



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

La calidad del recurso alimenticio y la competencia
interespecífica en la interacción hormiga-planta- herbívoro
en un ambiente semiárido

Tesis para obtener el título de
Licenciada en Biología

PRESENTA:

Rocio Vianey Flores Flores

Director de tesis: Dr. Wesley F. Dáttilo Da Cruz

Co-director: Dr. Armando Aguirre Jaimes



Junio 2016

ÍNDICE GENERAL

	<i>Página</i>
I. Resumen	1
II. Introducción	2
III. Predicciones y preguntas de investigación	6
IV. Material y Métodos	7
1. Zona de estudio.....	7
2. <i>Vachellia constricta</i>	7
3. Selección de individuos de <i>V. constricta</i>	8
4. Cuantificación del volumen y concentración del néctar	8
5. Reclutamiento y eficiencia defensiva de las hormigas en respuesta a la concentración de néctar	9
6. Jerarquía de dominancia y distribución de los recursos	10
7. Análisis de datos	13
V. Resultados	14
1. Actividad de secreción de los NEFs y cuantificación de néctar	14
2. Eficacia y eficiencia defensiva de las hormigas en respuesta a la concentración de néctar	15
3. Ritmo de actividad diario de las hormigas	16
4. Jerarquía competitiva	17
VI. Discusión	18
1. Características del néctar, dinámica de secreción y su relación con la eficiencia defensiva	18
2. Patrones de organización temporal e interacción entre las especies de hormigas	19
3. La calidad del néctar, su relación con la dominancia competitiva y la estructura de la comunidad de hormigas	21
VII. Conclusión	23
VIII. Figuras	24
IX. Cuadros	29
X. Bibliografía	30

Resumen

En la asociación entre plantas con nectarios extraflorales (NEFs) y hormigas, las plantas secretan néctar extrafloral para recompensar a las hormigas, que a cambio del recurso alimenticio, las protegen contra el daño causado por los herbívoros. Sin embargo, existe una gran variación en la calidad (proporción de azúcares y otros componentes) y cantidad (tasa de producción de néctar extrafloral) entre diferentes especies de plantas y plantas de la misma especie, lo que podría alterar la interacción hormiga-planta-herbívoro. Existen múltiples factores ecológicos, principalmente las variaciones en temperatura y humedad, que están involucrados en la producción de néctar extrafloral y el patrón de actividad de los herbívoros a lo largo del día, especialmente en ambientes semiáridos. En este tipo de entornos, las condiciones ambientales cambian drásticamente entre turnos (día y noche) y temporadas (lluviosa y seca), y los costos para reemplazar hojas, mantener la disponibilidad de néctar, explorar y explotar recursos, ya sea néctar extrafloral o follaje a lo largo del día y el año, son particularmente altos para las plantas, las hormigas y los herbívoros, respectivamente. Actualmente, hay poca información sobre cómo el valor nutricional del néctar extrafloral se traduce en eficiencia defensiva bajo diversos factores bióticos y abióticos, además de su participación en el establecimiento de la jerarquía de dominancia de las diferentes especies de hormigas y, por tanto, en la competencia por las fuentes de alimento y la estructura de la comunidad. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue demostrar si la calidad y disponibilidad de néctar extrafloral, así como el periodo del día, modulan las interacciones multitróficas entre hormigas, plantas y herbívoros en una población de *Vachellia constricta* ubicada en una zona semiárida del centro de México. Los resultados sugieren que la calidad del néctar extrafloral es un elemento clave para incrementar la capacidad de respuesta de las hormigas ante la presión de herbivoría y, asegura la asociación con hormigas. Por otro lado, aunque el néctar extrafloral es un estímulo eficaz para el reclutamiento de hormigas, las hormigas son incapaces de ampliar su estancia en las plantas hospedadas, particularmente más allá de su ciclo normal de actividad para monopolizar los recursos; probablemente, porque su actividad estaría restringida a la tolerancia que tienen a las temperaturas críticas que se observan en el día y la noche. Por último, la calidad del néctar extrafloral participa en el desempeño de las hormigas durante la defensa de las plantas y la competencia con otras especies de hormigas, pero no puede aumentar el grado de agresividad de las hormigas, o su tolerancia a temperaturas críticas. Por tal motivo, la calidad del néctar que consumen las diferentes especies de hormigas, no es razón suficiente para determinar cómo se establece la jerarquía de dominancia y el acceso a los recursos alimenticios en las comunidades de hormigas asociadas a plantas con NEFs.

INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existen múltiples ejemplos de interacciones mutualistas entre plantas con nectarios extraflorales (en adelante, NEFs) y hormigas. En este tipo de asociación, las plantas secretan néctar extrafloral para recompensar a las hormigas, que a cambio del recurso alimenticio se encargan de protegerlas del daño causado por los herbívoros (Heil & McKey, 2003; Bronstein et al., 2006; Rico-Gray & Oliveira, 2007; Davidson, 2008). A la fecha, se ha reportado la presencia de NEFs en 3941 especies de plantas, que representan 745 géneros en 108 familias; de las cuales, Fabaceae, Passifloraceae y Malvaceae, comprenden la mayoría de plantas con NEFs (Aguirre et al., 2013; Weber & Keeler, 2013). Los NEFs están presentes en diferentes estructuras de las plantas, como hojas, pecíolos, tallos jóvenes, estípulas, estipelas, raquis de las hojas compuestas; y algunas estructuras reproductivas, como brotes, cáliz, inflorescencias, pedúnculos florales y frutos (Díaz-Castelazo et al., 2005; Aguirre et al., 2013).

El néctar extrafloral es una fuente de alimento altamente nutritiva que se compone básicamente de agua, glucosa, fructosa y sacarosa (Heil et al., 2000; Wäckers, 2001; Koptur, 2005; González-Teuber & Heil et al., 2009a). Además, está compuesto por pequeñas cantidades de aminoácidos, lípidos, fenoles, alcaloides, compuestos orgánicos volátiles y enzimas activas (González-Teuber & Heil et al., 2009b; Heil, 2011). Aunque es posible encontrar otro tipo de azúcares en el néctar extrafloral (Wäckers, 2001; Chavarro-Rodríguez et al., 2013), la composición básica de azúcares no cambia en la mayoría de las especies (Heil et al., 2005; González-Teuber & Heil et al., 2009a; Heil et al., 2010). Sin embargo, existe gran variación en la calidad (proporción de azúcares y otros componentes) y cantidad (tasa de producción de néctar extrafloral) entre diferentes especies de plantas (Blüthgen et al., 2004), entre plantas de la misma especie (Heil et al., 2000; Blüthgen et al., 2004), y entre hojas de la misma planta (Heil et al., 2000; Blüthgen et al., 2004; Radhika et al., 2008).

La variación en calidad y cantidad de néctar extrafloral, ocurre a nivel espacial y temporal, y es causada por múltiples factores, entre ellos, la estacionalidad (Díaz-

Castelazo et al., 2004; Rico-Gray et al., 2004; Chavarro-Rodríguez et al., 2013; Aranda-Rickert et al., 2014), el periodo del día (Heil et al., 2000; Koptur, 2005; Wäckers, 2005; Rhadika et al., 2010), la intensidad de herbivoría (Heil et al., 2001; Wäckers et al., 2001; Ness, 2003; Heil et al., 2004; Wooley et al., 2007; Newman & Wagner, 2013), y la tasa de remoción de néctar de algunos insectos (primordialmente hormigas) (Heil et al., 2000). De igual modo, las diferencias genotípicas entre plantas (Wooley et al., 2007), el tamaño, edad y fenología reproductiva (Miller, 2014); así como, la localización de los NEFs (estructuras vegetativas contra estructuras reproductivas) (Wäckers & Bonifay, 2004; Falcão et al., 2013; Aranda-Rickert et al., 2014), la disponibilidad de agua (Koptur, 2005; Chavarro-Rodríguez et al., 2013; Newman & Wagner, 2013; Pringle et al., 2013) y nutrientes en el suelo (Koptur, 2005; Wäckers, 2005; Pringle et al., 2013; Pringle, 2015), modifican la calidad y cantidad de néctar extrafloral. Por otro lado, dado que los NEFs están expuestos al ambiente, la humedad relativa (que aumenta la tasa de evaporación del néctar) (Koptur, 2005; Wäckers, 2005) y la actividad microbiana (que incrementa los niveles de glucosa y fructosa, por la ruptura de sacarosa), también afectan el volumen y concentración del néctar extrafloral, haciéndolo más viscoso (Wäckers, 2005).

En ambientes semiáridos, el néctar extrafloral es más susceptible a modificaciones en calidad, cantidad y presentación, puesto que las condiciones de temperatura y humedad cambian radicalmente entre turnos (diurno-nocturno) (Fitzpatrick et al., 2014a) y temporadas (lluviosa-seca) (Chavarro-Rodríguez et al., 2013; Aranda-Rickert et al., 2014). Además, la disponibilidad de agua y nutrientes es limitado, y los costos de operación para reemplazar hojas (Pringle et al., 2013) y mantener la disponibilidad de néctar extrafloral a lo largo de todo el día (Fitzpatrick et al., 2014a), son particularmente altos. Como resultado, un aumento en la calidad y producción de néctar (Radhika et al., 2008), especialmente en ambientes semiáridos, se restringe a ciertos periodos y partes de la planta, cuando y donde la actividad de los herbívoros es mayor, generalmente durante la noche y en hojas jóvenes (Falcão et al., 2013; Millán-Cañongo et al., 2014; Dátilo et al., 2015), tal y como lo predice la

Teoría de la Defensa Óptima (McKey, 1974, 1979; Rhoades, 1979; Heil et al., 2000; Holland et al., 2009).

La actividad de forrajeo de las hormigas (que se refleja directamente en la frecuencia de visita y la movilización entre plantas y hojas de la misma planta) es controlada principalmente, por la calidad y cantidad de néctar disponible (Blüthgen & Fiedler 2004a; Mitchell, 2004), y otros factores, como el ritmo de actividad diario de las hormigas (Ingram et al., 2009), y las necesidades de la colonia (Portha et al., 2002; Byk & Del-Claro, 2011); mientras que, la eficiencia con que las hormigas desplazan a los herbívoros, depende en gran parte de su agresividad, abundancia y la capacidad de reclutar rápidamente a otros miembros de la colonia (Di Giusto et al., 2001; Ness et al. 2010). Sin embargo, no todas las especies de hormigas tienen la misma capacidad de proteger a las plantas (Ness et al., 2006), ni las visitan durante todo el día (Oliveira et al., 1999; Díaz-Castelazo et al., 2004; Nicklen & Wagner, 2006). Según el ritmo de actividad diario de las especies de hormigas (Ingram et al., 2009), algunas son de hábitos diurnos, nocturnos o ambos (Díaz-Castelazo et al., 2004; Ness, 2006). Adicionalmente, la actividad y agresividad de las hormigas disminuye cuando las fuentes de alimento carecen de azúcares, hecho que se traduce en ineficiencia para enfrentar a los herbívoros (Grover et al., 2007; Fitzpatrick et al., 2014a).

Por otro lado, la inestabilidad espacial y temporal de las propiedades nutricionales del néctar extrafloral y su disponibilidad, genera que las especies de hormigas que visitan a las plantas compitan por las fuentes de alimento (Davidson, 1998; Blüthgen & Fielder, 2004b). Al respecto, las especies dominantes son capaces de desplazar a otras especies (dominantes o subordinados) que compiten por los mismos recursos o territorios (Davidson, 1998; Retana & Cerdá, 2000; Cerdá et al., 2013), y por ende, las especies dominantes son el punto de partida en la estructuración de la comunidad de hormigas (Parr, 2008). Por lo general, las hormigas dominantes; son abundantes, agresivas y tiene la habilidad de reclutar rápidamente a otros miembros de la colonia (Palmer, 2004); además, con frecuencia monopolizan las fuentes de alimento (Blüthgen & Fielder, 2004b), y pueden discriminar entre ellas

para elegir a las plantas hospederas que les brinden néctar extrafloral de mejor calidad (Davidson, 1998; Blüthgen & Fielder, 2004a). Por consiguiente, el néctar extrafloral no solo es el pago por defensa para la plantas; además, es un recurso que funciona como mediador de las interacciones entre múltiples especies de hormigas (Rudgers & Gardener, 2004).

