, Argentina, 1-85.
- Cain M L, Damman H & Muir A. 1998. Seed dispersal and the Holocene migration of woodland herbs. *Ecol. Monogr.* 68: 325–347.
- Calcaterra LA, Livore JP, Delgado A & Briano JA. 2008. Ecological dominance of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*, in its native range. *Oecologia* 156: 411-421.
- Calviño-Cancela M, He T & Lamont BB. 2008. Distribution of myrmecochorous species over the landscape and their potential long-distance dispersal by emus and Kangaroos. *Diversity Distrib.* 14: 11–17.
- Callaway RM. 1995. Positive interactions among plants. *Bot. Rev.* 61:306–349.
- Carlson DM & Gentry JB. 1973. Effects of shading on the migratory behaviour of the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. *Ecology* 54: 452-453.
- Carroll CR & Janzen DH. 1973. Ecology of foraging by ants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 4: 231-257.
- Castro S, Ferrero V, Loureiro J, Espadaler X, Silveira P & Navarro L. 2010. Dispersal mechanisms of the narrow endemic *Polygala vayredae*: dispersal syndromes and spatio-temporal variations in ant dispersal assemblages. *Plant Ecol.* 207: 359-372.

- Cerdá X, Retana J, Bosch J & Alsina A. 1989. Daily foraging activity and food collection of the thermophilic ant *Cataglyphis cursor* (Hymenoptera: Formicidae). *Vie Milieu* 39: 207-212.
- Cerdá X, Retana J & Cross S. 1997. Thermal disruption of transitive hierarchies in Mediterranean ant communities. *J. Anim. Ecol.* 66:363–374.
- Cerdá X, Retana J & Cross S. 1998a. Critical thermal limits in Mediterranean ant species: trade-off between mortality risk and foraging performance. *Funct. Ecol.* 12: 45-55.
- Cerdá X, Retana J & Manzaneda A. 1998b. The role of competition by dominants and temperature in the foraging of subordinate species in Mediterranean ant communities. *Oecologia* 117: 404-412.
- Christian CE. 2001. Consequences of a biological invasion reveal the importance of mutualism for plant communities. *Nature* 413: 635-639.
- Christian CE & Stanton ML. 2004. Cryptic consequences of a dispersal mutualism: seed burial, elaiosome removal, and seed bank dynamics. *Ecology* 85: 1101-1110.
- Christianini AV, Mayhé-Nunes & Oliveira PS. 2007. The role of ants in the removal of non-myrmecochorous diaspores and seed germination in a neotropical savanna. *J. Trop. Ecol.* 23: 343-351.
- Ciccarelli D, Andreucci AC, Pagni AM & Garbari F. 2005. Structure and development of the elaiosome in *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) seeds. *Flora* 200: 326-331.
- Coffin DP & Lauenroth WK. 1990. Vegetation associated with nest sites of western harvester ants (*Pogonomyrmex occidentalis* Cresson) in a semiarid grassland. *Am. Midl. Nat.* 123: 226-35.
- Crawley MJ. 2007. *The R Book*. John Wiley & Sons (eds.), London, UK. 569-593.

- Crepet WL.1984. Advanced (constant) insect pollination mechanisms: Pattern of evolution and implications vis-à-vis angiosperm diversity. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 71: 607-630.
- Crist TO & MacMahon JA. 1991. Foraging patterns of *Pogonomyrmex occidentalis* (Hymenoptera: Formicidae) in a shrub-steppe ecosystem: The roles of temperature, trunk trails and seed resources. *Environ. Entomol.* 20: 265-275.
- Crist TO & Haefner JW. 1994. Spatial model of movement and foraging in harvester ants (*Pogonomyrmex*), (ii): the roles of environment and seed dispersion. *J. Theor. Biol.* 166: 315-323.
- Cros S, Cerdá X & Retana J 1997. Spatial and temporal variations in the activity patterns of Mediterranean ant communities. *ÉcoScience* 4: 269-278.
- Cuezzo F & Claver S. 2009. Two new species of the ant genus *Pogonomyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) from Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Arg.* 68: 97-106.
- Culver DC & Beattie AJ. 1978. Myrmecochory in *Viola*: dynamics of seed-ant interactions in some West Virginia species. *J. Ecol.* 66: 53-72.
- Culver DC & Beattie AJ. 1980. The fate of *Viola* seeds dispersed by ants. *Am. J. Bot.* 67: 710-714.
- Culver DC & Beattie AJ. 1983. Effects of ant mounds on soil chemistry and vegetation patterns in Colorado Montane meadow. *Ecology* 64: 485-492.
- Dalling JW & Wirth R. 1998. Dispersal of *Miconia argentea* seeds by the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *J. Trop. Ecol.* 14: 705-710.
- Darwin C. 1859. *On the origin of species by means of natural selection*. John Murray, London, UK.
- Darwin C. 1877. *The various contrivances by which orchids are fertilized by insects*. University of Chicago Press, Chicago.

- Davidson DW. 1977. Foraging ecology and community organization in desert seed-eating ants. *Ecology* 58: 725-737.
- Davidson DW & Morton SR. 1981. Myrmecochory in some plants (F. Chenopodiaceae) of the Australian arid zone. *Oecologia* 50: 357-366.
- Davidson DW. 1998. Resource discovery versus resource domination in ants: a functional mechanism for breaking the trade-off. *Ecol. Ent.* 23: 484-490.
- Delouche JC, Waynes T, Raspet M & Lienhard M. 1971. *Prueba de viabilidad de semillas con tetrazol*. CRAT, AID, Buenos Aires, Argentina.
- De Vita J. 1979. Mechanisms of interference and foraging among colonies of the harvester ant *Pogonomyrmex californicus* in the Mojave Desert. *Ecology* 60: 729-737.
- Dehgan B & Webster GL. 1979. *Morphology and infrageneric relationships of the genus Jatropha (Euphorbiaceae)*. University of California Press, USA.
- Dodd ME, Silvertown J & Chase MW .1999. Phylogenetic analysis of trait evolution and species diversity variation among angiosperm families. *Evolution* 53: 732-744.
- Dunn RR, Gove AD, Barraclough TG, Givinish TJ & Majer JD. 2007. Convergent evolution of an ant-plant mutualism across plant families, continents, and time. *Evol. Ecol. Res.* 9: 687-694.
- Eriksson O & Bremer B. 1992. Pollination systems, dispersal modes, life forms, and diversification rates in angiosperm families. *Evolution* 46: 258-266.
- Espadaler X & Gómez C. 1996. Seed production, predation and dispersal in the mediterranean myrmecochore *Euphorbia characias* (Euphorbiaceae). *Ecography* 19: 7-15.
- Esser HJ. 2003. Fruit characters in Malesian Euphorbiaceae. *Telopea* 10: 169-177.
- Faegri K & van der Pijl L. 1979. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, Oxford, UK

- Farji-Brener AG & Silva JF. 1996. Leaf-cutting ants (*Atta laevigata*) aid to the establishment success of *Tapiria velutinifolia* (Anacardiaceae) seedlings in a parkland savanna. *J. Trop. Ecol.* 12: 163-168.
- Fellers JH. 1987. Interference and exploitation in a guild of woodland ants. *Ecology* 68: 1466-1478.
- Fellers JH. 1989. Daily and seasonal activity in woodland ants. *Oecologia* 78: 69-76.
- Fellers JH & Fellers GM. 1976. Tool use in a social insect and its implications for competitive interactions. *Science* 192: 70-72.
- Fernández F. 2003. *Introducción a las Hormigas de la Región Neotropical*. Instituto Humboldt, Bogotá, Colombia.
- Fischer RC, Ölzant SM, Wanek W & Mayer V. 2005. The fate of *Corydalis cava* elaiosomes within an ant colony of *Myrmica rubra*: elaiosomes are preferentially fed to larvae. *Insect. Soc.* 52: 55-62.
- Fischer RC, Richter A, Hadacek F & Mayer V. 2008. Chemical differences between seeds and elaiosomes indicate an adaptation to nutritional needs of ants. *Oecologia* 155: 539-547.
- Fokuhl G, Heinze J & Poschlod P. 2007. Colony growth in *Myrmica rubra* with supplementation of myrmecochorous seeds. *Ecol. Res.* 22: 845-847.
- Folgarait PJ. 1998. Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodivers. Conserv.* 7: 1221-1244.
- Font F. 2003. Las especies del género *Jatropha* L. (Euphorbiaceae, Crotonoideae) en Argentina. *Rev. Círc. Colecc. Cact. Cr. Rep. Arg.* 2: 4-20.
- Forest F, Chase MW, Persson C, Crane PR & Hawkins JA. 2007. The role of biotic and abiotic factors in evolution of ant dispersal in the milkwort family (Polygalaceae). *Evolution* 61: 1675-1694.

