
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



BIOENSAYO DE SUBSTANCIAS IDENTIFICADAS EN
LA ORMIGA *Atta mexicana*, REPORTADAS
COMO FEROMONAS DE ALARMA EN
OTROS GÉNEROS DE HORMIGAS.

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA
P R E S E N T A
DALMIRO GARCÍA NAVA
LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO. JULIO DE 1998

**BIOENSAYO DE SUBSTANCIAS IDENTIFICADAS
EN LA HORMIGA *Atta mexicana*, REPORTADAS
COMO FEROMONAS DE ALARMA EN OTROS
GENEROS DE HORMIGAS.**

PRESENTA
Dalmiro García Nava

DIRECTOR DE TESIS
DR. FERNANDO A. LOPEZ-DELLAMARY TORAL

ASESOR
DR. HUMBERTO GUTÉRRERZ PULIDO.

ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
• Aspectos teóricos sobre comunicación química.	4
• Compuestos mediadores de la comunicación química.	4
• Hormigas con actividad defoliadora.	7
• Actividad forrajera y cultivo de hongos.	8
• Relación hormiga-hongo.	10
• Características biológicas del género <i>atta</i> .	11
Antecedentes	13
• Feromonas identificadas en algunas hormigas.	14
• Identificación de feromonas en <i>Atta mexicana</i> .	17
Justificación	20
Objetivos	22
Materiales y métodos	25
Resultados	

a) Resultados descriptivos	33
b) Análisis estadístico	41
Discusión	77
Conclusiones	84
Anexos	87
Bibliografía	95

Porque no sólo en los pequeños se observan actitudes motivadas
por imitación.

Imitación de aquellos que le vieron nacer...

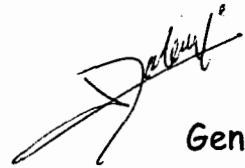
Imitar a los que anteceden el recorrido de un sendero que enseña a caminar...

aquellos que han partido antes de permitirsenos la luz de la conciencia...

por los frecuentes tropezones superados por los infantes...

por los que van adelante marcando el camino con su feromona de espíritu...

heme aquí.

A stylized, handwritten signature in black ink, appearing to read 'Gene 98'.

Gene 98.

RESUMEN

La hormiga de la especie *Atta mexicana* mejor conocida como hormiga arriera, es considerada como un factor de daño para algunos tipos de cultivos y zonas de reforestación, particularmente en el estado de Jalisco.

En un trabajo de investigación previo a la presente tesis se identificaron en extractos clorofórmicos de cabeza de la especie *Atta mexicana*, los compuestos 4-metil-3-heptanona y 3-decanona, (Valdéz V., De la Torre A., 1997).

Estos compuestos están reportados en la literatura como feromonas de alarma en diversas especies de hormigas, en su mayor parte no pertenecientes al género *Atta*.

Este trabajo describe el comportamiento observado en hormigas de la especie *Atta mexicana*, al ser expuestas a estos compuestos durante la actividad forrajera. También se hicieron bioensayos con las formas químicamente reducidas de los compuestos identificados y con otras tres sustancias del tipo de las pirazinas. Algunos compuestos de éste último grupo han sido descritos como atenuadores de la feromona de rastro principal en una hormiga del género *Acromyrmex*.

Para la evaluación de la actividad química ejercida por estos compuestos sobre las hormigas se consideró como variable de respuesta el promedio en la duración del efecto de perturbación observado. Prácticamente todos los compuestos probados generaron cierta actitud de repelencia en las hormigas, aunque tanto los tiempos de duración del efecto como la intensidad de la perturbación manifestada fueron muy variables entre los compuestos y sus concentraciones probadas.

INTRODUCCIÓN

• Aspectos teóricos sobre comunicación química

La característica más importante de los sistemas quimiorreceptores en los insectos es su capacidad para percibir sustancias volátiles con actividad biológica propia de su especie, y que pueden estar presentes en la atmósfera aún en concentraciones ínfimas. Esto insinúa desde un punto de vista evolutivo, que los insectos han desarrollado un sistema quimiorreceptor con un umbral de percepción muy bajo, tal que les confiere una sensibilidad receptora más refinada hacia éste tipo de compuestos (Kaissling, 1971. Citado en Krebs J.R., 1990).

A ésta capacidad de tipo cuantitativo de su sistema quimiorreceptor, se auna otra capacidad de tipo cualitativo, que consiste en poder diferenciar entre dos sustancias químicamente muy similares.

Compuestos mediadores de la comunicación química.

Semioquímicos

Término aplicado a todo compuesto químico volátil que cumple la función de transmitir información entre organismos ya sea de la misma o de diferente especie. Los semioquímicos pueden subdividirse en dos tipos dependiendo de si la emisión de señales se lleva a cabo entre individuos de la misma o diferente especie.

a).- Semioquímicos de comunicación interespecie. Denominados como aleloquímicos. Participan en la comunicación entre individuos de diferente especie. A su vez los aleloquímicos se subdividen en:

i).- Kairomonas. Aleloquímicos volátiles característicos de ciertas especies que delatan su presencia, ante otros organismos con la capacidad de percibir estas sustancias.

ii).- Alomonas. Aleloquímicos empleados por el emisor para atraer organismos de otra especie, a manera de señuelos odoríferos (Jutsum y Gordon, 1989).

b).- Semiquímicos de comunicación intraespecie. En el caso de comunicación entre individuos de la misma especie los semioquímicos se denominan feromonas.

Las feromonas se definen como sustancias volátiles que al ser percibidas por individuos receptores de la misma especie que el emisor, provocan en estos alguna actitud específica o desencadenan procesos fisiológicos en las fases de desarrollo, (Karlson y Luscher, 1959 en Jutsum y Gordon, 1989). Anteriormente se conocían con el nombre de ectohormonas. A diferencia de las hormonas, las cuales son secretadas dentro del organismo para regular ciertos procesos fisiológicos, las feromonas de los insectos se liberan externamente ayudando a regular el medio ambiente circundante al influir sobre los individuos receptores (Wilson, 1963).

Uno de los aspectos más intrigantes de las feromonas es su origen biosintético. Se cree que muchas de éstas sustancias son sintetizadas *de novo* en el organismo del insecto mientras que otras podrían ser compuestos obtenidos a partir de plantas para ser utilizados ya sea de manera directa o después ciertas modificaciones bioquímicas por parte del insecto, (J.B. Harborne, 1991).

Para cada especie de insecto, la estructura química de su feromona es generalmente muy específica de tal forma que pequeños cambios en la molécula normalmente eliminan o disminuyen su eficacia.

Los investigadores en comunicación química de hormigas y otros insectos sociales han reconocido doce categorías funcionales de respuesta generadas por las feromonas:

1. Reacción de alarma.
2. Simple atracción.
3. Reclutamiento alrededor de una nueva fuente de alimento.
4. Limpieza de cuerpos, incluyendo asistencia a los cuerpos en metamorfosis

5. Trofilaxis (intercambio de líquidos orales y anales).
6. Intercambio de partículas de comida.
7. Efecto de grupo: facilitar o inhibir una actividad determinada.
8. Reconocimiento de compañeros y miembros de castas particulares.
9. Determinación de la casta, por inhibición o estímulo de algún factor en el proceso de desarrollo.
10. Control en la competencia reproductiva.
11. Delimitación de territorio y nidos.
12. Comunicación en la reproducción: reconocimiento de la especie y localización del sexo opuesto así como sincronización en la actividad sexual.

A través de los distintos géneros y especies de hormigas se ha observado que una misma sustancia puede ser producida por diferentes glándulas. Estas glándulas exocrinas exhiben una variedad de funciones entre los diferentes grupos filogenéticos de hormigas. Sin embargo el patrón repetitivo que se ha observado en la forma de comunicación química de las hormigas, puede ser mejor entendido si se centra la atención en las seis principales glándulas productoras de feromonas entre las hormigas :

- 1.- Glándula de Dufour.
- 2.- Glándula de veneno.
- 3.- Glándula pigidial.
- 4.- Glándula esternal.
- 5.- Glándula mandibular.
- 6.- Glándula metapleuraleal.

- **Hormigas con actividad defoliadora.**

El grupo de las hormigas se clasifica dentro de la familia *Formicidae* (Orden *Hymenoptera*), la cual está constituida por 11 subfamilias que agrupan 297 géneros y aproximadamente 8,800 especies vivientes conocidas (Hölldobler y Wilson, 1990). Dentro de la subfamilia *Myrmicinae* se encuentra la tribu *Attini* con 12 géneros y 190 especies, cuyos miembros tienen el hábito de emplear como material alimenticio hongos que cultivan dentro de sus nidos. Para esto utilizan diferentes substratos tales como cadáveres de artrópodos, heces fecales de insectos o material vegetal que recolectan.

Las *Attini* son exclusivas del continente americano, y aunque la mayoría de las especies se concentran en los trópicos, también habitan en zonas de clima templado, desértico y subtropical, desde el sur de los Estados Unidos, hasta la parte central de Argentina, (Pescador, 1969).

Dentro del grupo de las hormigas, las especies pertenecientes a los géneros *Atta* y *Acromyrmex* son las únicas que llevan a cabo una actividad defoliadora, en los alrededores de sus nidos.

El género *Acromyrmex* consta de 24 especies las cuales se encuentran distribuidas en países como Argentina, Brasil, Paraguay, Uruguay, Guatemala y Cuba (Hölldobler and Wilson, 1990).

El género *Atta* está constituido por 15 especies de las cuales se tiene registrada en México, la presencia de tres de ellas (Hölldobler y Wilson, 1990):

1. ***Atta texana***. En Coahuila y Tamaulipas. Posiblemente su distribución llegue hasta Veracruz y Tabasco.
2. ***Atta cephalotes* L.** En los estados del sureste. Su distribución se restringe a las zonas tropicales húmedas del país.

3. *Atta mexicana*. En Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, México, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz, Zacatecas y el Distrito Federal.

En centroamérica se encuentra en Honduras, Guatemala y el Salvador (Pescador, 1980; Rojas, 1986). En los Estados Unidos se le conoce unicamente en el estado de Arizona (Mintzer, 1979).

Clasificación taxonómica de la especie *Atta mexicana*.

REINO	ANIMAL
ORDEN	Hymenoptera
FAMILIA	Formicidae
SUBFAMILIA	Myrmicinae
TRIBU	Attini
GENERO	<i>Atta</i>
ESPECIE	<i>mexicana</i>

A la especie *Atta mexicana* se le conoce con diferentes nombres tales como "sontetas", "cuatalatas", "chancharras", "chochonas", "mochomas", ó más comunmente " hormigas arrieras" (Pescador, 1980).

Actividad forrajera y cultivo de hongos.

Algunos autores consideran a las hormigas del género *Atta* como una de las especies silvestres que mayor cantidad de material vegetal consumen por unidad de área (Cherret, 1968; Rockwood, 1976; Blanton y Ewel, 1985; Howard, 1987).

En una investigación llevada a cabo en el Bosque Escuela de la Universidad de Guadalajara (ubicado en el bosque "La primavera"), se reportó que entre los meses de Noviembre de 1986 y Febrero de 1987 la especie *Atta mexicana* redujó

a casi la mitad una plantación de media hectárea del pino *Pinus oocarpa* (Abud, 1987).

La actividad forrajera se puede registrar de día o de noche, con un período de 10 a 12 horas continuas, pudiendo ser interrumpida sólo por lluvias o fríos muy intensos. Una sola colonia es capaz de introducir al nido en una noche 500 g de hojas de peso seco, (Wilson, 1971; Pescador, 1980).

Utilizan como substrato para el cultivo del hongo exclusivamente material vegetal fresco como pueden ser hojas, flores y frutos. Éste hongo lo destinan como única fuente de alimento para las crías y la reina.

Se sostiene la hipótesis de que las obreras adultas adquieren más del 90% de sus requerimientos nutricionales a partir de la savia de las hojas en el momento de ser cortadas o machacadas, así como también, a partir de huevos tróficos que ellas mismas ponen (Hölldobler y Wilson, 1990).

En México se ha identificado la especie *Phialocladus zsoitii* como el hongo que cultivan las colonias de *Atta cephalotes* y *Atta mexicana*, en el estado de Veracruz (Romero *et al.* en 1987).

Sin embargo también señalaron que probablemente se trate de la fase imperfecta del hongo *Leucocoprinus gongylophorus*, (Clase Basidiomycete, Familia Agaricaceae). Aunque existe cierta discrepancia, se acepta que éste último hongo es el que cultivan todas las hormigas *Attini* (Hölldobler y Wilson, 1994).

Los caminos construidos por las hormigas del género *Atta* alcanzan longitudes hasta de 100 m o más, con un ancho aproximado de 10-30 cm. En una colonia adulta de *Atta* podemos encontrar alrededor de 6 ó 7 caminos divergentes que pueden bifurcarse en una o varias direcciones. Cada uno de éstos conduce a una entrada de alrededor de 10 cm de diámetro.

La actividad forrajera está organizada en un sistema de castas. Las hormigas pertenecientes a las castas mayores se encargan de cosechar el material necesario para preparar el substrato en el que los individuos de castas menores sembrarán el hongo.

Según algunos estudios, la elección del material vegetal a forrajear lo llevan a cabo en base a ciertas características físicas y químicas presentes en las hojas de la planta, (Harborne J.R., 1991). Se ha observado entre las diferentes especies de plantas sujetas al forrajeo, que de éstas las obreras prefieren las hojas jóvenes, así como las flores y frutos, pues contienen en la mayoría de casos concentraciones muy bajas o nulas de alcaloides, taninos o glucósidos cianogénicos que pudiesen ser compuestos tóxicos para las hormigas. Además la consistencia y estructura de estas hacen que sean muy suaves y por lo tanto fáciles de cortar . Por otra parte la cantidad de humedad que contienen es mayor que en las hojas maduras o ya senescentes. La humedad es un aspecto muy importante para el desarrollo de los hongos en general (Wilson, 1971 y Pescador, 1980).

• **Relación hormiga hongo**

Dentro de ésta remarcada asociación simbiótica entre la hormiga y el hongo, la hormiga segrega ciertos compuestos químicos reguladores para controlar el crecimiento de microorganismos indeseables así como algunas otras que fomentan el crecimiento del hongo (J.B. Harborne, 1991.).

Entre estos compuestos aportados por la hormiga en su relación con el hongo se han identificado los siguientes:

1. **Ácido indolacético:** éste compuesto es una auxina de las plantas superiores que fomenta el crecimiento apical. Es segregada por la hormiga sobre el hongo para fomentar su crecimiento.
2. **Mirmicacina :** evita el crecimiento de esporas de hongos extraños.

3. Ácido fenilacético : mantiene a la población libre de bacterias.

Estos tres compuestos son sintetizados en las glándulas metatorácicas y son esparcidos continuamente sobre el hongo así como distribuidos sobre el nido entero (J.R.Harborne, 1991).

Características biológicas del género *atta*.

Proceso de fundación de una colonia.

El apareamiento se lleva a cabo en el aire durante la época de lluvias. Después de ser inseminada cada hembra pierde sus alas y cava un túnel de 20-30 cm de profundidad donde construye una cámara de aproximadamente 6 cm de largo y un poco menos de altura. Dentro de ésta cámara la hembra deposita un pedazo de micelio que previamente guardó dentro de su cavidad intrabucal antes de salir del nido materno (Pescador, 1980). Cada cierto tiempo toma con sus mandíbulas un fragmento de la masa fungal y dirigiendo su abdomen hacia adelante deposita sobre él gotas de líquido fecal. Después de esto regresa el fragmento tomado (comunicación personal, Mintzer, 1990).

Hacia el final del primer mes tanto larvas, como huevos y probablemente pupas se encuentran en el centro de la masa micelial.

Hasta que nacen las primeras obreras ninguna se alimenta del hongo. La reina cataboliza su propia grasa corporal y consume los músculos de sus, (Hölldobler y Wilson, 1990).

En estudios de laboratorio se ha observado en *Atta mexicana*, que las primeras obreras nacieron 52 o 53 días después de que las reinas comenzaron a cultivar el hongo. Una semana después de nacer las obreras comienzan a forrajear en la vecindad del nido. En lo que respecta al género *Atta* se sabe que

una sola reina es la que se hace cargo de la fundación de la colonia (comunicación personal, Mintzer, 1990)

En el cuadro I se resumen los aspectos y fases más relevantes en el proceso de fundación de una colonia en el género *Atta*.

Cuadro I

Fases críticas en el proceso del establecimiento y desarrollo de una colonia de *Atta mexicana*, (Pescador, 1980).

FASES CRITICAS DE UNA COLONIA ATTA	TIEMPO EMPLEADO EN CADA FASE
1. Descenso después del vuelo nupcial.	Hasta 1 Hora
2. Construcción del nido inicial (Excavación del túnel y de la primera cámara).	6 - 8 Horas
3. Cultivo del hongo y mantenimiento de la primera camada	80 - 100 días
4. Intervalo aproximado entre la apertura de la primera entrada y la formación de la segunda.	15 meses

El crecimiento de la colonia es muy lento durante el primer año. Durante el segundo y tercer años se acelera gradualmente y entonces la colonia comienza a producir los primeros individuos alados con capacidad de reproducción.

ANTECEDENTES

- **Feromonas identificadas en algunas hormigas**

Feromonas de rastro.

La hormiga *Atta texana* produce como feromona de rastro el compuesto 4-metil, 2-carboxilato pirrol que se considera la feromona de rastro de mayor actividad. Se ha detectado a una concentración de 0.08 pg / cm de sendero. En base a estos estudios en cuánto a la efectividad de éste compuesto como transmisor de información se ha calculado que una cantidad de 0.33 mg bastarían para trazar un rastro completamente detectable por éstas hormigas alrededor de el mundo, (Tumlinson et al.1971).

Este mismo compuesto ha sido reportado como feromona de rastro en *Atta cephalotes* y *Acromyrmex octospinosus* , así como también en *Atta laevigata* y *Atta robusta* (Oliveira 1975 y Oliveira et al.1990).