El patrón de actividad de forrajeo de las hormigas y la manera en la que comparten o compiten por las fuentes de alimento durante todo el día, son un elemento decisivo para la eficacia de la defensa de las plantas (Fitzpatrick et al., 2014b) y la estructura de la comunidad de hormigas (Blüthgen et al., 2000; Cerda et al., 2013). En este hecho, la capacidad competitiva (Parr, 2008) y la tolerancia o rechazo a perfiles de hidrocarburos cuticulares de otras especies o colonias (Hölldobler & Wilson, 1990; Silverman & Liang, 2000; Tsuisui, 2004; Menzel et al., 2007), es importante, porque las necesidades de recursos de muchas especies de hormigas se superponen considerablemente (Baccaro et al., 2010; 2012), en el mismo lugar u hora, aun mas en sitios con condiciones inestables. En relación a esto, las especies menos competitivas se benefician al evadir encuentros directos con las especies dominantes; en cambio, las especies dominantes pueden utilizar las señales dejadas por los subordinados para seguirlos y excluirlos de las fuentes de alimento (Davidson, 1998; Binz et al., 2014). En raras excepciones, las hormigas dominantes pueden coexistir con otras especies, particularmente subordinados, sobre las mismas fuentes de alimento (Menzel et al., 2007). Por lo cual, las interacciones entre las especies de hormigas podrían alterar la dinámica hormiga-planta-herbívoro (Binz et al., 2014).

Puesto que la capacidad de las hormigas contra los herbívoros cambia de acuerdo a las especies de hormigas asociadas, y causa efectos negativos sobre la defensa de las plantas, en este estudio probamos si la calidad del néctar extrafloral determina la eficiencia de protección de las hormigas que visitan a *V. constricta* (Benth.) Seigler & Ebinger, en un ambiente semiárido durante el día y la noche. Este hecho sería crucial para la comprensión de las interacciones planta-hormiga-

herbívoro en vista de la inestabilidad espacio-temporal en la disponibilidad de recursos que se presentan en este tipo de ambientes.

PREDICCIONES Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

Por lo antes dicho, esperamos que en un ambiente semiárido la calidad y cantidad de néctar que se secreta por la noche sea mayor (horario donde hay más herbívoros activos) que durante el día en hojas jóvenes. De tal forma que el néctar extrafloral que se produce en la noche, podría ser rápidamente localizado y monopolizado por especies de hormigas altamente competitivas, e impidan el acceso a otras especies a las fuentes de alimentos. Adicionalmente, esperamos que las especies de hormigas que visitan a plantas con NEFs durante la noche, recluten a un mayor número de hormigas, sean más agresivas, y como consecuencia protejan mejor a las plantas. Para poner a prueba estas predicciones, se estudió la interacción entre hormigas, plantas y herbívoros en una población de *V. constricta* (Fabaceae: Mimosoideae) en un ambiente semiárido del estado de Puebla, México. Específicamente, se plantearon las siguientes preguntas: 1) ¿Las especies de hormigas que se alimentan de néctar rico en azúcares son más agresivas y eficientes para ahuyentar y agredir a los herbívoros que las hormigas que se alimentan de néctar bajo en azúcares?; 2) ¿La calidad y disponibilidad continua de néctar podría favorecer que especies altamente competitivas monopolicen los recursos e impidan el acceso a otras especies, independientemente de las condiciones ambientales que predominen a lo largo de todo el día y su ritmo de actividad diario?; 3) ¿El establecimiento de la jerarquía de dominancia entre especies de hormigas dominantes, y por tanto, su prevalencia en las fuentes de alimento está relacionada con la capacidad competitiva de las especies, el ritmo de actividad diario o la alimentación pre-competencia?

MATERIAL Y MÉTODOS

Zona de estudio

El estudio se llevó a cabo en Julio de 2015 en el Jardín Botánico Helia Bravo Hollis (18°19'54" N y 97°27'21" O), que tiene una extensión de 10 ha (Guzmán-Mendoza et al., 2010). El lugar se encuentra a una altitud de 1507 m, y está localizado en el municipio de Zapotitlán Salinas, Puebla. Es un área que se sitúa dentro del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, donde se reconocen al menos 36 asociaciones vegetales, de las cuales, destacan 10 que están dominadas por especies endémicas (Valiente-Banuet et al., 2000; 2009). La temperatura media anual oscila entre 18 y 22° C, mientras que la precipitación media anual es de 400 mm (Dávila et al., 2002). La región se caracteriza por una temporada seca, que va de Noviembre a Mayo, y una estación de lluvias, que va de Junio a Octubre (Valiente, 1991). Hasta el momento, en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán se registran 47 especies de hormigas (Guzmán-Mendoza et al., 2010), y por lo menos 13 de ellas mantienen asociaciones con plantas, ya que se alimentan de néctar floral y extrafloral, secreciones dulces que producen las larvas de insectos homópteros, hojas, y de otras estructuras vegetales y reproductivas (Rico-Gray et al., 1998).

***Vachellia constricta* (Benth.) Seigler & Ebinger**

Hasta hace poco, el género *Vachellia* sustituyó al género *Acacia* subg. *Acacia* (Seigler & Ebinger, 2005; Kylangalilwa et al., 2013; Turner, 2015), que agrupó a 161 especies en América (Gómez-Acevedo et al., 2010). *V. constricta* (antes *Acacia constricta*) es un árbol o arbusto de 1 a 5 m de alto, de hojas bipinnadas, con una glándula (nectario extrafloral) localizada entre o justo debajo del primer par de pinnas, de 0.4 a 0.7 mm de diámetro, redondo y cupular (Clarke et al., 1990; Rico-Arce, 2007). Esta especie de planta, habita principalmente en zonas áridas (Gómez-Acevedo et al., 2010), y se distribuye desde el oeste de Texas hasta el suroeste de Arizona, y de ahí hasta el sur de Oaxaca (Clarke et al., 1990). En México, se reconocen dos variedades, *V. constricta* var. *constricta*, que florece de junio a julio

y fructifica de julio a diciembre, y *V. constricta* var. *vernica*, más restringida al norte de México, que florece de abril a diciembre y fructifica de mayo a diciembre (Rico-Arce, 2007). Dentro del valle de Tehuacán-Cuicatlán, *V. constricta* está presente en 7 de las 36 asociaciones vegetales, principalmente en bosques de cactáceas columnares (Valiente et al., 2009).

Selección de individuos de *V. constricta*

La elección de individuos de *V. constricta*, se realizó en un área de 2520 m².dentro del Jardín Botánico. Pese a que *V. constricta* es una especie con baja abundancia en el sitio (Guzmán-Mendoza & Castaño-Meneses, 2007), se escogieron plantas de fácil acceso para el observador y con características similares: i) plantas con una altura de 0.53 a 4.06 m y ii) separadas por una distancia de 10 a 30 m para no sobrestimar a las especies de hormigas con sistemas de reclutamiento eficientes, y al mismo tiempo, evitar que una misma colonia de hormigas forrajee dos plantas seleccionadas (Gotelli et al., 2011). La asignación de plantas para cada tratamiento y, tratamientos para cada planta, se hizo de manera aleatoria.

Cuantificación del volumen y concentración del néctar

Para determinar el patrón de secreción de los NEFs y cuantificar la concentración de néctar, seleccionamos 15 plantas, y en cada planta se eligieron cinco ramas (10 nectarios apicales), en las cuales se impidió el acceso a hormigas durante 12 horas. Para aislar los nectarios de los visitantes y permitir la acumulación de néctar, los NEFs se cubrieron con una bolsa de tul y se aplicó un anillo de resina no tóxica (Tree Tanglefoot® Pest Barrier, The Tanglefoot Corp., Grand Rapids, MI, USA) sobre la base del tallo principal. A las 11:00 y 23:00 h, se retiraron las bolsas de tul y se contó el número de nectarios activos e inactivos, según el método propuesto por Dáttilo et al (2015) para determinar la actividad de secreción de néctar. Después de observar la actividad de los nectarios, se colecto el néctar de seis NEFs diferentes

(un nectario por planta) con un tubo microcapilar de 1µl, y se cuantificó la concentración de azúcares con un refractómetro portátil (ATAGO® con corrección automática de temperatura y rango de concentración 0°–85° escala BRIX). El néctar extrafloral de *V. constricta* se extrajo de seis plantas para lograr un volumen de néctar más alto, ya que el volumen por nectario era muy pequeño para medir su concentración de manera individual. Solo fue posible determinar la concentración del néctar que se produce en la noche, ya que el volumen de néctar secretado durante el día es mínimo y la alta tasa de evaporación aumenta su viscosidad, lo que dificulta su extracción. A fin de estimar la cantidad de azúcares por µL del néctar extrafloral, se utilizó la siguiente formula:

$$y = 0.00226 + (0.00937 x) + (0.0000585 x^2)$$

;donde (y) representa la masa por unidad de volumen (mg µL⁻¹) y (x) el porcentaje de concentración de azúcares determinada por el refractómetro (Galletto & Bernadello 2005).

Reclutamiento y eficiencia defensiva de las hormigas en respuesta a la concentración del néctar

Para probar si la calidad del néctar extrafloral modifica la eficiencia defensiva de las hormigas contra herbívoros en el día y la noche; se midió la concentración natural de azúcares en el néctar extrafloral de *V. constricta* (29%, 0.323 mg µL⁻¹), y a partir de ella, se definieron dos tratamientos: alta concentración de azúcares (solución casi dos veces más concentrada que el néctar natural) y baja concentración de azúcares (solución, casi dos veces más diluida que el néctar natural). Para cada solución, alta concentración de azúcares (56%, 0.710 mg µL⁻¹) y baja concentración de azúcares (11%, 0.112 mg µL⁻¹), se elaboró una mezcla de miel y agua, que denominamos como néctar artificial. Para preparar las soluciones, se utilizó miel de abeja, pues es la sustancia natural más parecida en composición (azúcares y aminoácidos) al néctar extrafloral (Ver Bonvehi & Jorda, 1997). Posteriormente, se seleccionaron 63 plantas, de las cuales se dividieron en tres grupos de 21 plantas

para cada tratamiento, y en cada planta, se colocaron 3 tubos eppendorf de 1.5 ml sobre la zona apical (primeros 20-30 cm) de tres ramas. Los tubos eppendorf se sujetaron a las ramas con cintas de plástico. Cada uno de los tratamientos incluyó dos tipos de estímulos, la presencia de un herbívoro simulado y una solución de néctar artificial o agua (esta última utilizada como control).

A las 7:00 y 19:00 h, se llenó cada tubo eppendorf con agua y néctar artificial de alta y baja concentración. En la entrada de cada tubo eppendorf se colocó una torunda de algodón para evitar que las hormigas cayeran dentro. Durante distintos periodos, de 10:00 a 13:00 h, y de 22:00 a 1:00 h. (lapsos contrastantes en intensidad de luz, radiación solar, temperatura y humedad), se cuantificó el número de hormigas que estaban sobre y en una distancia de 10 cm de los tubos eppendorf, y justo después del conteo, sobre cada una de las tres ramas y a 15 cm de cada NEF artificial, se colocó una oruga viva (20.43 ± 2.21 mm. de longitud) de la especie *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) fijándola con pegamento blanco, y de inmediato se cuantificó el tiempo en el cuál la primera hormiga atacó a cualquiera de las tres orugas. Solo se consideró como ataque, cuando las hormigas encontraron y mordieron a las orugas (que comprende desde el contacto con la presa por medio de las antenas hasta el cierre súbito de las mandíbulas). El tiempo máximo establecido para un ataque fue de 10 min, después de eso, consideramos que no hubo ataque.