- Freitas AVL. 1995. Nest relocation and prey specialization in the ant *Leptogenys propefalcigera* Roger (Formicidae: Ponerinae) in an urban area in southeastern Brazil. *Insect. Soc.* 42: 453-456.
- Gammans N, Bullock JM & Schönrogge K. 2005. Ant benefits in a seed dispersal mutualism. *Oecologia* 146: 43-49.
- Gammans N, Bullock JM, Gibbons H & Schönrogge K. 2006. Reaction of mutualistic and granivorous ants to *Ulex* elaiosome chemicals. *J. Chem. Ecol.* 32: 1935-1947.
- Garrido JL, Rey PJ, Cerdá X & Herrera CM. 2002. Geographical variation in diaspore traits of an ant-dispersed plant (*Helleborus foetidus*): are ant community composition and diaspore traits correlated? *J. Ecol.* 90: 446-455.
- Garrison WJ, Miller GL & Raspet R. 2000. Ballistic seed projection in two herbaceous species. *Am. J. Bot.* 87: 1257-1264.
- Gehring WJ & Wehner R. 1995. Heat shock protein synthesis and thermotolerance in *Cataglyphis*, an ant from the Sahara desert. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 2994-2998.
- Gentry JB & Stiritz KL. 1972. The role of the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*, in old field mineral nutrient relationships. *Environ. Entomol.* 1: 39-41.
- Gibson W. 1993a. Selective advantages to hemi-parasitic annuals, genus *Melampyrum*, of a seed dispersal mutualism involving ants. 1. Favorable nest sites. *Oikos* 67: 334-344.
- Gibson W. 1993b. Selective advantages to hemi-parasitic annuals, genus *Melampyrum*, of a seed dispersal mutualism involving ants. 2. Seed-predator avoidance. *Oikos* 67: 345-350.
- Giladi I. 2004. The role of habitat-specific demography, habitat-specific dispersal, and the evolution of dispersal distances in determining current and future distributions of the ant-dispersed forest herb, *Hexastylis arifolia*. *Inst. Ecol.*, Athens, GA, Univ. of Georgia: 175.

- Giladi I. 2006. Choosing benefits or partners: a review of the evidence for the evolution of myrmecochory. *Oikos* 112: 481-492.
- Giliberto J, Gutiérrez JR & Hajek ER. 1980. Temperature effect on autochory in *Colliguaya odorifera* (Euphorbiaceae). *Int. J. Biometeorol.* 24: 199-202.
- Golley FB & Gentry JB. 1964. Bioenergetics of the southern harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. *Ecology* 45: 217-225.
- Gómez C & Espadaler X. 1998a. Myrmecochorous dispersal distances: a world survey. *J. Biogeogr.* 25: 573-580.
- Gómez C & Espadaler X. 1998b. Seed dispersal curve of a Mediterranean myrmecochore: influence of ant size and the distance to nests. *Ecol. Res.* 13: 347-354.
- Gorb SN & Gorb EV. 1999a. Dropping rates of elaiosome-bearing seeds during transport by ants (*Formica polyctena* Foerst.): implications for distance dispersal. *Acta Oecol.* 20: 509-518.
- Gorb SN & Gorb EV. 1999b. Effects of ant species composition on seed removal in deciduous forest in eastern Europe. *Oikos* 84: 110-118.
- Gorb EV & Gorb SN. 2003. *Seed dispersal by ants in a deciduous Forest Ecosystem. Mechanisms, Strategies, Adaptations.* Kluwer Academic Press, Dordrecht.
- Gordon DM. 1984. The harvester ant (*Pogonomyrmex badius*) midden: refuse or boundary? *Ecol. Entomol.* 9: 403-412.
- Gordon DM. 1992. Nest relocation in harvester ants. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 85: 44-47.
- Gould SJ & Vbra ES. 1982. Exaptation-a missing term in the science of form. *Paleobiol.* 8: 4-15.
- Gove AD, Majer JD & Dunn RR. 2007. A keystone ant species promotes seed dispersal in a "diffuse" mutualism. *Oecologia* 153: 687-697.

- Green D. 1983. The efficacy of dispersal in relation to safe site density. *Oecologia* 56:356-358.
- Grimaldi D & Agosti D. 2000. A formicine in New Jersey Cretaceous amber (Hymenoptera: Formicidae) and early evolution of the ants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 13678-13683.
- Griz LMS & Machado ICS. 2001. Fruiting phenology and seed dispersal syndromes in caatinga, a tropical dry forest in the northeast of Brazil. *J. Trop. Ecol.* 17: 303-321.
- Gutián P, Medrano M & Gutián J. 2003. Seed dispersal in *Erythronium dens-canis* L. (Liliaceae): variation among habitats in a myrmecochorous plant. *Plant Ecol.* 169: 171-177.
- Gutián J & Garrido JL. 2006. Is early flowering in myrmecochorous plants an adaptation for dispersal? *Plant Sp. Biol.* 21: 165-171.
- Gunther RW & Lanza J. 1989. Variation in attractiveness of *Trillium* diaspores to a seed-dispersing ant. *Am. Midl. Nat.* 122: 321-328.
- Handel SN. 1976. Dispersal ecology of *Carex pedunculata* (Cyperaceae), a new North American myrmecochore. *Am. J. Bot.* 63: 1071-1079.
- Handel SN. 1978. New ant-dispersed species in the genera *Carex*, *Luzula* and *Claytonia*. *Can. J. Bot.* 56: 2925-2927.
- Handel SN, Fisch SB & Schatz GE. 1981. Ants disperse a majority of herbs in a mesic forest community in New York State. *Bull. Torrey Bot. Club* 108: 430-437.
- Handel SN & Beattie AJ. 1990. Seed dispersal by ants. *Sci. Am.* 263: 76-83.
- Hanzawa FM, Beattie AJ & Holmes A. 1985. Dual function of the elaiosome of *Corydalis aurea* (Fumariaceae): attraction of dispersal agents and repulsion of *Peromyscus maniculatus*, a seed predator. *Am. Nat.* 131: 1-13.