En otra serie de estudios con la especie *Acromyrmex subterraneus subterraneus* se ha identificado también al compuesto 4-metil-pirrol-2-carboxilato como la feromona de rastro principal. En ésta misma especie además del compuesto anterior se identificó la 3-etil 2,5-dimetilpirazina (Do nascimento, Morgan, 1994).

Éste último compuesto ya había sido reportado como feromona de rastro en *Atta sexdens sexdens* (Everhead y Morgan, 1983). Esto generó entre los autores la incertidumbre de si éste o algún otro compuesto del grupo de las pirazinas pudiesen tener cierta actividad como feromonas de rastro.

En la especie del género *Acromyrmex* estudiaron el efecto de las siguientes pirazinas en mezcla con la feromona de rastro principal:

- a).-2,5-dimetilpirazina.
- b).-2,3,5-trimetilpirazina

Reportaron que la respuesta observada al mezclar por separado cada una de éstas pirazinas con la feromona principal, disminuía la eficacia de la feromona de rastro principal.

Sin embargo en éste trabajo no se hicieron pruebas con las pirazinas aplicadas de manera individual.

La 2-etil-2,5-dimetilpirazina ha sido aislada también a partir de glándula de veneno en 8 especies de hormigas del género *Myrmica* (citado en H.J. Harborne, 1991). Otra pirazina, la 2,5-dimetilpirazina, se ha reportado como feromona de rastro en la hormiga de la especie *Tetramorium caespitum* (Attygalle y Morgan, 1983), (anexo No.1).

Feromonas de alarma.

Estimulan el comportamiento de defensa o de escape, ante situaciones de peligro o amenaza para la colonia. Son compuestos muy volátiles con corta duración en su actividad (Jutsum y Gordon, 1983). Las feromonas de alarma parecen ser las menos específicas de las feromonas entre los insectos. Diferentes especies del mismo o diferente género pueden emplear la misma señal química de alarma.

Sin embargo las hormigas tienen un alto grado de especificidad perceptiva, y son capaces de diferenciar entre sus propias feromonas de alarma y compuestos químicos estrechamente relacionados. La hormiga *Pogonomyrmex barbatus*, es 10,000 veces menos sensible al 2-metil-3-heptanona, que a su feromona natural 4-metil-3-heptanona, reportada en la literatura como feromona de alarma.

Éste compuesto se ha identificado en las glándulas mandibulares de las hormigas de la casta obrera de las especies *Atta texana* y *Atta cephalotes* (Riley et. al., 1974). En éste trabajo de Riley, para la extracción destilaron con pentano muestras de cabezas en cada especie. concentrar los extractos.

Los compuestos identificados en cada especie fueron los siguientes:

ESPECIE	COMPUESTO
<i>Atta texana</i>	4 - metil - 3 - heptanona
	4 - metil - 3 - heptanol
	2 - heptanona
	3 - octanol
	4 - metil - 3 - heptanona
<i>Atta cephalotes</i>	4 - metil - 3 - heptanol
	3 - octanol

Al probar estos compuestos en las especies *Atta texana* y *Atta cephalotes* Riley reportó que el compuesto 4-metil-3-heptanona tiene más actividad como feromona de alarma que los otros compuestos presentes en estos extractos.

Este mismo compuesto ha sido identificado como feromona de alarma en *Atta texana* (Moser et al., 1968); *Manica bradleyi*, *M. mutica* (Fales et al., 1972) y la hormiga *Pogonomyrmex barbatus* (*Myrmicinae*). También ha sido encontrado éste compuesto en las secreciones de las glándulas mandibulares de algunas especies del género *Atta* tales como *Atta sexdens*, *A. laevigata*, *A. robusta*, *A. capiguara*, *A. bisphaerica*, *A. cephalotes* y *A. texana* (Blum et al., 1968; Riley et al., 1974).

Se ha reportado que generalmente las sustancias volátiles emitidas por las glándulas mandibulares frecuentemente tienen una función importante en el comportamiento de alarma y defensa entre las diferentes especies de hormigas (Do Nascimento, Morgan 1997).

Feromonas del forrajeo .

Se ha identificado en la hormiga forrajera *Atta cephalotes*. a partir de extractos de la glándula de Dufour el compuesto (z)-9-nonadeceno que actúa como una señal química autoestimuladora al forrajeo. Colocan ésta sustancia sobre los fragmentos de hoja provocando que sean transportados durante un mayor intervalo de tiempo, o incrementando la probabilidad de ser levantados del sendero (Bradshaw, 1986).

- **Identificación de feromonas en *Atta mexicana*.**

En un trabajo de tesis previo al presente fueron identificados en extractos de cabeza de la especie *Atta mexicana* las sustancias 4-metil-3-heptanona y la 3-decanona (Valdéz, De la torre, 1997). De estos compuestos reportados como feromonas de alarma en otras especies de hormigas, no se tiene la certeza de que tengan el mismo efecto en *Atta mexicana*. Con la finalidad de establecer en un contexto más amplio los antecedentes , a continuación se comenta el proceso seguido en la identificación de estos compuestos, en el Departamento de Madera, Celulosa y Papel de la Universidad de Guadalajara.

Proceso seguido en la identificación.

1.- Colecta de las hormigas. Se colectaron hormigas pertenecientes a la casta de las obreras durante plena actividad de forrajeo, en las inmediaciones del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), de La Universidad de Guadalajara ubicado en Las agujas, Zapopan, Jalisco. La identificación de la especie se hizo en base a las descripciones presentadas en la literatura; (Cibrian et. al., 1989; Pescador 1980; Hölldobier et al., 1990). Las hormigas colectadas fueron colocadas en frascos de vidrio conteniendo un algodón impregnado con 1 mL de cloroformo. Se realizaron cuatro colectas de aproximadamente 1,400 hormigas cada una. Esto equivale a un total aproximado de 5,600 hormigas en las cuatro muestras.

1.-Extracción. Las muestras fueron mantenidas en congelación hasta que se realizaron las extracciones. Las hormigas fueron seccionadas en cabeza y abdomen. Posteriormente se llevo a cabo la extracción con los disolventes diclorometano y metanol macerando cada muestra disectada comenzando con el diclorometano. El tiempo de macerado fue de aproximadamente 10 minutos ya que con tiempos mayores se provocaba saturación en los detectores del equipo de análisis. Una vez completada la maceración se separó la mezcla de extracción con una jeringa. La mezcla de extracción obtenida fue filtrada con papel filtro Whatman No. 5, por medio de un filtro portamembranas.

2.- Análisis. El análisis de los extractos obtenidos se llevó a cabo en un sistema CG-EM con un cromatógrafo de gases Auto-System Perkin Elmer acoplado a un espectrómetro de masas Perkin - Elmer Q-Mass 910. Los compuestos identificados en estos extractos se presentan en el cuadro II.

Cuadro II

Compuestos identificados a partir de extractos de cabeza y abdomen en la especie *Atta mexicana*, (Valdéz, de la Torre, 1997).

Porción de la hormiga	Disolvente	Compuesto encontrado
Abdomén	Metanol	2- (5H)- furanona Bencenacetamida
	Diclorometano	oleato de etilo
Cabeza	Diclorometano	4-metil -3- heptanona 3-decanona

Los compuestos identificados en los extractos de cabeza están reportados como feromonas en algunas especies de hormigas así como sus formas químicamente reducidas (4-metil-3-heptanol y 3-decanol).

En el cuadro III se presentan los nombres de algunas de las especies de hormigas en que se han identificado estos compuestos, así como las citas de los respectivos autores.

Cuadro III

Compuestos identificados en diversas especies de hormigas y que están químicamente relacionados con los encontrados en los extractos de cabeza de *Atta mexicana*.

Compuesto.	Fórmula Molecular.	Especie.
4 - Metil -3- heptanol (rastros)	$C_8H_{18}O$	<i>Leptogenys diminuta</i> (Attygalle et al., 1988)
4- Metil - 3 - heptanona (alarma).	$C_8H_{16}O$	<i>Atta texana</i> (Moser et al., 1968); <i>Manica bradleyi</i> , <i>M. Mutica</i> (Fales et al., 1972)
3 - Decanol (alarma).	$C_{10}H_{22}O$	<i>Myrmica lobicomis</i> (Cammaerts et al., 1983)
3 - Decanona (alarma).	$C_{10}H_{20}O$	<i>Manica bradleyi</i> , <i>M. mutica</i> (Fales et al., 1972)
4 - Metil - 3 - heptanol (alarma).	$C_8H_{18}O$	<i>Pogomyrmex badius</i> (McGurk et al., 1966)

JUSTIFICACIÓN

Debido a su hábito defoliador la hormiga *Atta mexicana* ha venido a constituir un problema en plantaciones y zonas de reforestación.

En un intento de combatirlas se ha recurrido al uso de insecticidas no específicos para la especie con lo que se tiene el riesgo potencial de generar desequilibrios en las relaciones bióticas del nicho ecológico en cuestión.

La falta de suficientes estudios en cuánto a la caracterización química de las feromonas de ésta especie han retardado su empleo en sistemas de control biológico.

El fenómeno en estudio está englobado en el marco de una problemática real. Esto exige una solución concreta y definitiva en el menor plazo de tiempo posible. Sin embargo se trata de un problema para el cual, una solución que contemple un menor impacto ecológico estará dada en función de los mecanismos que rigen la percepción química de los compuestos a emplear.

Estos son mecanismos integrativos que acoplan un fenómeno químico (la percepción molecular a nivel de receptores), con un fenómeno conductual (la respuesta). Dos factores acoplados como componentes generadores de la respuesta o perturbación global observada.

La información obtenida de los bioensayos de éste trabajo proporcionará una idea más clara acerca de si las sustancias identificadas en *Atta mexicana* actúan también como feromonas de alarma, así como cuales de las concentraciones probadas pueden ser más efectivas en cuánto a la perturbación generada.

Será posible descartar aquellas concentraciones que hayan provocado una perturbación de baja intensidad o corta duración a fin de ir implementando una estrategia preliminar de control biológico utilizando tan sólo las concentraciones de mayor influencia.

OBJETIVOS

- **OBJETIVO GENERAL**

Describir el comportamiento de respuesta observado en las hormigas de la especie *Atta mexicana*, de la casta obrera principalmente, al ser expuestas a los compuestos identificados en ésta especie, así como a otros compuestos reportados como feromonas en otras especies de hormigas.

- **OBJETIVOS PARTICULARES.**

I).- Establecer si estos compuestos ejercen una perturbación significativa en las hormigas.

De ser éste el caso:

a).-Establecer cuales compuestos tienen un mayor promedio en la duración de su efecto.

b).- Determinar la concentración que genera la mayor duración del efecto en estos compuestos.

II).- Describir el comportamiento observado en las hormigas como reacción a los compuestos bioensayados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los bioensayos se llevaron a cabo sobre senderos con actividad de forrajeo ubicados en diferentes sitios de la ciudad de Guadalajara tales como el parque " Bosque de los Colomos" localizado en Zapopan, el "Cerro de la Reina" en Tonalá, en jardines centrales de diversas avenidas de la ciudad, así como en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (C.U.C.B.A) perteneciente a la Universidad de Guadalajara.

La causa de tal variedad de sitios para la realización de los bioensayos fue que no siempre se tenía actividad de forrajeo en cada uno de ellos. Esto debido en ocasiones a la conducta de las propias hormigas o a la aplicación de insecticidas por parte de los jardineros encargados del mantenimiento de estos lugares. Aspectos sobre los cuales no se podía tener un control absoluto.

• **Compuestos de prueba**

- a) 3-Decanona, (Aldrich, 98 %, 26, 819-4).
- b) 4-metil-3-heptanona, (Sintetizó a partir del 4-metil-3-heptanol, anexo 3).
- c) 4-metil-3-heptanol, (Aldrich, M14,830-9).
- d) 3-Decanol, (Sintetizado a partir de la 3-decanona.
- e) 2-metil-pirazina, (Aldrich 99%, M7, 560-8)
- f) 2,5-dimetil-pirazina, (Aldrich 98%, 17, 542-O).
- g) 2,3,5-trimetil-pirazina, (Aldrich 99%. 19, 941-g).

• **Concentraciones de prueba**

Con la finalidad de establecer que concentraciones provocaban un mayor efecto se estableció un intervalo de concentraciones a probar. Para cada uno los compuestos se probaron las siguientes concentraciones:

0.1 ng/mL	5.0 ng/mL
0.5 ng/mL	10.0 ng/mL
0.7 ng/mL	50.0 ng/mL
1.0 ng/mL	10,000 ng/mL
2.5 ng/mL	

- **Justificación del bioensayo de pirazinas**

Respecto a las pirazinas. Las pirazinas se probaron ya que han sido reportadas como feromonas de rastro en una especie del género *Acromyrmex*, el cual como ya se mencionó en la introducción es éste junto con el género *Atta* son los únicos con actividad defoliadora. Asumiendo una hipótesis intuitiva de que actividades similares pudiesen relacionar o implicar compuestos similares para estos dos géneros se incluyen en los bioensayos éstas pirazinas. Do Nascimento y Morgan reportaron la 3-etil-2,5-dimetilpirazina como feromona de rastro secundaria en *Acromyrmex subterraneus subterraneus*. Bioensayaron otras pirazinas mezcladas con la feromona de rastro principal pero no hacen pruebas con las pirazinas por separado (Do Nascimento, Morgan, 1994).

- **Análisis estadístico**

Se llevo a cabo un análisis de varianza y una prueba de rangos múltiples LSD (diferencia mínima significativa) para cada uno de los compuestos con la finalidad de comparar las medias o promedios de duración en la respuesta inicial y la duración total del efecto provocadas por las concentraciones de cada compuesto.

- **Aplicación de los compuestos en los senderos.**

Se pesaron muestras de 1.5 g de tierra tomada en los lugares donde se llevó a cabo el bioensayo. Se tenían en el laboratorio muestras de cada uno de estos lugares, a las cuales se les eliminaban las piedras y eran pulverizadas a mano, con la finalidad de efectuar la dispersión de manera más uniforme, al momento de aplicar sobre la cinta.

Se colocaron cintas de papel adhesivo "masking-tape" atravesados sobre el sendero con una distancia aproximada de dos metros entre ellas. Los extremos de cada cinta colocada sobresalían aproximadamente 5 cm a cada lado del sendero. Una vez colocadas se dejó transcurrir el tiempo suficiente hasta que prosiguieran su camino normal por encima de las cintas.

La tierra se impregnó en vasos de precipitado, dejando transcurrir el tiempo suficiente hasta que adquiriera una textura arenosa en la cual no se formaran grumos. Esta tierra se esparció sobre las cintas de "masking tape" tratando de formar una franja continua, evitando en la medida de lo posible huecos sin tierra sobre la cinta. Durante el desarrollo de un experimento, en tanto se aplicaba una muestra sobre la cinta correspondiente, la siguiente muestra de tierra ya había sido impregnada con la próxima concentración a probar. Esto con la finalidad de anticipar la evaporación del excedente de compuesto, realizando la aplicación de las muestras de la manera más continua posible.

- **Bioensayos.**

De manera general se aplicó la serie completa de concentraciones de un mismo compuesto con un ordenamiento ascendente y comenzando ya sea a una distancia aproximada de 30 cm de la entrada del nido o en el extremo opuesto a una distancia aproximada de 20 metros. Se hicieron al menos dos aplicaciones de cada concentración.

La réplica se hizo comenzando en el extremo opuesto al que se inició la primera prueba con la finalidad de observar una probable disparidad en las conductas manifestadas debido a una probable influencia sobre la respuesta según el sentido de aplicación.

- **Definición de las variables de respuesta y nomenclatura.**

Para la descripción de las observaciones se definieron como variables de respuesta algunas pautas de comportamiento observadas en bioensayos preliminares. La nomenclatura presentada corresponde a la simbología que se utiliza en los cuadros de resultados.

Dentro de algunas variables de respuesta se tienen niveles debido a que la reacción de las hormigas se manifestaba con distintos grados de intensidad o asumía alguna de varias modalidades posibles.

Las únicas variables de tipo cuantitativo que se definieron fueron Duración de la respuesta y Duración del efecto medidas en minutos. Cabe mencionar que con éstas dos variables se hizo el análisis estadístico, mientras que el resto de las variables de respuesta definidas son tan sólo de tipo descriptivo.

1. **Distancia de percepción (P).** Se considera aquí la distancia aproximada entre la hormiga y la muestra, en el momento que se manifiesta cierto cambio en la conducta de la hormiga, como puede ser disminución en su velocidad, retroceso, alboroto, inversión de su sentido de trayectoria o alguna otra prueba de perturbación. Se consideran para ésta variable dos niveles según se manifieste la percepción

NIVEL	NOMENCLATURA
A distancia	D
Al tocar la cinta	aIT

2. **Intensidad de la respuesta (I.R).** Se refiere al tipo de perturbación inicialmente manifestado por la hormiga. Se definió ésta variable ya que en los bioensayos preliminares se observó que en función del tiempo, conforme se evaporaba la substancia, las hormigas manifestaban cada vez una menor intensidad respecto a la respuesta inicialmente observada.

NIVEL	NOMENCLATURA
Violenta	V
Intensa	I
Moderada	M

Descripción de los niveles:

- a) **Violenta.** Respuesta inicial de alboroto extremo. Percepción a distancia. Algunas hormigas ocasionalmente realizan una inversión de 180° en el sentido de su trayectoria al percibir. Alboroto generalizado entre las que arriban a la zona de la cinta e inclusive atolondramiento aparente. Abandono del sendero y desorientación.