Jerarquía de dominancia y distribución de los recursos

Para determinar el grado en que la competencia interespecífica contribuye a la organización espacial y temporal de la comunidad de hormigas en plantas con NEFs, se realizaron dos experimentos; el primero, para comprobar si la disponibilidad continua de néctar propicia que la o las especies dominantes pre-ocupen los recursos de mejor calidad e impidan el acceso a otras especies de hormigas. Cada una de las soluciones (agua, utilizada como control; alta concentración de azúcares, solución al 56%, y baja concentración de azúcares, solución al 11%) estuvo disponible durante 48 horas en 21 plantas (7 plantas por

tratamiento), y en cada planta en tres tubos eppendorf sobre tres ramas distintas, separadas por una distancia de al menos 20 centímetros. Para restablecer el volumen de néctar artificial y agua perdido por evaporación y el consumo de los visitantes (hormigas) a lo largo del día, cada seis horas se lavaron y rellenaron los tubos eppendorf con las soluciones correspondientes. En cada periodo, de 10:30 a 11:30 h, de 16:30 a 17:30 h, y de 22:30 a 23:30 h, se contabilizó el número de hormigas que estaban sobre los tres nectarios artificiales de las 21 plantas, así como la especie a la que pertenecía cada una de ellas. Los periodos de registro nos permitieron diferenciar especies con actividad diurna, nocturna, y al mismo tiempo detectar si alguna de las especies de hormigas es capaz de sobrepasar alguno de los dos periodos de transición, después de las horas más frescas antes del mediodía y las horas más cálidas antes del anochecer, para monopolizar los recursos. En cada intervalo, se colectaron por lo menos tres individuos de cada especie de hormiga para su identificación. Al final se comparó la riqueza de especies de hormigas entre tratamientos.

El segundo experimento se llevó a cabo para determinar si la capacidad competitiva difiere entre especies de hormigas dominantes, quienes por sus características tienen mayor probabilidad de monopolizar los recursos y entre quienes la competencia por las fuentes de alimento es potencialmente más intensa. Además, para identificar si la diferencia competitiva, podría estar asociada a la calidad del néctar extrafloral que ingieren previo al encuentro con otra especie y ritmo de actividad diario. Las especies de hormigas dominantes se identificaron en base a su tasa de ocupación en las plantas y contribución al éxito de la defensa. Como resultado, *Camponotus rubritorax* (Cabeza: 1.43 ± 0.035 mm; Cuerpo: 5.68 ± 0.035 mm) (Promedio \pm DE.) y, *Camponotus atriceps* (Cabeza: 3.01 ± 0.39 mm; Cuerpo: 9.49 ± 0.39 mm) (Promedio \pm DE.), fueron la primera y segunda especie con mayor porcentaje de ocupación y ataques a orugas (Ver más adelante en resultados), en el día y la noche, respectivamente. El experimento consistió en promover la interacción entre *C. atriceps* y *C. rubritorax*. Como plataforma para valorar el comportamiento de *C. atriceps* y *C. rubritorax*, se utilizó un contenedor de plástico (4 cm de altura y 5 cm de diámetro), y en cada extremo se colocó a una hormiga de

cada especie, luego durante 10 minutos se registraron los siguientes comportamientos: 1) cuál de las dos hormigas ataca primero, 2) número de ataques, 3) contrataques, 4) escapes y 5) si alguna de las dos hormigas murió durante la lucha. Consideramos como ataque cuando alguna de las dos hormigas embiste, muerde o empuja varias veces a la otra, o cuando hubo episodios de lucha prolongada que incluyeron la aparente eyección (abdomen enroscado) o eyección de compuestos defensivos; un contraataque cuando alguna de las hormigas respondió inmediatamente con un ataque ante la ofensiva de la otra; y un escape cuando una de las hormigas evade rápidamente el acercamiento de la otra hormiga con la aparente intención de atacarla. Después de cada evaluación, lavamos los recipientes con agua y jabón neutro para remover cualquier sustancia que hubiera podido modificar el comportamiento de las hormigas.

Para el ensayo se recolectaron 160 hormigas, 80 hormigas de *C. atriceps* y 80 hormigas de *C. rubritorax*, a las 23:30 h y 11:30 h respectivamente. Las hormigas que se colectaron estaban cerca o sobre las plantas con los tratamientos de alta y baja concentración de azúcares durante su turno de actividad correspondiente, diurno para *C. rubritorax* (Guzmán-Mendoza & Castaño-Meneses, 2007) y nocturno para *C. atriceps* (López-Riquelme & Fanjul-Moles, 2006). En cada colecta, se descartaron hormigas con signos de debilidad o daño para prevenir inconsistencia en los resultados (Roulston et al., 2003). Desde la colecta hasta la evaluación, las hormigas permanecieron en grupos de 8 a 10 integrantes de la misma especie en envases de plástico (22 cm de altura y 10 cm de diámetro), y en el centro del recipiente colocamos una torunda de algodón empapada de agua o néctar artificial. Un grupo de 80 hormigas, 40 de cada especie, recibió agua por ocho horas y a las 7:30 h y 19:30 h se registró el comportamiento de las hormigas de hábitos diurnos frente a las hormigas de hábitos nocturnos. Las demás hormigas, se dividieron en tres grupos: 1) control, formado por 40 hormigas, 20 de cada especie, que recibieron agua durante 14 horas; y los grupos 2) alta y 3) baja concentración de azúcares, cada uno formado por 20 hormigas, 10 de cada especie, que recibieron agua por 12 horas y néctar artificial de alta y baja concentración de azúcares por 2 horas, respectivamente. Posteriormente, a las 16:30 h se registró el comportamiento de las

hormigas que consumieron agua frente a las que consumieron néctar de alta o baja concentración. En cada horario establecido, se llevaron a cabo 20 encuentros entre las especies de hormigas.

Análisis de datos

Para estimar las posibles diferencias en el porcentaje de NEFs activos en *V. constricta* entre el día y la noche, se utilizó una prueba de Wilcoxon para muestras pareadas. Para comparar el número de hormigas en plantas con néctar artificial de alta y baja concentración, se utilizó un Modelo Lineal Generalizado con distribución Poisson y una prueba de contrastes para determinar si existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Para evaluar la eficiencia con que las hormigas protegen a plantas que ofrecen néctar con diferente concentración en el día y noche; primero, se calculó la función de supervivencia por el método Kaplan-Meier, y después se utilizó un análisis de regresión no lineal siguiendo la función de distribución de Weibull (Weibull, 1951). Para determinar las diferencias entre las funciones de sobrevivencia se utilizó la prueba de logaritmo-rango (Collet, 2015). También, se estimó el riesgo de que las orugas sean atacadas por hormigas entre día y noche cuando les suministramos néctar artificial de alta y baja concentración, con el modelo de riesgos proporcionales de Weibull (Collet, 2015).

Para determinar el reemplazo temporal en la composición de especies de hormigas entre periodos de muestreo (diversidad β por planta) durante 48h cuando suministramos diferentes tipos de dietas (alta y baja concentración) *ad libitum*, se calculó la partición aditiva de diversidad (Veech et al., 2002). Los periodos de muestreo entre los que evaluamos la sustitución de especies fueron: 10:30 y 16:30 hrs. (Tiempo 1); 16:30 y 22:30 hrs. (Tiempo 2); 22:30 y 10:30 hrs. (Tiempo 3); 10:30 y 16:30 hrs. (Tiempo 4); 16:30 y 22:30 hrs. (Tiempo 5); 22:30 y 10:30 hrs. (Tiempo 6). De la riqueza total de hormigas que se encontraron en dos periodos de muestreo (γ -diversidad), se calculó la α -diversidad, que se define como: $\alpha = (\alpha_1 + \alpha_2) / 2$,

donde α_1 = riqueza de especies en el período de muestreo 1 y α_2 = la riqueza de especies en el período de muestreo 2. A continuación, se calculó la β -diversidad (reemplazo temporal), definido como: $\beta = (\gamma - \alpha)$. Dado que los valores de β -diversidad se distribuyen normalmente, se utilizó un ANOVA de medidas repetidas de una vía para probar las diferencias entre la sustitución de especies en el tiempo según el tipo de dieta que se les ofreció a las hormigas.

Para estimar si *C. atriceps* y *C. rubritorax* tienen la misma probabilidad de iniciar el enfrentamiento se utilizó una prueba binomial. Posteriormente, para determinar si el periodo de mayor actividad (diurno o nocturno) de *C. rubritorax* y *C. atriceps*, o las dietas (alta y baja concentración) que se les administró a las hormigas están asociadas al número de ataques de cada especie, se utilizó una prueba G y una prueba de comparaciones múltiples para proporciones con corrección de Bonferroni, para analizar si existen diferencias significativas en el número de ataques entre dietas. Por último, se utilizó una prueba G para contrastar la frecuencia de ataques, escapes y contraataques entre especies. Todos los análisis se llevaron a cabo en el programa R (R Development Core Team, 2015). Las gráficas se realizaron en el programa GraphPad Prism versión 6.01 para Windows (Motulsky, 1999) y el software R (R Development Core Team, 2015).

RESULTADOS

Actividad de secreción de los NEFs y cuantificación de néctar

El porcentaje de nectarios activos de *V. constricta* fue más alto durante la noche que durante el día (Día: $12 \pm 6.76\%$ y Noche: $74 \pm 22.61\%$) (Promedio NEFs activos \pm DE) (Wilcoxon: $Z = -3.35$; $P < 0.001$) (Fig. 1). En concreto, la actividad de los nectarios aumentó un 62% durante la noche (Fig. 2). La concentración de azúcar del néctar extrafloral de *V. constricta*, sin diluir, fue del 29% ($0.323 \text{ mg } \mu\text{L}^{-1}$) en la noche.

Eficacia y eficiencia defensiva de las hormigas en respuesta a la concentración de néctar

El número de hormigas por planta fue mayor durante la noche que durante el día (Devianza_{1,122} = 97.58; $P < 0.001$), y difiere entre los tipos de dieta (Devianza_{2,122} = 661.67; $P < 0.001$). El número de hormigas fue mayor en plantas con néctar de alta concentración (Día: 11 ± 18.18 ; Noche: 22.47 ± 27.44) (Promedio de hormigas reclutadas \pm DE) y baja concentración (Día: 4.61 ± 7.04 ; Noche: 7.14 ± 9.13) (Promedio de hormigas reclutadas \pm DE) en comparación al control (Día: 1.09 ± 1.51 ; Noche: 1.95 ± 5.21) (Promedio de hormigas reclutadas \pm DE) (Prueba de contrastes. Control vs Baja: $P < 0.001$; Control vs Alta: $P < 0.001$), y en plantas con néctar de alta concentración en comparación a plantas con néctar de baja concentración (Prueba de contrastes. Alta vs Baja: $P < 0.001$) (Fig.3).

De acuerdo con el modelo del análisis de supervivencia, se observó que la proporción de orugas no atacadas por hormigas disminuye rápido y en gran porcentaje durante la noche en comparación al día (Devianza_{2,121} = 79.08; $P < 0.001$). Durante la noche la proporción de orugas no atacadas disminuyó al 50% a los 2.21 minutos contra 6.59 minutos en el día. Sin embargo, cuando las hormigas ingieren néctar de alta concentración comparado con el de baja concentración y el control, la cantidad de orugas no atacadas decrece aún más rápido hasta la mitad (Devianza_{1,124} = 82.90; $P < 0.001$) (Noche: Alta = 0.35 min; Baja = 1.21 min; Día: Alta = 2.23 min; Baja = 4.45 min). Además, independientemente del tipo de dieta que consumieron las hormigas, las orugas fueron más atacadas y con mayor rapidez durante la noche en comparación al día (Devianza_{2,119} = 2.64; $P = 0.26$). De manera general, el riesgo de que una oruga sea atacada por hormigas es 1.74 veces mayor en la noche que en el día, y hasta 21.08 y 10.01 veces más cuando el néctar artificial es de alta y baja concentración, respectivamente (Fig. 4). Por otro lado, se observó que el 84.21% de los ataques registrados durante la noche fueron de *C. atriceps*, y el 63.88% de los ataques durante el día fueron de *C. rubritorax*. De

los cuales, poco más del 50% de los ataques de las dos especies ocurrieron tras el consumo de néctar artificial de alta concentración.