- Hanzawa FM, Beattie AJ, Culver DC. 1988. Directed dispersal: demographic analysis of an ant-seed mutualism. *Am. Nat.* 131: 1-13.
- He T, Lamont BB, Krauss SL, Enright NJ, Miller BP & Gove AD. 2009. Ants cannot account for interpopulation dispersal of the arillate pea *Daviesia triflora*. *New Phytol.* 181: 725-733.
- Heithaus ER. 1981. Seed predation by rodents on three ant-dispersed plants. *Ecology* 62: 136-145.
- Heithaus ER & Humes M. 2003. Variation in communities of seed-dispersing ants in habitats with different disturbance in Know County, Ohio. *Ohio J. Sci.* 103: 89-97.
- Herbers JM. 1985. Seasonal structuring of a north temperate ant community. *Insectes Soc.* 32: 224-240.
- Herrera CM. 1989. Seed dispersal by animals - a role in angiosperm diversification. *Am. Nat.* 133: 309-322.
- Herrera CM. 1995. Plant-vertebrate seed dispersal systems in the Mediterranean: ecological, evolutionary, and historical determinants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 26: 705-727.
- Herrera CM. 2002. Seed dispersal by vertebrates. En: *Plant-Animals interactions. An evolutionary approach*. Herrera CM, Pellmyr O (eds.), Blackwell Publishing, UK, 185-208.
- Higashi S, Tsuyuzaki S & Ohara M. 1989. Adaptive advantages of ant-dispersed seeds in the myrmecochorous plant *Trillium tschonoskii* (Liliaceae). *Oikos* 54: 389-394.
- Hölldobler B. 1976. Recruitment behavior, home range orientation and territoriality in harvester ants, *Pogonomyrmex*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 1: 3-44.
- Hölldobler B & Wilson EO. 1990. *The ants*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Hood WG & Tschinkel WR. 1990. Desiccation resistance in arboreal and terrestrial ants. *Physiol. Entomol.* 15: 23-35.

- Horvitz CC. 1981. Analysis of how ant behaviors affect germination in a tropical myrmecochore *Calathea microcephala* (P. & E) Koernicke (Marantaceae): microsite selection and aril removal by neotropical ants *Odontomachus*, *Pachycondyla* and *Solenopsis* (Formicidae). *Oecologia* 51: 47-52.
- Horvitz CC & Beattie AJ. 1980. Ant dispersal of *Calathea* (Marantaceae) seeds by carnivorous ponerines (Formicidae) in a tropical rain forest. *Am. J. Bot.* 67: 321-326.
- Horvitz CC & Schemske DW. 1986. Ant-nest soil and seedling growth in a Neotropical ant-dispersed herb. *Oecologia* 70: 318-320.
- Howard DF & Tschinkel WR. 1975. Aspects of necrophoric behavior in the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Behavior* 56: 157-180.
- Howe HF & Smallwood PD. 1982. Ecology of seed dispersal. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13: 201-228.
- Hughes L & Westoby M. 1990. Removal rates of seeds adapted for dispersal by ants. *Ecology* 71: 138-148.
- Hughes L & Westoby M. 1992a. Fate of seeds adapted for dispersal by ants in Australia-sclerophyll vegetation. *Ecology* 73: 1285-1299.
- Hughes L & Westoby M. 1992b. Effect of diaspore characteristics on removal of seeds adapted for dispersal by ants. *Ecology* 73: 1300-1312.
- Hughes L, Dunlop M, French K, Leishman MR, Rice B, Rodgerson L & Westoby M. 1994a. Predicting dispersal spectra – a minimal set of hypotheses based on plant attributes. *J. Ecol* 82, 933–950.
- Hughes L, Westoby M & Jurado E. 1994b. Convergence of elaiosomes and insect prey: evidence from ant foraging behaviour and fatty acid composition. *Funct. Ecol.* 8: 358-365

- Hutchinson JM & Ashton FM. 1979. Effects of desiccation and scarification on the permeability and structure of the seed coat of *Cuscuta campestris*. *Am. J. Bot.* 66: 40-46.
- Imbert E. 2006. Dispersal by ants in *Centaurea corymbosa* (Asteraceae): what is the elaiosome for? *Plant Sp. Biol.* 21: 109-117.
- Irwin RE Adler LS & Brody AK. 2004. The dual role of floral traits: pollinator attraction and plant defense. *Ecology* 85: 1503-1511.
- Jacoby M. 1935. Erforschung der Struktur des Atta-Nestes mit Hilfe des Cementausguss-Verfahrens. *Rev. Entomol.* 5: 420 – 425.
- Johnson R. 1991. Learning, memory and foraging efficiency in two species of desert seed-harvester ants. *Ecology* 72: 1408-1419.
- Johnson R. 2001a. Habitat segregation based on soil texture and body size in seed-harvester ants *Pogonomyrmex rugosus* and *P. barbatus*. *Ecol. Entomol.* 25: 402-412.
- Johnson R. 2001b. Biogeography and community structure of North American seed-harvester ants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 46: 1-29.
- Johnson R. 2010. Independent colony founding by ergatoid queens in the ant genus *Pogonomyrmex*: queen foraging provides an alternative to dependent colony founding. *Insect. Soc.* 57: 169-176.
- Jordano P. 1992. Fruits and frugivory. En: *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. Fenner M (ed), Commonwealth Agricultural Bureau International, Wellingford, UK, 105-156.
- Kalisz S, Hanzawa FM, Tonsor SJ, Thiede DA & Voigt S. 1999. Ant-mediated seed dispersal alters patterns of relatedness in a population of *Trillium grandiflorum*. *Ecology* 80: 2620-2634.

- Kaspari M. 1996. Worker size and seed size selection by harvester ants in a Neotropical forest. *Oecologia* 105: 397-404.
- King TJ. 1977. The plant ecology of ant-hills in calcareous grasslands. I. Succession on the mounds. *J. Ecol.* 65: 257-278.
- Kjellsson G. 1985a. Seed fate in a population of *Carex piulifera* L. II. Seed predation and its consequences for dispersal and seed bank. *Oecologia* 67: 424-429.
- Kjellsson G. 1985b. Seed fall and phenological overlap in a guild of ant-dispersed herbs. *Oecologia* 68: 140-146.
- Kugler C & Hincapie MC. 1983. Ecology of the ant *Pogonomyrmex mayri*: distribution, abundance, nest structure and diet. *Biotropica* 15: 190-198.
- Kusmenoglu S, Rockwood LL & Gretz MR. 1989. Fatty acids and diacylglycerols from elaiosomes of some ant-dispersed seeds. *Phytochemistry* 28: 2601-2602.
- Kusnezov N. 1951. El género *Pogonomyrmex* Mayr (Hym., Formicidae). *Acta Zool. Lill.* 11: 227-333.
- Kusnezov N. 1963. Zoogeografía de las Hormigas en Sudamérica. *Acta Zool. Lill.* 19: 25-186.
- Kusnezov N. 1978. Hormigas Argentinas. Clave para su Identificación. *Miscelánea* 61. Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.
- Lanza J, Schmitt MA & Awad AB. 1992. Comparative chemistry of elaiosomes of three species of *Trillium*. *J. Chem. Ecol.* 18: 209-221.
- Laundré JW. 1990. Soil moisture patterns below mounds of harvester ants. *J. Range Manage.* 43: 10-12.
- Leal IR & Oliveira PS. 1998. Interactions between fungus-growing ants (Attini), fruits and seeds in the cerrado vegetation of Brazil. *Insectes Soc.* 47: 376-382.
- Leal IR, Wirth R & Tabarelli M. 2007. Seed dispersal by ants in the semi-arid Caatinga of North-east Brazil. *Ann. Bot.* 99: 885-894.

