

Light pulses flashed to *Atta cephalotes* face for control in fruit trees

Pulsos de luz en la cara de hormigas *Atta cephalotes* para control en frutales

Federico Hahn-Schlam; Claudia Bolaños-Sánchez

¹Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5. Chapingo, Texcoco, Estado de México, C. P. 56230, MÉXICO.

*Corresponding author: fedhahn@gmail.com

Abstract

Introduction: Worker ants follow paths to feed their nest and their eyes require to adapt themselves under light intensity variations.

Objective: Study the effect of different illumination techniques in a trail and force ants to change of trajectory before feeding from a tree.

Methodology: Ants walking through a trail were illuminated by one of three different ways: light fed from the top L300 arrays, light reflected by a mirror or by a precise eye flashing system. Frequency, pulse-width and light intensity were controlled studying as variables collision, adaptation time and recovery time.

Results: The precise illuminator at 300 lx never damaged the ant visual system. As it was increased to 900 lx the forerunner ant collided and presented adaptation problems up to 1169 s. It was pushed to the trail end by another ant. When two ants collided they finished returning to the trail entrance.

Study limitations: The reflected mirror system is useful at laboratory level, but its application is dependent on ant size and speed.

Originality: The system was able to determine a lightning system to ensure that ants do not climb fruit trees. L300 arrays are economic and practical to optimize its use in field.

Conclusions: Light affects ants as they travel through the trail. A L300 array placed horizontally at the trail-end, diverted ants' direction from the main path in all the tests. It is dependent on light intensity, frequency and pulse-width.

Keywords: fruit tree ant control, *Atta cephalotes*, precise-LED stimulation, dark-adaptation.

Resumen

Introducción: Las hormigas obreras siguen caminos para abastecer su nido y sus ojos necesitan adaptarse a las variaciones en la intensidad de la luz.

Objetivo: Estudiar el efecto de diferentes técnicas de iluminación en un trayecto para obligar a las hormigas a cambiar de ruta antes de llegar al árbol.

Metodología: Se alumbró de tres formas distintas a hormigas mientras recorren un trayecto: luz emitida por matrices L300 superiores, luz reflejada por un espejo o luz emitida por un sistema de destello ocular preciso. La frecuencia, duración del pulso e intensidad de la luz se evaluaron mediante la colisión, el tiempo de adaptación y el tiempo de recuperación.

Resultados: La iluminación a 300 lx no dañó el sistema visual de la hormiga. Al aumentarlo a 900 lx, la hormiga líder chocó, presentó problemas de adaptación hasta por 1169 s y fue empujada por otra hormiga hasta el final del camino.

Limitaciones del estudio: El sistema de espejo reflectante es útil a nivel de laboratorio, pero su aplicación depende del tamaño de la hormiga y su velocidad.

Originalidad: El estudio permitió determinar un sistema de iluminación para evitar que las hormigas suban a los árboles frutales. Las matrices L300 son económicas y prácticas para optimizar su uso en campo.

Conclusiones: La luz afecta a las hormigas en su recorrido. La matriz L300 colocada horizontalmente al final del camino desvió a las hormigas del camino principal en todas las pruebas. La intensidad de la luz, frecuencia y duración del pulso son determinantes.

Palabras clave: control de hormigas de frutales, *Atta cephalotes*, estimulación LED, adaptación a la oscuridad.



Introduction

Worker ants follow paths towards the foraging site and return to their nest with the food collected after establishing bidirectional trails (Strömbom & Dussutour, 2018). *Atta cephalotes* ants bring leaves, buds and flowers back to their nest to cultivate symbiotic fungus, causing orchard losses of billions of dollars (Hölldobler & Wilson, 1990). Leaf-cutting *Atta sexdens* ants can occupy a 6-year-old nest that weighs 40,000 kg, and a colony with such dimensions can collect more than 5892 kg of leaves (Wilson, 1971). *Atta* ants feed from plant biomass at rates up to 500 kg-colony⁻¹·year⁻¹ (Wirth et al., 2003), and defoliated 20 coffee bushes during one night, killing them at Costa Rica (Varón et al., 2007). An *Atta* colony produced sugar cane losses of 3.6 t·year⁻¹ in Brazil (Della-Lucia, 2003). Ants also feed from stem wounds at avocado trees causing infections (El-Hamalawi & Menge, 1996). *A. cephalotes* increased its foraging activity with temperatures up to 35 °C (Bustamante & Amarillo-Suárez, 2019), but climate changes killed the weeds in the soil. Therefore, to survive ants have to feed from green-leaves available at fruit trees.

In an experiment carried out at Cali, Colombia, there was a marked preference of the ants for foraging continuously of mango foliage being their herbivory rate above 90 % (Rodríguez et al., 2008). Young plants are usually totally defoliated, the damage resembling pruning, whereas in mature plants, often only young leaves are removed. Scars, resembling those made with a knife, are frequently left on green parts of the plant stem.

Traffic of *Atta cephalotes* workers is well described by the modified fluid-dynamic model (Burd et al., 2002). Forage ant rules optimize their movement, and their speed decreases by 21 % due to the number of collisions within the traffic lines (Burd et al., 2002). At night *Myrmecia* ant walking speed decreased by 55 %, as their visual landmarks became less reliable (Narendra et al., 2013). Environmental conditions such as temperature (Jayatilaka et al., 2011), rain (Farji-Brener et al., 2018) and wind (Alma et al., 2016) also affect ant walking speed.

Ant trails are marked chemically with pheromones secreted from ants' glands and having different odor cues. Higher pheromone concentrations indicate higher quality of foraging patches (Wirth et al., 2003). Leaf fragments transported by the ants can help us find the main mound in one extreme and the tree where the leaves were cut in the other extreme. *Atta* ants have the habit of cutting and transporting various plant fragments to their underground nests for cultivating the fungus *Leucoagaricus* sp. (Valmir et

Introducción

Las hormigas obreras siguen caminos hacia el lugar de forrajeo y regresan a su nido con la comida recolectada después de establecer caminos bidireccionales (Strömbom & Dussutour, 2018). Las hormigas *Atta cephalotes* trasladan hojas, capullos y flores a su nido para cultivar hongos simbióticos, lo cual provoca pérdidas en los huertos que ascienden a miles de millones de dólares (Hölldobler & Wilson, 1990). Las hormigas *Atta sexdens* cortadoras de hojas pueden ocupar un nido durante 6 años, con un peso de 40 000 kg; una colonia de tales dimensiones puede recolectar más de 5892 kg de hojas (Wilson, 1971). Las hormigas *Atta* se alimentan de biomasa vegetal a tasas de hasta 500 kg-colonia⁻¹·año⁻¹ (Wirth et al., 2003). En Costa Rica, estas defoliaron y acabaron con 20 arbustos de café durante una noche (Varón et al., 2007), y en Brasil, una colonia *Atta* produjo pérdidas de 3.6 t·año⁻¹ en caña de azúcar (Della-Lucia, 2003). Las hormigas también se alimentan de las heridas del tallo en los árboles de aguacate, lo cual causa infecciones (El-Hamalawi & Menge, 1996). Las hormigas *A. cephalotes* aumentan su actividad de forrajeo con temperaturas de hasta 35 °C (Bustamante & Amarillo-Suárez, 2019), pero los cambios climáticos han acabado con la maleza del suelo; por ello, las hormigas se tienen que alimentar de las hojas verdes disponibles en los árboles frutales para poder sobrevivir.

En un experimento realizado en Cali, Colombia, se observó una preferencia destacada de las hormigas por buscar alimento en el follaje del mango, con un índice de herbivoría superior al 90 % (Rodríguez et al., 2008). Las plantas jóvenes suelen quedar totalmente defoliadas, por lo que el daño se asemeja a la poda, mientras que, en plantas maduras, con frecuencia solo se eliminan las hojas jóvenes, y a menudo quedan cicatrices, parecidas a las que se hacen con un cuchillo, en las partes verdes del tallo de la planta.

El tráfico de las hormigas obreras *Atta cephalotes* se describe mediante el modelo fluidodinámico modificado (Burd et al., 2002). Las reglas de las hormigas forrajeras optimizan su movimiento, y su velocidad disminuye en un 21 % debido al número de colisiones dentro de las líneas de tránsito (Burd et al., 2002). Por la noche, la velocidad de desplazamiento de las hormigas *Myrmecia* disminuye 55 %, ya que sus puntos de referencia visuales son menos fiables (Narendra et al., 2013). Las condiciones ambientales como la temperatura (Jayatilaka et al., 2011), la lluvia (Farji-Brener et al., 2018) y el viento (Alma et al., 2016) también inciden en la velocidad de desplazamiento de las hormigas.

Los caminos de las hormigas están marcados químicamente con feromonas, con distintos olores, segregadas por sus glándulas. Una concentración elevada

al., 2004). As this fungus is the only food source for the larvae of cutting ants, they must cultivate it with leaves rich in water, nitrogen, and phosphorus but low in fiber and manganese (Rodríguez et al., 2008). Leaf transfer is a leafcutter ant task in which foragers return leaf fragments to the nest. This process can be direct when the leaf is passed from one ant to another immediately, or indirect when an ant drops a leaf along the trail for another ant to pick it up later (Kwaku et al., 2020). As leaves are transferred, ants deposit pheromones, preventing them from getting lost (Cevallos-Dupuis & Harrison, 2017). A bigger use of energy during trunk movement increases forage direct transfer avoiding that an ant falls down from an entire tree while carrying a leaf (Norton et al., 2014). *A. cephalotes* move faster over fallen branches than on ground, but more slowly ascending or descending a branch (Freeman & Chaves-Campos, 2016).

Atta cephalotes control has been studied for many years. The most efficient leaf-cutting ant control method are baits having sulfluramid presenting low toxicity to humans and other organisms (Britto et al., 2016). However, it has been considered as a Persistent Organic Pollutant (Mota-Filho et al., 2021). Filamentous fungus, virulent to the ant symbiotic fungus, can show synergistic effect on the sulfluramid (Carlos et al., 2010). Compostable material (leaf litter, poultry manure, molasses, and yeasts) was introduced to the ant nests and after three months the percentages of dead nests were 26.5 % (Armbrecht et al., 2013).

Ants active during day and night, require to adapt themselves to light intensity variations. Low sensitivity apposition eyes of nocturnal ants (Narendra et al., 2013) have larger lenses and wider photoreceptors than diurnal ants. Ant photoreceptors in day-active species have a diameter of 1.3 μm , four times smaller than photoreceptors in night-active species (Greiner et al., 2007). With night orientation pauses, more photons are captured through a larger integration time (Greiner et al., 2007). Each apposition eye, contains several ommatidial-lens units, which capture light, and a crystalline cone that funnels light onto a photosensitive structure called rhabdom (Narendra et al., 2017). Each rhabdom contains the pigment rhodopsin that absorbs light and converts it into an electrical signal (Warrant, 2017). Light-pulses reach ant eyes before being converted into membrane potential as bumps (Frolov, 2016). Photoreceptors in night-active ant *M. vindex* present three spectral sensitivities with peaks at 370, 430 and 550 nm (Ogawa et al., 2015). Red light applied with headlamps during nocturnal observation don't disturb worker ant vision (Röschard & Roces, 2011).