Ritmo de actividad diario de las hormigas

A lo largo de 48 horas, se registraron 8 especies de hormigas que visitaron a plantas, 3 de la subfamilia Formicinae, 3 de Pseudomyrmecinae, y una de Dolichoderinae y Myrmicinae. Por otro lado, se observó que el reemplazo de especies de hormigas es muy evidente entre el día y la noche a lo largo de los periodos de muestreo (ANOVA $F_{1,83} = 4.774$; $P < 0.001$), pero no se asoció a la calidad de la dieta proporcionada a las hormigas (ANOVA $F_{1,83} = 0.853$; $P = 0.35$) (Figura 6), lo que corresponde con el porcentaje de ocupación de las hormigas, como se describe a continuación. Las especies que visitan con mayor frecuencia y reclutan a un mayor número de hormigas a plantas de *V. constricta* fueron, *C. atriceps* por la noche (estuvo presente en el 90% del total de plantas ocupadas por hormigas a lo largo de 48h) y *C. rubritorax* por el día (estuvo presente en el 56.25% y 50% del total de plantas ocupadas por hormigas a lo largo de 48h, antes del mediodía y antes del anochechar respectivamente). Además, otras especies como *Azteca* sp. 1, *Brachymyrmex* sp. 1 y *Pseudomyrmex pallidus* elevan su porcentaje de ocupación durante la tarde, cuando el porcentaje de ocupación de *C. rubritorax* disminuye en la misma proporción (6.25% del total de plantas ocupadas por hormigas a lo largo de 48h). Por su dominancia numérica y agresividad, en pocas ocasiones *C. atriceps* y *C. rubritorax* se encontraron con otras especies de hormigas sobre las mismas plantas, como se muestra a continuación: *C. rubritorax* con *Pseudomyrmex gracilis* (9 veces), con *P. pallidus* (2 veces), con *Brachymyrmex* sp.1 y *Pseudomyrmex* sp.1 (1 vez); mientras que, *C. atriceps* con *P. gracilis* y *Brachymyrmex* sp.1 (1 vez), y a *P. gracilis* con *P. pallidus* y *Azteca* sp1 (1 vez).

Por último, en base al número de visitas y hormigas que llegan a las plantas en 48 horas, se determinó el periodo de actividad de forrajeo de las dos especies con mayor abundancia y porcentaje de ocupación. Se encontró que, *C. rubritorax* se mantiene activa de 10:00 a 17:00 hrs., pero su pico de actividad fue antes del

mediodía. Por el contrario, *C. atriceps* estuvo muy activa durante la noche, y fue disminuyendo su actividad hasta las primeras horas de la mañana. Por otra parte *Azteca* sp. 1, *Brachymyrmex* sp. 1 y *P. pallidus* fueron las especies con mayor actividad en horas de la tarde.

Jerarquía competitiva

Se encontró que no existe relación entre el número de ataques y el periodo de mayor actividad (diurno o nocturno) de las obreras de *C. rubritorax* y *C. atriceps* ($G= 0.005$; $gl= 1$; $P=0.94$), pero si depende de la alimentación previa a la competencia ($G= 8.09$; $gl= 2$; $P=0.01$). Se encontraron diferencias significativas en el número de ataques cuando las hormigas consumen néctar de baja concentración en vez de agua (Control vs Alta: $P= 0.23$; Control vs Baja: $P=0.01$; Alta vs Baja: $P=0.48$).

Las hormigas se enfrentaron en 36 y 38 ocasiones, cuando los ensayos se llevaron a cabo dentro del periodo de mayor actividad de cada especie, y cuando se les administró cada una de las dietas (agua, baja y alta concentración, respectivamente). A lo largo de los ensayos, *C. atriceps* siempre atacó más veces que *C. rubritorax* (Día: $G= 148.92$, $gl= 1$, $P<0.001$; Noche: $G= 129.48$, $gl= 1$, $P<0.001$; Control: $G= 22.82$, $gl= 1$, $P<0.001$; Baja: $G= 3.9091$, $gl= 1$, $P= 0.048$; Alta: $G= 16.437$, $gl= 1$, $P<0.001$) (Cuadro 1). En cambio, *C. rubritorax* escapó más veces que *C. atriceps* (Día: $G= 160.91$, $gl= 1$, $P<0.001$; Noche: $G= 158.04$, $gl= 1$, $P<0.001$; Control: $G= 85.15$, $gl= 1$, $P<0.001$; Baja: $G= 26.84$, $gl= 1$, $P<0.001$); sin embargo, el número de escapes no fue diferente entre *C. atriceps* y *C. rubritorax* cuando las dos especies consumieron néctar artificial de alta calidad (Alta: $G= 2.7726$, $gl= 1$, $P= 0.095$) (Cuadro 1). No se encontró relación entre el hecho de cuál de las especies de hormigas inició la pelea y su periodo de actividad ($G= 0.16$, $gl= 1$, $P=0.68$) ni la dieta que se les administró ($G= 5.61$, $gl= 2$, $P=0.06$). Del total de enfrentamientos, *C. atriceps* inició la pelea el 91.66% (Prueba binomial: $P<0.001$) de las veces independientemente de su periodo de actividad, y el 78.94% (Prueba binomial: $P<0.001$) de las veces

independientemente de la dieta que recibió. Por último, el 15% de las hormigas de *C. rubritorax* (5% en el día, 5% en la noche, 2.5% cuando ingirieron agua, y 2.5% cuando consumieron néctar de baja concentración), y el 2.5 % de *C. atriceps* (cuando consumieron agua) murieron en los enfrentamientos.

DISCUSIÓN

Características del néctar, dinámica de secreción y su relación con la eficiencia defensiva

Al igual que en otros trabajos sobre interacciones entre hormigas, plantas con NEFs y herbívoros en ambientes semiáridos (Dáttilo et al., 2015; Holland et al., 2010), se demostró que la actividad de secreción de los NEFs de *V. constricta* incrementa durante la noche. Aunque no fue posible medir la concentración de néctar extrafloral en el día, es probable que la concentración del néctar de *V. constricta* sea mayor durante la noche para atraer más hormigas, como consecuencia de la presión que ejercen los herbívoros durante ese periodo. Justamente, el número de hormigas fue mayor en la noche sobre las plantas con néctar artificial de alta concentración (2.04 veces más hormigas que en el día en el mismo tratamiento). Esta misma dinámica de interacción; también, se observó en *Catalpa bignonioides* (Bignoniaceae), que ajusta la concentración del néctar extrafloral a través del día para convocar a un mayor número de hormigas cuando requiere mayor protección contra herbívoros (Ness, 2003). Por otra parte, encontramos que cuando mejora la calidad de la recompensa ofrecida, no solo aumenta la abundancia de hormigas que visitan a *V. constricta*, además, las hormigas son mucho más rápidas en descubrir y atacar a los herbívoros (orugas), particularmente por la noche y en plantas con néctar de alta concentración (2.09 veces más rápidas que en el día en el mismo tratamiento). Por lo cual, la probabilidad de que los herbívoros sean atacados aumenta cuando las plantas ofrecen néctar de mejor calidad y reclutan a un mayor número de hormigas (Gonzalez-Teuber et al., 2012; Palmer, 2003).

No obstante, otro aspecto que desempeña un rol importante en el éxito de la defensa de las plantas, es la identidad de las especies de hormigas que visitan a *V. constricta*, ya que el número de veces que *C. atriceps* (32 veces) y *C. rubritorax* (23 veces) descubrieron y atacaron a los herbívoros, ocurrió casi en la misma proporción que el porcentaje de ocupación de estas dos especies en su periodo de actividad (35 y 28 veces, respectivamente). Así que, si *V. constricta* posee al menos una especie de hormiga asociada, esta especie tiene que contar con las características apropiadas para proporcionarle protección cuando más lo necesita. Por sus atributos, las especies dominantes brindan el mejor servicio de protección, en particular, por su porcentaje de ocupación, el número de hormigas que reclutan y su agresividad (Davidson, 1998; Gaume et al., 2005; Parr, 2008). Una de las bases fundamentales para conservar el vínculo entre plantas y hormigas (principalmente especies dominantes), es producir néctar rico en azúcares (Blüthgen & Fielder, 2004a; Schilman & Roces, 2003; Wäckers, 2002). Adicionalmente, la cantidad de azúcares del néctar mejora la eficiencia (la rapidez de las hormigas para descubrir y atacar a los herbívoros) pero no la eficacia (la habilidad de las especies para ahuyentar o excluir a los herbívoros), eso depende de las características propias de cada especie de hormiga (Ness et al., 2006). Por lo que las plantas deben generar mecanismos para conservar a las especies de hormigas altamente eficaces en el servicio de defensa y; al mismo tiempo, hacer una asignación adecuada de los recursos para producir néctar, según sus necesidades (Heil et al., 2000; Radhika et al., 2008). Es interesante notar hasta qué punto una planta puede reducir la calidad del néctar sin que las especies de hormigas más efectivas disminuyan la frecuencia de visita y la eficiencia para atacar a los herbívoros. Al menos en nuestro experimento, la diferencia en concentración de azúcares entre el néctar artificial de alta y baja calidad, fue cinco veces menor, y el número de veces que las especies de hormigas atacan a los herbívoros simulados, entre las hormigas que consumen néctar artificial de alta y baja concentración, disminuyó muy poco (12.5% y 21.74% ataques de *C. atriceps* y *C. rubritorax*, respectivamente) por las características de las especies. Siendo así, las plantas deben garantizar alta concentración del néctar al menos durante periodos críticos (por ejemplo, lapsos del día donde la tasa de

herbivoría aumenta o etapas vulnerables dentro de su trayectoria ontogenética) y afianzar la relación con especies de hormigas eficaces, mientras mantienen un equilibrio entre defensa, reproducción y crecimiento (Pringle et al., 2013).

Patrones de organización temporal e interacción entre las especies de hormigas

La producción y secreción de néctar extrafloral (Rhadika et al., 2010) y la frecuencia de visita de las hormigas a sus fuentes de alimento (Bloch, 2009; Guzmán-González et al., 2010; Ingram et al., 2009) son procesos rítmicos que fluctúan a lo largo del día en función de las necesidades de la planta y de las hormigas, respectivamente. Por tanto, la búsqueda de alimento diario y la permanencia de las diferentes especies de hormigas en las fuentes de alimento deberían variar de acuerdo con el volumen y la concentración de azúcar del néctar disponible a través del día (Gaume & McKey, 1999). Sin embargo, las especies dominantes (*C. atriceps* y *C. rubritorax*, en su respectivo periodo de actividad) no fueron capaces de prolongar su estancia en *V. constricta* ante un estímulo ininterrumpido (néctar artificial), a pesar de que en un ambiente semiárido la posibilidad de encontrar una fuente de alimento con características idóneas (alta concentración y gran volumen) y, de forma continua (durante 48 h), es un evento inusual ante la volatilidad de la producción y secreción de néctar en este tipo de ambientes. Los factores abióticos no solo determinan cambios en las características del néctar, su dinámica de producción y secreción, y el patrón de actividad de los herbívoros a través del día, también restringen la búsqueda diaria de alimento de las hormigas (Fitzpatrick et al., 2014b; Jayatilaka et al., 2011; Rico-Gray et al., 2012; Cogni & Freitas, 2002), considerando que las hormigas no poseen mecanismos compensatorios para regular su temperatura corporal frente a los cambios ambientales y son incapaces de tolerar temperaturas extremas. Así que, las hormigas eligen horarios que les permiten alcanzar una temperatura corporal adecuada para mantenerse activas (Fitzpatrick et al., 2014b; Jayatilaka et al., 2011; Parr, 2008). Por tanto, los efectos directos e indirectos de los factores abióticos pueden convertirse en determinantes críticos de la defensa de las

plantas (Fitzpatrick et al., 2014b; Rico-Gray et al., 2012; Hölldobler & Wilson 1990). Pero favorablemente, el ritmo de actividad diario de las especies de hormigas dominantes (especialmente, *C. atriceps*) coincide con los momentos en que *V. constricta* necesita más protección.