- Lehouck V, Bonte D, Dekoninck W & Maelfait JP. 2004. The distribution of ant nests (Hymenoptera, Formicidae) in coastal grey dunes of Flanders (Belgium) and their relationship to myrmecochorous plants. *Belg. J. Zool.* 134: 89-96.
- Lengyel S, Gove AD, Latimer AM, Majer JD & Dunn RR. 2009. Ants sow the seeds of global diversification in flowering plants. *PLoS ONE* 4, e5480, [www.plosone.org](http://www.plosone.org).
- Levey DJ & Byrne MM. 1993. Complex ant-plant interactions: rain forest ants as secondary dispersers and post-dispersal seed predators. *Ecology* 74: 1802-1812.
- Lighton JRB & Feener DH, Jr. 1989. Water loss rate and cuticular permeability in foragers of the desert ant *Pogonomyrmex rugosus*. *Physiol. Zool.* 62: 1232-1256.
- Lisci M, Bianchini M & Pacini E. 1996. Structure and function of the elaiosome in some angiosperm species. *Flora* 191: 131-141.
- Lisci M & Pacini E. 1997. Fruit and seed structural characteristics and seed dispersal in *Mercurialis annua* L. (Euphorbiaceae). *Acta Soc. Bot. Pol.* 66: 379-386.
- López-Vila JR & García-Fayos P. 2005. Diplochory in *Ulex parviflorus* Pourr. *Acta Oecol.* 28:157-162.
- Lourteig A & O'Donnell CA. 1943. Euphorbiaceae Argentinae. *Lilloa* 9: 77-143.
- Lubertazzi D, Lubertazzi MAA, McCoy N, Gove AD, Majer JD & Dunn RR. 2010. The ecology of a keystone seed disperser, the ant *Rhytidoponera violacea*. *J. Insect Sci.* 10: 158.
- MacKay WP. 1981. A comparison of the nest phenologies of three species of *Pogonomyrmex* harvester ants (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche* 88: 25-74.
- MacMahon JA, Mull JF & Crist TO. 2000. Harvester ants (*Pogonomyrmex* spp.): their community and ecosystem influences. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31: 265-291.

- Majer JD. 1982. Ant-plant interactions in the Darling botanical district of Western Australia. En: *Ant-plant interactions in Australia*. Buckley RC (ed.), Dr. W. Junk, The Hague, 45-61.
- Majer JD, Gove AD, Sochacki S, Searle P & Portlock C. 2011. A comparison of the autoecology of two seed-taking ant genera, *Rhytidoponera* and *Melophorus*. *Insect. Soc.* 58: 115-125
- Manzaneda AJ, Fedriani JM & Rey PJ. 2005. Adaptive advantages of myrmecochory: the predator avoidance hypothesis tested over a wide geographic range. *Ecography* 28: 583-592.
- Manzaneda AJ, Rey P & Boulay R. 2007. Geographic and temporal variation in the ant-seed dispersal assemblage of the perennial herb *Helleborus foetidus*. *Biol. J. Linn. Soc.* 92: 135-150.
- Manzaneda AJ & Rey PJ. 2009. Assessing ecological specialization of an ant-seed dispersal mutualism through a wide geographic range. *Ecology* 90: 3009-3022.
- Mark S & Olesen JM. 1996. Importance of elaiosome size to removal of ant-dispersed seeds. *Oecologia* 107: 95-101.
- Marschall DL, Beattie AJ & Bollenbacher WE. 1979. Evidence for diglycerides as attractants in an ant-seed interaction. *J. Chem. Ecol.* 5: 335-344.
- Marussich WA. 2006. Testing myrmecochory from the ant's perspective: the effects of *Datura wrightii* and *D. discolor* on queen survival and brood production in *Pogonomyrmex californicus*. *Insectes Soc.* 53: 403-411.
- Maschwitz U. 1974. Vergleichende Untersuchungen zur Funktion der Ameisenmethathorakaldrüse. *Oecologia* 16: 303-310.
- Mayer V & Svoma E. 1998. Development and function of the elaiosome in *Knautia* (Dipsacaceae). *Bot. Acta* 111: 402-410.

- McGlynn TP, Carr RA, Carson JH & Buma JB. 2004. Frequent nest relocation in the ant *Aphaenogaster araneoides*: resources, competition, and natural enemies. *Oikos* 106: 611-621.
- Midgley JJ & Bond WJ. 1995. Relative attractiveness of seeds of a myrmecochorous Australian and South African plants to ants, and the chemical basis of this attraction. *S. Afr. J. Bot.* 61: 230-232.
- Milesi FA & Lopez de Casenave J. 2004. Unexpected relationships and valuable mistakes: non-myrmecochorous *Prosopis* dispersed by messy leafcutter ants in harvesting their seeds. *Austr. Ecol.* 29: 558-567
- Milewski AV & Bond WJ. 1982. Convergence of myrmecochory in Mediterranean Australia and South Africa. In: *Ant-plant interactions in Australia*. RC Buckley (Ed.) Dr. W Junk, The Hague, The Netherlands, pp. 89-98.
- Möglich M & Hölldobler B. 1974. Social carrying behavior and division of labor during nest moving in ants. *Psyche* 81: 219-236.
- Morales MA & Heithaus ER. 1998. Food from seed dispersal mutualism shifts sex ratios in colonies of the ant *Aphaenogaster rudis*. *Ecology* 79: 734-739.
- Morello J. 1958. La provincia fitogeográfica del Monte. *Op. Lill.* 2: 1-155.
- Morello, J. 1972. Variables estructurales de la vegetación del Monte (Argentina) y desierto Sonorense (E.U.A.). *I Congreso Latinoamericano de Botánica*, Memorias, 359-364.
- Morrill WL. 1972. Tool using behaviour of *Pogonomyrmex badius* (Hymenoptera: Formicidae). *Fl. Entomol.* 55: 59-60.
- Morrone O, Vega AS & Maier M. 2000. Elaiosomes in *Urochloa pausispicata* (Poaceae: Panicoideae. Paniceae): anatomy and chemical composition. *Flora* 195: 303-310.

- Narbona E, Arista M & Ortiz PL. 2005. Explosive seed dispersal in two perennial Mediterranean *Euphorbia* species (Euphorbiaceae). *Am. J. Bot.* 92: 510-516.
- Ness JH, Bronstein JL, Andersen AN & Holland JN. 2004. Ant body size predicts dispersal distances of ant-adapted seeds: implications of small-ant invasions. *Ecology* 85: 1244-1250.
- Ness JH & Morin DF. 2008. Forest edges and landscape history shape interactions between plants, seed-dispersing ants and seed predators. *Biol. Conserv.* 141: 838-847.
- Ness JH, Morin DF & Giladi I. 2009. Uncommon specialization in a mutualism between a temperate herbaceous plant guild and an ant: are *Aphaenogaster* ants keystone mutualists? *Oikos* 118: 1793-1804.
- Nobua Behrmann BE, Milesi FA, López de Casenave J, Pol RG & Pavan B. 2010. Tamaño y composición de la colonia de tres especies de hormigas del género *Pogonomyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) en la porción central del desierto del Monte, Argentina. *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 69: 117-122.
- Noy-Meir I. 1985. Desert ecosystem structure and function. En: *Ecosystems of the World 12A: Hot Deserts and Arid Shrublands*, Evenari M., Noy-Meir I. & Goodall DW (eds), Elsevier, Amsterdam, 93–103.
- O'Dowd DJ & Hay ME. 1980. Mutualism between harvester ants and a desert ephemeral: seed escape from rodents. *Ecology* 61: 531-540.
- Oberrath R & Böhning-Gaese K. 2002. Phenological adaptation of ant-dispersed plants to seasonal variation in ant activity. *Ecology* 61: 531-540.
- Ohkawara K. 2005. Effect of timing of elaiosome removal on seed germination in the ant-dispersed plant, *Erythronium japonicum*. *Plant Sp. Biol.* 20: 145-148.
- Ohkawara K & Higashi S. 1994. Relative importance of ballistic and ant dispersal in two diplochorous *Viola* species (Violaceae). *Oecologia* 100: 135-140.

