



INTERACCIÓN ENTRE HORMIGAS, INSECTOS  
HERBÍVOROS Y NECTARIOS EXTRAFLORALES EN  
*Opuntia robusta*: UNA PRUEBA DE LA FUNCIÓN  
DEFENSIVA

TESIS QUE PRESENTA **BIOL. MARIO ALBERTO SANDOVAL MOLINA**  
PARA OBTENER EL GRADO DE **MAESTRO EN CIENCIAS**

Xalapa, Veracruz, México, Febrero 2019.

---

---

## DECLARACIÓN

Excepto cuando es explícitamente indicado en el texto, el trabajo de investigación contenido en esta tesis fue efectuado por Mario Alberto Sandoval Molina como estudiante de la carrera de Maestro en Ciencias entre Agosto de 2016 y Agosto del 2018, bajo la Dirección del Dr. Mariusz Krzysztof Janczur Feret y Co-dirección del Dr. José Guadalupe García Franco.

Las investigaciones reportadas en esta tesis no han sido utilizadas anteriormente para obtener otros grados académicos, ni serán utilizadas para tales fines en el futuro.

Candidato: Biol. Mario Alberto Sandoval  
Molina



Director de tesis: Dr. Mariusz Krzysztof Janczur  
Feret

Co-director de tesis: Dr. José Guadalupe García  
Franco





### **Aprobación final del documento de tesis de grado:**

“Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva”

---

Comité tutorial

Dr. Mariusz Krzysztof Janczur Feret

Sello digital del voto aprobatorio:

<<uÁÉU1K5]3élXYRy:tLVb+üñoÚFTJCq7ENkúmáSHQ;i2MTMEu;JgÁ,oE  
;JZMGQ;vMÁJT;ÁuGMJSG oEMllPGJoG EoJF;EÑuiMCKJuGCol ;CJFoE,Vv;E;CJéJGol  
MEu;CJoB EMdÁ;EMÁoCJoGJfb)G uMJE;,)C  
MáJ)GMJbE)o,MJQoJÁMJd)GluPGJQodoGCuvMJmEcJTMEu)CqJüEqéCq  
;dJ7MGlq)EJ9oEo JJ8)oJ9o,JÜaJÜwáUzáxwJUxÜa9p.f-  
OAÑgÓ,cD)eGzwjiv80Ü6Pxs[rhnZ4 (BaW?ód; > > Fecha y hora de emisión del voto: Tue  
Feb 19 18:26:08 2019. Usted puede verificar la validez del sello digital en  
<https://firmaelectronica-posgradoinecol.shinyapps.io/VERI/>



## Aprobación final del documento de tesis de grado:

"Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva"

---

Comité tutorial

Dr. José Guadalupe García Franco

Sello digital del voto aprobatorio:

<<96XólyrP AÉECéjülhÜJúqNRtGÁo)nKxS[U2c8vWb,ÍpdÚB6ÍÉ VeÚ96Í1d4O6Xd Íp6  
B4dÍÚ49eÚdZZB[4Íe49Úef:6ÚhBwdqUÍB4qeZ96qí:eÚV;X6Ú6qíuí4eZ9dÚB6qíe29ÚdC 6Úd  
eqÍe4ÍAkb49BdÍÚ6Vbq9drÍb4dÍkÚbeVdÍOeÍ dÍCb4ZB[4ÍOeCe4qBXdÍSÚL.6qíí8bdOd  
bkeÍ8dÚZ;dÍNÚd4Z6ÍibeÍNeVÍP)ÍG)rvQrG(ÍñGP)QuwaekZmT;pÓá(ÚMs:?Vñ5gzLÑOifH7]0+B-  
¿.YFd134>> Fecha y hora de emisión del voto: Tue Feb 19 09:53:06 2019. Usted puede  
verificar la validez del sello digital en [https://firmaelectronica-  
posgradoinecol.shinyapps.io/VERI/](https://firmaelectronica-posgradoinecol.shinyapps.io/VERI/)



**Aprobación final del documento de tesis de grado:**

"Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva"

---

Comité tutorial  
Dra. Cecilia Díaz Castelazo

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Cecilia", is written over the printed name of the tutor.



## Aprobación final del documento de tesis de grado:

"Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva"

---

Comité tutorial  
Dr. Rodolfo Dirzo

Sello digital del voto aprobatorio:

<<kh(ZjLgm:cq:r6VU+W9éÜ ü,uztv3H7iXB);ÓÑás-  
8MCUb63m+NLCs68m+Xbrdm7bL+UmL3rb+Pr8s6bÉÉ3Sr+sr86s+(móÓ3ÚbHç+3rHsÉ8mH+  
(sóCJ7mómH+v+rsÉ8b63mH+sK86bwLm6bLsH+sr+RI-r83b+ómC-H8bÍ+-rb+I6-  
sCb+ds+Lb+w-rÉ3Sr+dswsrH37b+o6j+FmdmLwm+o369m+++x-  
s+asC+p: +ffÍpGÍ6V+fGp:FaJdN2Á4].ÍÉowD1QneñPyfTÚEú5bYGR0spíxIKA?I[O>> Fecha y  
hora de emisión del voto: Tue Feb 19 22:10:39 2019. Usted puede verificar la validez del sello  
digital en <https://firmaelectronica-posgradoinecol.shinyapps.io/VERI/>



**Aprobación final del documento de tesis de grado:**

"Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva"

---

Jurado

Dr. Jorge Ernesto Valenzuela González

A handwritten signature in black ink, corresponding to the name of the juror mentioned above. The signature is fluid and cursive, written over a horizontal line.