Todo lo anterior parece confirmar que el grado de monopolización de los recursos alimenticios no depende de su calidad si no de las condiciones ambientales favorables para cada especie. Este patrón no solo se ha visto en otras comunidades de hormigas (Parr, 2008; Baccaro et al., 2012) también se repite en comunidades de abejas (Muniz et al., 2013), donde las especies con el rango más alto dentro de la comunidad estaban activas en las horas más frescas y húmedas, en tanto que, las especies subordinadas estaban activas durante las horas más cálidas y secas a fin de evitar un enfrentamiento directo por las fuentes de alimento. No obstante, entre mayor valor nutritivo tenga el néctar favorece que las hormigas visiten con mayor frecuencia a las plantas, y atraigan a un mayor número de individuos en las horas en que están más activas y la temperatura sea óptima, o al menos aceptable, para cada una de las especies. Pero el hecho de que la actividad de forrajeo este restringida impide que, ante la escasez de un recurso tan valioso como el néctar extrafloral, las hormigas más agresivas modifiquen el acceso a dicho recurso imponiendo de este modo una escasez estructural a las demás especies de hormigas que visitan a *V. constricta*, y a la par, cambios importantes en la composición de especies.

La calidad del néctar, su relación con la dominancia competitiva y la estructura de la comunidad de hormigas

La marcada fluctuación, entre el día y la noche, de las principales características del néctar (cantidad y posiblemente la calidad) de *V. constricta* se refleja directamente en la tasa de ocupación de *C. atriceps* y *C. rubritorax*. Estas dos especies son altamente eficaces en el servicio de defensa, y altamente competitivas con otras especies dentro de su periodo de actividad. En nuestro caso, *C. rubritorax* tiene un índice de dominancia más bajo (en base al número de ataques a otra especie y

tamaño corporal); por lo que algunas veces, permite el uso de las fuentes de alimento por otras especies (interactúa con 4 especies en 13 ocasiones en un periodo de 48h). A diferencia de *C. atriceps* que tiene un índice de dominancia más alto (en base al número de ataques a otra especie, tamaño corporal y, su iniciativa para atacar); razón por la cual, en muy pocos casos permite que otras especies hagan uso de las fuentes de alimento (interactúa con 2 especies en 2 ocasiones en un periodo de 48h). Lo anterior sugiere que la lucha por el acceso, control y utilización del néctar extrafloral de *V. constricta* podría ser más violenta entre especies dominantes y, más cuando los horarios en los que se encuentran activas estas especies se superponen considerablemente. Mientras, *C. atriceps* inicia su actividad a las 18h (Guzmán-González et al., 2010), *C. rubritorax* finaliza su actividad a la misma hora (Guzmán-Mendoza & Castaño-Meneses, 2007). Según nuestros datos, la sustitución entre *C. atriceps* y *C. rubritorax* se presenta en dos momentos clave, el primero por la noche (*C. rubritorax* por *C. atriceps*), y el segundo por la mañana (*C. atriceps* por *C. rubritorax*). En cada caso, *C. atriceps* (en la noche) y *C. rubritorax* (en la mañana) pasan entre 8 y 14 horas de ayuno antes de comenzar la búsqueda de alimento. Sin embargo, la abstinencia de alimento no perjudica a *C. atriceps*, quien bajo esas condiciones entabla la mayoría de las confrontaciones (inició las peleas el 79% de las veces con solo consumir agua) y lanza mayor número de ataques, por lo que fácilmente expulsaría a *C. rubritorax* de los recursos. Pero, la intolerancia de *C. atriceps* a las altas temperaturas impide que permanezca por más tiempo en las fuentes de alimento, lo que representa un beneficio, principalmente, para *C. rubritorax* quien puede acceder libremente a las plantas cuando *C. atriceps* no está activa.

Por otro parte, opuesto a lo que esperábamos, el turno de actividad de *C. rubritorax* (diurno) y *C. atriceps* (nocturno) no interviene en el desempeño de las especies durante la interacción entre hormigas, y por tanto, en la explotación óptima de los recursos; pese a que, los horarios de actividad y reposo de cada especie son opuestos (Guzmán-González et al., 2010; Guzmán-Mendoza & Castaño-Meneses, 2007) y nuestro experimento se llevó a cabo en periodos contrarios al horario de actividad de las hormigas diurnas o nocturnas, respectivamente. Lo que significaría,

bajo rendimiento, como resultado de forzar a los individuos a cumplir una tarea fuera de su ritmo normal de actividad (Bloch et al., 2013). Aunque, la alimentación previa a la competencia tiene impacto directo sobre la agilidad e intensidad de los ataques entre especies, tampoco interviene en lucha por los recursos, dado que consumir néctar con alto valor nutritivo no puede aumentar el grado de agresividad de una hormiga o su tolerancia a la temperatura, características propias de la especie.

CONCLUSIÓN

La producción y secreción de néctar extrafloral, es un proceso altamente dinámico que funge como pieza clave en el éxito de la eficiencia con que las hormigas desplazan a los herbívoros. Por tanto, la asignación diferencial de nutrientes para la producción de néctar extrafloral de alto y bajo valor nutritivo en base al valor de los tejidos, las condiciones ambientales (estrés hídrico y nutrientes del suelo) y la trayectoria ontogénica de las plantas (hojas jóvenes vs hojas de mayor edad) se funda bajo el principio de obtener los mayores y mejores resultados al menor esfuerzo. Pues, cada área de la planta (hojas jóvenes vs hojas de mayor edad) tiene el nivel de protección que necesita. Y a pesar de que la eficiencia de protección disminuye conforme decrece la concentración del néctar extrafloral, no representa un riesgo cuando las especies de hormigas que visitan a las plantas son altamente competitivas. Sin embargo, estas especies tienen que restringir su actividad diaria a factores como la temperatura, que permite que otras especies con mayor rango de tolerancia a temperaturas críticas puedan alimentarse en horarios en los que las especies dominantes están menos activas. Por otro lado, la interacción entre las diferentes especies de hormigas que visitan a *V. constricta* a lo largo del día, determina la riqueza de especies y la calidad del servicio de defensa. Por último, la calidad del néctar tiene un impacto directo sobre la capacidad de las diferentes especies de hormigas que visitan a *V. constricta* pero no interviene en las habilidades de lucha, al menos de las especies que tienen el rango más alto dentro de la comunidad de hormigas.

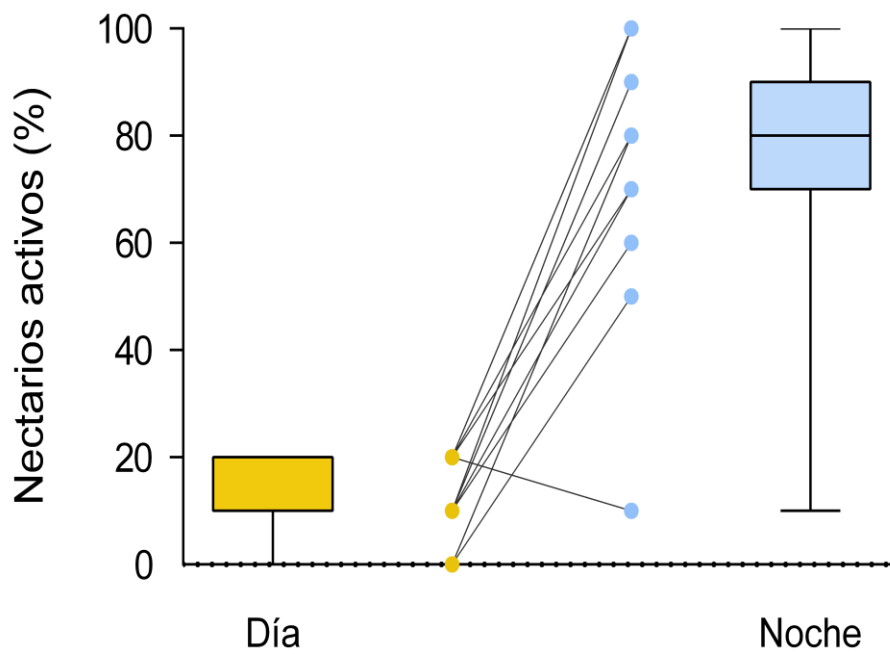


Figura 1. Porcentaje de nectarios activos de *V. constricta* (Fabaceae: Mimosoideae) en el día y noche. Cada línea representa a un individuo ($n= 15$) en dos periodos (día y noche). Las gráficas de cajas y bigotes muestran la distribución de los datos y sus parámetros descriptivos.