- Ohkawara K, Ohara M & Higashi S. 1997. The evolution of ant-dispersal in a spring-ephemeral *Corydalis ambigua* (Papaveraceae): timing of seed-fall and effects of ants and ground beetles. *Ecography* 20: 217-223.
- Ohkawara K. 2005. Effect of timing of elaiosome removal on seed germination in the ant-dispersed plant *Erythronium japonicum*. *Plant Sp. Biol.* 20: 145-148.
- Ohkawara K & Akino T. 2005. Seed cleaning behaviour by ants and its anti-fungal effect. *J. Ethol.* 23: 93-98.
- Oostermeijer JGB. 1989. Myrmecochory in *Polygala vulgaris* L., *Luzula campestris* (L.) DC. and *Viola curtisii* Forester in a Dutch dune area. *Oecologia* 78: 302-311.
- Passos L & Ferreira SO. 1996. Ant dispersal of *Croton priscus* (Euphorbiaceae) seeds in a tropical semideciduous forest in southeastern Brazil. *Biotropica* 28: 697-700.
- Passos L & Oliveira PS. 2003. Interactions between ants, fruits and seeds in a restinga forest in south-eastern Brazil. *J. Trop. Ecol.* 19: 261-270.
- Pellmyr O. 2002. Pollination by animals. En: *Plant-animal interactions. An evolutionary approach*. CM Herrera & O Pellmyr (Eds.), Blackwell Publishing, 157-184.
- Petal J. 1978. The role of ants in ecosystems. En: *Production Ecology of Ants and Termites* (International Biology Programme no. 13). MV Brian (Ed.), Cambridge University Press, New York, 293-325.
- Petal J. 1980. Ant populations, their regulation and effect on soil in meadows. *Ekol. Polska* 28: 297-326.
- Pfeiffer M, Huttenlocher H & Ayasse M. 2010. Myrmecochorous plants use chemical mimicry to cheat seed-dispersing ants. *Funct. Ecol.* 24: 545-555.

- Pirk GI & López de Casenave J. 2006. Diet and seed removal rates by the harvester ants *Pogonomyrmex rastratus* and *Pogonomyrmex pronotalis* in the central Monte desert, Argentina. *Insect. Soc.* 53: 119-125.
- Pirk GI, di Pasquo F & López de Casenave J. 2009a. Diet of two sympatric *Pheidole* spp. ants in the central Monte desert: implications for seed-granivore interactions. *Insect. Soc.* 56: 277-283.
- Pirk GI, López de Casenave J, Pol R, Marone L & Milesi F. 2009b. Influence of temporal fluctuations in seed abundance on the diet of harvester ants (*Pogonomyrmex* spp.) in the central Monte desert, Argentina. *Aust. Ecol.* 34: 908-919.
- Pizo M & Oliveira P. 1998. Interaction between ants and seeds on a non-mymecochorous neotropical tree, *Cabralea canjerana* (Meliaceae) in the Atlantic forest of Southeast Brazil. *Am. J. Bot.* 85: 669-674.
- Pizo M & Oliveira P. 1999. Removal of seeds from vertebrate faeces by ants: are seed preferences influenced by foraging strategies or historical constraints? *Flora* 198: 413-420.
- Pizo MA & Oliveira PS. 2001. Size and lipid content of non-mymecochorous diaspores: effects on the interaction with litter foraging in the Atlantic rain forest of Brazil. *Plant Ecol.* 157: 37-52.
- Pol RG & López de Casenave J. 2004. Activity patterns of harvester ants *Pogonomyrmex pronotalis* and *Pogonomyrmex rastratus* in the Central Monte Desert, Argentina. *J. Insect Behav.* 17: 647-661.
- Pol RG. 2008. *Granivoría por hormigas del género Pogonomyrmex en el Monte Central: respuestas funcionales a las variaciones en la disponibilidad de semillas*. Ph.D. tesis. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

- Porter SD & Jorgensen CD. 1981. Foragers of the harvester ant, *Pogonomyrmex owyheeii*: a disposable caste? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 9: 247-256.
- Pudlo RJ, Beattie AJ & Culver DC. 1980. Population consequences of changes in ant seed mutualism in *Sanguinaria canadensis*. *Oecologia* 46: 32-37.
- Pujol B, Gigot G, Laurent G, Pinheiro-Kluppel M, Elias M, Hossaert-McKey M & McKey D. 2002. Germination ecology of cassava (*Manihot esculenta* Crantz, Euphorbiaceae) in traditional agroecosystems: Seed and seedling biology of a vegetatively propagated domesticated plant. *Econ. Bot.* 56: 366-379.
- R Development Core Team. 2005. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ratera E & Ratera M. 2007. Euphorbiaceae. En: *Flora medicinal de la Provincia de Córdoba (Argentina)* Barboza G, Cantero J, Núñez C, Ariza Espinar L (eds.), Museo Botánico, Córdoba, 665-669.
- Regal PJ. 1977. Ecology and evolution of flowering plant dominance. *Science* 196: 622-629.
- Renard D, Schatz B & McKey DB. 2010. Ant nest architecture and seed burial depth: implications for seed fate and germination success in a myrmecochorous savanna shrub. *Ecoscience* 17: 194-202.
- Renucci M, Tirard A. & Provost E. 2010. Complex undertaking behaviour in *Temnothorax lichtensteini* ant colonies: from corpse-burying behaviour to necrophoric behaviour. *Insect. Soc.* 58: 9-16.
- Rice B & Westoby M. 1986. Evidence against the hypothesis that ant-dispersed seeds reach nutrient-enriched microsites. *Ecology* 67: 1270-1274
- Ricklefs RE & Renner SS .1994. Species richness within families of flowering plants. *Evolution* 48: 1619-1636.

- Rico-Gray V & Oliveira PS. 2007. *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Rissing SW. 1986. Indirect effects of granivory by harvester ants: plant species composition and reproductive increase near ant nests. *Oecologia* 68: 231-234.
- Rissing SW Pollock GB. 1984. Worker size variability and foraging efficiency in *Veromessor pergandei* (Hymenoptera: Formicidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 15: 121-126.
- Rockwood LL & Bloiss MC. 1986. Effects of elaiosome removal on germination of two ant-dispersed plants. *Am. J. Bot.* 73: 675.
- Rodgerson L. 1998. Mechanical defence in seeds adapted for ant dispersal. *Ecology* 79: 1669-1677.
- Rogers LE & Lavigne RJ. 1974. Environmental effects of western harvester ants on the shortgrass plains ecosystem. *Environ. Entomol.* 3: 994-97.
- Ruano F, Tinaut A & Soler JJ. 2000. High surface temperatures select for individual foraging in ants. *Behav. Ecol.* 11: 396-404.
- Ruhren S & Dudash MR. 1996. Consequences of the timing of seed release of *Erythronium americanum* (Liliaceae), a deciduous forest myrmecochore. *Am. J. Bot.* 83: 633-640.
- Sanders NJ & Gordon DM. 2000. The effects of interspecific interactions on resource use and behaviour in a desert ant. *Oecologia* 125: 436-443.
- Sanders NJ & Gordon DM. 2003. Resource-dependent interactions and the organization of desert ant communities. *Ecology* 84: 1024-1031.
- Savolainen R. & Vepsäläinen K. 1988. A competition hierarchy among boreal ants: impact on resource partitioning and community structure. *Oikos* 51: 135-155.