## Aprobación final del documento de tesis de grado:

"Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva"

---

Jurado

Dra. Mariana del Socorro Cuautle Arenas

Sello digital del voto aprobatorio:

<<MhWA4?ÉN,2anÑÓ:C1L]pVdrW)Go(fÁXgOíDÚTPtvóHQ.)Á?O8A[IkN?Y8ALÁú+8XÁIA)  
8IOúÁAQúYN?ÁaaOWúANúY?NA(8?BO3ÁeíAOúeNaY8eA(N?k1X8?8eAbAúNaYÁ?O8eA  
NY?Á6I8?ÁINeANúA2,CúYOÁA?8kCeYÁéACúÁA,?CNkÁA+NAIÁA6CúaOWúA+N6NúeO  
XÁA0?ÁTA)Á?OÁúÁA+NIAL8a8??8AáCÁCYINA[?NúÁeAAñCNAiNkA MA ÜéÜ écrAÉz  
Mcy3KsxzáFñbIEéUük6YZ-RúÍq0 mu¿;7B5J+S9eijlÜ>> Fecha y hora de emisión del  
voto: Tue Feb 19 14:41:36 2019. Usted puede verificar la validez del sello digital en  
<https://firmaelectronica-posgradoinecol.shinyapps.io/VERI/>



## Aprobación final del documento de tesis de grado:

“Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva”

---

Jurado

Dr. Rafael Felipe del Castillo Sánchez

Sello digital del voto aprobatorio:

<<3ú ?8QíePGÓC0oIFxlHs-Ak;rb12)RZY¿ás+DXKNwÑ[pNI-kî+;9Ó-  
Rí]0lbtíHl;]Ní;kb]ébrÓ-IIIkeb]ÓbR-Ó]Lí-qkAl,y]kb,ÓIRí,]LÓ-9ÚHí-í,]K]bÓIRI-kí,]Ó R-lw;í-  
l;Ó,]Ób]cTsbRkI]-i9s,RIF]sb]T-sÓ9]tÓ];]wsblkeb]tÓwÓb,kHl]ñ-  
p]5lwíÓ;]áÓ;kTÓ]tÓ;]úl,Rk;]í01bILÓP]osÓ]áÓ9]8x]ó7F7JF78]768xBnOVóWÚj7JiaqET.mÁ  
ud4Üf9,ég]5ñü:}vc6yhLMÉzUt>> Fecha y hora de emisión del voto: Tue Feb 19 02:26:21  
2019. Usted puede verificar la validez del sello digital en [https://firmaelectronica-  
posgradoinecol.shinyapps.io/VERI/](https://firmaelectronica-posgradoinecol.shinyapps.io/VERI/)



**Aprobación final del documento de tesis de grado:**

"Interacción entre hormigas, insectos herbívoros y nectarios extraflorales en *Opuntia*

---

*robusta*: una prueba de la función defensiva"

---

Jurado

Dr. Roger Enrique Guevara Hernández

A handwritten signature in black ink, which appears to be "Roger Enrique Guevara Hernández", is written over the printed name.

## CONTENIDO

PORTADA	1
CONTENIDO	13
LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE TABLAS	18
CAPITULO I	19
INTRODUCCIÓN GENERAL	19
Interacciones ecológicas e interacción hormiga-planta	19
Defensa y repartición de recursos en plantas	22
Literatura citada	26
CAPITULO II	32
Función de los nectarios extraflorales en <i>Opuntia robusta</i> : ¿atraen hormigas para defensa contra herbívoros?	32
INTRODUCCIÓN	33
MÉTODOS	36
RESULTADOS	47
DISCUSIÓN	71
LITERATURA CITADA	79
SUPLEMENTOS	88