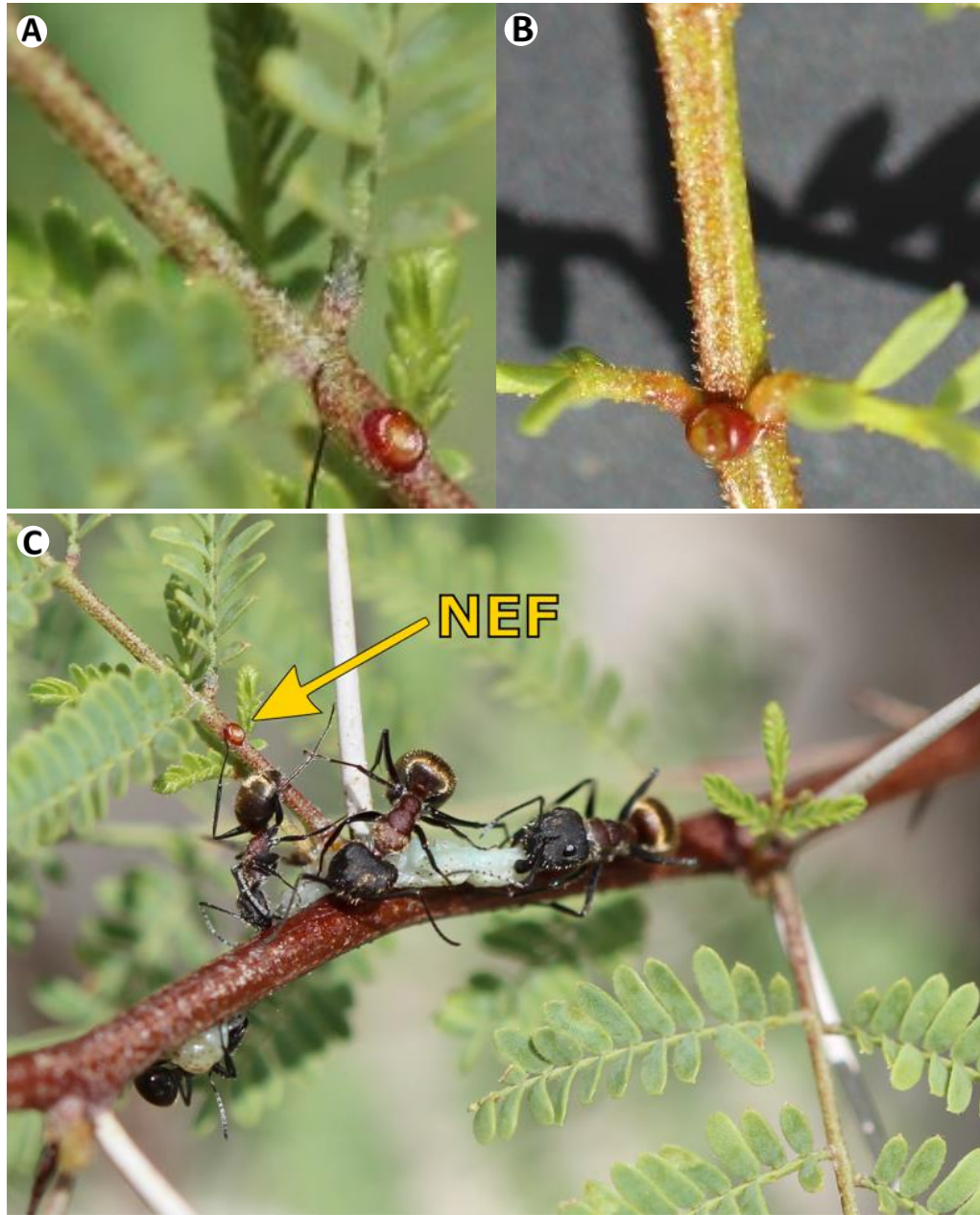


Figura 2. Los nectarios extraflorales (NEFs) en *V. constricta* (Fabaceae: Mimosoideae) son cupuliformes y están localizados en el peciolo de las hojas, durante el día, la mayoría de estas glándulas están inactivas y el néctar extrafloral es más denso por las condiciones ambientales que imperan en el sitio (A); en cambio durante la noche, la mayoría están activas y el néctar extrafloral es más abundante y menos denso (B). Hormigas obreras de *C. rubrithorax* atacando a una oruga cerca de un nectario extrafloral (NEF) de *V. constricta* en el valle Zapotitlán Salinas, Puebla, México (Fotos: Dr. Wesley Dáttilo).

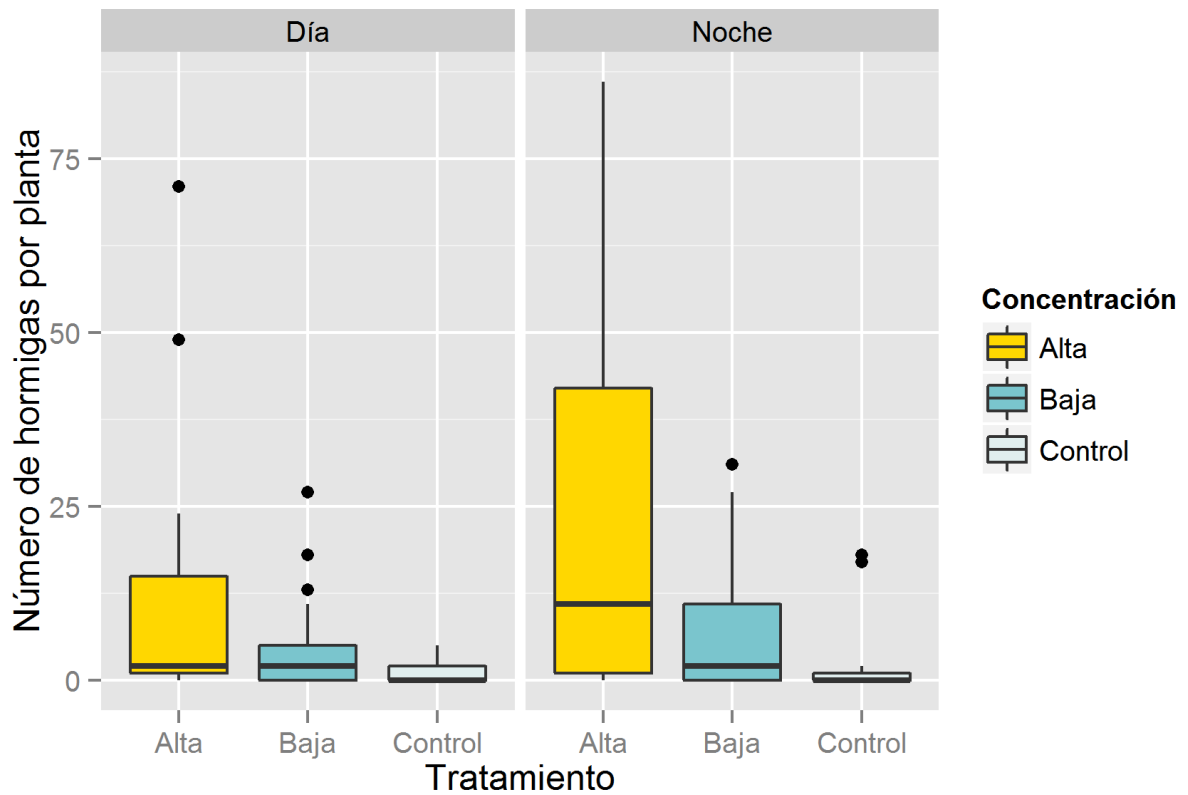


Figura 3. Efecto de la calidad del néctar en el número de hormigas que visitan a *V. constricta* en dos periodos. Número de hormigas por planta (n=63 plantas) sobre nectarios artificiales con soluciones de diferente concentración (n=21 plantas por tratamiento), control (agua), alta concentración (solución al 56%) y baja concentración (solución al 11%). En cada periodo (día y noche) se cuantificó el número de hormigas sobre los mismos individuos

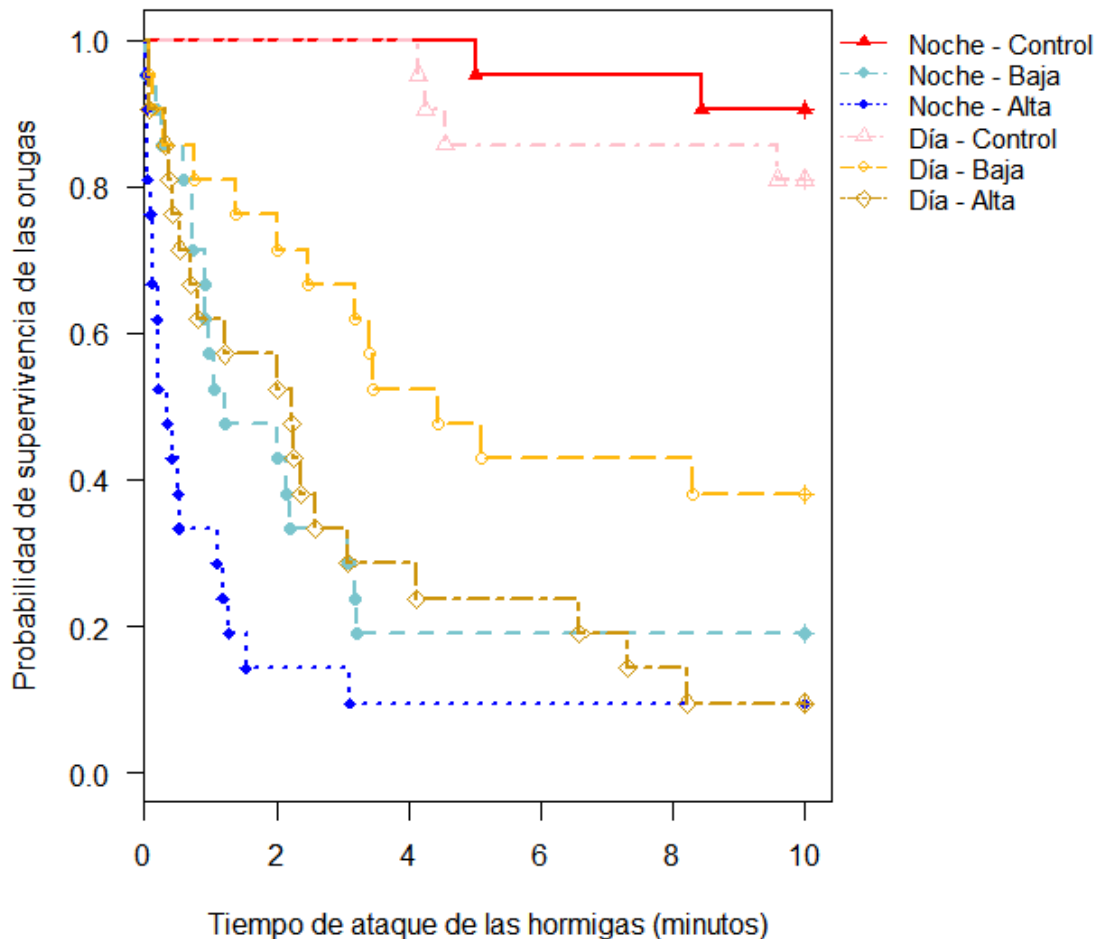


Figura 4. Probabilidad de sobrevivencia de los herbívoros simulados en función del tiempo que estuvieron expuestos al ataque de las hormigas y el efecto de la concentración de néctar en dos periodos sobre individuos de *V. constricta*. Cada una de las curvas representa el número de herbívoros simulados (orugas) no atacados en diferentes instantes, a lo largo de 10 minutos, en el día y la noche. Cada una de las orugas (n=189) fue colocada cerca de los nectarios artificiales (n=3 nectarios por planta) con soluciones de diferente concentración (n=21 plantas por tratamiento), control (agua), alta concentración (solución al 56%) y baja concentración (solución al 11%).