Researchers analyze ant movement by filming sections of the principal trail with digital camcorders (Couzin & Franks, 2003; Narendra et al., 2013). Several monitoring

de feromonas indica una mejor calidad de los puntos de forrajeo (Wirth et al., 2003). Los fragmentos de hojas transportados por las hormigas pueden ayudarnos a encontrar el montículo principal en un extremo y en el otro el árbol donde cortaron las hojas. Las hormigas *Atta* suelen cortar y transportar diversos fragmentos de plantas a sus nidos subterráneos para cultivar el hongo *Leucoagaricus* sp. (Valmir et al., 2004). Debido a que dicho hongo es la única fuente de alimento para las larvas de estas hormigas cortadoras, lo deben cultivar con hojas ricas en agua, nitrógeno y fósforo, pero bajas en fibra y manganeso (Rodríguez et al., 2008). Las hormigas cortadoras tienen la tarea de recolectar y llevar fragmentos de hojas al nido. Este proceso puede ser directo, cuando la hoja pasa de una hormiga a otra inmediatamente, o indirecto, cuando una hormiga deja caer una hoja a lo largo del camino para que otra hormiga la recoja posteriormente (Kwaku et al., 2020). A medida que las hojas se trasladan, las hormigas depositan feromonas, para evitar perderse (Cevallos-Dupuis & Harrison, 2017). Un mayor consumo de energía durante el desplazamiento en el tronco aumenta el traslado directo del forraje, lo cual evita que una hormiga caiga del árbol al transportar una hoja (Norton et al., 2014). *A. cephalotes* se mueve más rápido sobre las ramas caídas que en el suelo, pero con mayor lentitud al ascender o descender de una rama (Freeman & Chaves-Campos, 2016).

El control de *Atta cephalotes* se ha estudiado durante muchos años. El método de control más eficaz es el cebo con sulfluramida, el cual presenta baja toxicidad para humanos y otros organismos (Britto et al., 2016). Sin embargo, se ha considerado como un contaminante orgánico persistente (Mota-Filho et al., 2021). El hongo filamentoso, que actúa como virulento del hongo simbiótico de la hormiga, puede mostrar un efecto sinérgico sobre la sulfluramida (Carlos et al., 2010). También, se ha introducido material compostable (hojarasca, gallinaza, melaza y levaduras) en los nidos de las hormigas, y después de tres meses el porcentaje de nidos muertos fue de 26.5 % (Armbrecht et al., 2013).

Las hormigas activas durante el día y la noche necesitan adaptarse a las variaciones de intensidad luminosa. Los ojos de aposición de baja sensibilidad de las hormigas nocturnas (Narendra et al., 2013) tienen lentes más grandes y fotorreceptores más anchos que las hormigas diurnas. Los fotorreceptores de las hormigas diurnas miden 1.3 μm , y son cuatro veces más pequeños que los fotorreceptores de las especies nocturnas (Greiner et al., 2007). Con las pausas de orientación nocturna se captan más fotones gracias a un mayor tiempo de integración (Greiner et al., 2007). Cada ojo de aposición contiene varias unidades de lentes ommatidiales que captan la luz y un cono cristalino que canaliza la luz hacia una estructura fotosensible llamada rhabdoma (Narendra et al., 2017). Cada rhabdoma contiene el pigmento rodopsina, que absorbe la luz y la convierte en una

systems and pest traps interrupt a LED or laser beam, and the detector signal triggers a time counter (Balla et al, 2020; Eliopoulos et al., 2018). When ants walk through two parallel lanes, the system requires of a laser reflective system with the sensor and detector in the same side (Brydegaard, 2015). The critical fusion frequency (CFF) is the threshold at which an insect cease to perceive a flickering light source as a series of flashes, but rather as a continuous stream of light (Inger et al., 2014). Most diurnal insects as honeybees and fruit flies have CFF values greater than 100 Hz (Barroso et al., 2015). Photoreceptors are damaged by high intensity flickering lights (Meyer-Rochow, 2002).

Regardless of the large amount of physiological research that has been done to understand how ants guide themselves towards their feeding site, this experimental work studies the possibility of using LED lightning as boundary control to divert ants from fruit trees. We suppose that ant speed changes under strobe-light LED stimulation at different frequencies. How can a control-illumination system apply pulse-beams to ant-eye with 100 % certainty and how will ants respond? A double trail having bifurcated lanes evaluated if ants changed their main traffic lane when pulsed illumination was applied at the trail end.

Materials and methods

Traffic of *Atta cephalotes* ants was studied at a mango orchard located at Loma Bonita, Guerrero (17° 25' 47" LN y -101° 11' 19" LW, 17 m a. s. l.). Experiments were carried out during October 2019 just after the raining season in this subtropical arid region. Mature ant colonies that contained 10⁵ workers approximately, foraged nocturnally at mango trees located 30 m away from their nest.

A variable wide (10-60 cm) ant trail was installed beneath a tree trunk and was covered by a smooth soil surface. Four 30-cm long linear arrays (L300, SmartVisionLight, USA), with 12 high-intensity LEDs each, were used to illuminate the trail. L300 LED linear arrays were installed in the top of the artificial trail to study ant stimulation (Hahn & Bolaños, 2021). Each linear array illuminated an elliptic area at the trail surface where ants moved having a maximum illuminance of 19000 lx. Continuous and pulsed light was supplied by an embedded system that could reduce the illuminance to 350 lx by an analog signal (Hahn & Bolaños, 2021).

Average continuous illumination is generated by pulse width modulation, and depends of the source illumination (SI). For example, an average illumination of 900 lx can be obtained by using a source illumination of 4500 lx with a 20 % duty cycle. It can also be achieved from a SI of 2500 lx together with a duty cycle of 36 %.

señal eléctrica (Warrant, 2017). Los pulsos luminosos llegan a los ojos de las hormigas antes de convertirse en potencial de membrana en forma de protuberancias (Frolov, 2016). Los fotorreceptores de la hormiga nocturna *M. vindex* presentan tres sensibilidades espectrales con picos de 370, 430 y 550 nm (Ogawa et al., 2015). La luz roja aplicada con lámparas frontales durante la observación nocturna no perturba la visión de las hormigas obreras (Röschard & Roces, 2011).

Se ha analizado el movimiento de las hormigas mediante filmaciones con videocámaras digitales sobre el camino principal (Couzin & Franks, 2003; Narendra et al., 2013). En general, los sistemas de vigilancia y trampas para plagas interrumpen la luz LED o láser, y la señal del detector activa un contador (Balla et al, 2020; Eliopoulos et al., 2018). Cuando las hormigas caminan por dos carriles paralelos, el sistema requiere de un sistema láser reflectante con el sensor y el detector en el mismo lado (Brydegaard, 2015). La frecuencia crítica de fusión (FCF) es el umbral en el que un insecto deja de percibir una fuente de luz parpadeante como una serie de destellos, y lo empieza a percibir como un flujo continuo de luz (Inger et al., 2014). La mayoría de los insectos diurnos, como las abejas y las moscas de la fruta, tienen valores de FCF superiores a 100 Hz (Barroso et al., 2015). En este sentido, se sabe que los fotorreceptores se dañan con luces parpadeantes de alta intensidad (Meyer-Rochow, 2002).

Independientemente de la gran cantidad de estudios fisiológicos que se han realizado para comprender cómo se guían las hormigas hacia su lugar de alimentación, este trabajo experimental tiene como objetivo evaluar la posibilidad de utilizar la iluminación LED como control límite para desviar a las hormigas de los árboles frutales. Para ello, se supone que la velocidad de las hormigas cambia bajo la estimulación de la luz LED con diferentes frecuencias. ¿Cómo puede un sistema de control de iluminación aplicar impulsos luminosos a los ojos de las hormigas con una certeza del 100 % y cómo responden las hormigas? En un sendero doble con vías bifurcadas se evaluó si las hormigas cambiaban de carril principal cuando se les aplicaba iluminación pulsada en el extremo del sendero.

Materiales y métodos

Se estudió el tránsito de hormigas *Atta cephalotes* en un huerto de mango ubicado en Loma Bonita, Guerrero, México (17° 25' 47" LN y -101° 11' 19" LO, a 17 m s. n. m.). Los experimentos se realizaron durante octubre de 2019, justo después de la temporada de lluvias en esta región árida subtropical. Las colonias de hormigas maduras, con 10⁵ obreras aproximadamente, buscaban alimento por la noche en árboles de mango situados a 30 m de su nido.

Se estableció un camino de amplitud variable (10-60 cm) para hormigas bajo el tronco de un árbol y se

In our precise eye stimulator, a pulse of 4500 lx is much higher than 2500 lx and will generate greater bumps through the photodetector membrane.

Ant speed was measured with laser-photodetector units using 5 mW red lasers (D650-51 USLaser, USA) to provide a constant non-dispersive beam. Small photodetectors (KDT00030, Fairchild) present linear current-illuminance response. The photodetector strip was fixed to one wall, meanwhile the lasers to the opposite wall. Laser-photodetector units determine ant speed by counting with a programmable counter array (PCA), the time period that the laser beam reflects on the ant body and the photodetector is off. TPA (time period ant) is obtained after counting 1-ms cycles during this period. Artificial ant speed was correlated against TPBA (time period between ants) with a controlled 30 cm-long plastic stripe trail. This stripe was displaced linearly with a high precision motor, meanwhile the photodetectors and lasers walls remained immobile. Wooden ants 25 mm long were replicated and glued to the plastic stripe letting a space between them of 12.5 mm. After taking more than fifty measurements, a potential regression (Equation 1) relates TPBA with ant speed ($R^2 = 0.9775$, $N = 56$, $P < 0.001$). A smaller TPBA value is achieved for ants walking at higher speed (Figure 1).

$$v = 1.5264 \text{ TPBA}^{-0.951} \quad (1)$$

Data collection

Once the trail was installed, several experiments were carried out analyzing TPBA, collision number and recovery time under different lightning schemes. Different lightning systems and intensities were provided for each experiment (Table 1).

Three levels within the experiment divide the type of lightning, the trail width and the illumination intensity. It is important to mention that ants laid pheromones through the trail before the experiments were carried out. The experimental setup monitors:

a: Ant TPBA and number of ants impacts within the narrow trail under different white strobe illuminations (STI). In the first experiment, light-pulses were applied vertically towards the top surface of the ant head (Figure 2a). In the second experiment, a wall-mirror reflected the light from a 45° rotated L300 array (Figure 2b). The mirror was deflected in order to reach the ant head, and if the height of the mirror was higher, its slope should be steeper. To optimize the slope, a precision bolt pushed the mirror until the light-spot arrived to the desired place

cubrió con una superficie de tierra lisa. Para iluminar el camino, se utilizaron cuatro matrices lineales de 30 cm de longitud (L300, SmartVisionLight, EUA), con 12 luces LED de alta intensidad cada una. Las matrices lineales L300 de luz LED se instalaron en la parte superior del camino artificial para estudiar la estimulación de las hormigas (Hahn & Bolaños, 2021). Cada matriz lineal iluminó un área elíptica en la superficie del camino donde las hormigas se desplazaron, teniendo una iluminancia máxima de 19000 lx. La luz continua y pulsada se suministró mediante un sistema integrado, el cual reducía la iluminancia a 350 lx mediante una señal analógica (Hahn & Bolaños, 2021).

La iluminación media continua se genera al modular la duración de los pulsos, y depende de la iluminación fuente (SI, por sus siglas en inglés). Por ejemplo, se puede obtener una iluminación media de 900 lx al usar una iluminación fuente de 4500 lx con un ciclo de trabajo de 20 %. También se puede conseguir a partir de una SI de 2500 lx junto con un ciclo de trabajo de 36 %. En el estimulador ocular preciso empleado en este trabajo, un pulso de 4500 lx es mucho mayor que el de 2500 lx, y generará mayores pulsaciones a través de la membrana del fotodetector.