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo II

- Figura 1. Especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en San Nicolás Tecoaco, Hidalgo. (A) *Camponotus atriceps*, (B) *Camponotus andrei*, (C) *Formica altipentens*, (D) *Liometopum apiculatum*.
- Figura 2. Especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en Cadereyta de Montes, Querétaro. (A) *Camponotus andrei*, (B) *Crematogaster sp*, (C) *Liometopum apiculatum*, (D) *Monomorium eveninum*.
- Figura 3. Patrones de actividad de las hormigas en los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta*. Promedio del número de hormigas en las plantas de San Nicolás Tecoaco, Hidalgo (A) y promedio del número de hormigas en las plantas de Cadereyta de Montes, Querétaro (B).
- Figura 4. Regresión parcial de las variables significativas del modelo cero inflado binomial negativo para el número de hormigas en San Nicolás Tecoaco, Hidalgo. En el eje Y el número de hormigas y su relación con: (A) sexo; (B) área del cladodio o flor; (C) porcentaje de herbivoría; (D) temperatura (°C); (E) número de hemípteros (herbívoros). Se excluyeron las variables no significativas ( $p > 0.1$ ).
- Figura 5. Regresión parcial de las variables significativas del modelo cero inflado binomial negativo para el número de hormigas en Cadereyta de Montes, Querétaro. En el eje Y el número de hormigas y su relación con: (A) sexo; (B) área del cladodio o flor; (C) temperatura (°C); (D) hora del día. Se excluyeron las variables no significativas ( $p > 0.1$ ).
- Figura 6. Promedio del porcentaje de herbivoría producido por herbívoros en flores y cladodios de las dos localidades. Remoción de tejido (verde oscuro), otros insectos (verde claro). Las líneas en las barras indican desviación estándar.
- Figura 7. Porcentaje de herbivoría a través del tiempo de muestreo en flores (A) y cladodios (B) de *O. robusta* en San Nicolás Tecoaco. Considerando desde la etapa de botón hasta fruto o cladodio maduro. El número de muestreo corresponde al intervalo de tiempo desde que inició el muestreo hasta que finalizó. Porcentaje de herbivoría en relación al área total de acuerdo al sexo de las plantas (C) y al tipo de estructura, flor y

cladodio (D). Se muestra el valor de p de la variable área total y el valor pseudo-R<sup>2</sup> condicional del modelo.

- Figura 8. Herbivoría en plantas de *O. robusta* en la localidad de San Nicolás Tecoco. Promedio de herbivoría en flores (A) y cladodios (B) registrada en las plantas bajo tratamiento de exclusión y control. Promedio de herbivoría en flores y cladodios (C) en las plantas de diferente sexo. Promedio de herbivoría de flores y cladodios en las plantas diferente sexo (D).
- Figura 9. Porcentaje de herbivoría a través del tiempo de muestreo en flores (A) y cladodios (B) de *O. robusta* en Cadereyta de Montes. Considerando desde la etapa de botón hasta fruto o cladodio maduro. El número de muestreo corresponde al intervalo de tiempo desde que inició el muestreo hasta que finalizó. Porcentaje de herbivoría en relación al área total de acuerdo al sexo de las plantas (C) y al tipo de estructura, flor y cladodio (D). Se muestra el valor de p de la variable área total y el valor pseudo-R<sup>2</sup> condicional del modelo.
- Figura 10. Herbivoría en plantas de *O. robusta* en la localidad de Cadereyta de Montes. Promedio de herbivoría en flores (A) y cladodios (B) registrado en las plantas bajo tratamiento de exclusión y control. Promedio de herbivoría en flores y cladodios (C) en las plantas de diferente sexo. Promedio de herbivoría total en las plantas diferente sexo (D).
- Figura 11. Herbivoría promedio en relación a las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de cladodios y flores en crecimiento de *O. robusta* en la localidad de San Nicolás Tecoco (A). Herbivoría total promedio de las plantas de acuerdo a las especies de hormigas (B). Se muestra representado el índice de agresión para cada especie de hormiga. Las líneas en las barras indican la desviación estándar.
- Figura 12. Herbivoría promedio en relación a las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de cladodios y flores en crecimiento de *O. robusta* en la localidad de Cadereyta de Montes (A). Herbivoría total promedio de las plantas de acuerdo a las especies de hormigas (B). Se muestra representado el índice de agresión para cada especie de hormiga. Las líneas en las barras indican la desviación estándar.
- Figura 13. Tasa de crecimiento relativo de flores y cladodios en San Nicolás Tecoco. (A) Tasas de crecimiento relativo entre tratamiento de exclusión y control en flores.

(B). Tasas de crecimiento relativo entre tratamiento de exclusión y control en cladodios. (C) Tasas de crecimiento relativo promedio de flores y cladodios entre individuos de diferente sexo.