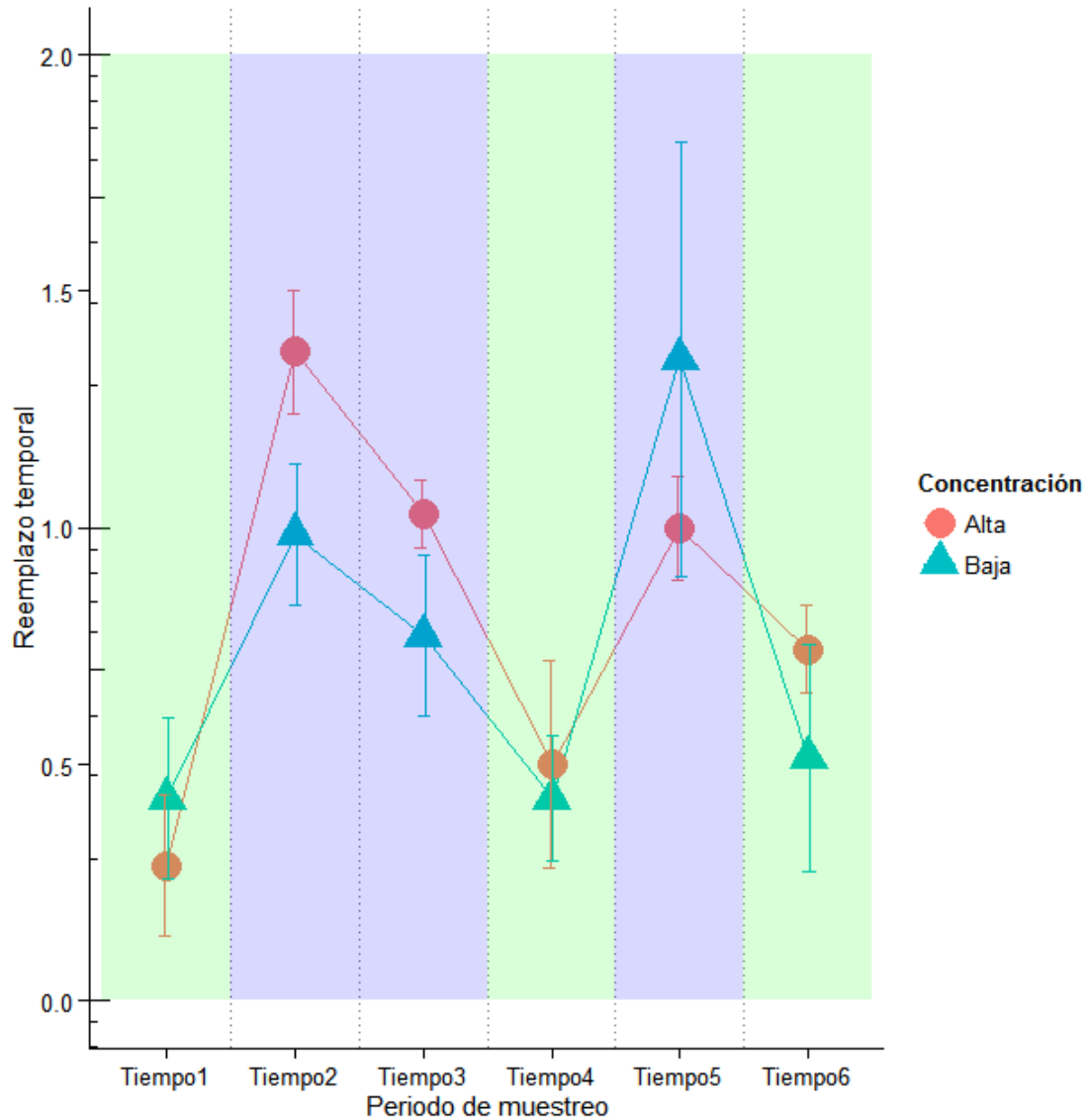


Figura 5. La calidad del néctar y la estructura de la comunidad de hormigas que visitan a *V. constricta* en un periodo de 48h. Recambio temporal en la composición de especies de hormigas (β -diversidad) y bajo un estímulo continuo (néctar artificial de alta y baja concentración). Las bandas de colores representan cambios entre el día (verde) y la noche (azul) en seis periodos de muestreo.

Cuadro 1. La calidad del néctar, el ritmo de actividad diario y la competencia entre dos especies dominantes (*C. atriceps* vs *C. rubritorax*). Frecuencia de ataques, contraataques y escapes por especie, en dos periodos (día y noche) y bajo el influjo de tres soluciones con diferente concentración, control (agua), alta concentración (solución al 56%) y baja concentración (solución al 11%).

	Ataques			Escapes			Contraataques		
	<i>C. atriceps</i>	<i>C. rubritorax</i>	<i>P</i>	<i>C. atriceps</i>	<i>C. rubritorax</i>	<i>P</i>	<i>C. atriceps</i>	<i>C. rubritorax</i>	<i>P</i>
Día	158	12	<0.001	2	129	<0.001	6	13	0.104
Noche	136	10	<0.001	0	114	<0.001	8	11	0.490
Control	57	17	<0.001	49	186	<0.001	31	4	<0.001
Alta	106	55	<0.001	0	2	0.095	1	2	0.559
Baja	86	62	0.048	3	31	<0.001	3	12	0.016

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, A., Coates, R., Cumplido-Barragán, G., Campos-Villanueva, A. & Díaz -Castelazo, C. (2013). Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. *Flora*, 208, 147-156.
- Aranda-Rickert, A., Diez, P. & Marazzi, B. (2014). Extrafloral nectar fuels ant life in deserts. *Aob Plants*, 6.
- Baccaro, F.B., De Souza, J.L.P., Franklin, E., Landeiro, V.L. & Magnusson, W.E. (2012). Limited effects of dominant ants on assemblage species richness in three Amazon forests. *Ecological Entomology*, 37, 1-12.
- Baccaro, F.B., Ketelhut, S.M. & De Morais, J.W. (2010). Resource distribution and soil moisture content can regulate bait control in an ant assemblage in Central Amazonian forest. *Austral Ecology*, 35, 274-281.
- Binz, H., Foitzik, S., Staab, F. & Menzel, F. (2014). The chemistry of competition: exploitation of heterospecific cues depends on the dominance rank in the community. *Animal Behaviour*, 94, 45-53.
- Bloch, G. (2009). Socially mediated plasticity in the circadian clock of social insects. *Organization of insect societies—from genome to sociocomplexity*, 402-431.
- Bloch, G., Barnes, B.M., Gerkema, M.P. & Helm, B. (2013). Animal activity around the clock with no overt circadian rhythms: patterns, mechanisms and adaptive value. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 280.
- Blüthgen, N. & Fiedler, K. (2004a). Competition for composition: Lessons from nectar-feeding ant communities. *Ecology*, 85, 1479-1485.
- Blüthgen, N. & Fiedler, K. (2004b). Preferences for sugars and amino acids and their conditionality in a diverse nectar-feeding ant community. *Journal of Animal Ecology*, 73, 155-166.

- Blüthgen, N., Gottsberger, G. & Fiedler, K. (2004). Sugar and amino acid composition of ant-attended nectar and honeydew sources from an Australian rainforest. *Austral Ecology*, 29, 418-429.
- Blüthgen, N., Verhaagh, M., Goitia, W., Jaffe, K., Morawetz, W. & Barthlott, W. (2000). How plants shape the ant community in the Amazonian rainforest canopy: the key role of extrafloral nectaries and homopteran honeydew. *Oecologia*, 125, 229-240.
- Bonvehi, J.S. & Jorda, R.E. (1997). Nutrient composition and microbiological quality of honeybee-collected pollen in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 725-732.
- Bronstein, J.L., Alarcon, R. & Geber, M. (2006). The evolution of plant-insect mutualisms. *New Phytologist*, 172, 412-428.
- Byk, J. & Del-Claro, K. (2011). Ant-plant interaction in the Neotropical savanna: direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. *Population Ecology*, 53, 327-332.
- Cerda, X., Arnan, X. & Retana, J. (2013). Is competition a significant hallmark of ant (Hymenoptera: Formicidae) ecology? *Myrmecological News*, 18, 131-147.
- Chavarro-Rodríguez, N., Díaz-Castelazo, C. & Rico-Gray, V. (2013). Characterization and functional ecology of the extrafloral nectar of *Cedreia odorata* in contrasting growth environments in central Veracruz, Mexico. *Botany-Botanique*, 91, 695-701.
- Clarke, H.D., Seigler, D.S. & Ebinger, J.E. (1990). *Acacia constricta* (Fabaceae: Mimosoideae) and related species from the southwestern US and Mexico. *American Journal of Botany*, 305-315.
- Cogni, R. & Freitas, A.V.L. (2002). The ant assemblage visiting extrafloral nectaries of *Hibiscus pernambucensis* (Malvaceae) in a mangrove forest in Southeast Brazil (Hymenoptera : Formicidae). *Sociobiology*, 40, 373-383.
- Collett, D. (2015). Modelling survival data in medical research. CRC press.

- Dáttilo, W., Aguirre, A., Flores-Flores, R.V., Fagundes, R., Lange, D., García-Chávez, J., Del-Claro K., Rico-Gray V. (2015). Secretory activity of extrafloral nectaries shaping multitrophic ant-plant-herbivore interactions in an arid environment. *Journal of Arid Environments*, 114, 104-109.
- Davidson, D.W. (1998). Resource discovery versus resource domination in ants: a functional mechanism for breaking the trade-off. *Ecological Entomology*, 23, 484-490.
- Davidson, D.W. (2008). Ant-plant interactions. *In: Encyclopedia of entomology*. Springer, pp. 166-185.
- Dávila, P., Arizmendi, M.D., Valiente-Banuet, A., Villaseñor, J.L., Casas, A. & Lira, R. (2002). Biological diversity in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 11, 421-442.
- Di Giusto, B., Anstett, M.C., Dounias, E. & McKey, D.B. (2001). Variation in the effectiveness of biotic defence: the case of an opportunistic ant-plant protection mutualism. *Oecologia*, 129, 367-375.
- Díaz-Castelazo, C., Rico-Gray, V., Oliveira, P.S. & Cautle, M. (2004). Extrafloral nectary-mediated ant-plant interactions in the coastal vegetation of Veracruz, Mexico: Richness, occurrence, seasonality, and ant foraging patterns. *Ecoscience*, 11, 472-481.
- Díaz-Castelazo, C., Rico-Gray, V., Ortega, F. & Angeles, G. (2005). Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. *Annals of Botany*, 96, 1175-1189.
- Falcão J.C.F., Dáttilo, W. & Izzo, T.J. (2014). Temporal variation in extrafloral nectar secretion in different ontogenic stages of the fruits of *Alibertia verrucosa* S. Moore (Rubiaceae) in a Neotropical savanna. *Journal of Plant Interactions*, 9, 137-142.
- Fitzpatrick, G., Huxman, T., Johnson, C., Bronstein, J. (2014a). Higher temperatures mean lower rewards and poorer defense in a desert protection mutualism. Conference: 99th ESA Annual Convention 2014.

- Fitzpatrick, G., Lanan, M.C. & Bronstein, J.L. (2014b). Thermal tolerance affects mutualist attendance in an ant-plant protection mutualism. *Oecologia*, 176, 129-138.
- Galetto, L. & Bernardello, G. (2005). Rewards in flowers: Nectar. *Practical pollination biology*. Cambridge: Enviroquest Ltd, 231-258.
- Gaume, L. & McKey, D. (1999). An ant-plant mutualism and its host-specific parasite: activity rhythms, young leaf patrolling, and effects on herbivores of two specialist plant-ants inhabiting the same myrmecophyte. *Oikos*, 84, 130-144.
- Gaume, L., Zacharias, M., Grosbois, V. & Borges, R.M. (2005). The fitness consequences of bearing domatia and having the right ant partner: experiments with protective and non-protective ants in a semi-myrmecophyte. *Oecologia*, 145, 76-86.
- Gómez-Acevedo, S., Rico-Arce, L., Delgado-Salinas, A., Magallon, S. & Eguiarte, L.E. (2010). Neotropical mutualism between *Acacia* and *Pseudomyrmex*: Phylogeny and divergence times. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 393-408.
- González-Teuber, M. & Heil, M. (2009a). The Role of Extrafloral Nectar Amino Acids for the Preferences of Facultative and Obligate Ant Mutualists. *Journal of Chemical Ecology*, 35, 459-468.
- González-Teuber, M., Silva Bueno, J.C., Heil, M. & Boland, W. (2012). Increased Host Investment in Extrafloral Nectar (EFN) Improves the Efficiency of a Mutualistic Defensive Service. *Plos One*, 7.
- González-Teuber, M. & Heil, M. (2009b). Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. *Plant signaling & behavior*, 4, 809-813.
- Gotelli, N.J., Ellison, A.M., Dunn, R.R. & Sanders, N.J. (2011). Counting ants (Hymenoptera: Formicidae): biodiversity sampling and statistical analysis for myrmecologists. *Myrmecological News*, 15, 13-19.
- Grover, C.D., Kay, A.D., Monson, J.A., Marsh, T.C. & Holway, D.A. (2007). Linking nutrition and behavioural dominance: carbohydrate scarcity limits aggression and activity in Argentine ants. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 274, 2951-2957.

- Guzmán-Mendoza, R., Castaño-Meneses, G. & del Carmen Herrera-Fuentes, M. (2010). Spatial and temporal variation of the diversity ants in the Botanic Garden from Zapotitlan de las Salinas Valley, Puebla. *Revista Mexicana De Biodiversidad*, 81, 427-435.
- Guzmán, M.R. & Castaño-Meneses, G. (2007). Selected foraging activity of *Camponotus rubrithorax* Forel (Hymenoptera: Formicidae) in the Zapotitlán Salinas Valley, Puebla. *Sociobiology*, 50, 435-448.
- Guzmán-González, C.I., Ramón, F., López-Riquelme, G.O., 2010. Variaciones diurnas de la respuesta olfativa en diferentes castas de *Camponotus atriceps*. LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Villahermosa, Tabasco, México; 09/2010.
- Heil, M. (2011). Nectar: generation, regulation, and ecological functions. *Trends in Plant Science*, 16, 191-200.
- Heil, M., Fiala, B., Baumann, B. & Linsenmair, K.E. (2000). Temporal, spatial and biotic variations in extrafloral nectar secretion by *Macaranga tanarius*. *Functional Ecology*, 14, 749-757.
- Heil, M., Greiner, S., Meimberg, H., Kruger, R., Noyer, J.L., Heubl, G. et al. (2004). Evolutionary change from induced to constitutive expression of an indirect plant resistance. *Nature*, 430, 205-208.
- Heil, M., Koch, T., Hilpert, A., Fiala, B., Boland, W. & Linsenmair, K.E. (2001). Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 1083-1088.
- Heil, M. & McKey, D. (2003). Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 34, 425-453.
- Heil, M., Orona-Tamayo, D., Eilmus, S., Kautz, S. & Gonzalez-Teuber, M. (2010). Chemical communication and coevolution in an ant-plant mutualism. *Chemoecology*, 20, 63-74.