- b) Intensa. Perciben hasta el borde de la cinta o manifiestan un retroceso inmediato de forma brusca o violenta pero sin invertir su sentido o soltar su carga. No cruzan la cinta, y tampoco manifiestan un alboroto extremo persistente.
- c) Moderada. Sin alteración aparente. Percepción hasta estar sobre la cinta. Inspeccionan la muestra pero siguen su camino sin manifestación de alboroto alguno. Generalmente efecto de muy corta duración. A los pocos minutos de aplicada la muestra cruzan la cinta la mayoría de las hormigas que llegan a ella.
3. **Duración de la respuesta en minutos (D.R.)** Intervalo de tiempo en que se mantiene la respuesta inicialmente mostrada. Como se mencionó anteriormente, la intensidad de la respuesta inicial disminuye conforme se evapora la substancia. Después de cierto tiempo de aplicada la muestra la respuesta es un tanto distinta a la inicialmente mostrada.
4. **Duración del efecto en minutos (D.E.)**. Tiempo que tardan la mayor parte de las hormigas en reestablecer su paso sobre la zona que contiene al compuesto de prueba. Intervalo de tiempo en el que independientemente de la intensidad de respuesta manifestada inicialmente las hormigas se abstienen de cruzar debido a que aún existe efecto de la substancia.
5. **Ruta de evasión (R.E.)**. Con algunas concentraciones de algunas de las substancias, las hormigas formaban un camino alternativo que evadía el lugar donde se encontraba la substancia de prueba formando una nueva vía de paso paralela al sendero. Una vez librada la cinta con la muestra se reintegraban al sendero.

La ruta de evasión, tardaba de 15-20 min. en ser establecida. Se asignaron las siguientes modalidades de registro:

a) **(+)**: Forman ruta de evasión.

b) **(-)**: No forman ruta de evasión.

6. **Mayor sensibilidad según el sentido (M.S.)**. En los bioensayos preliminares se observó cierta diferenciación de respuesta según fuese el sentido de trayectoria de la hormiga. Esto se manifestaba en que para ciertas concentraciones se formaba mayor apilamiento de hormigas en alguno de los dos lados de la cinta siendo las densidades de tránsito aproximadamente iguales en ambos sentidos. Se observaron casos en los que, mientras las hormigas que se dirigían a la entrada (con carga, C/C), ya trabajan en la búsqueda de una ruta alternativa, las que iban hacia la fuente de forrajeo (sincarga, S/C) aún permanecían apiladas sin cruzar la banda. Se adoptó la siguiente nomenclatura:

a) **(C/C)**: Con carga. Mayor apilamiento en el lado de la cinta de las hormigas con carga.

b) **(S/C)**: Sin carga. Mayor apilamiento en el lado de las hormigas que van por carga.

RESULTADOS

Observaciones particulares de cada compuesto.

1. **3-Decanol:** De manera general se manifestó un alboroto extremo además de un aturdimiento y desorientación aparentes. Esto no necesariamente sucedió con aquellas concentraciones que tuvieron los mayores promedios de respuesta. Durante uno de los experimentos de aplicación de la serie completa de concentraciones sobre el mismo sendero se notó una disminución en la densidad de tránsito en aproximadamente un 45% respecto a la densidad inicial como a la 1 ½ hrs, alcanzándose a aplicar en orden ascendente tan sólo las concentraciones de de 0.1 hasta 10 ng/mL. Esto hizo necesaria la reubicación en otro hormiguero para la continuación de las pruebas. Como caso particular de manifestación extrema se tiene la concentración 0.1 ng/mL. Con ella se observaron algunas de las características que definen a una respuesta inicial como violenta, como son alarma generalizada, abandono del sendero, desorientación y atolondramiento extremo. Se presentó un caso en que las hormigas que lograban cruzar la cinta se desorientaban a tal grado que se regresaban por el mismo lugar volviendo a cruzar la cinta (ahora en sentido opuesto a la primera vez). Con ésta concentración también se observaban un mayor número de cargas tiradas sobre la cinta de " masking tape ", a pesar de que según el forcejeo observado cuando la soldado intentaba quitarle su carga a una obrera, con el compuesto 3-decanona hace pensar que las obreras mantienen muy bien afianzada su carga. Otra de las concentraciones más activas fue la de 5 ng/mL, con la que se llegaron a observar inversiones de sentido (180°) de manera atropellada, así como 12 cargas abandonadas sobre la cinta a los 35 minutos de aplicada la muestra.
2. **3-decanona.** Con aquellas concentraciones que generaban una respuesta intensa o de tipo violenta (1, 50 y 10,000 ng/ mL), las hormigas llegaban a perder totalmente el sentido de orientación abandonando incluso el sendero.

3. Al parecer las hormigas de la casta de las soldado resultaban más sensibles a los efectos de éste compuesto, ya que se observaba en éstas hormigas una actitud agresiva en la cuál que salían del hormiguero llevando sus mandíbulas abiertas al avanzar. Esto sucedió en particular cuando se aplicó la concentración de 2.5 ng/mL a escasos 60 cm de la entrada. En dicha ocasión se observó como un soldado que salió del nido atacaba los cargamentos de las obreras que iban llegando. Se llevaba a cabo un forcejeo entre la obrera y la soldado, en el que por lo general la soldado no lograba separar la carga de la obrera. Esto hace sospechar que las obreras llevan muy bien afianzada su carga. Ésta perturbación manifestada por parte de las soldado fue una conducta de agresividad más que de repelencia. Cruzaban la cinta con mucho mayor facilidad que las obreras, no sin antes realizar una cautelosa inspección. En general para las respuestas de tipo moderado se observaba la formación de una ruta de evasión.

4. **4-metil-3-heptanona.** En general se observó una conducta de alarma generalizada que se manifestaba ya sea como retroceso violento, liberación de su carga, o pérdida de la orientación y abandono del sendero. Después de manifestar alguna de estas respuestas iniciales con alguna de las concentraciones, formaban una ruta de evasión. Al realizar la aplicación comenzando en el extremo cercano al nido, se observó una disminución paulatina en el número de hormigas sobre el sendero. Era mayor el número de hormigas que entraban al nido que las que salían hasta que prácticamente ya no se tuvieron hormigas sobre el sendero.

5. **4-metil-3-heptanol.** Para las concentraciones que provocaron cierto alboroto, la percepción se manifestaba invariablemente antes de llegar hasta la cinta ($P = D$). A excepción de la concentración de 10,000 ng/mL los efectos del resto de las concentraciones fueron medianamente duraderos. Se observó que la respuesta manifestada inicialmente por lo general era de muy corta duración, aunque de carácter intenso para la mayor parte de las concentraciones.

6. **El grupo de las pirazinas.** De manera general con el grupo de las pirazinas se observó que aunque no generaran respuestas de alboroto extremo, sino más bien de los tipos definidos como Intensa (I) o Moderada (M), sus efectos eran prolongados comparativamente con lo observado en los demás compuestos que presentaban éste tipo de respuestas iniciales (R.I.). Con estos compuestos se observó una alta frecuencia de formación de rutas de evasión (R.E.). Inclusive para uno de estos compuestos la ruta de evasión formada se mantuvo hasta el siguiente día de la aplicación de la muestra.
- a) **2-metilpirazina.** La concentración de 10 ng/mL fue una con las que se notaba mejor la diferenciación de respuesta según el sentido (M/S). Se observó con ésta concentración que mientras las hormigas con carga (C/C) parecían percibir hasta tocar el borde de la cinta, las que iban por carga (S/C) denotaban la percepción hasta estar a la mitad de la cinta. Otra de las concentraciones que provocó reacciones parecidas a las anteriores fue la de 0.5 ng/mL.
- b) **2,5-dimetilpirazina.** Se tuvieron rutas de evasión (R.E.) para la mayor parte de las concentraciones. Debido a la formación de estas rutas cabría esperar que no hubiese una disminución de la densidad de tránsito sobre el sendero, sin embargo en uno de los experimentos después de aplicar la serie completa de concentraciones y de haber dejado sobre el sendero todas las muestras aplicadas se tuvo una disminución de la densidad de tráfico de aproximadamente 95 %. En otro experimento en el que se aplicaron las concentraciones comenzando en el extremo cercano a la entrada del hormiguero, las hormigas formaron rutas de evasión en todas las bandas, excepto en la correspondiente a 1.0 ng/mL. Esto sugiere una probable insensibilidad a la percepción de ésta concentración.
- c) **2,3,5-trimetilpirazina:** Ésta pirazina junto con la 2-metilpirazina fueron las que tuvieron mayores tiempos de duración en su efecto. También con ésta pirazina se observaron respuestas de carácter intenso o alboroto en mayor frecuencia que con las otras dos. En el caso particular de éste compuesto se observó en uno de los

experimentos que al siguiente día de realizado un experimento las hormigas no habían retomado aún el sendero sino que transitaban por la ruta de evasión formada.

Sobre el sentido de aplicación:

Las respuestas fueron muy similares para cada concentración independientemente del extremo inicial de aplicación. Esto se puede observar en las tablas de resultados descriptivos presentadas, en las cuales la casilla correspondiente al experimento 2 corresponde a la réplica. En la mayor parte de los casos coincidieron las observaciones hechas independientemente del extremo en el cual se haya iniciado la aplicación.

4-metil-3-heptanona.

Variable de Respuesta		CONCENTRACIONES																	
Exp.1	Exp.2	0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		I	I	I	I	V	I	M	I	V	I	M	I	I		V	V	V	V
M.S.		S/C		C/C	*	*	*	*	C/C	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
P		Alt	Alt	*	Alt	D	*	*	*	D	*	Alt	Alt	Alt	*	D	D	D	D
D.R.		10'	7'	10	10'	20'	15'	15'	10'	5'	5'	1'	3'	1'	5'	4'	3'	5'	7'
D.E		60'	45	45'	55'	35'	20'	35'	25'	20'	15'	5'	10'	10'	25'	15'	25'	45'	40'
R.E.		-	-	-	-	-	-	+	+	-*	-	-*	-	+	+			-*	-

4-metil-3-heptanol

Variable de Respuesta.		CONCENTRACIONES																	
Exp.1	Exp.2	0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		M	V	I	I	V	*	I	I	I	*	V	I	V	I	I	*	V	V
M.S.		*	C/C	*	*	C/C	*	C/C	C/C	*	*	*	C/C	*	*	C/C	*	*	*
P		Alt	D	Alt	Alt	D	*	Alt	Alt	Alt	*	D	D	D	D	Alt	*	*	*
D.R.		3'	10'	5'	6'	6'	10'	7'	6'	3'	5'	10'	5'	8'	5'	11'	15'	20**	30'
D.E		10'	40'	10'	25'	15''	20'	27'	15'	10'	15'	20'	16'	20'	24'	35'	40'	60'	80'
R.E.		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-

I.R. Intensidad de Respuesta

P Distancia de percepción

D.R. Duración de la respuesta(tierra -min)

D.E. Duración del efecto (tierra -min)

R.E. Ruta de evasión.

M.S. Mayor sensibilidad según la trayectoria

* No hay dato.

3-Decanol

Variable de respuesta.		CONCENTRACIONES																	
Exp.1	Exp.2	0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		V	M	I	I	V	M	V	V	V	V	V	V	M	I	V	V	V	V
M.S.		*		*	*	*	*	*	*	*	*	C/C	*	*	*	*	*	*	*
P		*	*	*	Alt	*	*	D	Alt	D	*	*	*	*	*	*	Alt	D	D
D.R.		2'	0.4'	5'	4'	2'	10'	20'	15'	35'	15'	3'	5'	10'	5'	10'	7'	15'	10'
D.E.		30'	35'	60'	50'	24'	120'	120'	120'	140'	60'	13'	25'	30'	160'	50'	30'	70'	40'
R.E.		-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3-Decanol

Variable de Respuesta		CONCENTRACIONES																	
Exp.3		0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		V		I	*	V		*		V		V	V	M				M	I
M.S.		*		*	*	C/C		*		*		C/C	*	*				*	
P		D		*	*	D		*		D		D	*	Alt				*	
D.R.		10'		7'		10'		*		30'		35'	*	5'				15'	
D.E.		120'		120'		120'		*		120'		120'	*	160'				160'	
R.E.		+		+		+		*		-		-	*	+				-	

I.R. Intensidad de Respuesta

P Distancia de percepción

D.R. Duración de la respuesta(tierra -min)

D.E. Duración del efecto (tierra -min)

R.E. Ruta de evasión.

M.S. Mayor sensibilidad según la trayectoria

* No hay dato.

3-Decanona

Variable de Respuesta		CONCENTRACIONES																	
Exp.1	Exp.2	0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		M	M	I	I	M	I	V	V	I	I	M	M	M	I	V	I	V	V
M.S.		*	C/C	C/C	*	*	*	*	S/C	*	S/C	*	*	*	*	*	*	*	*
P		*	*	*	Alt	*	*	D	*	*	*	*	*	ALT	Alt	AIT	D	*	*
D.R.		3'	10'	7"	5'	1'	2'	4'	4'	8'	10'	2'	5'	0.3'	0.5'	4'	10'	7'	15'
D.E.		5'	15"	6'	10'	7'	10'	20'	10'	15'	20'	120'	100'	5'	4'	10'	30'	30'	45'
R.E.		-	+	+	+	-*	+	-	-	+	-	--	-	-	-	-	-	-	-

2-Metilpirazina

Variable de Respuesta.		CONCENTRACIONES																	
Exp.1	Exp.2	0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		I	I	I	M	I	I	I	M	V	M	V	M	V	*	M	*	I	*
M.S.		*	C/C	C/C	*	C/C	*	*	*	*	*	*	*	C/C	*	*	*	C/C	*
P		Alt	D	AIT	*	1/3	*	AIT	*	0.5	*	0.5	*	*	*	Alt	*	D	*
D.R.		5	3'	5'	7'	10'	10'	7'	6'	15'	9'	10'	15'	7'	5'	10'	5'	4'	7'
D.E.		10	10'	25'	20'	20'	30'	18'	50'	50'	30'	40'	*40'	35'	15'	20'	60'	40'	50'
R.E.		+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-

I.R. Intensidad de Respuesta

P Distancia de percepción

D.R. Duración de la respuesta(tierra -min)

D.E. Duración del efecto (tierra -min)

R.E. Ruta de evasión.

M.S. Mayor sensibilidad según la trayectoria

* No hay dato.

2,5-Dimetilpirazina.

Variable de Respuesta.		CONCENTRACIONES																	
Exp.1	Exp.2	0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		I	*	M	*	I		I	I	V	*	M	*	I	*	I	*	I	*
M.S.		C/C	*	*	*	C/C	*	*	*	S/C	*	*	*	C/C	*	*		S/C	*
P		Alt	*	*	*	*	*	D	Alt	*	*	Alt	*	*	*	D	*	Alt	D
D.R.		15'	5'	0.5'	1'	2'	4'	2''	8'	10'	15'	5'	1'	3'	2'	1'	2'	3'	5'
D.E.		25'	20'	2'	3'	15'	10'	4'	15'	20'	30'	10'	10'	10'	8''	20'	5'	5'	30'
R.E.		+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+

2,3,5-Trimetilpirazina

Variable de Respuersta		CONCENTRACIONES																	
Exp.1	Exp.2	0.1 ng/ml		0.5 ng/ml		0.7 ng/ml		1.0 ng/ml		2.5 ng/ml		5.0 ng/ml		10.0 ng/ml		50.0 ng/ml		10,000 ng/ml	
I.R.		V	*	I	*	I	*	M	I	I	*	V	*	V	*	V	I	V	*
M.S.		C/C	*	S/C	*	*	C/C	C/C	*	S/C	*	*	*	S/C	*	S/C	C/C	C/C	*
P		1	*	0.5	*	3	Alt	*	Alt	0.5		3	*	6		6-8	D	D	*
D.R.		1'	3'	5'	10'	2'	6'	5'	4'	10'	7'	3'	5'	2'	1'	10'	5'	7'	10'
D.E.		10'	10'	75'	60'	10'	15'	40'	20'	60'	45'	5'	10'	6'	5'	15'	23'	30'	50'
R.E.		+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-

I.R. Intensidad de Respuesta

P Distancia de percepción

D.R. Duración de la respuesta(tierra -min)

D.E. Duración del efecto (tierra -min)

R.E. Ruta de evasión.

M.S. Mayor sensibilidad según la trayectoria

* No hay dato.

Resultados Estadísticos

Análisis estadístico.

Se utilizó el método LSD (diferencia mínima significativa), con un nivel de confiabilidad del 95 %. En las tablas de rangos múltiples obtenidas aquellos niveles o tratamientos cuyos efectos resultan ser estadísticamente similares entre sí, están señalados con una X sobre una misma columna.

Variables de respuesta.

1.-Duración de la respuesta inicial (R.I.).

2.-Duración del efecto (D.E.).

En un análisis previo se consideró al factor compuesto como importante en sus efectos sobre los tiempos de duración de las variables respuesta inicial y duración del efecto. Para verificar esto se llevó a cabo un análisis multivarianza considerando los factores concentración y compuesto como fuente de influencia sobre las respuestas observadas, con la finalidad de ver cuál de los dos factores tuvo el mayor aporte en los valores observados.

Análisis multivarianza para Concentración y Compuesto como factores.

Se estudian a la vez los efectos de concentración y compuesto sobre los valores observados en las variables de respuesta. Para el factor compuesto se considera como parámetro a comparar entre todos los compuestos, la media de los valores observados en todas sus concentraciones. En el factor concentración se comparan las medias de las concentraciones de todos los compuestos.

En los cuadros IV y V se presentan las tablas del Anova multivarianza para las variables respuesta y efecto respectivamente.

CUADRO IV
Análisis Multivarianza para Respuesta

Fuente de Variación	S.C.	g.l.	C.M.	F.	S.L.
Principales Efectos					
• Concentración	717.177	8	89.647	2.832	.0066
• Compuesto	740.0133	6	123.335	3.897	.0014
• Residual	3671.604	116	31.652		
Total (corregido)	5159.604	130			

S.C.= Suma de cuadrados

g.l.= Grados de libertad

C.M.= Cuadrados medios

S.L.= Nivel de significancia

CUADRO V
Análisis Multivarianza para Efecto

Fuente de Variación	S.C.	g.l	C.M.	F.	S.L.
Principales Efectos:					
• Compuesto.	55730.230	6	9288.3717	12.418	.000
• Concentración.	7515.117	8	939.390	1.256	.2739
• Residual	867663.994	116	747.957		
Total (corregido)	151,864.00	130			

S.C.= Suma de cuadrados

g.l.= Grados de libertad

C.M.= Cuadrados medios

S.L.= Nivel de significancia

En los cuadros anteriores se observa una mayor magnitud en los valores de la suma de cuadrados (S.C.) para el factor compuesto, en ambas variables de respuesta.