- Figura 14. Regresión parcial de las tasas de crecimiento relativo y la herbivoría acumulada en (A) flores y cladodios en crecimiento de plantas de *O. robusta* en San Nicolás Tecoaco. (B) Tasas de crecimiento y herbivoría en plantas de diferentes sexos. Se incluye el valor de pseudo-R<sup>2</sup> del modelo y p de la variable estimada.
- Figura 15. Tasa de crecimiento relativo de flores y cladodios en Cadereyta de Montes. (A) Tasas de crecimiento relativo entre tratamientos en flores. (B). Tasas de crecimiento relativo entre tratamientos en cladodios. (C) Tasas de crecimiento relativo promedio de flores y cladodios entre individuos de diferente sexo.
- Figura 16. Regresión parcial de las tasas de crecimiento relativo y la herbivoría acumulada en (A) flores y cladodios en crecimiento de plantas de *O. robusta* en Cadereyta de Montes. (B) Tasas de crecimiento y herbivoría en plantas de diferentes sexos. Se incluye el valor de pseudo-R<sup>2</sup> del modelo y p de la variable estimada.
- Figura 17. Porcentaje de supervivencia de flores y cladodios entre los sexos de *O. robusta* durante la temporada de crecimiento en las localidades de San Nicolás Tecoaco (SNT) y Cadereyta de Montes (CAD). (A) Porcentaje de aborto en flores en SNT. (B) Porcentaje de aborto en cladodios en SNT. (C) Porcentaje de aborto en flores en CAD. (D) Porcentaje de aborto en flores en CAD. Las barras rosas representan las estructuras que sobrevivieron, y las azules, las que fueron abortadas.
- Figura 18. Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento bajo tratamiento de exclusión (T) y control (C) registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta* en San Nicolás Tecoaco. La tabla de riesgo muestra el porcentaje de flores o cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El valor de p es el nivel de significancia de la prueba log-rank entre las curvas de supervivencia entre tratamientos. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.
- Figura 19. Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento de diferentes sexos registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta* en San Nicolás Tecoaco. La tabla de riesgo muestra el porcentaje de flores o

cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El valor de  $p$  es el nivel de significancia de la prueba log-rank entre las curvas de supervivencia entre los diferentes sexos. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.

- Figura 20. Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento bajo tratamiento de exclusión (T) y control (C) registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta* en Cadereyta de Montes. La tabla de riesgo muestra el porcentaje de flores o cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.
- Figura 21. Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento entre los diferentes sexos registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta* en Cadereyta de Montes. La tabla de riesgo muestra el porcentaje de flores o cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.

## LISTA DE TABLAS

### Capítulo II

- Tabla 1. Lista de conductas desplegadas por hormigas en presencia de herbívoros de acuerdo a los criterios de Nogueira et al. (2012) y Alma et al. (2015).
- Tabla 2. Índice de agresión promedio ( $\pm$ sd) de las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en las localidades de San Nicolás Tecoco y Cadereyta de Montes. Se muestra el número de interacciones de agresión en contra de herbívoros artificiales y reales. N es el número de veces que se registró la especie de hormiga. NA indica que sólo se registró una muestra de la especie sin repeticiones, por lo que no fue posible calcular la desviación estándar (sd).

### Suplementos

- Tabla 1S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (GLMM Binomial Negativo) para estimar el número de hormigas en San Nicolás Tecoco.
- Tabla 2S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (GLMM Binomial Negativo) para estimar el número de hormigas en Cadereyta de Montes.
- Tabla 3S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (LMM, efectos mixtos) para estimar el porcentaje de herbivoría en relación al tipo de estructura (flor o cladodio) entre los sexos de San Nicolás Tecoco, Hidalgo y Cadereyta de Montes.
- Tabla 4S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (LMM, efectos mixtos) para estimar el porcentaje de herbivoría en relación al tipo de estructura (flor o cladodio) y a las especies de hormigas visitantes de plantas de *O. robusta* con nectarios extraflorales en San Nicolás Tecoco, Hidalgo y Cadereyta de Montes.
- Tabla 5S. Modelo lineal generalizado en Tasas de Crecimiento Relativo (TCR) de cladodios y flores en las dos localidades, San Nicolás Tecoco y Cadereyta de Montes.

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### **Interacciones ecológicas e interacción hormiga-planta**

La diversidad de especies varía entre las diferentes regiones del planeta, aunque en general para la mayoría de grupos taxonómicos, la riqueza de especies es mayor en las regiones cercanas al ecuador y disminuye hacia los polos. Esto genera patrones biogeográficos que determinan en el número de interacciones interespecíficas (Fischer, 1960, Schemske, 2002, Schemske, 2009). A su vez, las interacciones interespecíficas influyen en los patrones de adaptación y variación de las especies, así como en la organización y estabilidad de las comunidades (Thompson, 2005, Futuyma y Slatkin, 1983, Bodini y Giavelli, 1989, Rico-Gray, 2001), promoviendo la diversidad entre las especies interactuantes (Schluter, 2000).

Las interacciones mutualistas involucran la transferencia de energía y nutrientes entre individuos de dos o más especies aumentando la adecuación de los participantes de la interacción, mientras que las interacciones antagonistas ocurren cuando la adecuación de un individuo de una especie incrementa a medida que disminuye la de la otra especie (Holland et al., 2005). Sin embargo, algunas especies pueden actuar como antagonistas en una fase de su ciclo de vida, mientras que en otro lo hacen como mutualistas. Por ejemplo, las orugas de la mariposa *Danaus plexippus* son herbívoras de la planta *Asclepias curassavica*, mientras que las mariposas son polinizadoras de las flores de esta planta (Ackery y Vane-Wright, 1984). También es común que algunas especies interactúen simultáneamente de diferente forma e intensidad con diferentes especies, donde puedan ser antagonistas, mutualistas y neutralistas a la vez. Por ejemplo, las hormigas de la especie *Formica neorufibarbis* son visitantes florales de tres especies de plantas, *Paronchya pulvinata*, *Eritrichum arentoides* y *Oreoxis alpina*, pero polinizan las flores de la primera, son florívoras de la segunda, y en la tercera su presencia en las flores no afecta la producción de semillas (Puterbaugh, 1998).