La velocidad de las hormigas se midió con unidades de fotodetector láser que utilizan láseres rojos de 5 mW (D650-51 USLaser, EUA) para proporcionar un haz constante no dispersivo. Los fotodetectores pequeños (KDT00030, Fairchild) presentan una respuesta lineal de corriente-iluminancia. La tira de fotodetectores se fijó a una pared, y los láseres, a la pared opuesta. Las unidades de fotodetectores láser determinan la velocidad de las hormigas al contar con un conjunto de contadores programables (PCA, por sus siglas en inglés). Este periodo es aquel en que el rayo láser se refleja en el cuerpo de la hormiga y el fotodetector se apaga. El período de tiempo hormiga (PTH) se obtiene al contar ciclos de 1 ms durante este período. La velocidad de las hormigas artificiales se correlacionó con el periodo de tiempo entre hormigas (PTEH) mediante un trayecto controlado de franjas de plástico de 30 cm de longitud. Las franjas se desplazaron linealmente con un motor de alta precisión, mientras que los fotodetectores y los láseres en las paredes permanecieron inmóviles. Se hicieron réplicas de hormigas de madera de 25 mm de largo y se pegaron en la tira de plástico, dejando un espacio de 12.5 mm entre ellas. Después de tomar más de cincuenta mediciones, una regresión potencial (Ecuación 1) relaciona el PTEH con la velocidad de las hormigas ($R^2 = 0.9775$, $N = 56$, $P < 0.001$). El valor de PTEH es menor para las hormigas que caminan a mayor velocidad (Figura 1).

$$v = 1.5264 \text{ PTEH}^{-0.951} \quad (1)$$

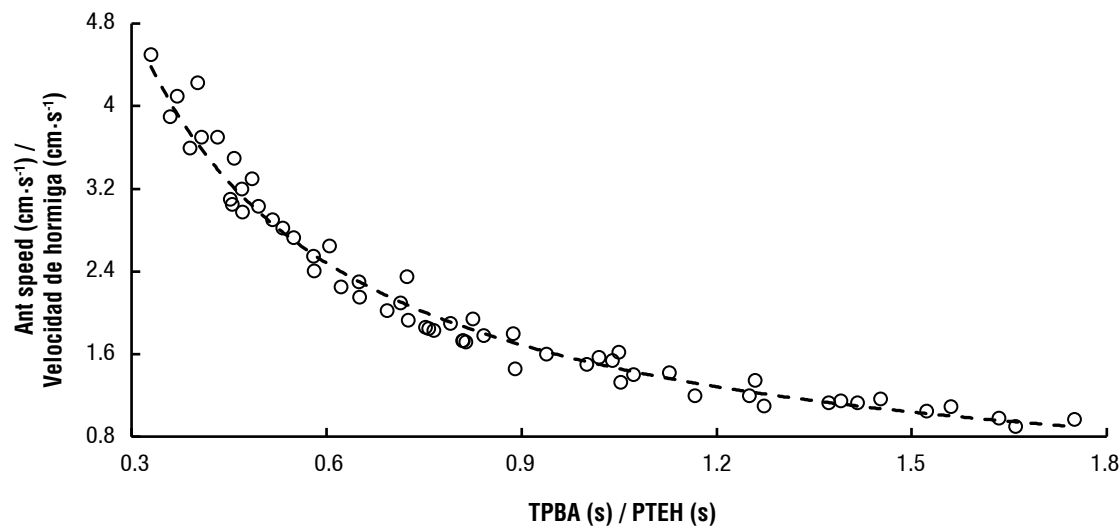


Figure 1. Period in-between two ants (TPBA) correlated against ant speed.
Figura 1. Periodo de tiempo entre dos hormigas (PTEH) relacionado con la velocidad de las hormigas.

Table 1. Levels and conditions of the different experiments considering illumination type, intensity and trail width.
Cuadro 1. Niveles y condiciones de los diferentes experimentos considerando el tipo de iluminación, la intensidad y la amplitud del camino.

Exp	Trail		Illumination Source			Illumination intensity			
	Narrow/ Angosto	Wide/ Amplio	Mirror/ Espejo	Lateral LED/ LED lateral	Frontal	300 lx	900 lx	1800 lx	Strobe & DF/ Estroboscopio & DF
a									
b									
c									
d									
e									

(ant face), simulated by a 3 cm wooden piece. Each experiment was carried out with 100 ants and was repeated three times.

b: Ant adaptation time after flashing directly her eye with the lateral LED system (Figure 2c). Ten experiments were carried out with 50 ants each. Five experiments used light intensity pulses of 300 lx and the remaining 900 lx. The five 300 lx experiments used single pulses of 1, 4, 8, 10 and 60 ms. The same periods were used for the 900 lx experiments, being 250 ants evaluated. Each light-stimulated ant that stopped, was lifted carefully with forceps and placed inside a plastic container within a dark space (Farji-Brener et al., 2010). The time before the ant moved its head corresponds to the dark adaptation period and was counted with a precise chronometer. Half an hour later, each ant was inserted into the dark trail evaluating its proper orientation.

Recolección de datos

Una vez instalado el camino, se realizaron varios experimentos donde se analizó el PTEH, el número de colisiones y el tiempo de recuperación con diferentes esquemas de iluminación. Para cada experimento, se dispusieron diferentes sistemas de iluminación e intensidades (Cuadro 1).

Los tres niveles del experimento dividen el tipo de iluminación, la amplitud del camino y la intensidad de iluminación. Es importante mencionar que las hormigas depositaron feromonas en el sendero antes de realizar las pruebas. Los experimentos se configuraron de la siguiente manera:

a: PTEH y número de impactos en el camino angosto con diferentes iluminaciones estroboscópicas blancas (STI, por sus siglas en inglés). En el primer experimento,

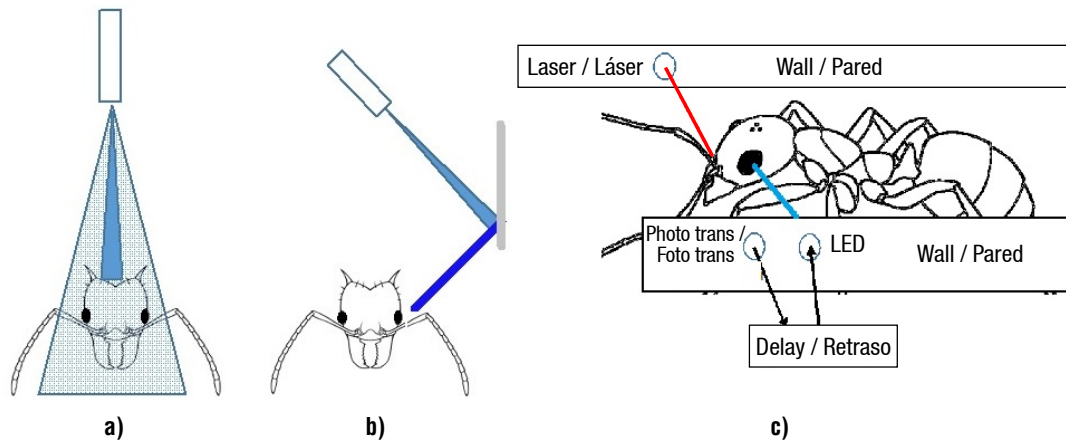


Figure 2. Ant head illuminated (a) from the top with a L300 array, (b) after mirror reflection, and (c) with LED lateral control.
Figura 2. a) Cabeza de hormiga iluminada desde la parte superior con una matriz L300, b) iluminación reflejada con un espejo, y c) iluminación con control lateral LED.

c: Ants that left the 60-mm wide trail at the end, after being flashed by mirror-reflected white-pulses. Twelve experiments with 10 repetitions each, were carried out to determine the quantity of ants that left the trail (ALT). One hundred ants entered the trail during each experiment, and after 25 % of them left, light-pulses were applied. Laser-photodetector units counted the number of ants at the entrance and exit of each trial-lane. Four different number of 10-ms light-pulses (3, 6, 9 and 12) with a frequency of 90 pulses per minute were applied along the trail at three different light intensities (300, 900 and 1800 lx). The second L300 array provided three or six strobes, meanwhile for 12 pulses, the second and third array applied six pulses each. Visual observation helped to understand why ants returned back to the entrance.

d: Ant status and trajectory followed after lateral LED flashing. Two different experiments were conducted being repeated 5 times with 100 ants each. In the first experiment, light pulses were applied to 33 % of the ants that passed through the trail; the quantity of ALT immediately and after 7 min were counted. Ant recovery or dark-adaptation time determined ant-status. In the second experiment, lateral pulses of light were applied to five consecutive ants, counting the number of ALT exit.

e: Ant status and trajectory followed after L300 boundary lightning. The boundary lightning system at the trail end, consisted of a horizontal L300 fixed 3-cm over the soil. Ants entered in both lanes and an alternative route was built. The L300 boundary system provided 20 % duty cycle pulses at different frequencies for 12 s to frontrunner ants. The light intensity threshold that forced ants to change

los pulsos luminosos se aplicaron verticalmente hacia la superficie superior de la cabeza de la hormiga (Figura 2a). En el segundo experimento, un espejo de pared reflejó la luz proveniente de una matriz L300 girado por 45° (Figura 2b). El espejo se desvió para poder llegar a la cabeza de la hormiga, y si la altura del espejo era mayor, la pendiente era más pronunciada. Para optimizar la inclinación, un perno de precisión empujó el espejo hasta que el punto luminoso llegó al lugar deseado (cara de la hormiga), simulado por una pieza de madera de 3 cm. Cada experimento se realizó con 100 hormigas y se repitió tres veces.

b: Tiempo de adaptación de la hormiga al iluminar directamente su ojo con el sistema LED lateral (Figura 2c). Se realizaron diez experimentos con 50 hormigas cada uno. En cinco experimentos se utilizaron pulsos de intensidad luminosa de 300 lx, y en el resto la intensidad fue de 900 lx. Ambos experimentos (con 300 y 900 lx) utilizaron pulsos simples de 1, 4, 8, 10 y 60 ms, con lo cual se evaluaron 250 hormigas por intensidad luminosa. Cada hormiga estimulada con luz que se detuvo se levantó cuidadosamente con unas pinzas y se colocó dentro de un recipiente de plástico en un espacio oscuro (Farji-Brener et al., 2010). El tiempo transcurrido antes de que la hormiga mueva la cabeza corresponde al periodo de adaptación a la oscuridad y se contabilizó con un cronómetro de precisión. Media hora después, cada hormiga se colocó en el camino oscuro para evaluar su adecuada orientación.

c: Hormigas que abandonaron el camino (HAC) de 60 mm de ancho al final después de ser iluminadas con pulsos blancos reflejados en el espejo. Se realizaron 12 experimentos con 10 repeticiones cada uno para determinar la cantidad de HAC. Durante cada

of route using light pulses of 10 Hz-20 ms, 30 Hz-6.6 ms, 100 Hz-2 ms and 200 Hz-1 ms was obtained. For each ant group a frequency-pulsewidth was selected starting with a L300 light source of 250 lx. The intensity was incremented by 50 lx, until ants changed of route obtaining the light intensity threshold (Figure 3). The experiment was repeated five times with the given threshold to ensure its effectiveness.