Al constatar la mayor influencia del factor compuesto se procedió a hacer un análisis de varianza para cada uno de estos con las concentraciones como factores, para establecer las diferencias en los compuestos.

De estos ANOVA sólo se presentan las gráficas de medias así como las tablas del análisis de la diferencia mínima significativa (LSD) para observar diferencias entre las concentraciones.

Pruebas de control o referencia.

Antes de pasar a analizar la respuesta de los compuestos se presenta la tabla para la diferencia mínima significativa del Anova multivarianza, añadiendo las observaciones con el disolvente puro.

En ésta tabla la media del disolvente puro, diclorometano corresponde a la variable H. El efecto del disolvente puro no presenta una diferencia significativa con los demás compuestos. Por ésta razón se descarta de los siguientes Anova para cada compuesto.

Tabla de rangos múltiples con el efecto del disolvente puro.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Nivel	Pruebas	Media	Grupos homogéneos.		
F	18	13.4444	X		
H	11	24.0909	X	X	
B	18	25.6666	X	X	
D	18	26.7777	X	X	
G	18	27.1666	X	X	
C	18	29.4444		X	
E	18	31.2777		X	
A	23	79.0000			X

A : 3-Decanol.

B : 3-Decanona.

C: 4-metil-3-heptanona.

D : 4-metil-3-heptanol.

E: 2-metilpirazina.

F : 2,5-dimetilpirazina.

G: 2,3,5-trimetilpirazina.

H: Diclorometano (disolvente puro).

**ANÁLISIS DE LA DURACIÓN DE RESPUESTA PARA CADA
COMPUESTO.**

I.- 3-decanol.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

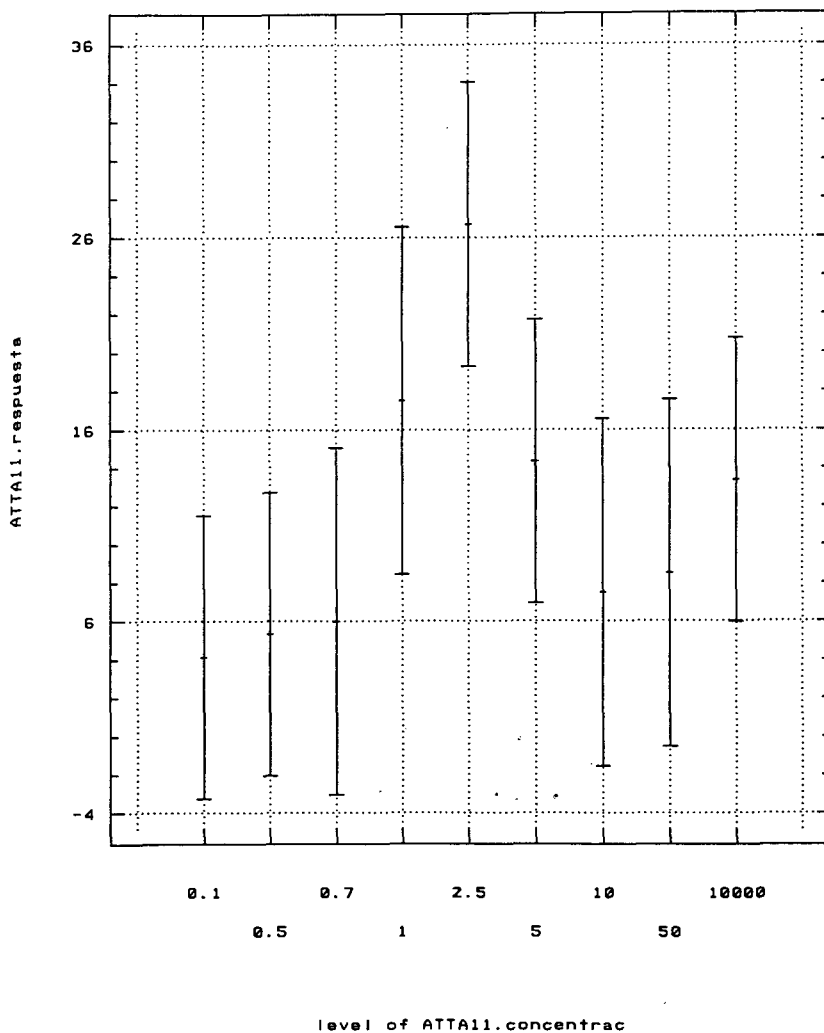
Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos.	
0.1	3	4.1333	X	
0.5	3	5.3333	X	
0.7	2	6.0	X	
10	2	7.5	X	
50	2	8.5	X	
10,000	3	13.3333	X	X
5	3	14.3333	X	X
1	2	17.50	X	X
2.5	3	26.6666		X

F = 2.079 Sig.level = 0.1104

Duración de la respuesta .
Gráfica de medias para 3-decanol.

95 % LSD

Intervals for Factor Means



II.- 3-decanona.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos		
10	2	0.4000	X		
0.7	2	1.5000	X		
5	2	3.5000	X	X	
1	2	4.0000	X	X	
0.5	2	6.0000	X	X	X
0.1	2	6.5000	X	X	X
50	2	7.0000	X	X	X
2.5	2	9.0000			X
10,000	2	11.000			X

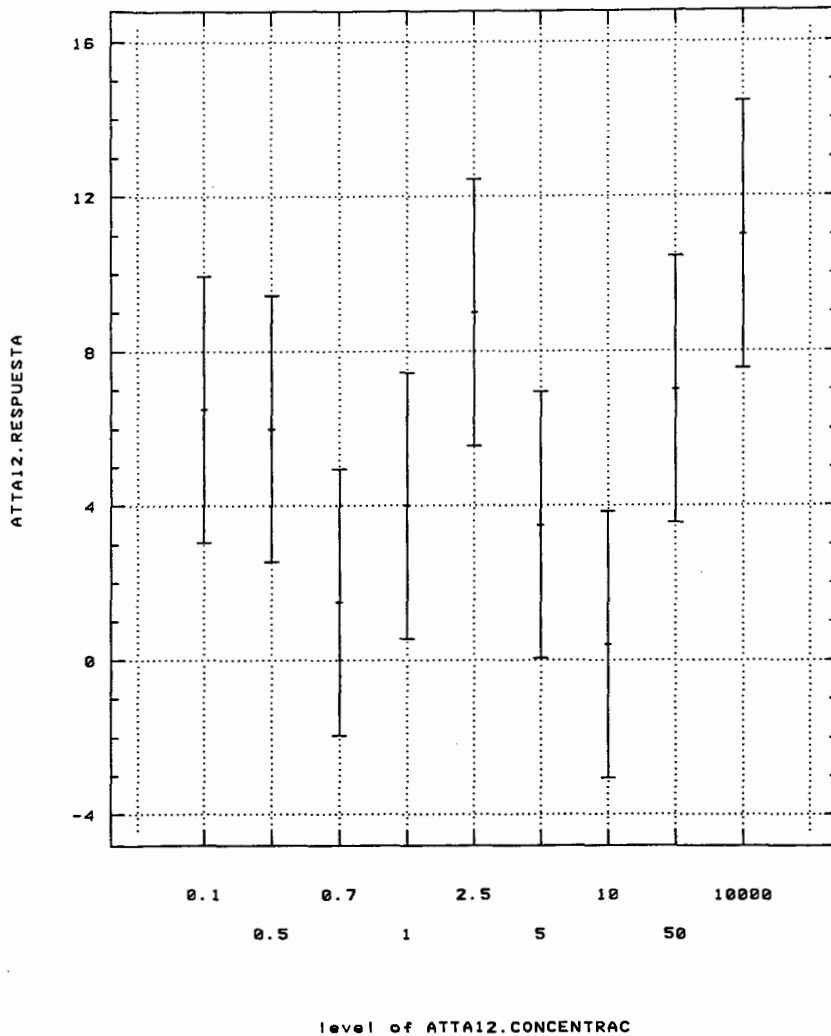
F = 2.538

Sig. Level = 0.0936

Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 3-decanona.

95 % LSD

Intervals for Factor Means



III.- 4-metil-3-heptanona.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Conc.	No. pruebas.	Media	Grupos homogéneos				
5	2	2.0000	X				
10	2	3.0000	X				
50	2	3.5000	X				
2.5	2	5.0000	X	X			
10,000	2	6.0000	X	X	X		
0.1	2	8.5000		X	X	X	
0.5	2	10.000			X	X	
1	2	12.5000				X	
0.7	2	17.5000					X

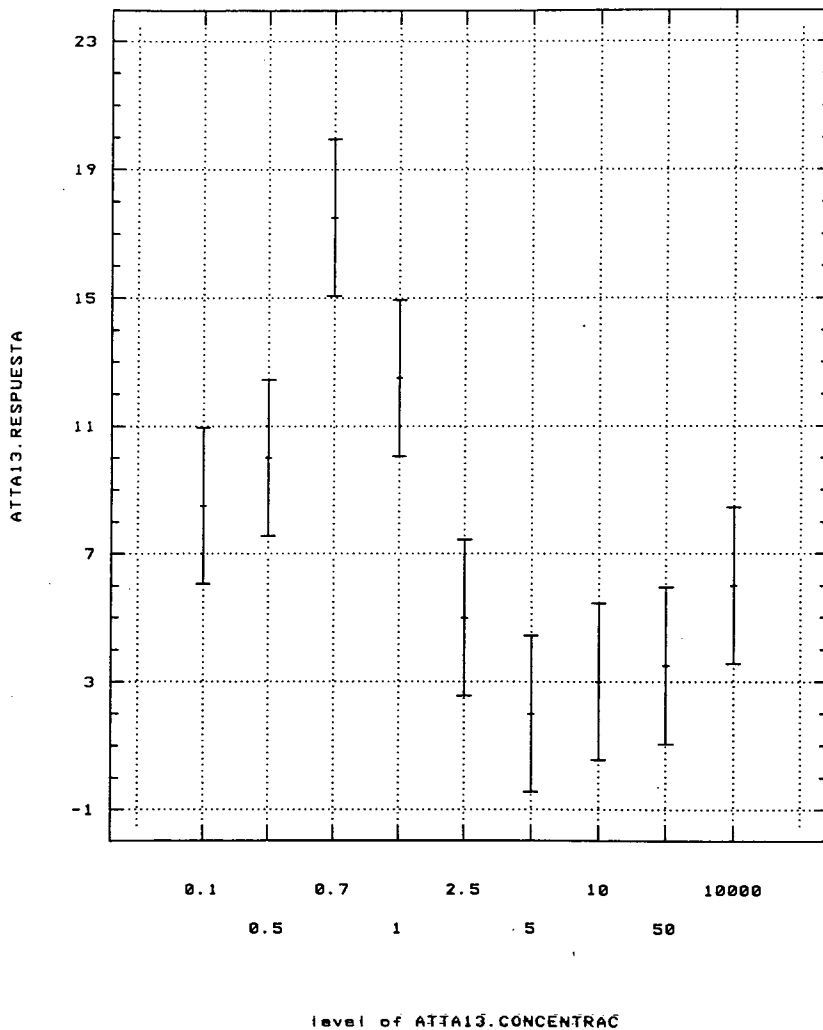
F = 11.101

Sig.level = 0.0008

Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 4-metil-3-heptanona.

95 % LSD

Intervals for Factor Means



IV.- 4-metil-3-heptanol.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

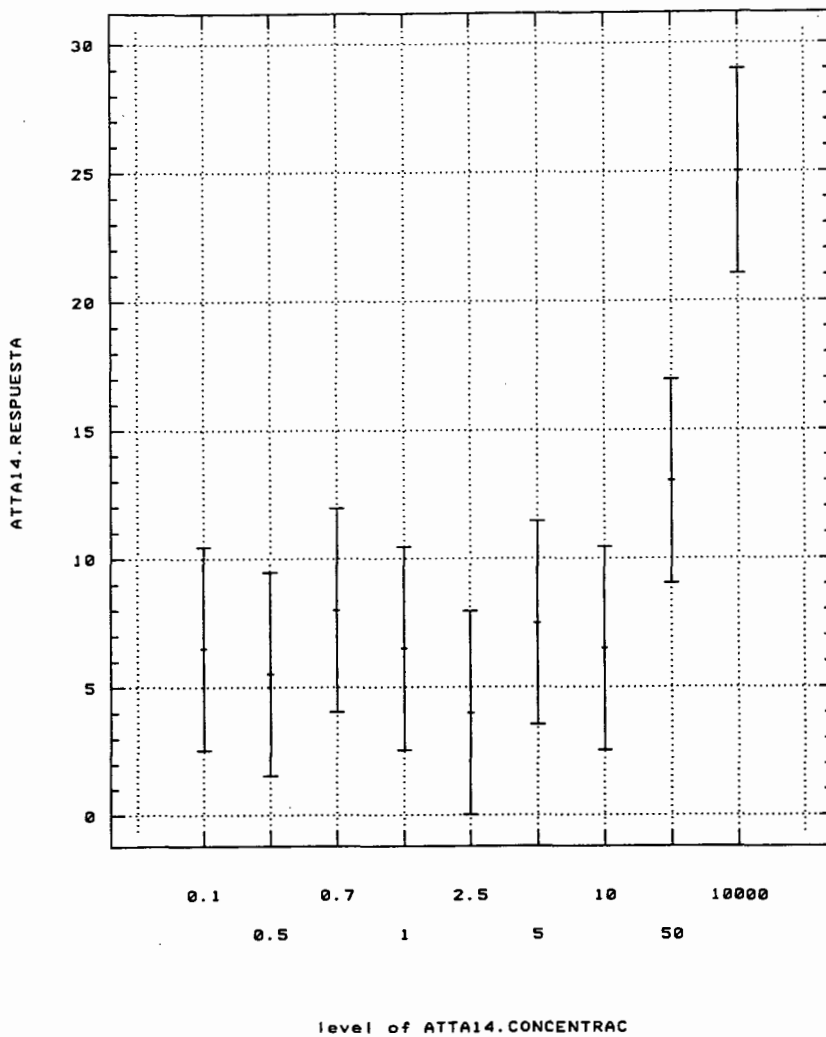
Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos		
2.5	2	4.0000	X		
0.5	2	5.5000	X	X	
0.1	2	6.5000	X	X	
1	2	6.5000	X	X	
10	2	6.5000	X	X	
5	2	7.5000	X	X	
0.7	2	8.0000	X	X	
50	2	13.0000		X	
10,000	2	25.0000			X

F = 6.740 Sig.level. = 0.0049

Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 4-metil-3-heptanol.

95 % LSD

Intervals for Factor Means



IV.- 4-metil-3-heptanol.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos		
2.5	2	4.0000	X		
0.5	2	5.5000	X	X	
0.1	2	6.5000	X	X	
1	2	6.5000	X	X	
10	2	6.5000	X	X	
5	2	7.5000	X	X	
0.7	2	8.0000	X	X	
50	2	13.0000		X	
10,000	2	25.0000			X

F = 6.740 Sig.level. = 0.0049

V.- 2-metilpirazina.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

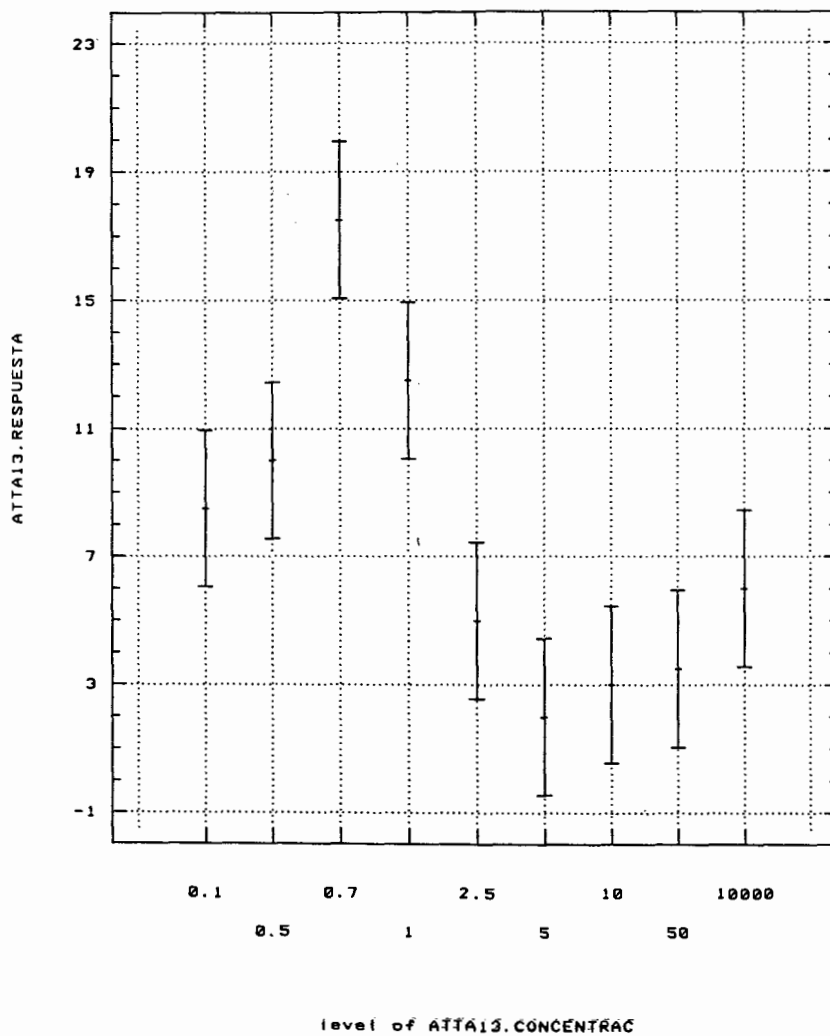
Conc.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos			
0.1	2	4.0000	X			
10,000	2	5.5000	X	X		
0.5	2	6.0000	X	X		
10	2	6.0000	X	X		
1	2	6.5000	X	X	X	
50	2	7.5000	X	X	X	X
0.7	2	10.000		X	X	X
2.5	2	12.0000			X	X
5	2	12.5000				X

F = 3.023 Sig.level. = 0.0598.

Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 4-metil-3-heptanona.

95 % LSD

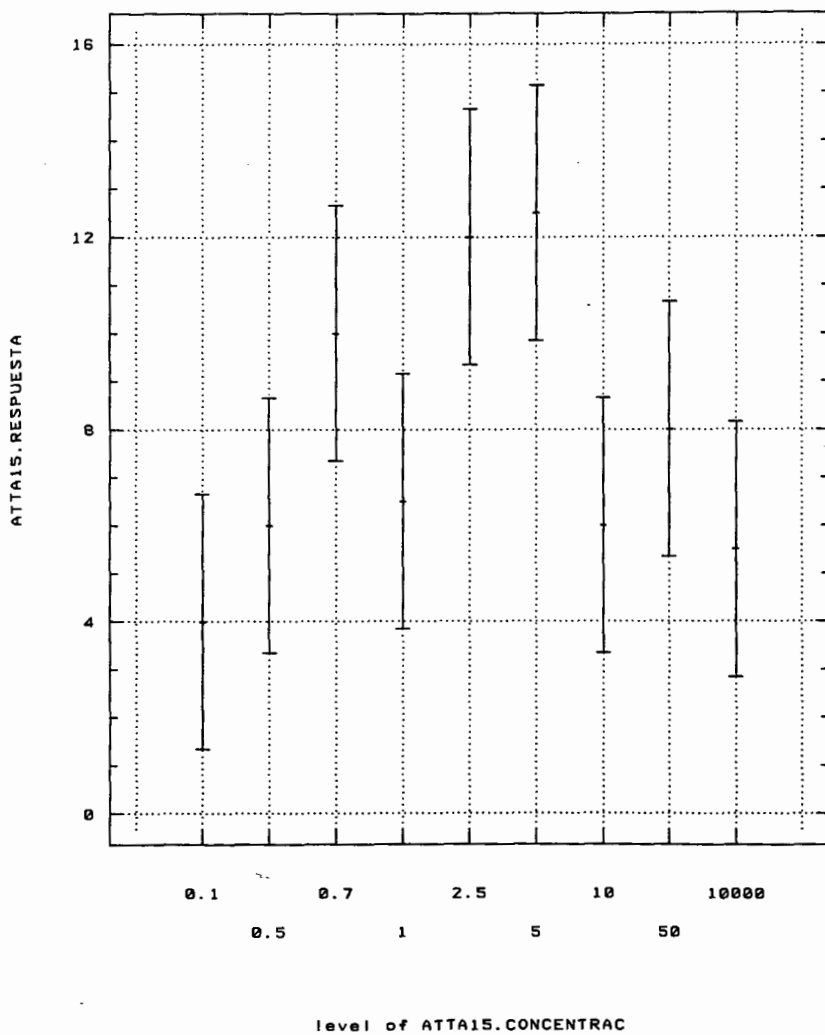
Intervals for Factor Means



Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 2-metilpirazina.

95 % LSD

Intervals for Factor Means



VI.- 2,5-dimetilpirazina.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos		
0.5	2	0.7500	X		
50	2	1.5000	X		
10	2	2.5000	X		
0.7	2	3.0000	X	X	
5	2	3.0000	X	X	
10,000	2	4.0000	X	X	
1	2	5.0000	X	X	
0.1	2	10.0000		X	X
2.5	2	12.5000			X

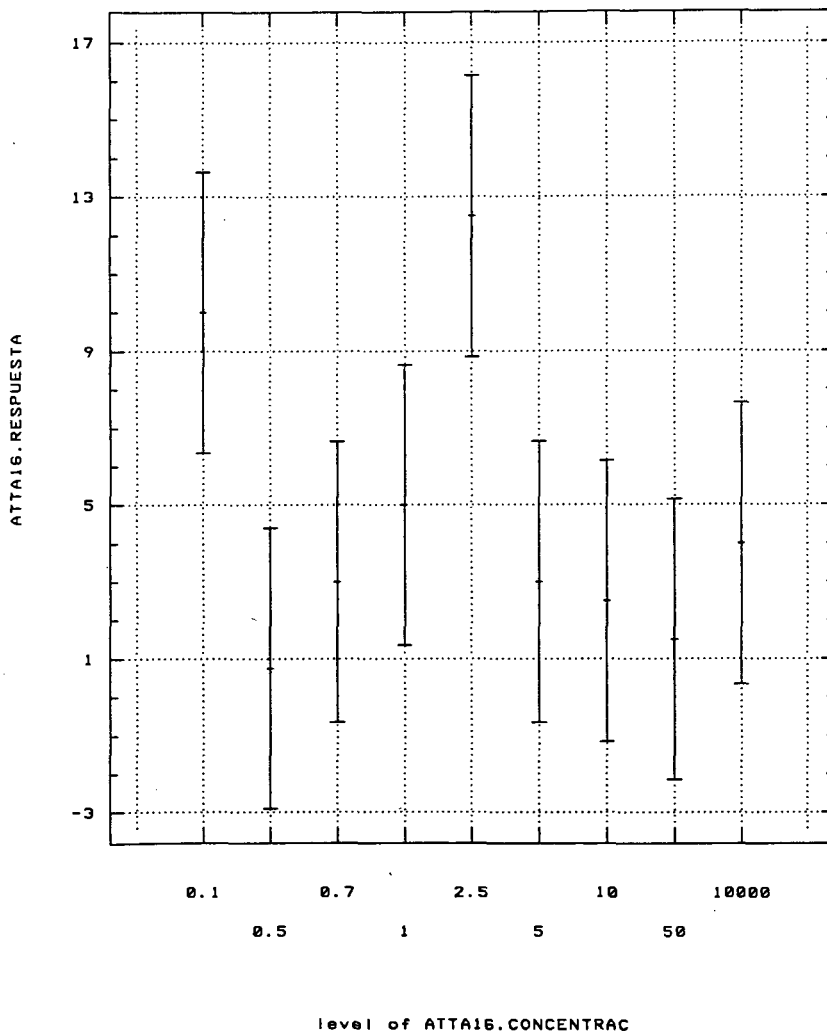
F = 3.027

Sig.level. = 0.0596

**Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 2,5-dimetilpirazina.**

95 % LSD

Intervals for Factor Means



VI.- 2,5-dimetilpirazina.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos		
0.5	2	0.7500	X		
50	2	1.5000	X		
10	2	2.5000	X		
0.7	2	3.0000	X	X	
5	2	3.0000	X	X	
10,000	2	4.0000	X	X	
1	2	5.0000	X	X	
0.1	2	10.0000		X	X
2.5	2	12.5000			X

F = 3.027

Sig.level. = 0.0596

VII.- 2,3,5-trimetilpirazina.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos	
10	2	1.5000	X	
0.1	2	2.0000	X	
0.7	2	4.0000	X	X
5	2	4.0000	X	X
1	2	4.50000	X	X
0.5	2	7.50000		X
50	2	7.50000		X
2.5	2	8.50000		X
10,000	2	8.50000		X

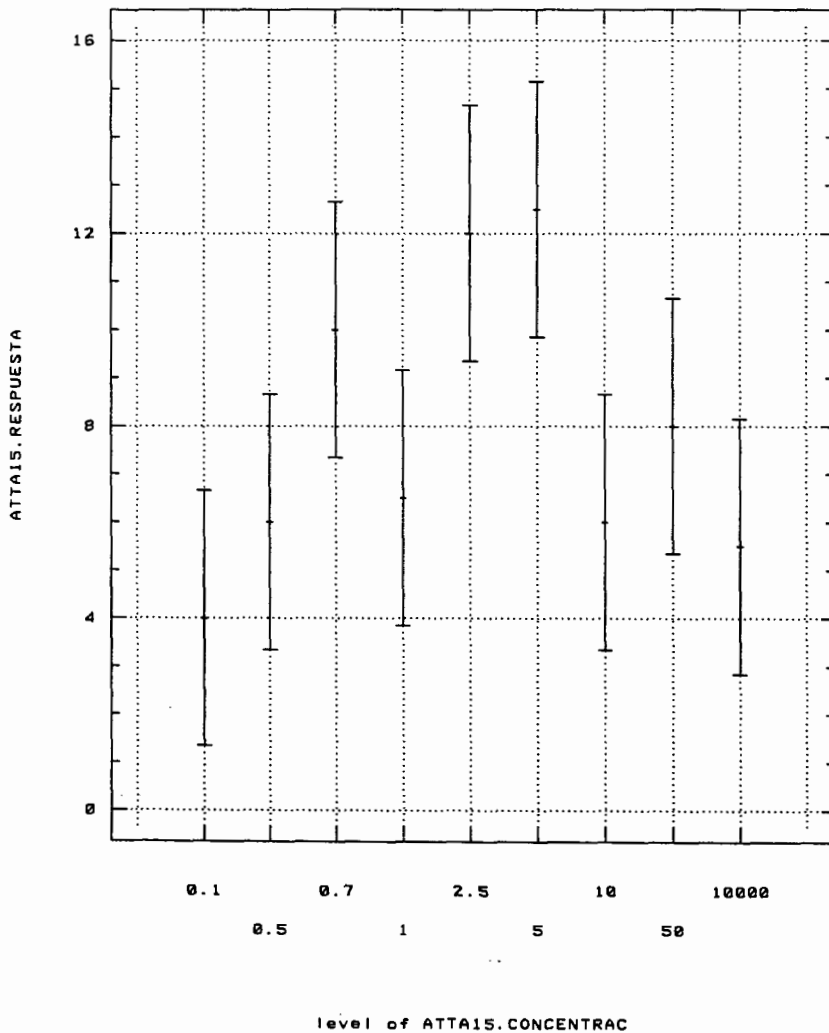
F = 2.848

Sig.level = 0.0700

Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 2-metilpirazina.

95 % LSD

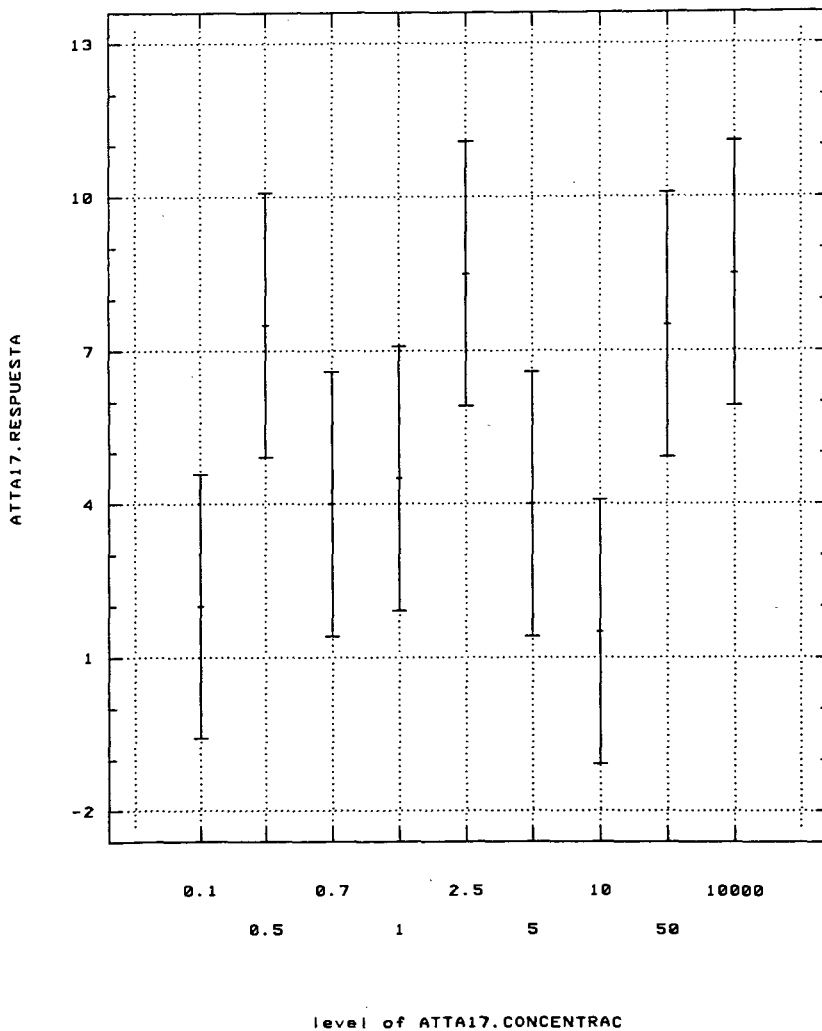
Intervals for Factor Means



Duración de la respuesta.
Gráfica de medias para 2,3,5-trimetilpirazina

95 % LSD

Intervals for Factor Means



**ANÁLISIS DE LA DURACIÓN DEL EFECTO PARA CADA
COMPUESTO.**

I.- 3-decanol.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

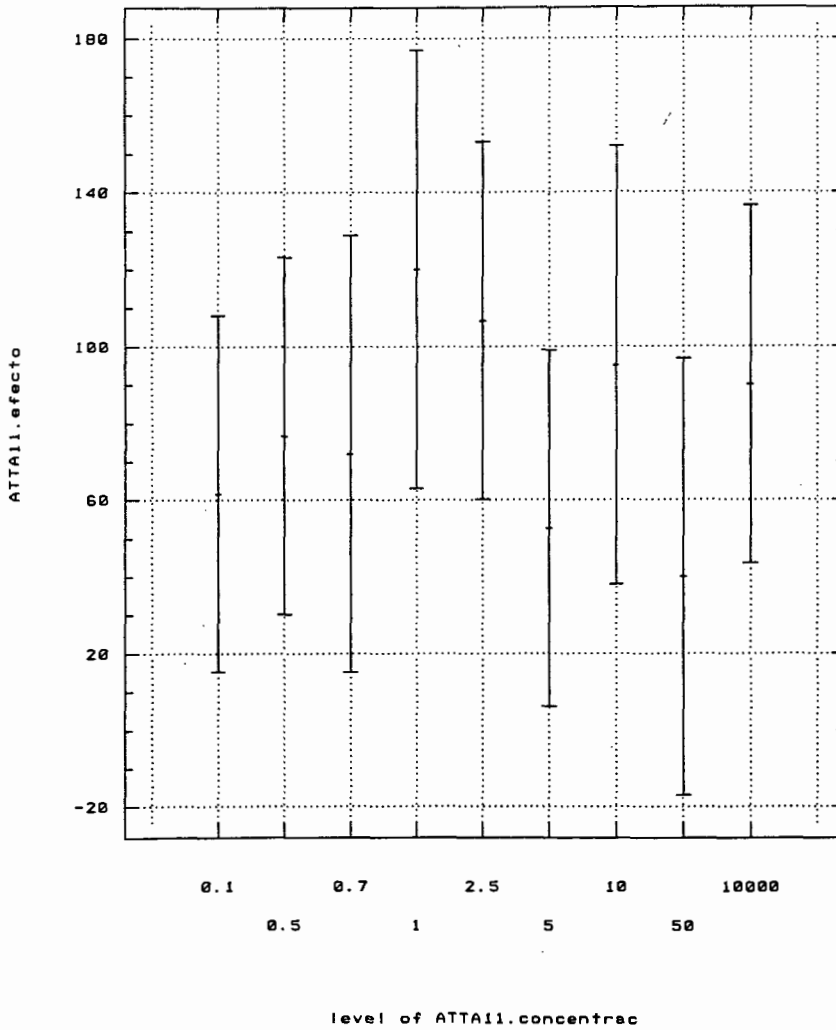
Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos
50	2	40.0000	X
5	3	52.6666	X
0.1	3	61.6666	X
0.7	2	72.0000	X
0.5	3	76.6666	X
10,000	3	90.0000	X
10	2	95.0000	X
2.5	3	106.6666	X
1	2	120.0000	X

F = 0.563 Sig.level = 0.7910

Duración del efecto.
Gráfica de medias para efecto 3-decanol.

95 % LSD

Intervals for Factor Means



II.- 3-decanona.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

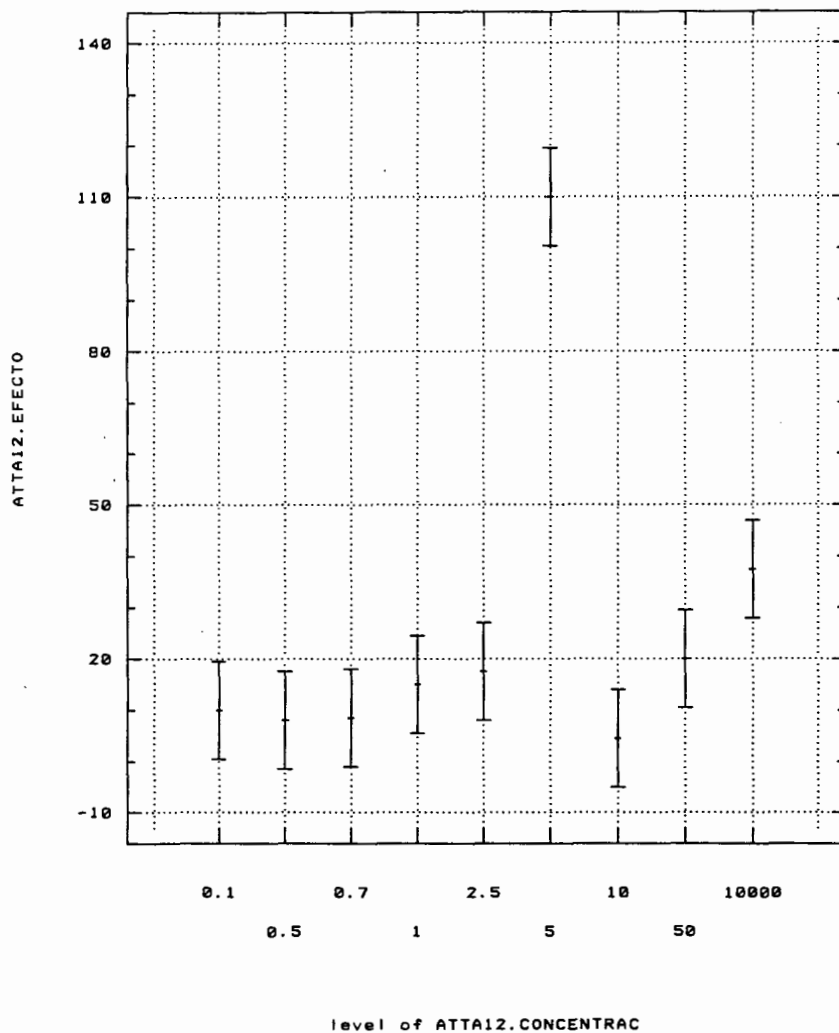
Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos		
10	2	4.5000	X		
0.5	2	8.0000	X		
0.7	2	8.5000	X		
0.1	2	10.0000	X		
1	2	15.0000	X		
2.5	2	17.5000	X		
50	2	20.0000	X	X	
10,000	2	37.50000		X	
5	2	110.0000			X

F = 30.911 Sig. Level = 0.000

Duración del efecto.
Gráfica de medias efecto 3- decanona.