Los beneficios del mutualismo pueden repartirse de manera asimétrica entre las especies interactuantes, donde una puede obtener más beneficio que la otra (Bronstein, 1994). Algunos autores sugieren que los mutualismos son parasitismos recíprocos entre individuos de dos especies, y se ha probado que en ocasiones algunas especies interactuantes hacen “trampa” a la otra especie asociada mediante un tipo de interacción como el mimetismo batesiano.

La mayoría de las interacciones ecológicas entre organismos conducen a la competencia por la obtención de recursos necesarios para sobrevivir (p. ej., agua o nutrientes, espacio), donde las diferencias en la disponibilidad de recursos en las comunidades influyen en las dinámicas de interacción entre las especies. Por ejemplo, la interacción en la que un organismo se beneficia al consumir totalmente a otro se le conoce como depredación, pero si sólo consume parcialmente a otro, se le llama apacentamiento, aunque existen variaciones como el parasitismo o la herbivoría (Del Val y Boege, 2012). Esta última es una interacción antagónica entre plantas y animales en la cual los organismos animales consumen total o parcialmente el tejido de las plantas (p. ej., hojas, tallos, flores) y ocasiona efectos negativos en la adecuación de la planta, reduciendo el crecimiento y la reproducción, y la producción y viabilidad de las semillas (Marquis, 1984, Del Val, 2012). El impacto que la herbivoría genera, depende de la parte consumida de la planta y de la fase del desarrollo de la planta al momento en que ésta ocurre (Weiner, 2004), teniendo un efecto negativo mayor durante las etapas juveniles (Dirzo, 1984, Marquis, 1984). Las consecuencias de la herbivoría en las estructuras reproductivas, como las flores (florivoría), tienen repercusiones más graves para la reproducción de la planta que el daño a tejidos vegetativos, debido a que modifica morfología y simetría de las flores y reduce o elimina las estructuras reproductivas masculinas (p. ej. polen, anteras) o femeninas (p. ej. óvulos) (Marquis, 1992, Strauss, 1997, Del Val, 2012).

El daño por herbivoría representa una importante fuerza selectiva que ha llevado a las plantas a desarrollar mecanismos de defensa que les permitan lidiar con sus consumidores (Turley et al., 2013). Estos incluyen características de resistencia físicas y/o químicas que reducen la cantidad de daño recibido; además de mecanismos de tolerancia que les permiten responder una vez que ha ocurrido el daño ocasionado, y estrategias de escape que reducen la probabilidad de que las plantas sean encontradas por sus consumidores (Dirzo, 1984, Crawley, 2009, Boege y Marquis, 2005). Entre los mecanismos de tolerancia, están por ejemplo incrementar la tasa fotosintética neta, las tasas de crecimiento relativo, entre otras (Strauss y Agrawal, 1999). Por ejemplo, Canto et al. (2004) encontraron un conflicto entre crecimiento y despliegue floral debido a la herbivoría en las plantas de *Anthurium schlechtendalii* (Araceae), donde la herbivoría no tuvo efecto sobre el crecimiento de las plantas, sin embargo afectó el despliegue floral, inhibiendo la floración de las plantas. En contraparte, en algunas ocasiones la adecuación de las plantas puede verse favorecida por la herbivoría, es decir que las plantas aumentan su biomasa una vez que ha ocurrido el daño, debido a la activación de los meristemos apicales, a este fenómeno se le denomina sobrecompensación (Lennartsson et al., 1998).

Por otro lado, algunas plantas despliegan estrategias defensivas para tratar de reducir el consumo del tejido por los herbívoros. Estas son el resultado de la interacción de las plantas con sus diferentes agresores, favoreciendo que exista una alta diversidad de sustancias defensivas y caracteres morfológicos que minimizan la pérdida de tejidos ante los antagonistas y en consecuencia aumentan la adecuación de la planta (Agrawal et al., 1999, Erb et al., 2012, Ponzio et al., 2013, Karban y Baldwin, 1997). Entre las estrategias defensivas se pueden encontrar defensas directas, por ejemplo, espinas, tricomas o metabolitos secundarios que vuelven menos comestible el tejido; y defensas indirectas como señales volátiles o recompensas que les permiten atraer antagonistas de los insectos herbívoros, (Janczur et al., 2014, Brouat et al., 2000). Muchas plantas atraen hormigas que son depredadores naturales de muchos insectos, proporcionándoles alguna fuente de alimento (i.e., cuerpos de Belt, néctar extrafloral) y/o refugio (i.e., domacios) a cambio de su protección (Del-Claro et al., 1996, Oliveira y Freitas, 2004, Del Val y Dirzo, 2004).