Results and discussion

Twenty-seven ants followed each other within the 100 cm trail, being ants 2.5-cm long and the space between them 1.25 cm. Although mobility changes in artificially illuminated traffic lanes were expected, it was found from our experiments that ants rarely modify their speed with continuous-light changes. *A. cephalotes* foragers advanced in night trails nearby the mango trunk with speed varying between 1.6 and 1.9 cm·s⁻¹, corresponding to TPBA of 0.95 and 0.83 s, respectively. Ants walking during the day at 2.3 cm·s⁻¹ crossed the 100-cm trail in 43.48 s. A longer time of 62.5 s was found at night speed of 1.6 cm·s⁻¹. When the light-adapted leader changed its speed, workers followed her (Hahn & Bolaños, 2021). The number of collisions showed that it was easier for ants to adapt to dark pulses in the day, than to intense light pulses in the night (Hahn & Bolaños, 2021). Light pulses in the day scatter through natural illuminance and dark pulses do not appear within the trail.

experimento, 100 hormigas entraron en el camino, y después de que el 25% de ellas lo abandonaran, se aplicaron pulsos luminosos. Los fotodetectores láser contaron el número de hormigas a la entrada y a la salida de cada recorrido. A lo largo del camino, se aplicaron cuatro pulsos distintos de luz de 10 ms (3, 6, 9 y 12), con una frecuencia de 90 pulsos por minuto, y tres intensidades de luz diferentes (300, 900 y 1 800 lx). La segunda matriz L300 proporcionó tres o seis pulsos, y para 12 pulsos, la segunda y la tercera matriz aplicaron seis pulsos cada una. La observación visual ayudó a comprender por qué las hormigas regresaban a la entrada.

d: Estado y trayectoria de las hormigas después del destello lateral de luz LED. Se realizaron dos experimentos diferentes que se repitieron cinco veces, con 100 hormigas cada uno. En el primer experimento, se aplicaron pulsos de luz al 33 % de las hormigas que pasaron por el camino; se contó la cantidad de HAC inmediatamente y al cabo de 7 min. El tiempo de recuperación o de adaptación de las hormigas a la oscuridad determinó su estado. En el segundo experimento, se aplicaron pulsos laterales de luz a cinco hormigas consecutivas, y se contó el número de HAC.

e: Estado y trayectoria de las hormigas después de la iluminación límite L300. El sistema de iluminación en el extremo del camino consistió en un dispositivo L300 horizontal fijo a 3 cm del suelo. Las hormigas

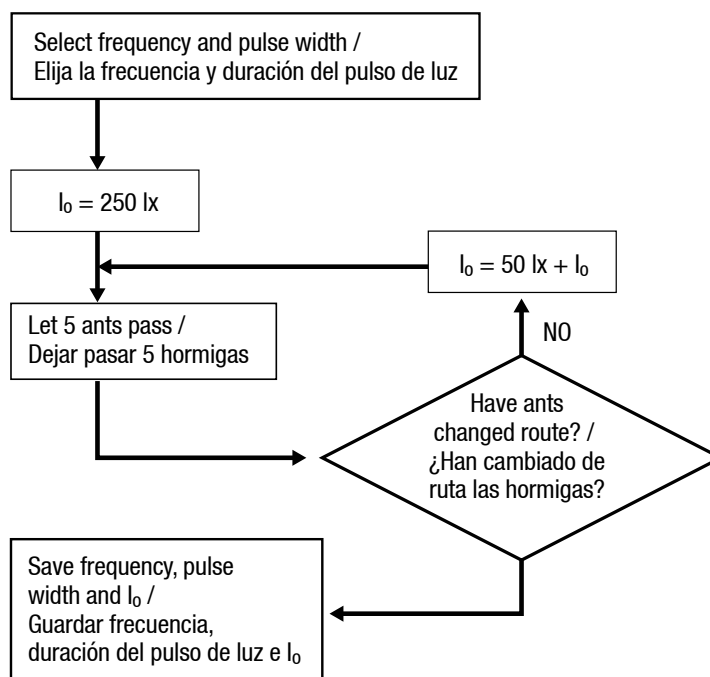


Figure 3. Block diagram to obtain the illumination intensity required so that ants change of route.

Figura 3. Diagrama de bloques para obtener la intensidad de iluminación necesaria para que las hormigas cambien de ruta.

Although researchers use camcorders to study ant movement, we did not use them as the L300 arrays blocked the camera field of view. Instead laser-photodetector units fixed to the trail walls counted ant speed, being red lasers insensitive to ant vision (Ogawa et al., 2015; Röschar & Roces, 2011). Photodetector response variations caused by the L300 arrays were negligible after being filtered. The L300 was cleaned-up continuously to reduce lightning-loss (Harley & Ritzmann, 2010). Only 20 % of the L300 radiation reached the ant-eye, after being absorbed by the trail plastic base or the soil organic matter.

Lateral L300 and LED illumination

Light applied vertically from the L300 array, reflected on the ant head but never reached their eyes (Figure 2a). Ant collisions (22.3 ± 0.29 ; mean $\pm$ SE) caused by mirror-reflection increased during the night as 75 % of the L300 illumination reach their eyes. In the mirror reflected trail, ant size and speed did not assure perfect ant-eye lightning. After reflecting the beam in the mirror system, it increased coverage area, but reduced converging power. Also, the L300 array filter smooths the LED beam reducing its intensity. Beam mirror reflection can be useful at laboratory level, but it would be difficult to implement at the field.

The probability that the LED beam flashed the ant-eye, depended on its size, speed and strobe frequency, so a controlled lightning system was designed to cope with these variables. After the ant head blocks for first time the red-laser beam, the photodetector turns-on a time delay (Figure 2c). After the delay is over, a voltage turns-on the white LED, that will accurately irradiate the ant-eye. With an eye 0.69 mm long (Moser et al., 2004), and a walking speed of $1.6 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, the lateral LED system has to deliver a 43-ms light pulse. It could be implemented by nine 1-ms pulses at 200 Hz (20 % duty cycle), or two 6.6-ms at 30 Hz (20 % duty cycle). The illumination system provides ON periods of 13.2 ms at 30 Hz or 9 ms at 200 Hz, representing less than 30 % of the required 43 ms light pulse. A lower frequency of 1.5 Hz (20 % duty cycle) will provide a 133-ms pulse.

As light pulses penetrated only one ant eye in the lateral precise LED system, ants never lost their visual system. After exposing ants to the precise LED stimulator within single-line trails, stunned ants stopped for 2-3 s. This precise stimulator allowed us to determine the effect of light pulses on ant vision adaptation and walking recovery time. Due to the short period of flashing (43 ms) at different frequencies, ants did not become blind and even if they lost some receptors, ants reached their final path (Schwarz & Wystrach, 2011).

entraron por ambos carriles y se construyó una ruta alternativa. El sistema L300 proporcionó pulsos con un ciclo de trabajo del 20 % con diferentes frecuencias durante 12 s para las hormigas líderes. Se obtuvo el umbral de intensidad luminosa que obligó a las hormigas a cambiar de ruta utilizando pulsos de luz de 10 Hz por 20 ms, 30 Hz por 6.6 ms, 100 Hz por 2 ms y 200 Hz por 1 ms. Para cada grupo de hormigas se seleccionó una frecuencia-duración de pulso, comenzando con una fuente de luz L300 de 250 lx. La intensidad se incrementó en 50 lx hasta que las hormigas cambiaron de ruta, con lo cual se obtuvo el umbral de intensidad luminosa (Figura 3). El experimento se repitió cinco veces con dicho umbral para garantizar su eficacia.

Resultados y discusión

Se siguieron 27 hormigas, unas a otras, en el camino de 100 cm, con tamaño promedio de 2.5 cm de longitud y espacio entre ellas de 1.25 cm. Aunque se esperaban cambios de movilidad en los caminos iluminados artificialmente, se comprobó que las hormigas raramente modifican su velocidad con cambios continuos de luz. Las hormigas *A. cephalotes* avanzaron durante la noche por caminos cercanos al tronco del árbol de mango, con velocidades que oscilaron entre 1.6 y $1.9 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, correspondientes a un PTEH de 0.95 y 0.83 s, respectivamente. Las hormigas que caminaron durante el día a $2.3 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ cruzaron el camino de 100 cm en 43.48 s. Durante la noche, las hormigas presentaron un tiempo de recorrido más prolongado (62.5 s) a una velocidad de $1.6 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$. Cuando la líder se adaptó a la luz y cambió su velocidad, las hormigas obreras la siguieron (Hahn & Bolaños, 2021). El número de colisiones demostró que a las hormigas les resultó más fácil adaptarse a los pulsos oscuros durante el día que a los pulsos de luz intensa durante la noche (Hahn & Bolaños, 2021). Los pulsos de luz en el día se disipan a través de la iluminancia natural y los pulsos oscuros no se ven dentro del camino.

Aunque los investigadores utilizan videocámaras para estudiar el movimiento de las hormigas, en este trabajo no se utilizaron porque las matrices L300 bloqueaban el campo de visión de la cámara. En su lugar, se utilizaron unidades fotodetectores-láser fijadas a las paredes del recorrido para registrar la velocidad de las hormigas, ya que los láseres rojos son insensibles a la visión de las hormigas (Ogawa et al., 2015; Röschar & Roces, 2011). Las variaciones en la respuesta de los fotodetectores causadas por las matrices L300 fueron insignificantes después de ser filtradas. La matriz L300 se limpió continuamente para reducir la pérdida de radiación (Harley & Ritzmann, 2010). Únicamente el 20 % de la radiación del L300 llegó al ojo de hormiga, luego de

The results obtained after applying light pulses at night with intensities of 300 and 900 lx for different time periods during “experiment *b*” are shown in Table 2. The light pulse applied to the ant-eye upset it, requiring a recovery time to walk normally again. The flash pulse-width affects adaptation time, which increases as light intensity becomes brighter. With a 50-ms pulse of 900 lx, dark adaptation increased to 1169 ± 6.05 s (mean $\pm$ SE). An average of 90 % ants survived with the 1.5 Hz-50 ms light-pulse, and only 11.2 % lost their good orientation. Ants flashed for more than 5 ms presented orientation problems (Table 2).

Wide trail experiments

A wider trail of 60 mm between walls was used for experimental setups *c*, *d* and *e*. After the fifth light-pulse, foragers collide within the traffic line (Figure 4a). The new forerunner moves to another lane, being followed by the other ants. Ants return to the trail entrance, after two collisions took place and were unable to advance (Figure 4b). The minimum ALT that can be obtained is of 25 % as white-pulses started flashing after 25 ants left the trail. ALT average never decreased below 95.3 ± 0.82 % for pulse-intensities of 300 lx. Ants flashed by three 10-ms pulses with an intensity of 1800 lx had a minimum ALT value of 99.3 ± 0.67 %. Many ants left the trail where they entered with 12 pulses, being the ALT average of 62.33 ± 1.26 % and 32.9 ± 2.33 % for light intensities of 900 and 1800 lx, respectively (Figure 4c). For ALT=32.9 %, only 33 % of the ants left the trail at the end and the other 67 % returned back to the entrance. Ants that received nine pulses with an intensity of 1800 lx also returned back (ALT = 61.2 ± 2.53 %). In both cases, the red ellipses indicate ALT at the entrance (Figure 4c).

ser absorbida por la base de plástico del camino o la materia orgánica del suelo.

Iluminación LED y L300 lateral

La luz aplicada verticalmente desde la matriz L300 se reflejó en la cabeza de las hormigas, pero nunca llegó a sus ojos (Figura 2a). Las colisiones de hormigas (22.3 ± 0.29 ; promedio $\pm$ error estándar) causadas por el reflejo en el espejo aumentaron durante la noche a medida que el 75 % de la iluminación L300 llegó a sus ojos. En el camino reflejado por el espejo, el tamaño y la velocidad de las hormigas no garantizaron una iluminación perfecta en sus ojos. Después de reflejar el rayo en el sistema de espejos, aumentó el área de cobertura, pero redujo el poder convergente. Además, el filtro de L300 suaviza el rayo LED, lo cual reduce su intensidad. La proyección del rayo en el espejo puede ser útil a nivel de laboratorio, pero es difícil de aplicar sobre el terreno.