- Heil, M., Rattke, J. & Boland, W. (2005). Postsecretory hydrolysis of nectar sucrose and specialization in ant/plant mutualism. *Science*, 308, 560-563.
- Holland, J.N., Chamberlain, S.A. & Horn, K.C. (2009). Optimal defence theory predicts investment in extrafloral nectar resources in an ant-plant mutualism. *Journal of Ecology*, 97, 89-96.
- Holland, J.N., Chamberlain, S.A. & Horn, K.C. (2010). Temporal variation in extrafloral nectar secretion by reproductive tissues of the senita cactus, *Pachycereus schottii* (Cactaceae), in the Sonoran Desert of Mexico. *Journal of Arid Environments*, 74, 712-714.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. (1990). *The Ants*. Belknap Press of Harvard University Press. Cambridge, Massachusetts, USA.
- Ingram, K.K., Krummey, S. & LeRoux, M. (2009). Expression patterns of a circadian clock gene are associated with age-related polyethism in harvester ants, *Pogonomyrmex occidentalis*. *BMC ecology*, 9, 1.
- Jayatilaka, P., Narendra, A., Reid, S.F., Cooper, P. & Zeil, J. (2011). Different effects of temperature on foraging activity schedules in sympatric *Myrmecia* ants. *Journal of Experimental Biology*, 214, 2730-2738.
- Koptur, S. (2005). *Nectar as fuel for plant protectors. Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 75-108.
- Kyalangalilwa, B., Boatwright, J.S., Daru, B.H., Maurin, O. & van der Bank, M. (2013). Phylogenetic position and revised classification of *Acacia* s.l. (Fabaceae: Mimosoideae) in Africa, including new combinations in *Vachellia* and *Senegalia*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 172, 500-523.
- Liang, D. & Silverman, J. (2000). "You are what you eat": Diet modifies cuticular hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften*, 87, 412-416.

- López-Riquelme, G.O. & Moles, M.L.F. (2006). The ant *Camponotus atriceps* shows electroretinogram circadian rhythms. *Biological Rhythm Research*, 37, 111-115.
- McKey, D. (1974). Adaptive patterns in alkaloid physiology. *American Naturalist*, 305-320.
- McKey, D. (1979). The distribution of secondary compounds within plants. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York, 55-133.
- Menzel, F., Linsenmair, K.E. & Bluethgen, N. (2008). Selective interspecific tolerance in tropical *Crematogaster-Camponotus* associations. *Animal Behaviour*, 75, 837-846.
- Millán-Cañongo, C., Orona-Tamayo, D. & Heil, M. (2014). Phloem Sugar Flux and Jasmonic Acid-Responsive Cell Wall Invertase Control Extrafloral Nectar Secretion in *Ricinus communis*. *Journal of Chemical Ecology*, 40, 760-769.
- Miller, T.E.X. (2014). Plant size and reproductive state affect the quantity and quality of rewards to animal mutualists. *Journal of Ecology*, 102, 496-507.
- Mitchell, R.J. (2004). Heritability of nectar traits: Why do we know so little? *Ecology*, 85, 1527-1533.
- Motulsky, H.J. (1999). *Analysing Data with GraphPad Prism*. GraphPad Software. San Diego. Analyzing data with GraphPad Prism, GraphPad Software, San Diego CA.
- Muniz, J.M., Pereira, A.L.C., Valim, J.O.S. & Campos, W.G. (2013). Patterns and mechanisms of temporal resource partitioning among bee species visiting basil (*Ocimum basilicum*) flowers. *Arthropod-Plant Interactions*, 7, 491-502.
- Ness, J., Mooney, K. & Lach, L. (2010). Ants as mutualists. *Ant ecology*, 97-114.
- Ness, J.H. (2003). *Catalpa bignonioides* alters extrafloral nectar production after herbivory and attracts ant bodyguards. *Oecologia*, 134, 210-218.
- Ness, J.H. (2006). A mutualism's indirect costs: the most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. *Oikos*, 113, 506-514.

- Ness, J.H., Morris, W.F. & Bronstein, J.L. (2006). Integrating quality and quantity of mutualistic service to contrast ant species protecting *Ferocactus wislizeni*. *Ecology*, 87, 912-921.
- Newman, J.R. & Wagner, D. (2013). The influence of water availability and defoliation on extrafloral nectar secretion in quaking aspen (*Populus tremuloides*). *Botany-Botanique*, 91, 761-767.
- Nicklen, E.F. & Wagner, D. (2006). Conflict resolution in an ant-plant interaction: *Acacia constricta* traits reduce ant costs to reproduction. *Oecologia*, 148, 81-87.
- Oliveira, P.S., Rico-Gray, V., Díaz-Castelazo, C. & Castillo-Guevara, C. (1999). Interaction between ants, extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Functional Ecology*, 13, 623-631.
- Palmer, T.M. (2003). Spatial habitat heterogeneity influences competition and coexistence in an African acacia ant guild. *Ecology*, 84, 2843-2855.
- Palmer, T.M. (2004). Wars of attrition: colony size determines competitive outcomes in a guild of African acacia ants. *Animal Behaviour*, 68, 993-1004.
- Parr, C.L. (2008). Dominant ants can control assemblage species richness in a South African savanna. *Journal of Animal Ecology*, 77, 1191-1198.
- Portha, S., Deneubourg, J.L. & Detrain, C. (2002). Self-organized asymmetries in ant foraging: a functional response to food type and colony needs. *Behavioral Ecology*, 13, 776-781.
- Pringle, E.G. (2015). Integrating plant carbon dynamics with mutualism ecology. *New Phytologist*.
- Pringle, E.G., Akcay, E., Raab, T.K., Dirzo, R. & Gordon, D.M. (2013). Water Stress Strengthens Mutualism Among Ants, Trees, and Scale Insects. *Plos Biology*, 11.
- R Development Core Team, 2015. R: a Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

- Radhika, V., Kost, C., Bartram, S., Heil, M. & Boland, W. (2008). Testing the optimal defence hypothesis for two indirect defences: extrafloral nectar and volatile organic compounds. *Planta*, 228, 449-457.
- Radhika, V., Kost, C., Mithoefer, A. & Boland, W. (2010). Regulation of extrafloral nectar secretion by jasmonates in lima bean is light dependent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 17228-17233.
- Retana, J. & Cerda, X. (2000). Patterns of diversity and composition of Mediterranean ground ant communities tracking spatial and temporal variability in the thermal environment. *Oecologia*, 123, 436-444.
- Rhoades, D.F. (1979). Evolution of plant chemical defense against herbivores. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York, 3-54.
- Rico-Arce, M.L. 2007. Acacia Mill. In: Rzedowski, J. y G. Calderón de Rzedowski (eds.). *Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*. Fascículo 150. Instituto de Ecología, A.C., Centro Regional del Bajío. Pátzcuaro, Michoacán, México. 230 pp.
- Rico-Gray, V., Díaz-Castelazo, C., Ramírez-Hernández, A., Guimaraes, P.R., Jr. & Holland, J.N. (2012). Abiotic factors shape temporal variation in the structure of an ant-plant network. *Arthropod-Plant Interactions*, 6, 289-295.
- Rico-Gray, V. & Oliveira, P.S. (2007). *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. University of Chicago Press.
- Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., Parra-Tabla, V., Cuautle, M. & Díaz-Castelazo, C. (2008). Ant-plant interactions: their seasonal variation and effects on plant fitness. In: *Coastal Dunes*. Springer, pp. 221-239.
- Rico-Gray, V., Palacios-Ríos, M., García-Franco, J.G. & Mackay, W.P. (1998). Richness and seasonal variation of ant-plant associations mediated by plant-derived food resources in the semiarid Zapotitlán Valley, Mexico. *American Midland Naturalist*, 140, 21-26.

- Roulston, T.H., Buczkowski, G. & Silverman, J. (2003). Nestmate discrimination in ants: effect of bioassay on aggressive behavior. *Insectes Sociaux*, 50, 151-159.
- Rudgers, J.A. & Gardener, M.C. (2004). Extrafloral nectar as a resource mediating multispecies interactions. *Ecology*, 85, 1495-1502.
- Schilman, P.E. & Roces, F. (2003). Assessment of nectar flow rate and memory for patch quality in the ant *Camponotus rufipes*. *Animal Behaviour*, 66, 687-693.
- Seigler, D.S. & Ebinger, J.E. (2006). New combinations in the genus *Vachellia* (Fabaceae: Mimosoideae) from the New World. *Phytologia*, 87, 139-178.
- Tsutsui, N.D. (2004). Scents of self: The expression component of self/nonself recognition systems. *Annales Zoologici Fennici*, 41, 713-727.
- Turner, B.L. (2015). New Names for the Texas Taxa of *Acacia* (Fabaceae). *Phytologia*. 97(2), 120-122.
- Valiente-Banuet, L. (1991). Patrones de precipitación en el Valle semiárido de Tehuacán, Puebla, México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico.
- Valiente-Banuet, A. (2009). Guía de la vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Antropología e Historia.
- Valiente-Banuet, A., Casas, A., Alcántara, A., Dávila, P., Hernández, N.F., del Coro Arizmendi, M. et al. (2000). La vegetación del valle de Tehuacán-Cuicatlán. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 25-74.
- Veech, J.A., Summerville, K.S., Crist, T.O. & Gering, J.C. (2002). The additive partitioning of species diversity: recent revival of an old idea. *Oikos*, 99, 3-9.
- Wäckers, F.L. (2001). A comparison of nectar- and honeydew sugars with respect to their utilization by the hymenopteran parasitoid *Cotesia glomerata*. *Journal of Insect Physiology*, 47, 1077-1084.

- Wäckers, F.L., Zuber, D., Wunderlin, R. & Keller, F. (2001). The effect of herbivory on temporal and spatial dynamics of foliar nectar production in cotton and castor. *Annals of Botany*, 87, 365-370.
- Weber, M.G. & Keeler, K.H. (2012). The phylogenetic distribution of extrafloral nectaries in plants. *Annals of Botany*, mcs225.
- Weibull, W. (1951). Wide applicability. *Journal of applied mechanics*, 103, 33.
- Wooley, S.C., Donaldson, J.R., Gusse, A.C., Lindroth, R.L. & Stevens, M.T. (2007). Extrafloral nectaries in aspen (*Populus tremuloides*): Heritable genetic variation and herbivore-induced expression. *Annals of Botany*, 100, 1337-1346.
- Wäckers, F. (2002). It pays to be sweet: sugars in mutualistic interactions. *Biologist* (London, England), 49, 165-169.
- Wäckers, F.L. & Bonifay, C. (2004). How to be sweet? Extrafloral nectar allocation by *Gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. *Ecology*, 85, 1512-1518.
- Wäckers, F.L., Van Rijn, P.C.J. & Bruin, J. (2005). Suitability of (extra-) floral nectar, pollen and honeydew as insect food sources. *Plant-provided food for carnivorous insects: A protective mutualism and its applications*, 17-74.