Los nectarios extraflorales, son glándulas que secretan líquidos con azúcares (i.e., sacarosa, hexosa), lípidos y aminoácidos, que alimentan a las hormigas que los visitan (Nicolson y Thornburg, 2007). Los nectarios extraflorales pueden encontrarse en diferentes partes de la planta, por ejemplo, en hojas, peciolo, estípulas, tallos y tejidos en crecimiento (Elias, 1983, Gonzalez y Marazzi, 2018, Aguirre et al., 2013, Diaz-Castelazo et al., 2005). A diferencia de los nectarios florales que están involucrados en la polinización, la función de los nectarios extraflorales es atraer y recompensar a diversas especies de insectos, que entre otras cosas les brindan protección contra los herbívoros de la planta (Heil et al., 2001, Ness, 2003, Pacini et al., 2003, Vesprini et al., 2003, Elias, 1983, Beattie, 1985). En este tipo de asociaciones las diferentes especies de hormigas que se alimentan de los nectarios extraflorales exhiben conductas agresivas por tres razones: (1) comportamiento de posesión cerca de los sitios de anidación y de alimentación, (2) comportamiento depredador contra sus presas y (3) respuestas de ataque mediadas por feromonas ante una amenaza (Bentley, 1977b, a, Way, 1963). El comportamiento de posesión descrito por Way (1963) consiste en la agresión desplegada contra cualquier organismo intruso en el territorio o recurso monopolizado por una colonia de hormigas. Este comportamiento es más notable cuando la fuente de alimento es relativamente abundante y cercana al nido (p. ej., néctar extrafloral). En el caso del mutualismo obligado entre hormigas de la especie *Pseudomyrmex ferruginea* y la planta *Acacia cornigera*, las hormigas ahuyentan a los insectos herbívoros en cuanto son detectados en la planta (Rico-Gray y Oliveira, 2007). Asimismo las plantas de *A. cornigera* producen “recompensas exclusivas” que sólo las

hormigas de esta especie pueden digerir (p. ej. néctar extrafloral, cuerpos de Belt), además de proveerles refugio en las cavidades huecas de las espinas de la planta (Janzen, 1967, Orona-Tamayo et al., 2013). Otro ejemplo involucra a las hormigas de la especie *Ectotomma tuberculatum* que se posan con las mandíbulas abiertas dispuestas a agredir a cualquier intruso que se aproxime a los nectarios extraflorales cercanos a las flores en crecimiento de *Bixa orellana*, reduciendo la actividad de insectos fitófagos y en consecuencia aumentando el número de frutos en la planta (Bentley, 1977b).

Aunque la respuesta conductual agresiva puede variar entre las diferentes especies de hormigas, las señales feromonales que las inducen actúan con dos propósitos: como “alarma de pánico” y como “alarma de agresión” (Wilson y Regnier, 1971). Este comportamiento de agresión es inducido por feromonas (p. ej., n-undecano, n-decano), liberadas por las glándulas de Dufour de una hormiga al detectar a un intruso (Fujiwara-Tsujii et al., 2006), o por la liberación de compuestos volátiles orgánicos de una planta afectada por herbivoría, que induce el reclutamiento y hacinamiento de hormigas en la parte dañada (Heil et al., 2001). Por ejemplo, la conducta agresiva de hormigas obreras de *Lasius fuliginosus* en presencia de feromonas de alarma (n-undecano), consiste en perseguir la fuente de la feromona con las mandíbulas abiertas (Stoeffler et al., 2007). Otro ejemplo, es el de las hormigas *Petalomyrmex phylax* que patrullan y defienden las partes juveniles de la planta *Leonardoxa africana* subsp. *africana* en contra de los insectos fitófagos, inducidas por los compuestos volátiles o cuticulares secretados por estas partes en crecimiento y que además producen néctar extrafloral (Bentley, 1977a, Brouat et al., 2000). De igual forma, Duffield et al. (1976) extrajeron una feromona de alarma (2,5-dimethyl-3-isopentylpyrazine) de las glándulas mandibulares de hormigas obreras de *Hypoponera opacior* y *Ponera pennsylvanica*, y encontraron que cuando las obreras son expuestas a esta feromona se incrementa su actividad, sin embargo, no se induce una conducta de agresión, como la apertura de las mandíbulas en señal de ataque.

## **Defensa y repartición de recursos en plantas**

El resultado en la interacción entre hormigas y plantas depende en gran medida de las especies asociadas, su agresividad y la composición de herbívoros (Miller, 2007). De igual forma es importante considerar las condiciones ambientales estresantes como la poca disponibilidad de nutrientes en los suelos, altas temperaturas, y restricción en la disponibilidad de agua, las cuales juegan un papel fundamental en la evolución de los mecanismos de defensa (Godínez-Álvarez y Valverde, 2003). En particular, en ambientes áridos el néctar extrafloral

puede ser un recurso importante para muchos organismos, debido a la poca disponibilidad de agua y azúcares como fuentes de energía (Holland et al., 2010). Los organismos que viven en hábitats pobres en nutrientes, como es el caso de los ambientes áridos y semiáridos, tienen una mayor probabilidad de establecer asociaciones mutualistas, ya que una pequeña ganancia a consecuencia de estas asociaciones puede aumentar su adecuación de manera significativa, en particular las interacciones con hormigas (Rico-Gray, 2001, Sagers et al., 2000). Por ejemplo, en *Prosopis laevigata*, una planta que crece en regiones áridas y semiáridas, las altas temperaturas y baja humedad ambiental durante el día, han hecho que la producción de néctar sea mayor durante la noche, momento en que las hormigas y los herbívoros son más abundantes (Dáttilo et al., 2015).