95 x LSD

Intervals for Factor Means



III.- 4-metil-3-heptanona.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

Concentración.	No. pruebas.	Media	Grupos homogéneos			
5	2	7.5000	X			
2.5	2	17.5000	X	X		
10	2	17.5000	X	X		
50	2	20.0000	X	X		
0.7	2	27.5000		X	X	
1	2	30.0000		X	X	
10,000	2	42.5000			X	X
0.5	2	50.0000				X
0.1	2	52.5000				X

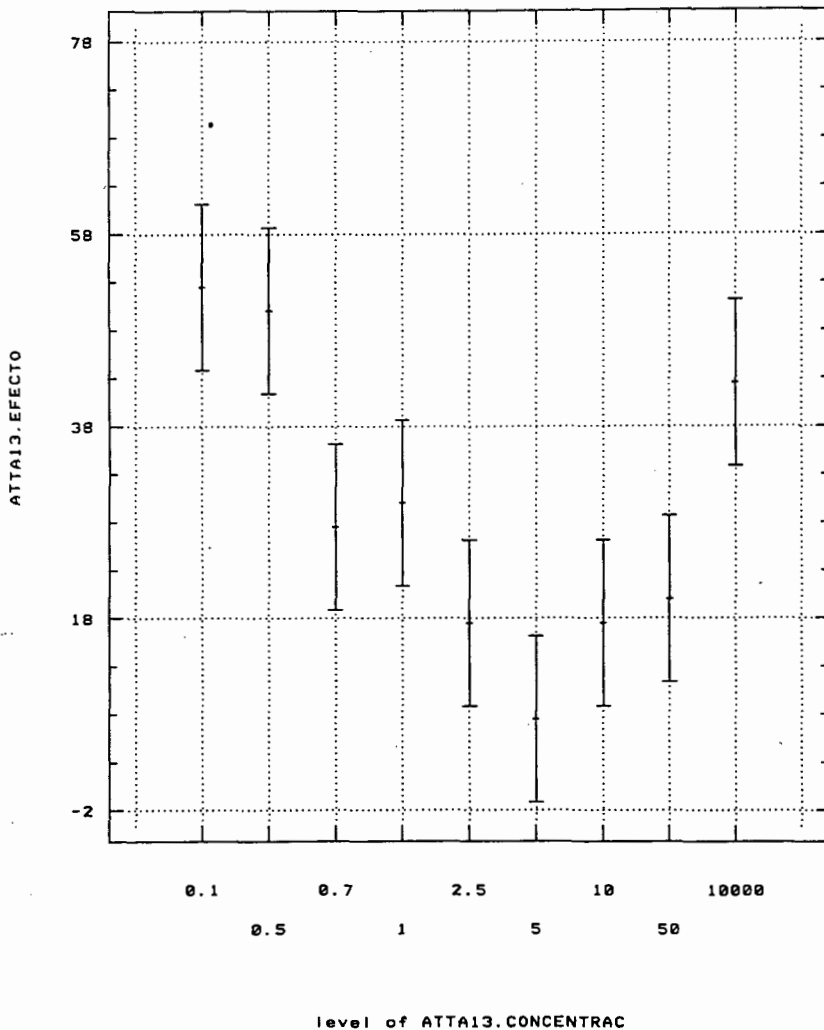
F = 8.506

Sig.level = 0.0021

Duración del efecto.
Gráfica de medias efecto 4-metil-3-heptanona.

95 x LSD

Intervals for Factor Means



IV.- 4-metil-3-heptanol.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

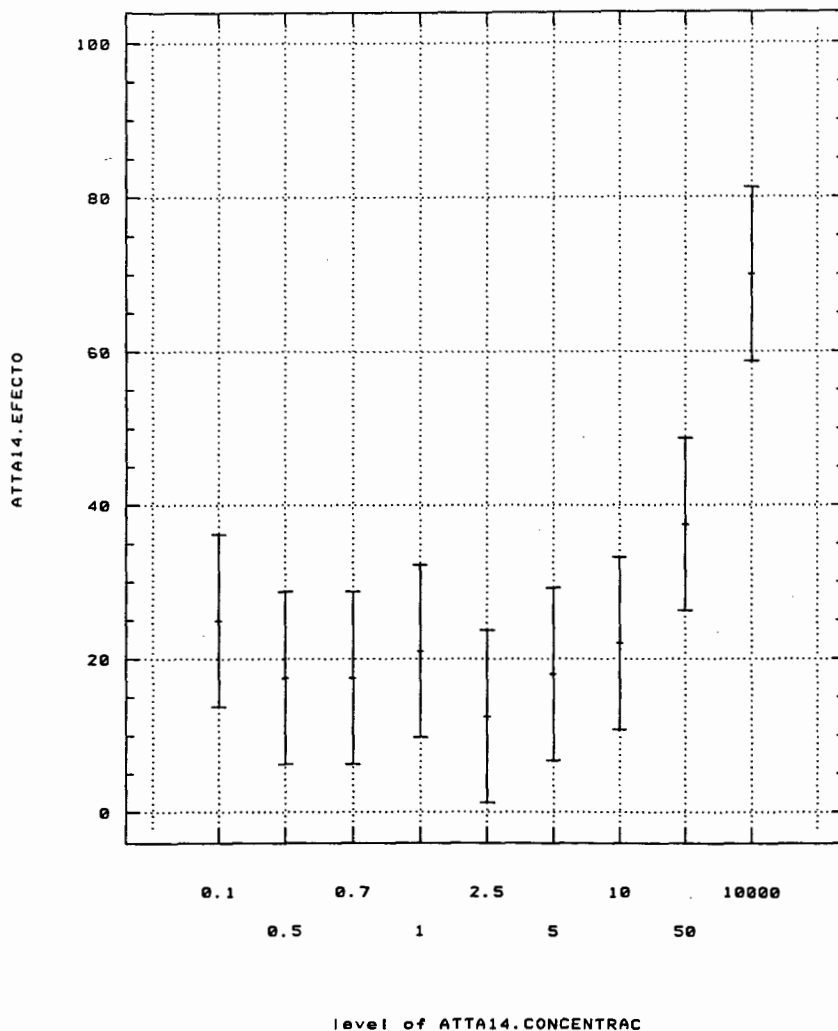
Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos		
2.5	2	12.5000	X		
0.5	2	17.5000	X	X	
0.7	2	17.5000	X	X	
5	2	18.0000	X	X	
1	2	21.0000	X	X	
10	2	22.0000	X	X	
0.1	2	25.0000	X	X	
50	2	37.50000		X	
10,000	2	70.0000			X

F = 6.323 Sig. Level = 0.0061

Duración del efecto.
Gráfica de medias 4-metil-3-heptanol.

95 % LSD

Intervals for Factor Means



V.- 2-metilpirazina.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

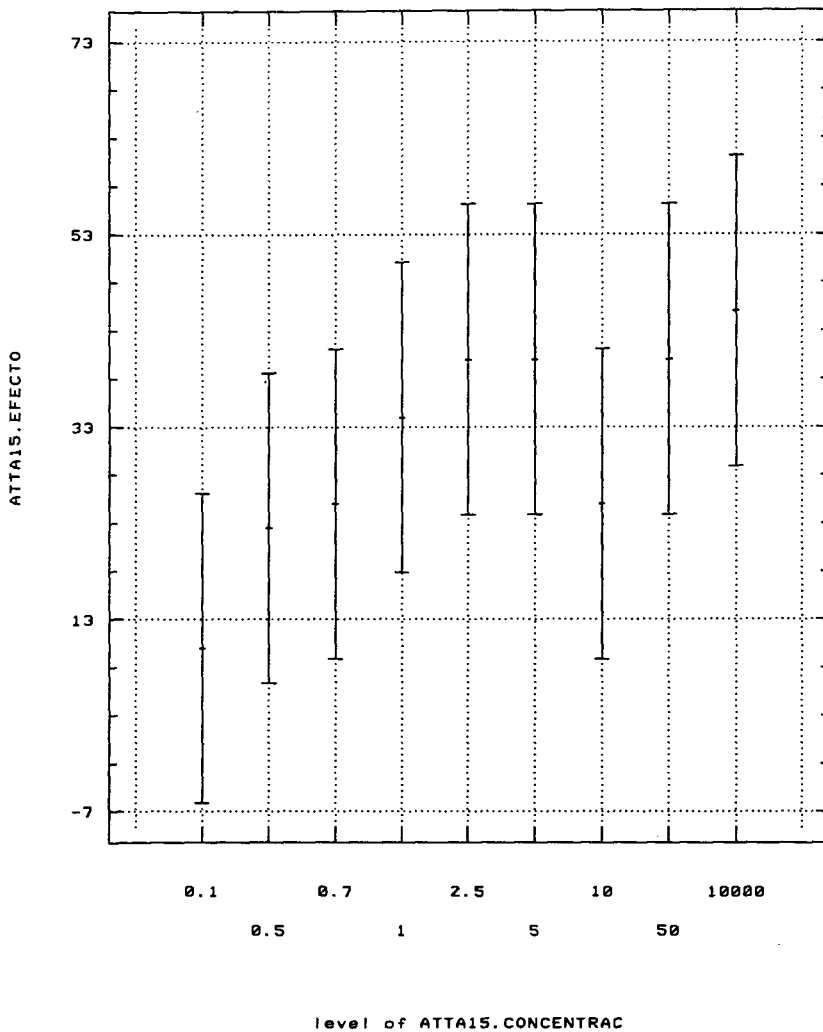
Concentración	No. de pruebas	Media	Grupos homogéneos	
0.1	2	10.0000	X	
0.5	2	22.5000	X	X
0.7	2	25.0000	X	X
10	2	25.0000	X	X
1	2	34.0000	X	X
2.5	2	40.0000	X	X
5	2	40.0000	X	X
50	2	40.0000	X	X
10,000	2	45.0000		X

F = 1.273 Sig. level = 0.3611

**Duración del efecto.
Gráfica de medias efecto 2-metipirazina.**

95 x LSD

Intervals for Factor Means



VI.- 2,5-dimetilpirazina.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

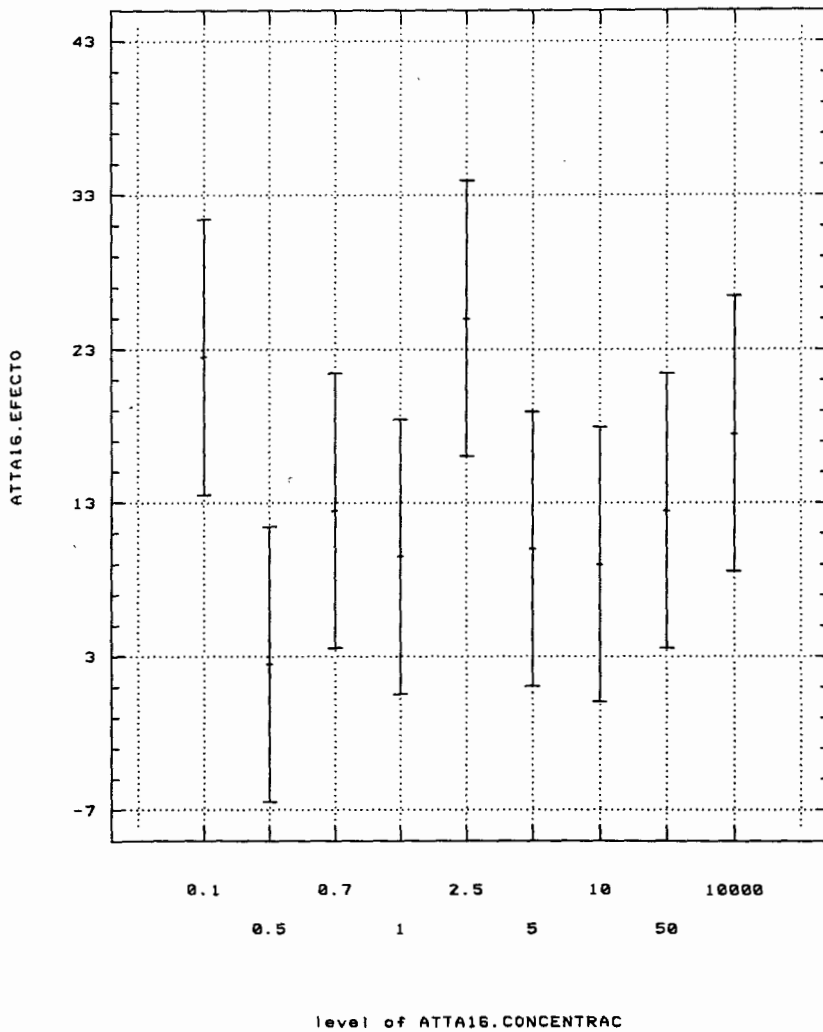
Concentración.	No. de pruebas.	Media	Grupos homogéneos	
0.5	2	2.5000	X	
10	2	9.0000	X	X
1	2	9.5000	X	X
5	2	10.0000	X	X
0.7	2	12.5000	X	X
50	2	12.5000	X	X
10,000	2	17.5000	X	X
0.1	2	22.5000		X
2.5	2	25.0000		X

F = 1.601 Sig.level = 0.2485

Duración del efecto.
Gráfica de medias efecto 2,5-dimetilpirazina.

95 x LSD

Intervals for Factor Means



VII.- 2,3,5-trimetilpirazina.

Método: Diferencia mínima significativa al 95%.

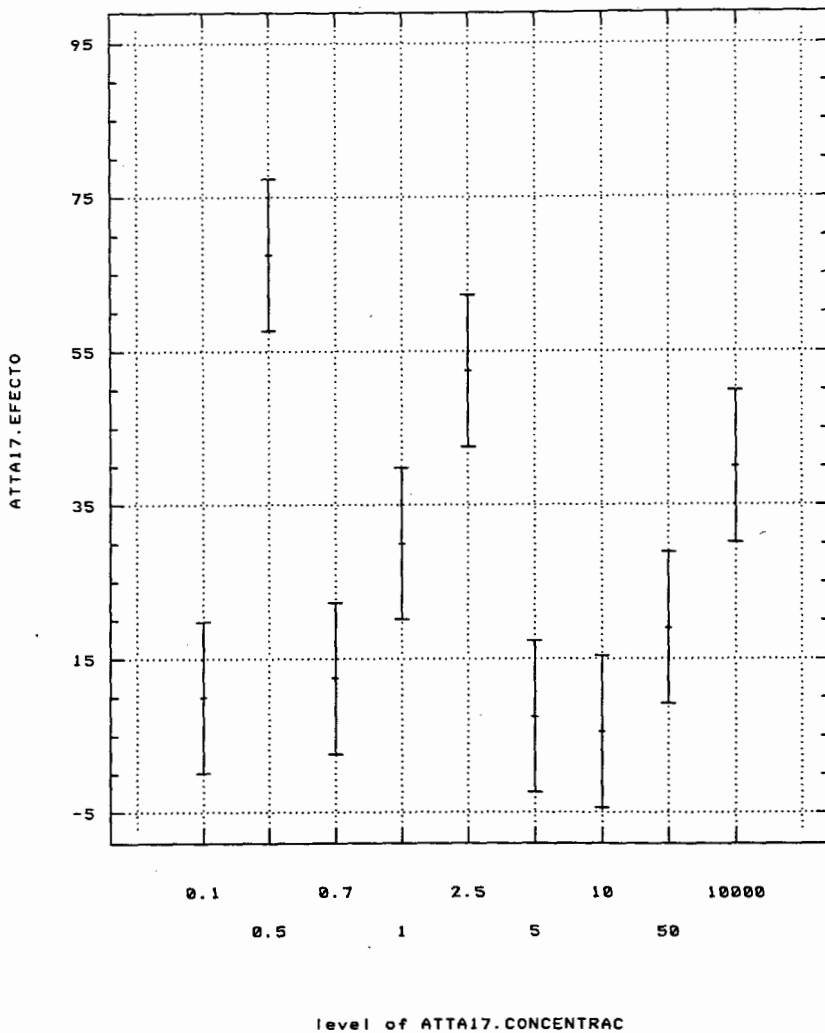
Conc.	No. pruebas.	Media	Grupos homogéneos					
10	2	5.50	X					
5	2	7.5000	X					
0.1	2	10.0000	X					
0.7	2	12.5000	X	X				
50	2	19.0000	X	X				
1	2	30.0000		X	X			
10,000	2	40.0000			X	X		
2.5	2	52.5000				X		
0.5	2	67.5000						X

F = 12.771 Sig.level = 0.0004

Duración del efecto.
Gráfica de medias efecto 2,3,5-trimetilpirazina.

95 x LSD

Intervals for Factor Means



Cuadro VI.

Compuestos que presentaron los promedios máximo y mínimo en las variables de respuesta consideradas.

Respuesta.

	Máximo.	Mínimo.
Compuesto.	3- Decanol	2,5-di-Me-Pzna.
Promedio	11.608	4.694
Diferencia Máx.-Mín	6.914	
Índice Máx/Mín	2.473	

Efecto.