- Schafer RJ, Holmes S & Gordon DM. 2006. Forager activation and food availability in harvester ants. *Anim. Behav.* 71: 815-822.
- Sheridan SL, Iversen KA & Itagaki H. 1996. The role of chemical senses in seed carrying behaviour by ants: a behavioural, physiological and morphological study. *J. Insect Physiol.* 42: 149-159.
- Schlesinger WH, Reynolds JF, Cunningham GL, Huenneke LF, Jarrell WM, Virginia RA & Whitford WG. 1990. Biological feedbacks in global desertification. *Science*, 247:1043–1048.
- Schütz M, Kretz C, Dekoninck L, Irvani M & Risch AC. 2008. Impact of *Formica exsecta* Nyl. on seed bank and vegetation patterns in a subalpine grassland ecosystem. *J. Appl. Entomol.* 132: 295-305.
- Sernander R. 1906. Zur morphologie und Biologie der Diasporen. *Nova Acta Regiae Societas Scientia*, Uppsala 4.
- Servigne P. 2008. *Etude expérimentale et comparative de la myrmécochorie*. Thèse de doctorat, Université libre de Bruxelles.
- Servigne P & Detrain C. 2008. Ant-seed interactions: combined effects of ant and plant species on seed removal patterns. *Insect. Soc.* 55: 220-230.
- Servigne P & Detrain C. 2009. Seed desiccation limits removal by ants. *Arth.-Plant Inter.* 3: 225-232.
- Servigne P & Detrain C. 2010. Opening myrmecochory's black box: what happens inside the ant nests? *Ecol. Res.* 25: 663-672.
- Skidmore BA & Heithaus ER. 1998. Lipid cues for seed-carrying by ants in *Hepatica americanum*. *J. Chem. Ecol.* 14: 2185-2196.
- Slingsby P & Bond WJ. 1981. Ants- friends of the Fynbos. *Veld and Flora* 67: 39-45.
- Smallwood J. 1982a. Nest relocation in ants. *Insectes Soc.* 29: 138-147.

- Smallwood J. 1982b. The effect of shade and competition on emigration rate in the ant *Aphaenogaster rudis*. *Ecology* 63: 124-134.
- Smallwood J & Culver DC. 1979. Colony movements of some North American ants. *J. Anim. Ecol.* 48: 373-382.
- Smith BH, Rodenheim ML & Swartz KR. 1986. Reproductive ecology of *Jeffersonia diphylla* (Berberidaceae). *Am. J. Bot.* 73: 1416-1426.
- Smith BH, Forman PD & Boyd AE. 1989. Spatial patterns of seed dispersal and predation of two myrmecochorous forest herbs. *Ecology* 70: 1649-1656.
- Smith CR & Tschinkel WR. 2006. The sociometry and sociogenesis of reproduction in the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. *J. Insect Sci.* 6: 32-43.
- Stamp NE & Lucas JR. 1983. Ecological correlates of explosive seed dispersal. *Oecologia* 39: 272-278.
- Stamp NE & Lucas JR. 1990. Spatial patterns and dispersal distances of explosively dispersing plants in Florida sandhill vegetation. *J. Ecol.* 78: 589-600.
- Stebbins GL. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in Angiosperms, II: seeds and seedlings. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 2: 237-260.
- Stebbins GL. 1981. Why are there so many species of flowering plants? *Bioscience* 31: 573-577.
- Thompson JN. 1981. Elaiosomes and fleshy fruits: phenology and selection pressures for ant-dispersed seeds. *Am. Nat.* 117: 104-108.
- Thompson JN. 1982. *Interaction and Coevolution*. John Wiley & Sons, New York.
- Thompson JN. 1994. *The coevolutionary process*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Tiffney BH. 1984. Seed size, dispersal syndromes, and the rise of the angiosperms: evidence and hypothesis. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 71: 551-576.

- Tiffney BH. 2004. Vertebrate dispersal of seed plants through time. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 35: 1-29.
- Tobin JE. 1993. Ants as primary consumers: diet and abundance in the Formicidae. En: *Nourishment and evolution in insect societies*, Hunt JH & Nalepa CA (eds.), Westview Press, Boulder, 279-307.
- Torres-Contreras H, Olivares-Donoso R & Niemeyer HM. 2007. Solitary foraging in the ancestral South American ant, *Pogonomyrmex vermiculatus*. Is it due to constraints in the production or perception of trail pheromones? *J. Chem. Ecol.* 33: 435-440.
- Tschinkel WR. 1998. Sociometry and sociogenesis of colonies of the harvester ant, *Pogonomyrmex badius*: worker characteristics in relation to colony size and season. *Insect. Soc.* 45: 385-410.
- Tschinkel WR. 1999. Sociometry and sociogenesis of colonies of the harvester ant, *Pogonomyrmex badius*: distribution of workers, brood and seeds within the nest in relation to colony size and season. *Ecol. Entomol.* 24: 222-237.
- Tschinkel WR. 2004. The nest architecture of the Florida harvester ant, *Pogonomyrmex badius*. *J. Insect Sci.* 4: 21.
- Turnbull CL & Culver DC. 1983. The timing of seed dispersal in *Viola nuttallii*: attraction of dispersers and avoidance of predators. *Oecologia* 59: 360-365.
- Vaillant J & Derridj S. 1992. Statistical Analysis of insect preference in two-choice experiments. *J. Insect Behav.* 5: 773-781.
- Van der Pijl L. 1982. *Principles of dispersal in higher plants*, 3<sup>a</sup> edición, Springer Verlag, Berlin.
- Van Pelt A. 1976. Nest relocation in the ant *Pogonomyrmex barbatus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 69: 493.

- van Rheede van Oudtshoorn K & van Rooyen MW. 1999. *Dispersal biology in desert plants*. Springer Verlag, Berlin.
- Vander Wall SB & Longland WS. 2004. Diplochory: are two seed dispersers better than one? *Trends Ecol. Evol.* 19: 155-161.
- Vázquez DP, Melián CJ, Williams NM, Blüthgen N, Krasnov BR & Poulin R. 2007. Species abundance and asymmetric interaction strength in ecological networks. *Oikos* 116: 1120-1127.
- Vepsäläinen K and Savolainen R. 1990. The effect of interference by formicine ants on the foraging of *Myrmica*. *J Anim Ecol* 59: 643 -654.
- Verza SS, Forti LC, Lopes JFS & Hughes WHO. 2007. Nest architecture of the leaf-cutting ant *Acromyrmex rugosus rugosus*. *Insect. Soc.* 54: 303-309.
- Viegi L, Vangelisti R & Pacini E. 2003. The achene pappi and elaiosomes of *Centaurea* L.: dispersal and germination in some Italian species. *Isr. J. Pl. Sci.* 51: 45-54.
- Wagner D, Brown MJF & Gordon DM. 1997. Harvester ant nests, soil biota, and soil chemistry. *Oecologia* 112: 232–236.
- Webster GL. 1994. Synopsis of the genera and suprageneric taxa of Euphorbiaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 81: 33-144.
- Wenny DG. 2001. Advantages of seed dispersal: a re-evaluation of directed dispersal. *Evol. Ecol. Res.* 3: 51-74.
- Werker E & Fahn A. 1975. Seed anatomy of *Pancratium* species from three different habitats. *Bot. Gaz.* 136: 396-403.
- Westoby M & Rice B. 1981. A note on combining two methods of dispersal for distance. *Austr. J. Ecol.* 6: 189-192.