Si bien algunos estudios sugieren que mantener el mutualismo hormiga-planta a través de la producción de néctar extrafloral es costosa, en términos de inversión de recursos que pueden ser utilizados en otras funciones (Frederickson et al., 2012, Stanton y Palmer, 2011), se ha demostrado que en mutualismos facultativos la formación de nectarios extraflorales y la producción de néctar extrafloral tienen poco efecto disminuyendo la adecuación y el crecimiento de las plantas (Rutter y Rausher, 2004). Adicionalmente, Katayama y Suzuki (2011) reportaron en *Vicia sativa* que energéticamente es más barato producir néctar extrafloral (<0.1% biomasa total de la planta) que defensas químicas (>20% biomasa total de la planta). Estos resultados apoyan la idea de que es más costoso invertir en defensas directas que en indirectas, mediante néctar extrafloral.

Por esta razón y debido a las condiciones ambientales limitantes presentes en ambientes áridos y semiáridos, las plantas tienen que asignar los recursos disponibles entre sus procesos vitales, como el crecimiento, la reproducción y la defensa (Coley et al., 1985). En este contexto, si las plantas invierten más recursos en defensas, éstas tendrán menor herbivoría, pero también habrá disminución en su crecimiento, tasas fotosintéticas y su reproducción (Redman et al., 2001, Preisser et al., 2007). Por lo que la asignación diferencial de recursos en la planta puede llegar a generar el aborto de las estructuras reproductivas y vegetativas (Buckley y Avila-Sakar, 2013, Stephenson, 1981), y la herbivoría podrían potenciar ese efecto en la adecuación de la planta al disminuir el número de frutos y semillas producidos (Bentley, 1977b). Según la hipótesis de disponibilidad de recursos de Coley et al. (1985), que supone que las especies de plantas adaptadas a crecer en sitios con poca disponibilidad de recursos, como los ambientes semiáridos, tendrán crecimiento lento y menor daño por herbívoros debido a que estarán mejor defendidas, en comparación con las especies adaptadas a crecer en ambientes con mayor

disponibilidad de recursos que tendrán crecimiento rápido y mayor herbivoría debido a menores niveles de defensa.

Además, se sabe que hay diferencias intersexuales en la asignación de recursos, por ejemplo, las plantas masculinas tienen mayor número de herbívoros y sufren más daño, que las plantas femeninas, esto genera diferencias en la reproducción, el crecimiento y las defensas (Cepeda-Cornejo y Dirzo, 2010, Cornelissen y Stiling, 2005). Asimismo las plantas asignan sus recursos de acuerdo con la vulnerabilidad de la fase de desarrollo de la planta; de esta forma se promueven niveles más altos de cualquier mecanismo defensivo durante las fases tempranas de desarrollo, debido a que son las fases más vulnerables a la herbivoría (Spiegel y Price, 1996, Boege y Marquis, 2005, Barton y Koricheva, 2010). En este sentido, la Teoría de Defensa Óptima (TDO) propuesta por McKey (1979) y Rhoades (1979), predice que para minimizar el costo de producir defensas contra los herbívoros de manera general en toda la planta y maximizar la resistencia contra los herbívoros, la defensa será asignada a ciertas partes de la planta, en proporción al valor, tamaño, edad y a la intensidad de la herbivoría (McKey, 1979, Rhoades, 1979, Holland et al., 2009). En plantas con nectarios extraflorales, la TDO supone que los tejidos vegetativos y reproductivos en crecimiento deberían ser mejor defendidos cuando los herbívoros son más abundantes (Millan-Canongo et al., 2014), ya que la pérdida de estas estructuras tendría consecuencias importantes en la supervivencia y reproducción de las plantas, al reducir el número de frutos y semillas (Bentley, 1977b), y disminuir la tasa fotosintética por la reducción de tejido vegetativo (van Dam et al., 1995).

Por lo cual, es de esperarse que si ocurre la asignación diferencial del néctar extrafloral entre tejido vegetativo y reproductivo, entonces la composición de hormigas visitantes puede cambiar, y aumentando su reclutamiento y actividad en la planta, mejorando la defensa anti-herbívoros (González-Teuber et al., 2012). Sin embargo, también el néctar extrafloral producido puede variar en composición y cantidad, dependiendo de la fenología de la planta y la intensidad de herbivoría (Heil et al., 2000, Blüthgen et al., 2004), ocasionando que diferentes especies de hormigas visiten las plantas (Wilder y Eubanks, 2010), y en consecuencia se modifique la eficacia de la protección anti-herbívoros.