	Máximo.	Mínimo.
Compuesto.	3- Decanol	2,5-di-Me-Pzna.
Promedio	78.220	23.444
Diferencia Máx.-Mín	64.776	
Índice Máx/Mín	5.818	

Cuadro VII.

Diferencia de medias máxima y mínima en las variables de respuesta.

RESPUESTA (minutos).

Compuesto.	Máximo	Mínimo.	Diferencia.
2,3,5-tri-Me-Pzna.	8.5	1.5	7.0
3-Decanona	11.0	0.4	10.6
2-Me-Pzna	12.5	4.0	8.5
2,5-di-Me-Pzna.	12.5	0.75	11.75
4-Me-3-Hpna	17.5	2.0	15.5
4-Me-3-HpnoI.	25.0	4.0	21
3-Decanol	26.66	4.13	22.53

EFFECTO (minutos).

Compuesto.	Máximo	Mínimo.	Diferencia.
2,3,5-tri-Me-Pzna.	67.5	5.5	62
3-Decanona	110	4.5	105.5
2-Me-Pzna	45	10	35
2,5-di-Me-Pzna.	25	2.5	22.5
4-Me-3-Hpna	52.5	7.5	45
4-Me-3-HpnoI.	70	12.5	57.5
3-Decanol	120	40	80

Discusión

Observaciones con el disolvente (control).

El disolvente diclorometano por sí sólo, tuvo un efecto de repelencia con una media en la duración del efecto de aproximadamente 24 minutos. Esto lo coloca en segundo lugar después del compuesto con el promedio de efecto más bajo además de no presentar diferencia mínima significativa respecto a los demás compuestos. Esto hizo tomar la decisión de considerar el efecto del diclorometano prácticamente despreciable. Por otra parte, durante el desarrollo de un experimento, el tiempo transcurrido entre cada aplicación era superior a los 24 minutos y si se considera que no existe interacción entre el disolvente y el compuesto, éste lapso de tiempo es suficiente para permitir la volatilización de gran parte del diclorometano.

Relación concentración-duración de respuesta.

El efecto de repelencia al igual que estados de alboroto o alarma se manifestaron en mayor o menor grado entre las distintas concentraciones de cada compuesto. Sin embargo, no se observa una tendencia de relación lineal entre la concentración y la respuesta generada. A mayores concentraciones no necesariamente se tuvieron mayores tiempos de respuesta. En en las gráficas de medias del análisis estadístico se observa que después de llegar a un máximo en la duración del efecto, al probar una concentración superior a partir de dicho punto se obtienen respuestas de menor duración hasta alcanzar un mínimo relativo.

Patrón de percepción observado.

La duración del efecto está determinado tanto por un límite en la sensibilidad del sistema quimiorreceptor de la hormiga como por la cantidad de moléculas presentes por unidad de volumen en el ambiente. En base al carácter oscilatorio mostrado en las gráficas de medias de respuesta respecto a las concentraciones, cabe sospechar un mecanismo de percepción y capacidad de respuesta regido por umbrales en un intervalo específico de concentración. Más allá de la concentración umbral las manifestaciones de efecto son de menor duración.

Comentario:

Resultaría interesante llevar a cabo otra serie de experimentos ampliando el intervalo de concentraciones de prueba hasta abarcar por lo menos un período por abajo y por encima del intervalo de concentraciones cubierto en el presente trabajo. Esto con la finalidad de ver si existe una manifestación de tipo oscilatorio en la respuesta, en función de las concentraciones. De ser así se podría proponer la presencia de umbrales en distintas regiones de concentración como una estrategia evolutiva para ampliar la cobertura o alcance de los códigos de comunicación química.

Sobre el Anova multivarianza.

Desde un punto de vista práctico en lo que se refiere a control biológico por medio de feromonas, uno de los factores principales a considerar sería la duración del efecto para cierta concentración de compuesto. En el cuadro VI (p.75) se presentan los compuestos con los promedios máximo y mínimo en cada variable de respuesta. Los tiempos máximos de duración del efecto abarcan un intervalo que va desde los 23 minutos para el compuesto que presentó el menor promedio de duración, hasta los 78 minutos correspondientes al máximo. En la tabla de la diferencia mínima significativa del Anova multivarianza (p.45) se aprecia que el 3-decanol fue el único compuesto cuyo promedio lo hace distinto a los restantes en cuánto a la duración de su efecto.

Posición relativa según los promedios máximos de duración.

Como se puede apreciar en el cuadro VI (p.75) los compuestos 2,5-dimetilpirazina y el 3-decanol presentan el máximo y mínimo promedio respectivamente, en ambas variables. Esto da la impresión de una probable correlación entre las variables duración de la respuesta y duración del efecto.

Considerando que estas variables están definidas sobre la misma línea de tiempo (la variable efecto engloba a la variable respuesta) podría pensarse que una respuesta inicial intensa o duradera implicaría una duración del efecto similar. Sin embargo al prestar atención al resto de los compuestos en éste sentido, pueden observarse diferencias en su posición relativa al comparar sus promedios en las variables duración del efecto y duración de la respuesta.

En el cuadro VIII que se muestra a continuación se presenta la posición relativa de cada compuesto en base a los promedios de duración de su efecto:

Cuadro VIII.

Posición relativa de cada compuesto según la duración del efecto para ambas variables de respuesta.

Compuesto.	Respuesta.	Efecto.
*	*	*
2,5-Di-Me-Pzna	7	7
2,3,5-Tri-Me-Pzna	6	4
3-Decanona	5	6
4-Me-3-Hpna	4	3
2-Me-Pzna	3	2
4-Me-3-HpnoI.	2	5
3-Decanol.	1	1

En el cuadro anterior no se observa alguna tendencia uniforme que permita anticipar situaciones esperadas en cuánto a las duraciones de efecto en base a las posiciones observadas inicialmente en respuesta.

Esta aparente falta de correlación fue constatada por medio de un análisis de regresión lineal simple entre duración de respuesta como variable independiente y duración del efecto como variable dependiente. En el cuadro número 8 se presentan los resultados de la regresión. El coeficiente de correlación entre ambas variables resultó ser muy bajo.

Cuadro IX.

Análisis de regresión para la variable duración del efecto en función de la variable duración de la respuesta.

Parámetro.	Estimado.	Error estándar.	Valor T.	Nivel prob.
Intercepto.	11.1488	3.8153	2.9221	0.00411
Pendiente.	3.1570	0.3884	8.1269	0.000

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.5819.

Por lo tanto los valores observados en respuesta son independientes de los correspondientes a efecto y los cambios de posición relativa entre las variables de respuesta no permiten asegurar nada en cuánto a la efectividad del compuesto respecto al tiempo en el sentido de que pueda asegurarse una relación entre los tiempos de la respuesta con los tiempos que habrán de esperarse en el efecto.

Duración de efecto máxima y significancia estadística.

Los valores estadísticos **P** (Sig.-level) establecen la existencia de diferencias entre los efectos de las concentraciones cuando son menores a 0.05. Se puede notar el caso de compuestos como el 3-decanol que a pesar de presentar promedios elevados en la duración de sus efectos no tuvo una diferencia significativa entre sus concentraciones. Tal vez ésta falta de diferencia entre los efectos sea una consecuencia de estar probando dicho compuesto en un intervalo de concentraciones inadecuado para su percepción.

En el cuadro X que se presenta a continuación se resumen las concentraciones de cada compuesto responsables del efecto con mayor duración, así como su valor p del Anova.

Cuadro X.
Concentraciones con mayor duración del efecto y valor P.

Compuesto.	Valor p.	Concentración (ng/mL).	Duración del efecto (min.).
2,5-di-Me-Pzna.	0.2485	2.5	25
2-Me-Pzna.	0.3611	10,000	45
4-Me-3-Hpna.	0.0021	0.1	52.5
2,3,5-Tri-Me-Pzna.	0.0004	0.5	67.5
4-Me-3-HpnoI.	0.0061	10,000	70
3-Decanona.	0.000	5	110.
3-Decanol.	0.7910	1	120.

Sobre los compuestos identificados en *Atta mexicana*.

3-decanona y 4-metil-3-heptanona.

La 4-metil-3-heptanona provocó una actitud de retirada además de un estado de alarma que sugiere la comunicación de una situación de peligro entre las hormigas. La 3-decanona generaba una actitud de hostilidad en las hormigas soldado. La combinación en conjunto de estos efectos proporciona cierto apoyo a la consideración de estos compuestos como feromonas de alarma en la especie *Atta mexicana*.

Las concentraciones de los compuestos identificados en *Atta mexicana* resultaron tener efectos diferentes entre sí desde el punto de vista estadístico. Esto permite establecer conclusiones respecto a concentraciones que interesen en particular en particular. En estos compuestos las concentraciones que promediaron la máxima duración del efecto no son muy altas, correspondiendo a 0.1 ng/mL para 4-Me-3-heptanona y 5 ng/mL para la 3-decanona. Estas concentraciones podrían dar una idea intuitiva acerca de la cantidad promedio de cada una de estas feromonas que se esperaría encontrar por hormiga.

Rutas de evasión.

La formación de una ruta de evasión se manifestó sólo en algunas concentraciones de ciertos compuestos. La perturbación generada en estos casos indujo un cambio en la porción de sendero anteriormente transitada hacia un nuevo camino generalmente paralelo y a escasos 5 centímetros en promedio. Este cambio de trayectoria hacia una posición paralela puede ser indicativo de un efecto de perturbación con un radio de acción de aproximadamente ésta distancia.

Probable sinergismo entre los efectos.

Sin embargo con ninguno de los compuestos se manifestó una barrera infranqueable hacia el objetivo o destino de las hormigas.

Debido a la aplicación de las concentraciones en orden ascendente existe la posibilidad de que los efectos observados sean consecuencia de un sinergismo dado entre los efectos de estas. Es decir, que los efectos sean acumulativos en cuanto a su potencial de perturbación.

Diferenciación de percepción según el sentido (M.S.):

Según sea el sentido de la trayectoria de la hormiga, ésta se encuentra realizando una función específica (ya sea consecución de material de forrajeo o transporte de éste hacia el nido). Debido a la metódica realización de estas dos actividades y suponiendo que existe una codificación diferente a nivel del sistema nervioso según sea el caso podría conjeturarse que dependiendo de la frecuencia en que está programada su actividad la hormiga resulta perturbada en mayor o menor grado por los compuestos bioensayados.

3-decanol, el compuesto con mayor duración de efecto.

De entre todos los compuestos probados éste compuesto presentó la concentración con la mayor duración de efecto. Esta concentración fue la de 1 ng/mL promediando una duración de efecto de 120 minutos. Sin embargo en el Anova correspondiente el valor P (Sig.level) resultante es de 0.7910. Esto descarta una diferencia significativa entre los efectos de las concentraciones. De ésta manera no es posible concluir cuál de las concentraciones de éste compuesto tuvo la mayor duración de efecto ya que estadísticamente todas son iguales.

3.- 3-decanol:

La disminución del número de hormigas sobre el sendero durante la aplicación en serie de éste compuesto sugiere una especie de comunicación de retirada entre las hormigas.

Como caso particular de manifestación extrema se tiene el de la concentración 0.1 ng/mL. Con ella se observaron dentro del marco que define a una respuesta inicial como violenta, con características tales como alarma generalizada, abandono del sendero y desorientación y atolondramiento extremo. Se presentó un caso en que las hormigas que lograban cruzar la cinta se desorientaban a tal grado que se regresaban por el mismo lugar volviendo a cruzar la cinta (ahora en sentido opuesto a la primera vez). Con ésta se observaba un mayor número de cargas tiradas sobre la cinta. El promedio en duración del efecto para la concentración 0.1 ng/mL fue de 61.666 minutos. Sin embargo en uno de los experimentos cuya duración fue de aproximadamente 2 horas, al término de éste se tenían de 15-17 cargas tiradas sobre la cinta. Estas cargas eran soltadas por las obreras al intentar cruzar la cinta, indicando que ésta actividad no ejercía una gran influencia a distancia sino hasta que las hormigas se encontraban sobre el mismo punto de aplicación.

El grupo de las pirazinas.

En el caso particular de la 2,3,5-trimetilpirazina se observó en uno de los experimentos que al siguiente día de llevado a cabo, las hormigas no habían retornado aún a la ruta original, sino que transitaban por la ruta de evasión formada.

Queda la duda acerca de si esto fue debido a un efecto de interrupción mantenido por parte de la pirazina o si el rastro de feromona en el nuevo sendero era lo suficientemente fuerte como para evitar que retomaran el sendero original.

CONCLUSIONES.

I.- Respecto a los compuestos 4-metil-3-heptanona y 3-decanona, identificados en *Atta mexicana*:

* - Se tuvo diferenciación estadística entre las concentraciones que fueron probadas en ambos compuestos.

*.- Las concentraciones con el mayor promedio de duración del efecto fueron las siguientes:

Compuesto.	Concentración.	Duración del efecto.
4-metil-3-heptanona.	0.1 ng/mL	52 minutos
3-decanona	5 ng/mL	110 minutos

*.- Ambos compuestos provocaron estados de alboroto generalizado, y abandono del sendero. Esto concuerda con el efecto que se espera de un compuesto con actividad como feromona de alarma.

II.- Respecto al 4-metil-3-heptanol y el 3-decanol.

*.- De los dos compuestos el 3-decanol fue el que manifestó un efecto más relevante y duradero. Éste fue el compuesto con el mayor promedio de duración del efecto aunque no tuvo una diferencia estadísticamente significativa entre sus concentraciones. Consecuencia probable del reducido tamaño de la muestra o de un intervalo de prueba en las concentraciones, fuera de los límites de percepción para éste compuesto. 4-metil-3-heptanol con efectos intensos pero de corta duración. Acorde también con una actividad como feromona de alarma.

III.- Respecto al grupo de las pirazinas.

* En especial la 2,5-dimetilpirazina tuvo un efecto sostenido para los casos en que se formó una ruta de evasión. Esto resultaría de utilidad para el diseño de sistemas de control biológico con substratos de lenta liberación.

IV.- Respecto al análisis estadístico.

*.- No existe una correlación entre las variables *duración de la respuesta* y *duración del efecto*. Por lo tanto la información obtenida a partir de cada una de ellas se debe considerar de manera independiente.

*.- El comportamiento oscilatorio de las gráficas de medias para cada compuesto respecto a la concentración sugiere la existencia de umbrales límite más allá de los cuales no se aumenta la duración de respuesta con incrementos en la concentración, al menos dentro del intervalo de concentraciones experimentado.

Anexos

ANEXO No.1.

Compuestos químicos clasificados como feromonas de rastro.

Compuesto	Fórmula Molecular	Especie y Referencia
Alcoholes		
4 - Metil -3- heptanol	$C_8H_{18}O$	<i>Leptogenys diminuta</i> (Attygalle et al., 1988)
Aldehidos		
(Z) - 9 - Hexadecanal	$C_{16}H_{30}O$	<i>Iridomyrmex humilis</i> (Cavill et al., 1979, 1980; Von Vorhis Key et al., 1981; Van Vorhis Key y Baker, 1982)
Esteres		
Metil - 6 - metilsalicilato	$C_9H_{10}O_3$	<i>Tetramorium impurum</i> (Morgan y Ollett 1987)
Acidos orgánicos.		
Ácido decanoico	$C_{10}H_{20}O_2$	<i>Lasius fuliginosus</i> (Huwyler et al., 1975)
Ácido dodecanoico	$C_{12}H_{24}O_2$	<i>Lasius fuliginosus</i> (Huwyler et al., 1975)
Ácido heptanoico	$C_7H_{14}O_2$	<i>Lasius fuliginosus</i> (Huwyler et al., 1975)
Ácido hexanoico	$C_6H_{12}O_2$	<i>Lasius fuliginosus</i> (Huwyler et al., 1975)
Ácido nonanoico	$C_9H_{18}O_2$	<i>Lasius fuliginosus</i> (Huwyler et al., 1975)
Ácido octanoico	$C_8H_{16}O_2$	<i>Lasius fuliginosus</i> (Huwyler et al., 1975)
Heterociclos nitrogenados		
2, 5 - Dimetil pirazina	$C_6H_8N_2$	<i>Tetramorium caespitum</i> (Attygalle y Morgan, 1983)
3 - Etil - 2, 5 - dimetil pirazina	$C_8H_{12}N_2$	<i>Atta rubropilosa</i> (Cross et al., 1979) ; <i>A. sexdens</i> (Everhed y Morgan, 1983)

Metil - 4 - metilpirrol - 2 - carboxilato	$C_7H_8O_2$	<i>Acromyrmex octospinosus</i> (Cross et al., 1982); <i>Atta cephalotes</i> (Riley et al., 1974); <i>A. Octospinosus</i> (Cross et al., 1982); <i>A. Texana</i> (Tumlinson et al., 1971)
Monomorina I	$C_{13}H_{25}N$	<i>Monomorium pharaonis</i> (Ritter et al., 1977)
Terpenos		
Faranal	$C_{17}H_{30}$	<i>Monomorium pharaonis</i> (Ritter et al., 1977)

ANEXO No. 2.

Substancias reconocidas como feromonas de alarma, en diversas especies de hormigas.