- Westoby M, French K, Hughes L, Rice B & Rodgerson L. 1991. Why do more plant species use ants for dispersal on infertile compared with fertile soils. *Austr. J. Ecol.* 16: 445-455.
- Wheelwright NT & Orians GH. 1982. Seed dispersal by animals: contrasts with pollen dispersal, problems with terminology and constraints on coevolution. *Am. Nat.* 119: 402-405.
- Whitford WG & Etterschank G. 1975. Factors affecting foraging activity in Chihuahuan desert harvester ants. *Environ. Entomol.* 4: 689-696.
- Whitford WG. 1978. Foraging in seed harvester ants *Pogonomyrmex* spp. *Ecology* 59: 185-189.
- Whitney KD. 2002. Dispersal for distance? *Acacia ligulata* seeds and meat ants *Iridomyrmex viridiaeneus*. *Austr. Ecol.* 27: 589-595.
- Wilson E.O. 1971. *The Insect Societies*. Belknap Press, Cambridge, Massachusetts.
- Wilson EO. 1975. *Sociobiology: the new synthesis*. Belknap Press, Cambridge, USA.
- Wilson EO, Durlach NI & Roth LM. 1958. Chemical releasers of necrophoric behaviour in ants. *Psyche* 65: 108-114.
- Willson MF. 1993. Dispersal mode, seed shadow and colonization patterns. *Vegetatio* 107/108: 261-280.
- Willson MF & Traveset A. 2000. The ecology of seed dispersal. En: *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*. 2º Edición. Fenner M (ed.), CAB International, Wallingford, UK, 85-110.
- Witt ABR & Giliomee JH. 2005. Dispersal of elaiosome-bearing seeds of six plant species by native species of ants and the introduced invasive ant, *Linepithema humile* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae) in the Western Cape Province, South Africa. *Afr. Plant Prot.* 11.

Youngsteadt E, Nojima S, Häberlein C, Schulz S & Schal C. 2008. Seed odor mediates an obligate ant-plant mutualism in Amazonian rainforests. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 105: 4571-4575.

Zachos J, Pagani M, Sloan L, Thomas E & Billups K. 2001. Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science* 292: 686-693.

Zamora R. 2000. Functional equivalence in plant-animal interactions: ecological and evolutionary consequences. *Oikos* 88: 442-447.

Zelikova TJ & Breed MD. 2008. Effects of habitat disturbance on ant community composition and seed dispersal by ants in a tropical dry forest in Costa Rica. *J. Trop. Ecol.* 24: 309-316.

Zelikova TJ, Dunn RR & Sanders NJ. 2008. Variation in seed dispersal along an elevational gradient in Great Smoky Mountains National Park. *Acta Oecol.* 34: 155-162.



## ANEXO

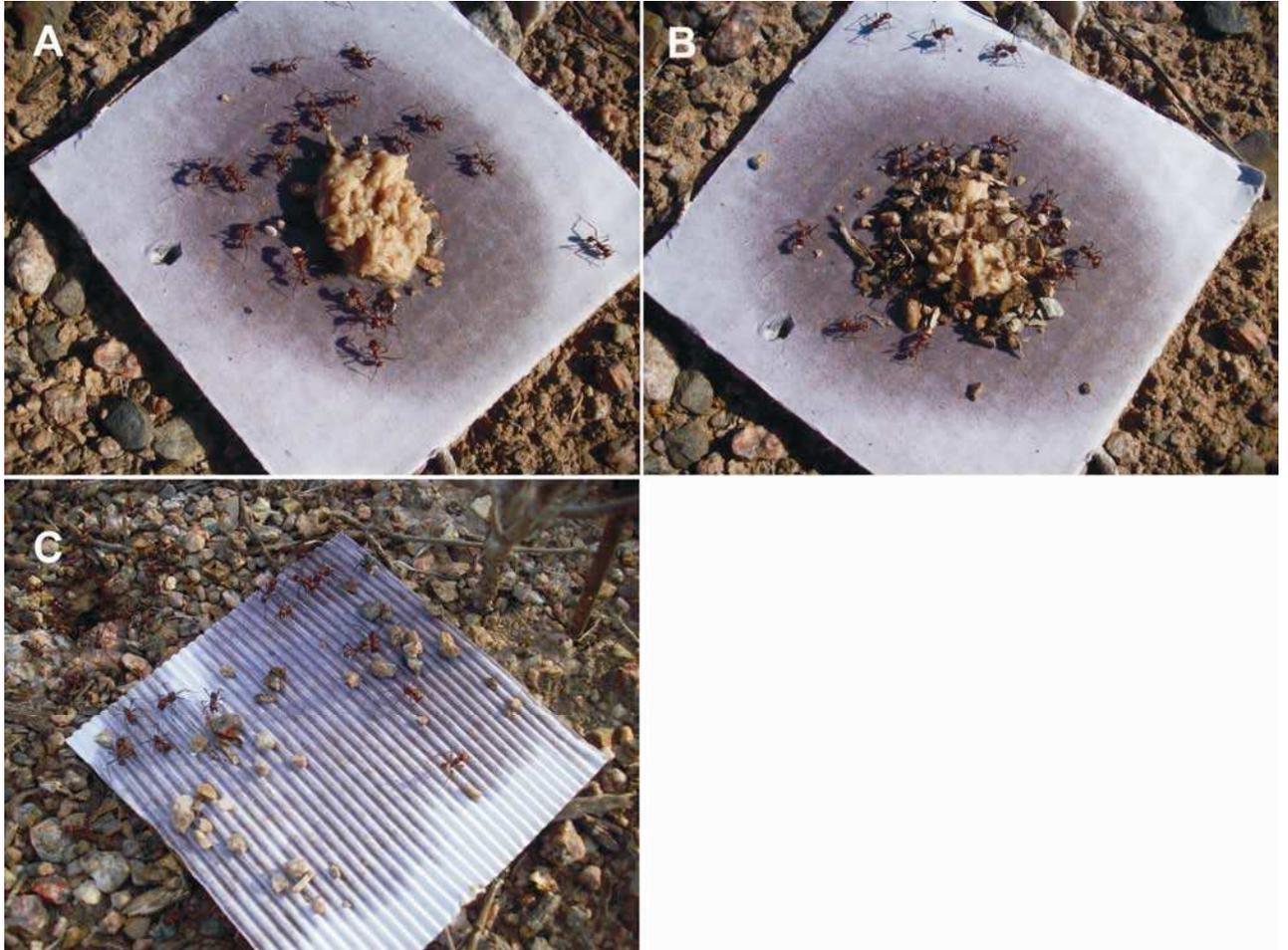
### *Listado de las especies de hormigas recolectadas en trampas de caída*

Las especies fueron recolectadas mediante trampas de caída tras 72 h de exposición en seis sitios de muestreo. La X indica la presencia de la especie en cada sitio.

	PH	PHE	CAR	SP	SPP	ANJ
Subflia. Myrmicinae						
<i>Acromyrmex striatus</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Acromyrmex lobicornis</i>						X
<i>Crematogaster quadriformis</i>			X			X
<i>Pheidole bergi</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Pheidole spininodis</i>	X	X		X	X	X
<i>Pheidole</i> sp.1	X					
<i>Pogonomyrmex brevibarbis</i>	X	X		X	X	
<i>Pogonomyrmex cunicularius</i>	X	X	X		X	X
<i>Pogonomyrmex laticeps</i>						X
<i>Solenopsis</i> sp1	X			X		X
<i>Solenopsis</i> sp2		X	X			
Subflia. Formicinae						
<i>Camponotus blandus</i>		X	X			
<i>Camponotus mus</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Camponotus punctulatus</i>			X			X
<i>Camponotus substitutus</i>		X	X	X	X	
Subflia. Dolichoderinae						

	PH	PHE	CAR	SP	SPP	ANJ
<i>Dorymyrmex ensifer</i>	X			X		
<i>Dorymyrmex exsanguis</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Dorymyrmex flavescens</i>	X		X	X		
<i>Dorymyrmex planidens</i>	X		X	X		X
<i>Dorymyrmex silvestrii</i>	X					
<i>Dorymyrmex</i> sp1	X					
<i>Dorymyrmex</i> sp2	X		X	X		X
<i>Dorymyrmex</i> sp3	X					
<i>Dorymyrmex</i> sp4						X
<i>Dorymyrmex</i> sp5						X
<i>Dorymyrmex</i> sp6						X
<i>Forelius chalybaeus</i>	X	X	X	X	X	X
<i>Forelius nigriventris</i>		X	X			
<i>Forelius</i> sp1	X	X	X		X	X
Subflia. Pseudomyrmecinae						
<i>Pseudomyrmex denticollis</i>			X			X