La probabilidad de que la luz LED ilumine el ojo de la hormiga depende de su tamaño, velocidad y frecuencia estroboscópica, por lo cual se diseñó un sistema de iluminación controlada para hacer frente a estas variables. Después de que la cabeza de la hormiga bloquea por primera vez el rayo láser rojo, el fotodetector activa un retardo (Figura 2c). Una vez finalizado el tiempo de espera, se enciende una luz LED blanca que ilumina con precisión el ojo de la hormiga. Con un ojo de 0.69 mm de longitud (Moser et al., 2004) y una velocidad de marcha de $1.6 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$, el sistema LED lateral debe emitir un pulso luminoso de 43 ms, lo cual se podría implementar mediante nueve pulsos de 1 ms a 200 Hz (20 % de ciclo de trabajo), o dos de 6.6 ms a 30 Hz (20 % de ciclo de trabajo). El sistema

Table 2. Dark adaptation recovery time, survival rate and good orientation after applying different strobe pulses and intensities with the precise lightning system.

Cuadro 2. Tiempo de adaptación a la oscuridad, tasa de supervivencia y orientación después de aplicar diferentes pulsos e intensidades estroboscópicas con el sistema de iluminación.

Pulses / Pulso	Light intensity / Intensidad luminosa					
	300 lx			900 lx		
	SR/GO (%) / TS/BO (%)	MDA (s) / APO (s)	SEDA / EEAO	SR/GO (%) / TS/BO (%)	MDA (s) / APO (s)	SEDA / EEAO
200 Hz-4 ms	100/100	47.42	0.22	100/100	140.3	0.67
200 Hz-1 ms	100/100	28.78	0.22	100/100	44	0.41
60 Hz-8 ms	100/90	79.7	0.31	100/90	212.8	0.88
60 Hz-1 ms	100/100	26	0.2	100/100	53.7	0.36
1.5 Hz-10 ms	100/90	92.42	0.45	90/93.3	272.6	0.64
1.5 Hz-50 ms	90/88.8	401.78	2.21	88.8/88.6	1169	6.05

SR = survival rate; GO = good orientation; MDA = mean dark adaptation; SEDA = standard error dark adaptation.

TS = tasa de supervivencia; BO = buena orientación; APO = adaptación promedio a la oscuridad; EEAO = error estándar de adaptación a la oscuridad.

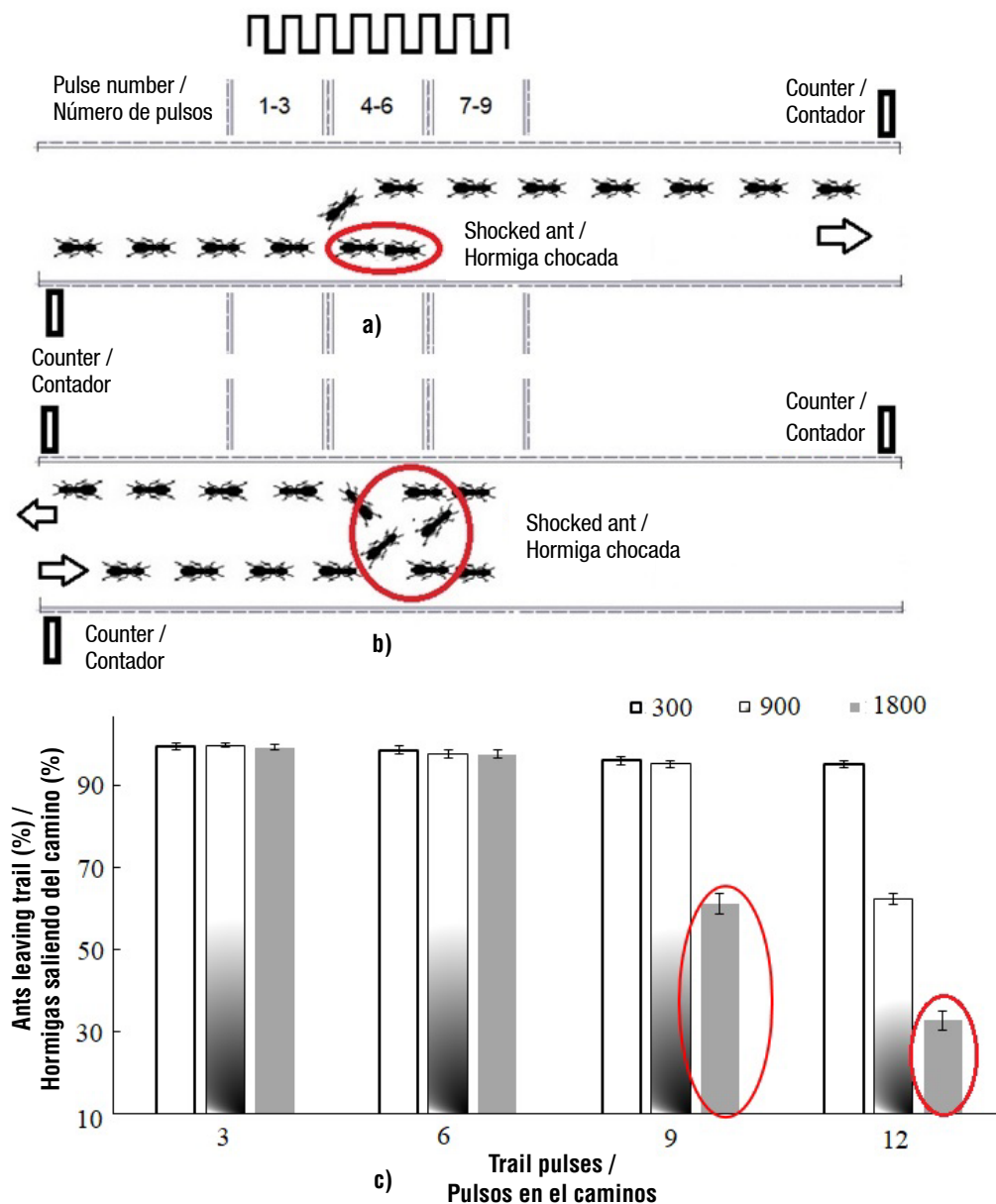


Figure 4. Ants leaving the trail: a) after one collision, b) after two collisions, and c) in function of the number of 10 ms light-pulses and light intensity.

Figura 4. Hormigas saliendo del camino: a) luego de una colisión, b) luego de dos colisiones, y c) de acuerdo con el número de pulsos luminosos de 10 ms y de la intensidad luminosa.

Workers walking in parallel lines (Figure 4) received lateral LED light pulses in their eyes. When ants were moving over trail and following each other, the irradiation applied arrived to their faces. Nevertheless, as ants have not the same size, and the exposure is not continuous some specimens were not struck by the lightning at all. As the ant head received the irradiation, it slowed down and lost its way. An ant that receives a 300 lx-1.5 Hz-50 ms light-pulse requires 6.7 min to recover (Table 2). From every 100 ants, 33 were flashed by the lateral LED system. After 33 % of the ants were stimulated by 900 lx-1.5 Hz-35 ms light-pulses, only

de iluminación proporciona periodos de encendido de 13.2 ms a 30 Hz o 9 ms a 200 Hz, lo cual representa menos del 30 % del pulso luminoso necesario de 43 ms. Una frecuencia inferior de 1.5 Hz (20 % de ciclo de trabajo) proporcionaría un pulso de 133 ms.

Como los pulsos de luz solo penetraron un ojo de la hormiga con el sistema LED de precisión lateral, las hormigas nunca perdieron su sistema visual. Después de exponer a las hormigas al estimulador LED dentro de los caminos con una sola vía, las hormigas aturdidas se detuvieron durante 2 a 3 s. Este estímulo

66.8 ± 0.49 % ALT at the end. A higher percentage of ants (82.4 %) left immediately at the exit, when flashed by nine 1-ms light pulses at 200 Hz and 300 lx (Table 3). Another 15.4 % ants walked out through the trail exit between the first and the seventh minute. The last 2.2 % were still in recovery mode, but none died.

A total of 26.8 ± 0.37 % ants, hit by 900 lx high frequency pulses, recovered between the first and seventh minute. In a similar way, 24.8 ± 0.37 % ants recovered from 300 lx low-frequency stimulation. All these values make sense after checking the dark adaptation times of Table 3. When five consecutive ants were flashed by lateral LED's, all of them came to a halt, forcing the followers to change of route.

Precise light-pulses hit ant-eyes and brought them to standstill in wider trails. With more space in the wide trail, ants could turn, and were not forced to stop after finding an immobile ant. Ants that turned, avoided collisions and continued its way straight ahead. After two or three ants were shocked and the trail blocked, ants communicated between them by means of antennal contact (Gordon, 2019). Ants came back to the entrance without confusion and remained together. Without pheromones laid by motionless ants (Franks et al., 1991), other ants occasionally circulated through the trail. Some stunned ants were pushed to the exit by their companions, but some of them remained within the trail, taking up to 20 min to recover and adapt to the darkness (Table 2). Ants moved within the trail without proper orientation and hit other ants.

Ant route deviation with illumination at the trail end

Without turning-on the horizontal L300 array fixed at the end of the trail, ants never changed of route. A change in the path where ants travel can be forced

permitted to determine the effect of the light pulses on the adaptation of the vision of the ants and the time of recovery of the march. Due to the short period of destello (43 ms) with different frequencies, the ants did not become blind and, although they lost some receptors, they could reach the final of the trajectory (Schwarz & Wystrach, 2011).

In the Cuadro 2 are shown the results obtained after applying luminous nocturnal pulses with intensities of 300 and 900 lx during different periods of time (experiment b). The luminous pulse applied to the eye of the ant changed it, for which it required a time of recovery to return to walking with normality. The duration of the destello affects the time of adaptation, which increases as the intensity of the light increases. With a pulse of 50 ms of 900 lx, the adaptation to the darkness increased to 1169 ± 6.05 s (average $\pm$ standard error). In average, the 90 % of the ants resisted the pulse of light of 1.5 Hz for 50 ms, and only the 11.2 % lost its good orientation. The ants that received the destello during more than 5 ms presented orientation problems (Cuadro 2).

Experimentos en caminos amplios

For the experimental scenarios *c*, *d* and *e* was used a wider path of 60 mm between the walls. After the fifth pulse of light, the ants leaders collided within the line of transit (Figura 4a). The new ant leader moved to another track, and the other ants followed. The ants returned to the beginning of the path, after producing two collisions and not being able to advance (Figura 4b). The minimum value of the HAC (ants that abandoned the path) that was obtained was 25 %, because the white pulses started to emit after that 25 ants abandoned the path. The average of HAC was never below 95.3 ± 0.82 % for intensities of

Table 3. Percentage of ants leaving the trail immediately after being irradiated by high and low frequency pulses with intensities of 300 or 900 lx and between the first and 7th minute.

Cuadro 3. Porcentaje de hormigas que abandonaron el camino inmediatamente después de ser irradiadas con pulsos de alta y baja frecuencia, con intensidades de 300 o 900 lx, y entre el primer y el séptimo minuto.

Frequency / Frecuencia	Pulse width / Duración del pulso	Light intensity / Intensidad luminosa			
		300 lx		900 lx	
		MALT (%) / PHAC (%)	SE / EE	MALT (%) / PHAC (%)	SE / EE
Immediately / Inmediatamente	200 / 9-1 ms	82.4	0.68	70.6	0.68
Between 1 and 7 min / Entre 1 y 7 min	200 / 9-1 ms	15.4	0.24	26.8	0.37
Immediately / Inmediatamente	1.5 / 1-35 ms	69.8	0.58	66.8	0.49
Between 1 and 7 min / Entre 1 y 7 min	1.5 / 1-35 ms	24.8	0.37	1.4	0.24

MALT = mean ants leaving trail; SE = standard error.