Compuesto	Fórmula molecular	Especies y Referencia
Alcoholes		
3 - Decanol	$C_{10}H_{22}O$	<i>Myrmica lobicornis</i> (Cammaerts et al., 1983)
4 - Heptanol	$C_7H_{16}O$	<i>Zacryptoceerus varians</i> (Olajo et al., 1980)
1 - Hexanol	$C_6H_{14}O$	<i>Oecophylla longinoda</i> (Bradshaw et al., 1975)
4 - Metil - 3 - heptanol	$C_8H_{18}O$	<i>Pogomyrmex badius</i> (McGurk et al., 1966)
6 - Metil - 5 - hepten - 2 - ol	$C_8H_{16}O$	<i>Iridomyrmex</i> sp. (Blum et al. 1966; Crewe y Blum, 1971); <i>Tapinoma melanocephalum</i> (Tomalski et al., 1987)
3 - Octanol	$C_8H_{18}O$	<i>Myrmica scabrinodis</i> , <i>M. lobicornis</i> , <i>M. rubra</i> , (Cammaerts-Tricot, 1973, 1974b; Morgan et al., 1978; Cammaerts et al., 1981)
Esteres		
Acetato de decilo	$C_{12}H_{14}O_2$	<i>Formica pergandei</i> , <i>F. sanguinea</i> , <i>F. subintegra</i> (Regnier y Wilson, 1971)
Acetato de dodecil	$C_{14}H_{18}O_2$	<i>Formica pergandei</i> , <i>F. sanguinea</i> , <i>F. subintegra</i> (Regnier y Wilson, 1971)
Antranilato de metilo	$C_8H_5NO_2$	<i>Aphaenogaster fulva</i> , <i>Xenomyrmex floridanus</i> (Duffield et al., 1980)
Metil - 6 - metilsalicilato	$C_9H_{10}O_3$	<i>Gnamptogenys pleurodon</i> (Duffield y Blum, 1975)
Acetato de tetradecilo	$C_{16}H_{22}O_2$	<i>Formica pergandei</i> , <i>F. subintegra</i> (Regnier y Wilson, 1971)
Acetato de undecilo	$C_{13}H_{16}O_2$	<i>Formica sanguinea</i> (Regnier y Wilson, 1971)

ANEXO No. 2.

Substancias reconocidas como feromonas de alarma, en diversas especies de hormigas.

Compuesto	Fórmula molecular	Especies y Referencia
Alcoholes		
3 - Decanol	$C_{10}H_{22}O$	<i>Myrmica lobicornis</i> (Cammaerts et al., 1983)
4 - Heptanol	$C_7H_{16}O$	<i>Zacryptocœerus varians</i> (Olbaño et al., 1980)
1 - Hexanol	$C_6H_{14}O$	<i>Oecophylla longinoda</i> (Bradshaw et al., 1975)
4 - Metil - 3 - heptanol	$C_8H_{18}O$	<i>Pogonomymex badius</i> (McGurk et al., 1966)
6 - Metil - 5 - hepten - 2 - ol	$C_8H_{16}O$	<i>Iridomyrmex</i> sp. (Blum et al. 1966; Crewe y Blum, 1971); <i>Tapinoma melanocephalum</i> (Tomalski et al., 1987)
3 - Octanol	$C_8H_{18}O$	<i>Myrmica scabrinodis</i> , <i>M. lobicornis</i> , <i>M. rubra</i> , (Cammaerts-Tricot, 1973, 1974b; Morgan et al., 1978; Cammaerts et al., 1981)
Esteres		
Acetato de decilo	$C_{12}H_{24}O_2$	<i>Formica pergandei</i> , <i>F. sanguinea</i> , <i>F. subintegra</i> (Regnier y Wilson, 1971)
Acetato de dodecil	$C_{14}H_{28}O_2$	<i>Formica pergandei</i> , <i>F. sanguinea</i> , <i>F. subintegra</i> (Regnier y Wilson, 1971)
Antranilato de metilo	$C_8H_5NO_2$	<i>Aphaenogaster fulva</i> , <i>Xenomymex floridanus</i> (Duffield et al., 1980)
Metil - 6 - metilsalicilato	$C_9H_{10}O_3$	<i>Gnamptogenys pleurodon</i> (Duffield y Blum, 1975)
Acetato de tetradecilo	$C_{16}H_{32}O_2$	<i>Formica pergandei</i> , <i>F. subintegra</i> (Regnier y Wilson, 1971)

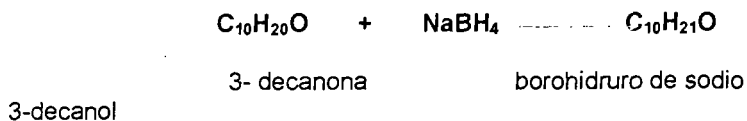
Acetato de undecilo	$C_{13}H_{16}O_2$	<i>Formica sanguinea</i> (Regnier y Wilson, 1971)
Hidrocarburos		
n - Decano	$C_{10}H_{22}$	<i>Formica rufa</i> (Löfqvist, 1976)
n - Undecano	$C_{11}H_{24}$	<i>Acanthomyops claviger</i> (Regnier y Wilson, 1968), <i>Camponotus ligniperda</i> (Bergström y Löfqvist)
Compuestos sulfurados		
Dimetil disulfuro	$C_2H_6S_2$	<i>Paltothyreus tarsatus</i> (Casnati et al., 1967)
Dimetil trisulfuro	$C_2H_6S_3$	<i>Paltothyreus tarsatus</i> (Casnati et al., 1967)
Terpenos		
Citral	$C_{10}H_{16}O$	<i>Acanthomyops claviger</i> (Chadha et al., 1962); <i>Atta rubropilosa</i> (Butenandt et al., 1959)
2, 6 - Dimetil - 5 -heptanal	$C_9H_{16}O$	<i>Acanthomyops claviger</i> (Regnier y Wilson, 1968)
2, 6 - Dimetil - 5 - hepten - 1 - ol	$C_9H_{18}O$	<i>Acanthomyops claviger</i> (Regnier y Wilson, 1968); <i>Lasius alienus</i> (Law et al., 1965; Regnier y Wilson, 1969)
Geraniol	$C_{10}H_{18}O$	<i>Cataglyphis</i> spp. (Hefetz, 1985); <i>Oecophylla longinoda</i> (Bradshaw et al., 1975)
Limoneno	$C_{10}H_{16}$	<i>Myrmecaria natalensis</i> (Quilico et al., 1960)
Nerol	$C_{10}H_{18}O$	<i>Oecophylla longinoda</i> (Bradshaw et al., 1975)
Aldehidos		
2 - Butil - 2 - octenal	$C_{12}H_{22}O$	<i>Oecophylla longinoda</i> (Bradshaw et al., 1975)
Hexanal	$C_6H_{12}O$	<i>Oecophylla longinoda</i> (Bradshaw et al., 1975)
2 - Hexanal	$C_6H_{10}O$	<i>Crematogaster</i> (Atopogyne) sp. (Blum et al., 1969)

ANEXO No.3

a).- Síntesis química del 3-Decanol.

Reducción de la 3-decanona a 3-decanol por medio de borohidruro de sodio, como agente reductor.

Ecuación química:



Se disuelve el borohidruro de sodio (0.2421 g, 6.399 mmol) con etanol al 95 % (10 mL) con agitación continua.

Se adicionan gota a gota 3 mL (2.500 g, 15.998 mmol) de 3 - decanona a la solución de borohidruro de sodio.

En una campana de extracción, se agregan 10 mL de una solución de ácido clorhídrico 3 M a la mezcla.

Se adiciona agua destilada (10 mL) y se realiza una extracción con 3 lavados de 10 mL de diclorometano cada uno.

Se agrega un poco de sulfato de sodio anhidro al final para eliminar el agua que pudo haber quedado en la mezcla.

Filtrar y concentrar con rotaevaporador.

Una vez concentrado el compuesto se inyecta al equipo CG-EM para su análisis y verificación.

Observaciones:

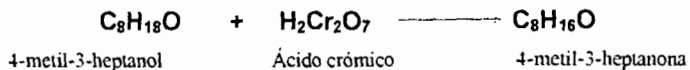
Al agregar la 3-decanona al disolución de borohidruro de sodio se formó un precipitado de color blanco.

La adición se llevó a cabo en un período aproximado de 60 minutos. Una vez completada la adición , se dejó la mezcla agitando por 15 minutos más para asegurar la terminación de la reacción.

b).-Síntesis química del 4-metil-3-heptanona.

Oxidación de 4 - metil - 3 - heptanol por medio de Ácido crómico.

Ecuación química:



Para preparar la 4 - metil - 3 - heptanona se siguió la técnica de Jones, la cual consiste en oxidar un alcohol secundario con ácido crómico para producir la respectiva cetona de ese alcohol.

Procedimiento:

Preparación del ácido crómico:

Se disolvió $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (3.22 g, 10.946 mmol) en 13.4 mL H_2O y se agregaron gota a gota 2.40 ml de H_2SO_4 concentrado.

Preparación de la cetona:

En un matraz balón de 250 mL se colocó acetona (10 mL) y se le agregó 2 mL de 4 - metil - 3 - heptanol (1.66 g, 12.75 mmol) y se puso el sistema con agitación. Se comenzó a gotear el ácido crómico hasta tener una mezcla de color amarillo y un precipitado de color verde pardo, lo que nos indicaba que la reacción había concluido.

Después la mezcla anterior se neutralizó con 75 mL de una solución de carbonato de sodio al 5 %. Una vez neutralizada la solución se filtró y se hizo una extracción, la extracción se realizó con diclorometano. En una pera de separación se hicieron 3 lavados con 25 mL cada uno de diclorometano, una vez separado el extracto se le agregó un poco de sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua que pudiera haber contenido el extracto y nuevamente se volvió a filtrar. El extracto obtenido se puso en un rotavapor para concentrarlo.

BIBLIOGRAFIA.

1. Bestmann H.J., Janssen E., Kern F., Liepold B., (1995).

All trans Geranylgeranyl acetate and Geranylgeraniol, recruitment pheromone components in the Dufour gland of the ponerine ant *Ectatomma ruidum*.

Naturwissenschaften 82,334-336

2. Bestmann H.J., U: Haak, F: Kern, (1995).

2,4-dimethyl-5-hexanolide, a trail pheromone component of the carpenter ant, *Camponotus herculeanus*.

Naturwissenschaften 82, 142 – 144.

3. Bradshaw J.W.S., P.E. Howse and R. Baker. Anim. Behave., 1986.

A novel autostimulatory pheromone regulating transport of leaves in *Atta cephalotes*.

Animal Behaviour., 34,234-240.

4. Bursell E.

Introducción a la fisiología de los insectos.

Editorial Alhambra. 1987; 104-139.

5. Cibrián Tovar David, Campos Bolaños Rodolfo, J. Tulio Mendez Montiel, Harry O. Yates III, Jaime Flores Lara .

Insectos forestales de México. 1990; 203-205.

6.- Collins Wheat G.

El mundo de las hormigas.

7.- Cherrett JM, 1980.

Possible reasons for the mutualism between leafcutting ants (Hymenoptera: Formicidae) and their fungus.

Biol. Ecol. mediterraneenne 7: 113-122.

8.- Do Nascimento Ruth R., E.D.Morgan, 1994.

Trail pheromone of leaf-cutting ant *Acromyrmex subterraneus subterraneus*

Journal of Chemical Ecology. Vol.20.No7.

9.- Do Nascimento Ruth R., E.D. Morgan, 1997.

Absolute configuration of 4-methyl-3-heptanol from mandibular glands of virgin males and females of *Atta sexdens rubropilosa*.

Journal of Chemical Ecology., Vol. 23 No. 6, 1997.

10. Domingo Lazaro de Arregui.

Descripción de la Nueva Galicia, Estudio preliminar de Francois Chevalier.

Presentación a la edición mexicana por Carmen Castañeda

Editorial del gobierno del Edo. de Jalisco, Guadalajara, Jalisco, México, 1980.

p.104.

11.-Harborne J.B., 1991.

Introduction to ecological biochemistry.

Fourth edition. University of Reading, UK.

12. Hölldobler B. and Wilson,

E.O.Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1990.

The ants.

13. Henrique Caetano Flavio, 1994

Anais do VII encontro de mirmecologia do estado de Sao Paulo.

UNESP - FAPESP - CNPQ.

14.Hubbell SP,Wiemer DF, 1983.

Host plant selection by an attine ant.

In: Jaisson P (ed) . Social insects in the tropics, Vol 2, Univ of Paris, Press.

14.- Jonkman J.C.M., 1980.

Internal and external structure and growth of nests of the leaf-cutting ant *Atta vollenweideri* Forel, 1893 (Hym.:Formicidae).

Sonderdruck aus Bd. 89, H. 3, S. 217-246.

15.- Jutsum and Gordon. 1989.

Insect pheromones in plant protection.

Edited by Editorial John Wiley and sons; 349-415.

16. Krebs J.R., N.B.Davies, 1990.

An introduction to behavioural Ecology.

Third edition; 234-268.

17. Kamezawa Makoto, Takao Raku, Hojun Tachibana, 1994.

Preparation of both the enantiomers of 3-Octanol, the pheromone of various species of ants, by enantioselective hydrolysis with *Pseudomonas cepacia* Lipase.

Biosci. Biotech. Biochem. 58 (3), 598 – 599.

18 Konopski, Leszek.

Determination of double bond positions in in polyunsaturated insect pheromones by electron impact mass spectrometry.

Pestycydy, 1994,(1),13-24

19. Mintzer A., 1979.

Foraging activity of the mexican leaf-cutting ant *Atta mexicana* (F.Smith) in a Sonoran desert habitat (Hymenoptera:Formicidae).

A. Insectes sociaux, Paris, Vol.26, num.4, pp. 364-372.

20. Murray S. Blum, 1990.

Fundamentals of insect physiology.

John Wiley and Sons; 333-353.

21. Oberlander H., 1989.

Hormonal action during insect development.

Agricultural Research Service. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76

22. Oldham N.J., E.D. Morgan, B. Gobin and J. Billen. *Experientia* 50 (1994),

First identification of a trail pheromone of an army ant (*Aenictus* species).

Birkhäuser Verlag, CH-4010 Basel/Switzerland.

23. Pescador Alfonso, 1980.

Las hormigas arrieras.

Naturaleza 5 / 80, pp 278 - 290,

24. Riley R.G., Silverstein R.M., 1974.

Methyl 4-methylpyrrole-2-carboxylate, a volatile trail pheromone from the leafcutting ant *Atta cephalotes*.

J. Insect. Physiol. 20:651-654.

25. Riley R.G., Silverstein R.M. and J.C. Moser. J., 1974.

Isolation, identification, synthesis and biological activity of volatile compounds from the heads of *Atta* ants.

Insect. Physiol., Vol. 20, pp. 1629-1637.

26. Robert A. Raguso, Douglas M. Light, Eran Pickersky, 1996.

Electroantennogram responses of *Hyles lineata* (Sphingidae:Lepidoptera) to volatile compounds from *Clarkia breweri* (Onagraceae) and other moth-pollinated flowers.

Journal of Chemical Ecology, Vol.22, No.10.

27. Salzemann A., P. Nagnan, F. Tellier, K. Jafee, 1992

Leaf - cutting ant *Atta laevigata* (Formicidae: Attini) marks its territory with colony specific Dufour gland secretion.

Journal of Chemical Ecology, vol. 18 No. 2.

28. Tomalski M.D., M. S. Blum, T. H. Jones, H. M. Fales, D. F. Howard, L. Passera.

Chemistry and functions of exocrine secretions of the ants.

Journal of Chemical Ecology, vol. 13, No. 2.

29.- Ubler E., F.Kern,H.J.Bestmann,B.Hölldobler,1995.

Trail pheromone of two Formicine ants, *Camponotus silvicola* and *C.rufipes* (Hymenoptera: Formicidae).

Naturwissenschaften 82, 523-525.

30. Valdéz V., De la Torre A., 1997.

Identificación y síntesis de feromonas en la hormiga *Atta mexicana*."

Tesis Ingeniería Química. Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. Universidad de Guadalajara.

31. Wilson Edward., 1971.

Castes: Ants. The insect societies.

The Belknap press of Harvard University Press. Cambridge, Mass. and London, England.

32. Wilson, Edward., 1963.

Feromonas.

Scientific American, May., 1963. pp.145-155.

33. Wilson Edward O., 1984.

Biophilia.

Edited by the President and Fellows of Harvard College, Cambridge.

Edición en español, Fondo de Cultura Económica.

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS.

C.
**PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION DE LA
LICENCIATURA EN BIOLOGIA
PRESENTE.**

Por éste conducto me permito poner a su consideración mi propuesta de trabajo

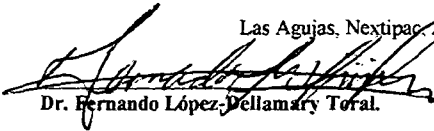
de titulación denominado: " Bioensayo de sustancias identificadas en la hormiga Atta mexicana, reportadas como feromonas de alarma en otros géneros de hormigas".

el cual se anexa para que sea turnado al Comité de Titulación de ésta dependencia para su revisión y en su caso aprobación.

Así mismo pongo a su consideración al **Dr. Fernando López-Dellamary Toral** como Director del trabajo . Y como asesor (opcional) a:

ATENTAMENTE

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal. , de 199


Dr. Fernando López-Dellamary Toral.


Dalmiro García Nava.

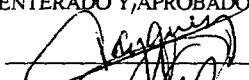

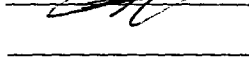
Vo.Bo. Director (a) propuesto(a).

Alumno (a).


Asesor (a).

Dr. Humberto Gutiérrez Pulido

Exclusivo Comité de Titulación.

SINODALES	FIRMA DE ENTERADO Y, APROBADO.	FECHA.
1 Dr. Marcelino Vázquez García.		15/10/97
2 Ing. Eleno Félix Fregoso		19/NOV/97
3 Ing. Hilda Cuevas		13/NOV/1997
Suplente. _____	_____	_____

C.

PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION DE LA
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
P R E S E N T E.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo
revisado el trabajo de titulación que realizó el (la) pasante Dalmiro García Nava

_____ con el título:
"Bioensayo de substancias identificadas en el hormiga Atta mexicana, reporta-
das como feromonas de alarma en otros géneros de hormigas"

consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el
escrito final para autorización de impresión y en su caso programación de fecha de presentación y
defensa del mismo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva dar a
la presente y aprovechamos la ocasión para enviarte un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jal., 13 de Julio

de 1998.

Director(a) del Trabajo

Asesor(a)

Dr. Fernando López-Dellamary Toral



Dr. Humberto Gutiérrez Pulido

SINODALES

1. Dr. Marcelino Vázquez García
2. Ing. Eleno Félix Fregoso
3. Ing. Hilda Cuevas
4. _____