## *Uso de herramientas para el transporte de alimento en P. cunicularius pencosensis*



En el transcurso de los ensayos a campo en los que fueron ofrecidos cebos con atún, se observó que algunas obreras *Pogonomyrmex cunicularius* utilizaron herramientas para transportar la parte semilíquida del alimento. En base a estas observaciones, se realizó un ensayo en el que se colocó atún en aceite sobre un cuadrado de cartón a una distancia de 10 m de un hormiguero de *P. cunicularius*. Luego de aprox. 10 min desde que la primera obrera descubrió el cebo, se observó reclutamiento de individuos del mismo nido hacia la fuente de alimento. Las obreras siguieron una misma ruta para ir y volver desde el nido a la fuente de atún. Algunas de las obreras (entre 4 y 5) seleccionaron

pequeñas piedras y palos situados alrededor del cebo, y los colocaron sobre el atún (Fig. A), mientras que otras simplemente los reacomodaron. Transcurridos entre 30 y 60 min, el atún se encontraba completamente cubierto con estos materiales (Fig. B). Las hormigas procedieron entonces a transportar estos materiales impregnados con aceite a su nido. Transcurridas aproximadamente 2 h, la mayor parte del atún y del material que lo recubría había sido removido (Fig. C) Este comportamiento fue observado un total de seis ocasiones y en tres colonias. El mismo comportamiento de transporte mediante herramientas fue observado en obreras individuales (sin reclutamiento de otras), cuando el cebo estuvo monopolizado por especies dominantes. En estos casos, la obrera se acercó, depositó la piedra o palito sobre el atún, y se retiró rápidamente. Transcurridos unos minutos regresó a recuperar su material ya empapado con el alimento y lo transportó a su hormiguero.

El uso de herramientas para el transporte de alimento observado en *P. cunicularius* ha sido también descrito para *P. badius* (Morrill 1972), *Aphaenogaster* spp. (Fellers & Fellers 1976; Banschbach *et al.* 2006), y *Solenopsis invicta* (Barber *et al.* 1989).

Asimismo, los cebos con atún provocaron el reclutamiento de otras obreras del mismo hormiguero, llegando a contarse hasta 20 obreras de esta especie sobre una misma estación. Lo observado muestra que, al menos cuando existe una fuente rica de alimento, esta especie tiene la capacidad de provocar el reclutamiento de otras obreras del mismo nido. Dentro del género *Pogonomyrmex*, se han descrito especies que forrajea tanto en forma solitaria como en forma grupal (Hölldobler 1976, MacMahon *et al.* 2000). Sin embargo, también se ha observado que especies con estrategia de forrajeo individual son capaces de cambiar a una estrategia grupal ante fuentes de comida abundantes o especialmente ricas (Johnson 2001b, Pol 2008). Por ejemplo,

*Pogonomyrmex vermiculatus*, una especie de Chile que forrajea individualmente, tiene la capacidad de producir y detectar feromonas de ruta, y su uso dependería de causas ecológicas y/o fisiológicas (Torres-Contreras *et al.* 2007). Asimismo, *Pogonomyrmex cunicularius* exhibió comúnmente una estrategia de forrajeo individual en el área de estudio. El reclutamiento observado ante los cebos de atún indicaría que esta especie es capaz de producir feromonas de ruta y/o incentivar a sus compañeras hacia la fuente de comida al volver al nido cargada con un alimento altamente energético (Schafer *et al.* 2006). La capacidad de *P. cunicularius* de reclutar a otras obreras mediante feromonas de ruta resultaría interesante de ser estudiada con mayor detalle.

## ***Contenido de aceite y perfil de ácidos grasos de los eleosomas de J. excisa.***

Parte de estos resultados fueron publicados en la revista *Seed Science Research* 2011, 21, 63-68, “Oil seed content and lipid profile of five Euphorbiaceae species native to arid zones of Argentina with potential as biodiesel source.” Fracchia S, Aranda-Rickert A, Morzán L.

En la Tabla se presenta el contenido de aceites (expresado como porcentaje sobre el peso seco de la muestra) y el perfil de ácidos grasos (expresado como porcentaje sobre los lípidos totales) de las semillas y eleosomas de *J. excisa*. Los datos muestran la media ( $\pm$  DE) de análisis realizados a partir de tres submuestras diferentes. A modo de comparación se incluyen datos correspondientes a eleosomas y arilos de otras especies.

	Aceite total	Palmítico (16:0)	Estearico (18:0)	Oleico (18:1)	Linoleico (18:2)
Eleosoma de <i>J. excisa</i> (media $\pm$ DE)	32.35 $\pm$ 1.56	23.61 $\pm$ 0.04	18.94 $\pm$ 1.02	37.71 $\pm$ 0.06	13.74 $\pm$ 0.07
Semilla de <i>J. excisa</i> (media $\pm$ DE)	38.72 $\pm$ 2.97	8.20 $\pm$ 0.44	5.68 $\pm$ 0.14	18.36 $\pm$ 0.66	66.49 $\pm$ 0.69
Eleosoma de <i>Ricinus communis</i> (Euphorbiaceae)*	-	25.05	11.87	35.96	19.86
Arilo de <i>Cabralea canjerana</i> (Meliaceae)*	-	24.27	2.01	43.3	0.14
Eleosomas de 15 especies europeas (media $\pm$ EE)**	20.35 $\pm$ 22.4	20 $\pm$ 2.7	2.5 $\pm$ 0.6	41.5 $\pm$ 4.4	23.3 $\pm$ 2.7

\* Datos de Pizo & Oliveira (2001)

\*\*Datos de Fischer *et al.* (2008)

### ***Metodología utilizada***

Los eleosomas de *J. excisa* fueron separados de las semillas mediante un escalpelo, secados en estufa a 55°C por 24 h, y molidos con mortero. 10 g de eleosomas fueron

pesados en una balanza electrónica con una precisión de hasta 0.1 mg y usados para los análisis.

El contenido lipídico y la composición de ácidos grasos de los eleosomas se analizaron siguiendo el método descrito por Bligh & Dyer (1959). La fracción lipídica fue extraída dos veces con *n*-hexano por 6 h. El hexano fue removido en un rotavapor, y el aceite obtenido fue pesado en una balanza electrónica, obteniéndose el contenido de aceite total expresado como porcentaje de aceite (m/m) en 100 g de eleosomas.

Los metil-ésteres de los ácidos grasos se obtuvieron por reacción de la fracción lipídica con metanol e hidróxido de potasio, y analizados mediante cromatografía gaseosa (GC) usando un cromatógrafo gaseoso Hewlett-Packard 5890 equipado con un CP-Wax 52 CB (Chrompack, Holland) y una columna capilar de sílica (25 m long.; 0.32 mm i.d.; 0.22  $\mu$ m grosor). Los ácidos grasos se identificaron comparando su tiempo de retención con un patrón estándar (AOACS RM-1, Sigma Aldrich, St. Louis, MO). Los ácidos grasos se expresan como el porcentaje relativo de cada tipo de ácido graso sobre el total de ácidos grasos presentes en la muestra.

Los ácidos grasos del eleosoma estuvieron conformados principalmente por cadenas insaturadas y poli-insaturadas de 16 a 18 C, siendo el ácido oleico la fracción más abundante. En cambio, en la semilla el ácido graso preponderante fue el linoleico. El perfil de ácidos grasos de los eleosomas de *J. excisa* es similar al descrito para los eleosomas de otras especies de plantas mirmecócoras (Kusmenoglu *et al.* 1989, Hughes *et al.* 1994b, Fischer *et al.* 2008), así como al del arilo de especies no mirmecócoras también atractivas a las hormigas (Pizo & Oliveira 2001).