PHAC = promedio de hormigas que abandonaron el camino; EE = error estándar.

by exceeding a given eye-flashing threshold, being of 1000 lx for continuous illumination (Figure 5). The percentage of ants taking the bifurcated route was always 100 %, but for distinguishing the different thresholds it was varied between 96 and 100 % (Figure 6). The amount of light received by the ants during 12 s

300 lx. Las hormigas que recibieron tres pulsos de 10 ms con una intensidad de 1800 lx registraron un valor de HAC mínimo de 99.3 ± 0.67 %. Muchas hormigas abandonaron el camino por donde entraron con 12 pulsos, teniendo promedios de HAC de 62.33 ± 1.26 % y 32.9 ± 2.33 % para intensidades de luz de

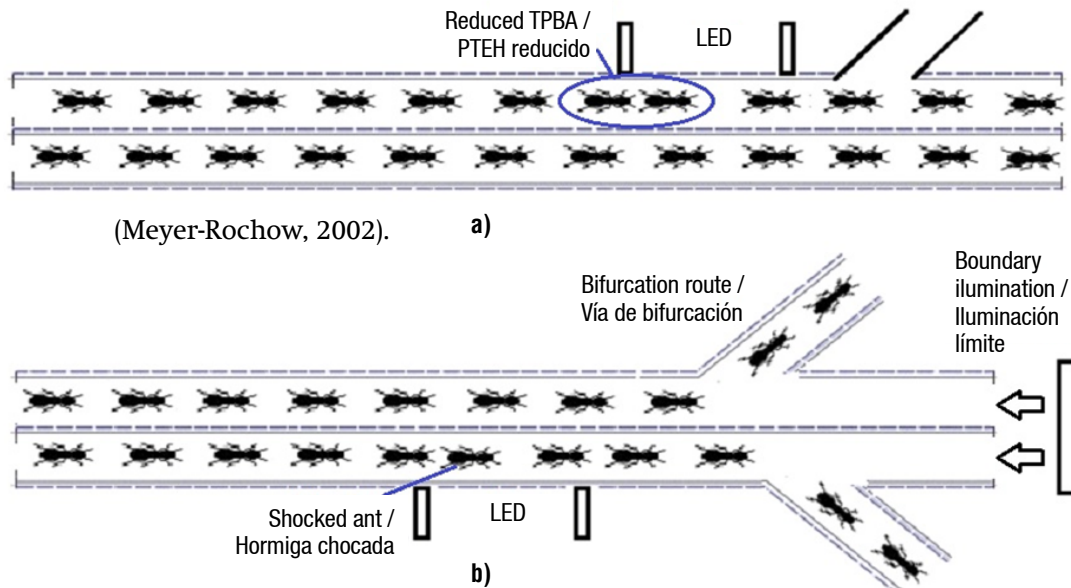


Figure 5. Ant trail with precise lightning LEDs: a) without and b) with boundary illumination.

Figura 5. Camino de las hormigas con iluminación LED precisa: a) con iluminación en el límite y b) sin iluminación en el límite.

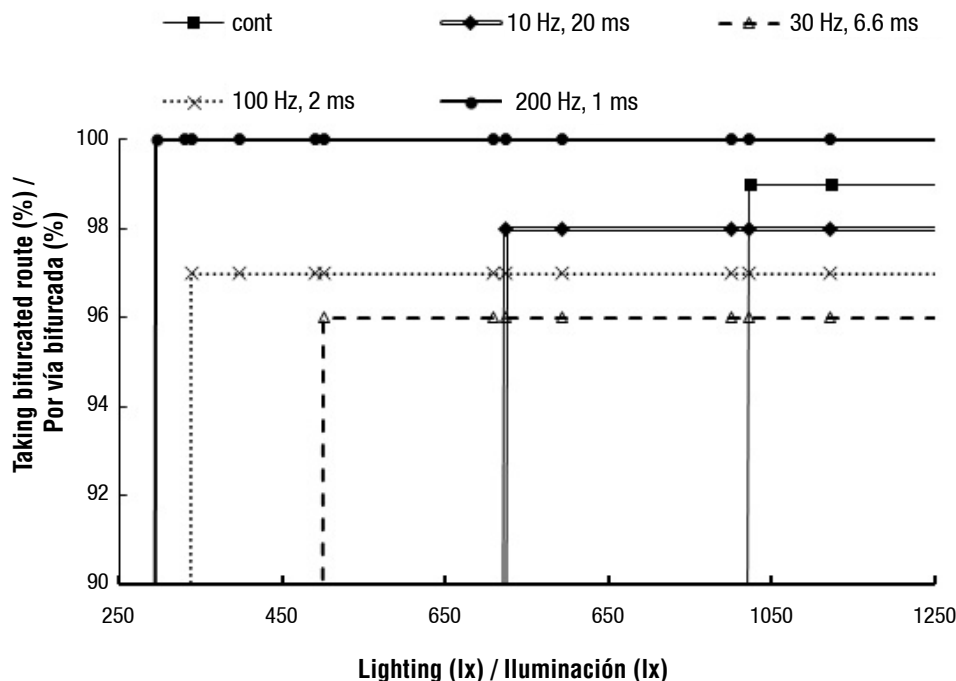


Figure 6. Flash and continuous L300 lightning threshold so that ants can take an alternative route.

Figura 6. Umbral de destello e iluminación continua con L300 para que las hormigas tomen una ruta alternativa.

was the same for all frequencies since they used the same 20 % duty cycle. If the distance from the L300 array to the turnover point (bifurcated route) increases, a higher light intensity is required to change ants route. A 724 lx threshold was required with 10 Hz-20 ms flashing, and only 500 lx with 30 Hz-6.6 ms pulses. The 30 Hz dark-adaptation pulse was of 26.7 ms for each 6.6 ms light-pulse. This period does not allow eye photodetectors bumps to return to 0 V. In the 200 Hz-1 ms flashing, route switching occurred at a lightning of 300 lx, but the 4-ms dark pulse was also too short for the eye photodetector to get dark-adapted. If a shorter timing than 5 s was applied at the boundary end, ants continued their path normally.

Pulses sent from the trail end for a period of 12 s, caused ants to change of route without impacts and bottlenecks. L300 lightning intensity was controlled by the applied voltage and when it was over 75 % of its maximum value, ants moved away and did not climb the tree. A control turned-on the lamps during sunset when ants climbed the trees (Figure 7). All the ants changed their route when the light intensity was maintained, laying pheromones over their new path. Under environmental conditions proper illumination handling is required. Movement changes during an event may be an adaptive feature of ant brain (Hunt et al., 2016), being these responses found during rainstorms (Farji-Brener et al., 2018), predator attacks or under these powerful light-intense stimuli. Gallotti and Chialvo (2017) showed that ants can determine their next move on their way and do not require to be at rest.

Application as pest control

This research provides basic illumination concepts for pest control by deflecting ants before reaching the

900 y 1800 lx, respectivamente (Figura 4c). Un HAC igual a 32.9 % indica que solo 33 % de las hormigas abandonaron el camino al final y el otro 67 % regreso a la entrada. Las hormigas que recibieron nueve pulsos con una intensidad de 1800 lx también se regresaron (HAC = 61.2 ± 2.53 %). En ambos casos, las elipses rojas señalan a las HAC que salen por la entrada (Figura 4c).

Las hormigas obreras que caminaron en líneas paralelas (Figura 4) recibieron pulsos de luz LED laterales en sus ojos. Cuando las hormigas se movían por el sendero y se seguían unas a otras, la irradiación aplicada llegaba a sus caras. Sin embargo, como las hormigas no tienen el mismo tamaño y la exposición no es continua, algunos ejemplares no recibieron ningún impulso luminoso. Al recibir la irradiación, la hormiga redujo su velocidad y perdió el rumbo. Una hormiga que recibe un pulso de luz de 300 lx, por 50 ms a 1.5 Hz, necesita 6.7 min para recuperarse (Cuadro 2). De cada 100 hormigas, 33 fueron alumbradas por el sistema LED lateral. Después de que 33 % de las hormigas recibieron estímulos luminosos de 900 lx por 35 ms a 1.5 Hz, solo 66.8 ± 0.49 % de las HAC al final. Por otro lado, 82.4 % fueron inmediatamente a la salida cuando recibieron nueve pulsos luminosos de 300 lx por 1 ms a 200 Hz (Cuadro 3), 15.4 % de las hormigas fueron a la salida del camino entre el primer y el séptimo minuto, y el 2.2 % restante seguía en modo de recuperación, pero ninguna murió.

Un total de 26.8 ± 0.37 % de las hormigas, alcanzadas por pulsos de alta frecuencia de 900 lx, se recuperaron entre el primer y el séptimo minuto. De forma similar, 24.8 ± 0.37 % de las hormigas se recuperaron de la estimulación de baja frecuencia de 300 lx. Estos valores tienen sentido al comprobar los tiempos de adaptación a la oscuridad del Cuadro 3. Cuando se iluminaron cinco hormigas consecutivamente con LED laterales,

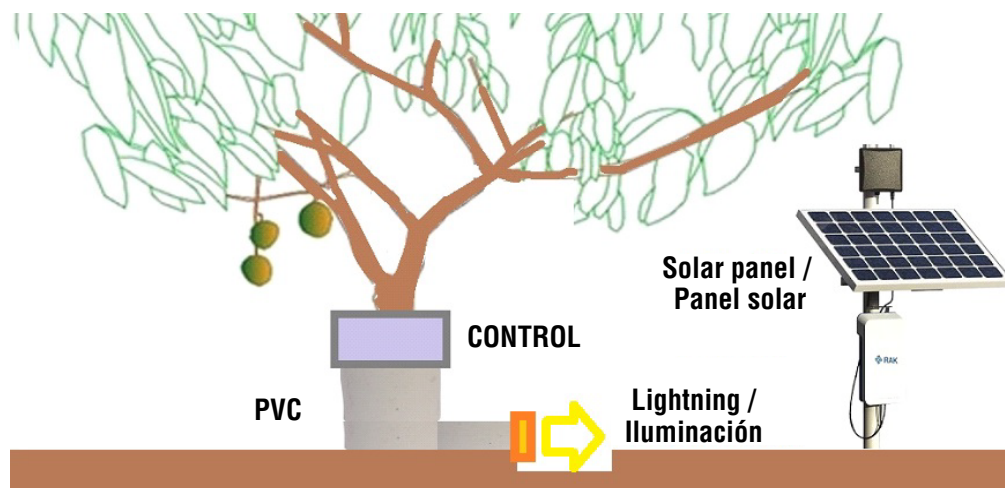


Figure 7. Tree control to turn-on the protection lightning system.

Figura 7. Control en árbol para encender el sistema de iluminación de protección.

tree trunk. Lightning system installation plays a very important role, being essential that light-pulses reach forager eyes. Mango fruit production on the following season depends on successful pruning, to stimulate branching flushes of lateral shoots to form a dense canopy that flowers (Davenport, 2006). This chemical-free and ecological boundary lightning system can avoid tender leaf foraging by *Atta cephalotes* after pruning. Boundary lightning showed excellent results at soil level, as it is aggressive against forerunners and produces changes of route. LEDS at soil level are very susceptible and risky to environmental conditions as rain, wind, organic matter, soil discontinuity and passage of other animals. Therefore, different LED arrangements are being tested. High 200 Hz flickering frequency or low frequency of 90 pulses per minute can change ant traffic paths if properly used.

If the system wants to be used by an entire orchard, 100 systems should be installed per hectare (one per tree). The energy required per tree can be harvested from the sun with a 40W solar panel (Figure 7) and saved in a battery so that it can be used at night. At floor level a PVC tube allows the ants walk to the tree trunk and a circuit will detect when ants climb. In one side of the PVC (Figure 7-orange block) the LEDS are fixed and will turn-on when a phototransistor (TEPT5700, Vishay, India) is activated by a low power emitting diode (XZCDGK53W-8VF, SunLED Company Limited, Hong Kong). This action takes place when ants circulate. Hahn and Martínez (2023) published the entire circuit, where two low power MOSFET's were used together with a CC2541 (Texas Instruments, USA) microcontroller. The cost per tree is depicted in Table 4, being of \$34.20 US dollars. If a 30 kg box can be paid at \$10.00 US, and one solar panel can be used by two trees, the system can become very-cost effective. The system is protected against water erosion caused by rainstorms by closing the PVC tube, avoiding LEDS and circuits damage.

In 2018, also 60 % of the trees were attacked and the trees production decreased by 35%. Very mature mango trees 30 years old were less prone to ants-attack as young leaves were very high and during 2019 only two trees were ant-pruned. Ten-year mango trees with

todas se detuvieron, lo cual obligó a las seguidoras a cambiar de ruta.

Algunos pulsos luminosos precisos alcanzaron los ojos de las hormigas y las detuvieron en los caminos más anchos. Con más espacio en el camino ancho, las hormigas pudieron girar y no se detuvieron al encontrar una hormiga inmóvil. Las hormigas que giraron evitaron chocar y siguieron su camino en línea recta. Después de que dos o tres hormigas se deslumbraron y el camino se bloqueara, las hormigas se comunicaron entre ellas por medio de sus antenas (Gordon, 2019). Las hormigas regresaron a la entrada sin confusión y permanecieron juntas. Sin feromonas depositadas por las hormigas inmóviles (Franks et al., 1991), otras hormigas circularon ocasionalmente por el camino. Algunas hormigas aturdidas fueron empujadas hacia la salida por sus compañeras, pero otras permanecieron dentro del camino, tardando hasta 20 min en recuperarse y adaptarse a la oscuridad (Cuadro 2). Las hormigas se desplazaron dentro del camino sin la orientación adecuada y golpearon a otras hormigas.

Desvío de ruta con iluminación al final del recorrido

Sin encender la matriz horizontal L300 fija al final del camino, las hormigas nunca cambiaron de ruta. Se puede forzar un cambio en la ruta si se supera un umbral de destello ocular de 1000 lx de iluminación continua (Figura 5). El porcentaje de hormigas que tomó la ruta bifurcada fue siempre del 100 %, pero para distinguir a los umbrales se varió entre 96 y 100 % (Figura 6). La cantidad de luz recibida por las hormigas durante 12 s fue la misma para todas las frecuencias, ya que utilizaron el mismo ciclo de trabajo de 20 %. Al aumentar la distancia entre la matriz L300 y el punto de rotación (ruta bifurcada), se requiere más intensidad luminosa para cambiar la ruta de las hormigas; por lo tanto, se requirió un umbral de 724 lx con destellos de 10 Hz por 20 ms, y solo 500 lx con pulsos de 30 Hz por 6.6 ms. El pulso de adaptación a la oscuridad de 30 Hz fue a 26.7 ms por cada pulso de luz de 6.6 ms. Este periodo no permite que los fotodetectores oculares vuelvan a 0 V. En el caso del destello de 200 Hz por

Table 4. Material cost for one mango tree for an ant illumination system.

Cuadro 4. Costo del material de un árbol de mango para un sistema de iluminación contra hormigas.

	Material (Cost USD)/Material (costo en dólares)					Total
	Solar panel/ Panel solar	Battery/ Batería	Microcontroller/ Microcontrolador	Power LEDS/ LED de alimentación	Ant detector/ Detector de hormiga	
One tree/ Un árbol	20.5	5.3	3.8	2.2	2.4	34.2

lower tender leaves were attacked more and trails covered with leaf sections were found in 55% of the trees. In 2019, mango production decreased by 28 %. The use of the system in thirty 10-year trees during the night avoided ants foraging their foliage.

Conclusions

As top L300 lighting operated poorly over the trail, other illumination alternatives were tested. With top lightning only a small percentage of the L300 incident light was reflected from the soil to the ants-face. Although this paper continuously mentions that light impacted ant eyes, its damage was never tested with a microscope, and only indirect effects (speed, collisions, orientation loss) were noted. It impacted directly to their heads and bodies.

As trail light intensity became brighter ant walking speed increased and average TPBA decreased. When the visual system was impacted by strong lateral pulses, ants presented collisions. Meanwhile ants were beaten by followers they tried to adapt to light flickering. The LED system was very precise and photoreceptor cells were unable to switch quickly. The LED intensity that reaches the ant eye can cause damage to some photodetectors, creating adaptation problems and orientation loss.

Atta cephalotes can cope with continuous lightning, but suffer adaptation problems under intermittent light pulses. High 200 Hz flickering frequency can change ant traffic paths optimizing power usage.

Acknowledgements

We would like to acknowledge MI. Angel Hernández, Biol. Ruth Pérez for the discussions, and to the University Autonoma Chapingo for supporting and funding this project 19008-DTT-65.

End of English version

References / Referencias

- Alma, A., Farji-Brener, A., & Elizalde, L. (2016). Gone with the wind: Short- and long-term responses of leaf-cutting ants to the negative effect of wind on their foraging activity. *Behavioral Ecology*, 27(4), 1017-1024. <https://doi.org/10.1093/beheco/arw007>
- Ambrecht, I., Montoya-Correa, M., & Montoya-Lerma, J. (2013). Composting to control the leaf-cutting ant *Atta cephalotes* L. (hymenoptera: formicidae). *Revista de Ciencias*, 16, 47-56. <https://doi.org/10.25100/rc.v16i0.502>
- Balla, E., Florian, N., Gergocs, V., Gránicz, L., Toth, F., Nemeth, T., & Dombos, M. (2020). An opto-electronic sensor-1 ms, el cambio de ruta se produjo con iluminación de 300 lx, pero el pulso oscuro de 4 ms también fue demasiado corto para que el fotodetector ocular se adaptara a la oscuridad. Si la intensidad luminosa se aplica por menos de 5 s en el límite final, las hormigas continúan su camino con normalidad.
- Los pulsos enviados desde el final del camino durante 12 s provocaron que las hormigas cambiaran de ruta sin choques ni embotellamientos. La intensidad de la iluminación L300 se controló mediante el voltaje aplicado, y cuando superó el 75 % de su valor máximo las hormigas se alejaron y no treparon al árbol. Un control activaba las lámparas durante el atardecer cuando las hormigas se trepaban a los árboles (Figura 7). Todas las hormigas cambiaron su ruta cuando se mantuvo la intensidad luminosa, y depositaron feromonas sobre su nuevo camino. En condiciones ambientales, se requiere un manejo adecuado de la iluminación. Los cambios de movimiento durante un evento pueden ser una característica adaptativa del cerebro de las hormigas (Hunt et al., 2016). Esta respuesta se puede observar durante tormentas de lluvia (Farji-Brener et al., 2018), ataques de depredadores o bajo potentes estímulos intensos de iluminación. Gallotti y Chialvo (2017) demostraron que las hormigas pueden determinar su próximo movimiento en su camino y no requieren estar en reposo.
- Aplicación como control de plagas**
- Esta investigación proporciona conceptos básicos de iluminación para el control de plagas, al desviar a las hormigas antes de llegar al tronco del árbol. La instalación del sistema de iluminación juega un papel muy importante, ya que es esencial que los impulsos luminosos lleguen a los ojos de las hormigas. La producción de mango en la siguiente temporada depende de una poda exitosa para estimular la ramificación de los brotes laterales y formar un dosel denso que florezca (Davenport, 2006). Este sistema de iluminación perimetral ecológico y libre de productos químicos puede evitar que *Atta cephalotes* busque hojas tiernas después de la poda. El sistema de iluminación perimetral dio excelentes resultados a nivel del suelo, ya que es agresivo contra las hormigas y produce cambios de ruta. La luz LED al nivel del suelo es muy susceptible y riesgosa frente a condiciones ambientales como la lluvia, el viento, la materia orgánica, la discontinuidad del suelo y el paso de otros animales. Por ello, se están probando diferentes modalidades de LED. La frecuencia de parpadeo alta (200 Hz) o baja (90 pulsos por minuto) pueden cambiar los recorridos de las hormigas si se utilizan correctamente.
- Si se quiere utilizar el sistema en un huerto, se deben instalar 100 sistemas por hectárea (uno por árbol). La energía necesaria por árbol se puede recolectar con

- ring to detect arthropods of significantly different body sizes. *Sensors*, 20(4), 982. <https://doi.org/10.3390/s20040982>
- Barroso, A., Haifig, I., Janei, V., da Silva, I., Dietrich, C., & Costa, A. (2015). Effects of flickering light on the attraction of nocturnal insects. *Lighting Research and Technology*, 49(1), 1-13. <https://doi.org/10.1177/1477153515602143>
- Britto, J. S., Forti, L. C., Oliveira, M. A., Zanetti, R., Wilcken, C. F., Zanoncio, J. C., Loeck, A. E., Caldato, N., Nagamoto, N. S., Lemes, P. G., & Camargo, R. S. (2016). Use of alternatives to PFOS, its salts and PFOSF for the control of leaf-cutting ants *Atta* and *Acromyrmex*. *International Journal of Research in Environmental Studies*, 3(2), 11-92. <https://doi.org/10.33500/ijres.2016.3.002>
- Brydegaard, M. (2015). Towards quantitative optical cross sections in entomological laser radar – potential of temporal and spherical parameterizations for identifying atmospheric fauna. *PLoS ONE*, 10(8), e0135231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135231>
- Burd, M., Archer, D., Aranwela, N., & Stradling, D. J. (2002). Traffic dynamics of the leaf-cutting ant, *Atta cephalotes*. *American Naturalist*, 159(3), 283-293. <https://doi.org/10.1086/338541>
- Bustamante, S., & Amarillo-Suárez, A. (2019). Foraging plasticity of *Atta cephalotes* (Hymenoptera:Formicidae) in response to temperature differences between forest and pasture. *Revista de Biología Tropical*, 67(4), 963-974. <https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v67i4.34951>
- Carlos, A. A., Rodrigues, A., Forti, L. C., Passador, M. M., & Sierra, J. F. (2010). Filamentous fungi found in *Atta sexdens rubropilosa* colonies after treatment with different toxic bait formulations. *Journal of Applied Entomology*, 135(4), 326-331. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01551.x>
- Cevallos-Dupuis, E., & Harrison, J. F. (2017). Trunk trail maintenance in leafcutter ants: caste involvement and effects of obstacle type and size on path clearing in *Atta cephalotes*. *Insectes Sociaux*, 64, 189-196. <https://doi.org/10.1007/s00040-016-0530-y>
- Couzin, I., & Franks, N. (2003). Self-organized lane formation and optimized traffic flow in army ants. *Proceedings The Royal Society Biological Sciences*, 270, 139-46. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2210>
- Davenport, T. (2006). Pruning strategies to maximize tropical mango production from the time of planting to restoration of old orchards. *HortScience*, 41(3), 544-548. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.3.544>
- Della-Lucia, T. (2003). Hormigas de importancia económica en la región Neotropical. In: Fernández, F. (Ed.), *Introducción a las hormigas de la región Neotropical* (pp. 337-349). Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. chrome-extension://efaidnbmnmbpcajpcglclefindmkaj/http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/32961/978-958-8151-23-6.pdf?
- El-Hamalawi, Z., & Menge, J. (1996). The role of snails and ants in transmitting the avocado stem canker pathogen, un panel solar de 40 W (Figura 7) y guardarse en una batería para poder usarla durante la noche. A nivel del suelo, un tubo de PVC permite que las hormigas caminen hasta el tronco del árbol y un circuito detecta cuando suben las hormigas. En un lado del PVC (Figura 7, bloque naranja), las luces LED están fijas y se encienden cuando un fototransistor (TEPT5700, Vishay, India) se activa mediante un diodo emisor de baja potencia (XZCDGK53W-8VF, SunLED Company Limited, Hong Kong). Esta acción tiene lugar cuando las hormigas circulan. Hahn y Martínez (2023) publicaron el circuito completo, donde utilizan dos MOSFET's de baja potencia junto con un microcontrolador CC2541 (Texas Instruments, EUA). El costo por árbol se muestra en el Cuadro 4, y es de \$34.20 USD. Si una caja de 30 kg se puede pagar a \$10.00 USD, y un panel solar sirve para dos árboles, el sistema puede resultar muy rentable. El sistema está protegido contra erosión hídrica causada por tormentas mediante el cierre del tubo de PVC, lo cual evita daños en los circuitos y las lámparas LED.
- En 2018, 60 % de los árboles fueron atacados por hormigas y la producción de los árboles disminuyó 35 %. Los árboles de mango muy maduros, con 30 años de edad, estuvieron menos propensos al ataque de hormigas, ya que las hojas jóvenes estaban muy elevadas, y durante 2019 sólo dos árboles fueron atacados por hormigas. Los árboles de mango de 10 años, con hojas tiernas más bajas, fueron atacados más frecuentemente y se encontraron caminos cubiertos por secciones de hojas en el 55 % de los árboles. En 2019, la producción de mango disminuyó 28 %. El uso del sistema en 30 árboles de 10 años durante la noche evitó que las hormigas se alimentaran del follaje.

Conclusiones

Como la iluminación superior del L300 funcionó mal sobre el camino, se probaron otras alternativas. Con la iluminación superior, sólo un pequeño porcentaje de la luz incidente proveniente del L300 se reflejó desde el suelo hasta la cabeza de las hormigas. Sin embargo, nunca se comprobó el daño en los ojos con un microscopio, solo se observaron efectos indirectos (velocidad, colisiones, pérdida de orientación), por lo cual impactó directamente sobre sus cabezas y cuerpos.

A medida que aumentaba la intensidad de la luz en el camino, incrementaba la velocidad de las hormigas al caminar y disminuía el PTEH. Cuando el sistema visual se vio afectado por pulsos laterales más intensos, las hormigas chocaron y recibieron golpes por parte de sus seguidores, las cuales intentaban adaptarse al parpadeo de la luz. El sistema LED fue muy preciso y las células fotorreceptoras fueron incapaces de cambiar rápidamente. La intensidad de la luz LED

- Phytophthora citricola*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(5), 973-977. <https://doi.org/10.21273/JASHS.121.5.973>
- Eliopoulos, P., Tatlas, N., Rigakis, I., & Potamitis, I. (2018). A "smart" trap device for detection of crawling insects and other arthropods in urban environments. *Electronics*, 7(9), 161. <https://doi.org/10.3390/electronics7090161>
- Farji-Brener, A., Chinchilla, F., Rifkin, S., Sánchez, A., Triana, E., Quiroga, V., & Giraldo, P. (2010). The 'truck-driver' effect in leaf-cutting ants: How individual load influences the walking speed of nest-mates. *Physiological Entomology*, 36(2), 128-134. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2010.00771.x>
- Farji-Brener, A., Dalton, M., Balza, U., Courtis, A., Lemus, I., Fernandez, R., & Caceres, Z. (2018). Working in the rain? Why leaf-cutting ants stop foraging when it's raining. *Insectes Sociaux*, 65, 233-239. <https://doi.org/10.1007/s00040-018-0605-z>
- Franks, N., Gomez, N., Goss, S., & Deneubourg, J. (1991). The blind leading the blind in army ant raid patterns: Testing a model of self-organization (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Insect Behavior*, 4, 583-607. <https://doi.org/10.1007/BF01048072>
- Freeman, B. M., & Chaves-Campos, J. (2016). Branch width and height influence the incorporation of branches into foraging trails and travel speed in leafcutter ants *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 45, 258-264. <https://doi.org/10.1007/s13744-016-0362-5>
- Frolov, R. V. (2016). Current advances in invertebrate vision: insights from patch-clamp studies of photoreceptors in apposition eyes. *Journal Neurophysiology*, 116, 709-723. <https://doi.org/10.1152/jn.00288.2016>
- Gallotti, R., & Chialvo, D. (2017). How ants move: collective versus individual scaling properties. *Journal of The Royal Society Interface*, 15(143), 1-6. <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0223>
- Gordon, D. (2019). The ecology of collective behavior in ants. *Annual Review of Entomology*, 64(3), 1-3.16. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-111923>
- Greiner, B., Narendra, A., Reid, S., Dacke, M., Ribi, W., & Zeil, J. (2007). Eye structure correlates with distinct foraging-bout timing in primitive ants. *Current Biology*, 17(20), 879-80. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.08.015>
- Hahn, F., & Bolaños, C. (2021). How can blue and white light pulses stimulate *Atta cephalotes* in trails below fruit trees? *Modern Concepts & Developments in Agronomy*, 9(5), 000725. <https://doi.org/10.31031/MCDA.2021.09.000725>
- Hahn, F., & Martínez, F. (2023). WSN system warns "Atta Cephalotes" climbing in mango fruit trees. *Proceedings of the Future Technologies Conference*, 560(2), 284-296. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-18458-1_20
- Harley, C. M., & Ritzmann, R. E. (2010). Electrolytic lesions within central complex neuropils of the cockroach que llega al ojo de las hormigas puede dañar algunos fotodetectores, lo cual crea problemas de adaptación y pérdida de orientación.
- Las hormigas *Atta cephalotes* pueden hacer frente a una iluminación continua, pero sufren problemas de adaptación bajo pulsos de luz intermitentes. La frecuencia de parpadeo de 200 Hz puede cambiar las rutas de tránsito de las hormigas al optimizar el uso de la energía.
- ### Agradecimientos
- Agradecemos al MI. Ángel Hernández y al Biol. Ruth Pérez por las deliberaciones, y a la Universidad Autónoma Chapingo por apoyar y financiar el proyecto 19008-DTT-65.
- ### Fin de la versión en español
- brain affect negotiation of barriers. *Journal of Experimental Biology*, 213(16), 2851-2864. <https://doi.org/10.1242/jeb.042499>
- Hölldobler, B., & Wilson, E. (1990). *The ants*. Belknap Press, Cambridge.
- Hunt, E. R., Baddeley, R. J., Worley, A., Sendova, A. B., & Franks, N. R. (2016). Ants determine their next move at rest: motor planning and causality in complex systems. *Royal Society Open Science*, 3(1), 150534. <https://doi.org/10.1098/rsos.150534>
- Inger, R., Bennie, J., Davies, T. W., & Gaston, K. J. (2014). Potential biological and ecological effects of flickering artificial light. *PLoS ONE*, 9(5), e98631. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098631>
- Jayatilaka, P., Narendra, A., Reid, S., Cooper, P., & Zeil, J. (2011). Different effects of temperature on foraging activity schedules in sympatric *Myrmecia* ants. *Journal of Experimental Biology*, 214(16), 2730-2738. <https://doi.org/10.1242/jeb.053710>
- Kwaku, K. M., Gonick, E. A., Ostapovich, E. M., & Weinberg, I. P. (2020). The frequency of leaf transfer in *Atta cephalotes* along horizontal and vertical surfaces near the bases of trees. *Insectes Sociaux*, 67, 481-486. <https://doi.org/10.1007/s00040-020-00784-3>
- Meyer-Rochow, V. (2002). The crustacean eye: dark/light adaptation, polarization sensitivity, flicker fusion frequency, and photoreceptor damage. *Zoological Science*, 18(9), 1175-1197. <https://doi.org/10.2108/zsj.18.1175>
- Mota-Filho, T. M., Stefanelli, L., Camargo, R., Matos, C., & Forti, L. (2021). Biological control in leaf-cutting ants, *Atta sexdens* (Hymenoptera:Formicidae), using pathogenic fungi. *Revista Árvore*, 45, e4516. <https://doi.org/10.1590/1806-908820210000016>
- Moser, J., Reeve, J., Bento, J., Della-Lucia, T., Cameron, R., & Heck, N. (2004). Eye size and behavior of day- and night-

- flyng leaf cutting ant alates. *Journal of Zoology*, 264(1), 69-75. <https://doi.org/10.1017/S0952836904005527>
- Narendra, A., Reid, S., & Raderschall, C. (2013). Navigational efficiency of nocturnal *Myrmecia* ants suffers at low light levels. *PLoS ONE*, 8, e58801. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058801>
- Narendra, A., Kamhi, J., & Ogawa, Y. (2017). Moving in dim light: behavioral and visual adaptations in nocturnal ants. *Integrative and Comparative Biology*, 57(5), 1104-1116. <https://doi.org/10.1093/icb/ix096>
- Norton, V., Stevens, B., & Harris, W. (2014). Flexibility of individual load-mass selection in relation to foraging trail gradient in the leaf-cutter ant *Acromyrmex octospinosus*. *Journal of Insect Behavior*, 27, 370-384. <https://doi.org/10.1007/s10905-013-9435z>
- Ogawa, Y., Falkowski, M., Narendra, A., Zeil, J., & Hemmi, J. (2015). Three spectrally distinct photoreceptors in diurnal and nocturnal Australian ants. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282, 1-7. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.0673>
- Rodríguez, G., Calle, D. Z., & Montoya-Lerma, J. (2008). Herbivoríade *Attacephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) sobre tres sustratos vegetales. *Revista Colombiana de Entomología*, 34(2), 156-162. <https://doi.org/10.25100/socolen.v34i2.9280>
- Röschard, J., & Roces, F. (2011). Sequential load transport in grass-cutting ants (*Atta vollenweideri*): Maximization of plant delivery rate or improved information transfer? *Psyche A Journal of Entomology*, 643127, 1-9. <https://doi.org/10.1155/2011/643127>
- Schwarz, S., & Wystrach, A. (2011). Visual input and path stabilization in walking ants. *Communicative Integrative Biology*, 4(6), 758-760. <https://doi.org/10.4161/cib.17730>
- Strömbom, D., & Dussutour, A. (2018) Self-organized traffic via priority rules in leaf-cutting ants. *PLoS Computer Biology*, 14(10), e1006523. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006523>
- Valmir, S. V., Dillon, B. R., Dillon, B. V., Reynolds, B. S., & Samuel, R. I. (2004). Occurrence of the antibiotic producing bacterium *Burkholderia* sp. in colonies of the leaf cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *Microbiology Letters*, 239(2), 319-323. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2004.09.005>
- Varón, E., Eigenbrode, S., Bosque-Perez, N., & Hilje, L. (2007). Effect of farm diversity on harvesting of coffee leaves by the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Agricultural and Forest Entomology*, 9(1), 47-55. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2006.00320.x>
- Warrant, E. (2017). The remarkable visual capacities of nocturnal insects: Vision at the limits with small eyes and tiny brains. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372, 1-13. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0063>
- Wilson, E.O. (1971). *The insect societies*. Belknap Press.
- Wirth, R., Herz, H., Ryel, R., Beyschlag, W., & Holldobler, B. (2003). *Herbivory of leaf-cutting ants*. Springer, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-05259-4>