En general las interacciones hormiga-planta han sido ampliamente estudiadas y el resultado de la interacción ha sido observado en numerosas especies interactuantes (Rico-Gray et al., 2008). Aunque son numerosos los ejemplos donde las hormigas que se alimentan de néctar extrafloral defienden a la planta contra los herbívoros (Janzen, 1966, Chamberlain y

Holland, 2008, Miller, 2007, Mathews et al., 2007, Koptur, 1984, Oliveira y Freitas, 2004, Heil, 2008), son pocos los estudios que se han realizado en la familia Cactaceae, especialmente con especies del género *Opuntia* (Oliveira et al., 1999, Pickett y Clark, 1979, Alma et al., 2015). Aún son menos los estudios que analizan el efecto de la interacción hormiga-planta en donde se consideren plantas con diferentes sexos presentes en un población (v.gr., dioicas, trioicas) (Beaumont et al., 2016); a pesar de que se sabe que hay diferencias en la asignación de recursos entre los sexos (Eckhart y Seger, 1999), y que éstas pueden modificar las comunidades de artrópodos a diferentes niveles multitróficos (Dungey et al., 2000, Johnson y Agrawal, 2005, Nell et al., 2018, Petry et al., 2013). Los efectos de la interacción hormiga-planta en relación al sexo de las plantas (hermafrodita, masculina y femenina) siguen siendo poco entendidos en ambientes semiáridos.

La presente tesis tuvo como objetivo evaluar el efecto de las hormigas asociadas con los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en poblaciones con individuos de diferentes sexos (femeninas, masculinas y hermafroditas) en un ambiente semiárido. Mediante un experimento de exclusión de hormigas en campo se probó la hipótesis de que la asociación entre hormigas y plantas de diferentes sexos de *O. robusta* tiene efectos positivos al disminuir la herbivoría de cladodios y los botones florales en desarrollo, y así aumentar la probabilidad de su supervivencia y las tasas de crecimiento relativo, debido a que la agresividad de las diferentes especies de hormigas disuade a los insectos herbívoros.

Además es de esperar que en las plantas existan diferencias intersexuales en la asignación de recursos hacia la defensa mediada por nectarios extraflorales; donde individuos de diferentes sexo que invierten más recursos en reproducción disminuirán su crecimiento, pero aumentarán la defensa mediante la producción de néctar extrafloral, atrayendo mayor número de hormigas y siendo menos afectadas por la herbivoría.

## LITERATURA CITADA

- Ackery, P. R. y Vane-Wright, R. I. (1984) *Milkweed butterflies, their cladistics and biology, being an account of the natural history of the Danainae, a subfamily of the Lepidoptera, Nymphalidae*. British Museum (Natural History).
- Agrawal, A. A., Strauss, S. Y. y Stout, M. J. (1999) Costs of Induced Responses and Tolerance to Herbivory in Male and Female Fitness Components of Wild Radish. *Evolution*, **53**, 1093-1104.
- Aguirre, A., Coates, R., Cumplido-Barragán, G., Campos-Villanueva, A. y Díaz-Castelazo, C. (2013) Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **208**, 147-156.
- Alma, A. M., Pol, R. G., Pacheco, L. F. y Vázquez, D. P. (2015) No defensive role of ants throughout a broad latitudinal and elevational range of a cactus. *Biotropica*, **47**, 347-354.
- Barton, K. E. y Koricheva, J. (2010) The ontogeny of plant defense and herbivory: characterizing general patterns using meta-analysis. *The American Naturalist*, **175**, 481-93.
- Beattie, A. J. (1985) *The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms*. Cambridge University Press, England.
- Beaumont, K. P., Mackay, D. A. y Whalen, M. A. (2016) Ant defence of a dioecious shrub, *Adriana quadripartita* (Euphorbiaceae), with extrafloral nectaries. *Australian Journal of Botany*, **64**, 539-546.
- Bentley, B. L. (1977a) Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **8**, 407-427.
- Bentley, B. L. (1977b) The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* (Bixaceae). *Journal of Ecology*, **65**, 27-38.
- Blüthgen, N., Gottsberger, G. y Fiedler, K. (2004) Sugar and amino acid composition of ant-attended nectar and honeydew sources from an Australian rainforest. *Austral Ecology*, **29**, 418-429.
- Bodini, A. y Giavelli, G. (1989) The qualitative approach in investigating the role of species interactions on stability of natural communities. *Biosystems*, **22**, 289-299.
- Boege, K. y Marquis, R. J. (2005) Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 441-8.
- Bronstein, J. L. (1994) Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, **9**, 214-217.
- Brouat, C., McKey, D., Bessièrre, J.-M., Pascal, L. y Hossaert-McKey, M. (2000) Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in an ant-plant protection mutualism: Preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecologica*, **21**, 349-357.
- Buckley, N. E. y Avila-Sakar, G. (2013) Reproduction, growth, and defense trade-offs vary with gender and reproductive allocation in *Ilex glabra* (Aquifoliaceae). *American Journal of Botany*, **100**, 357-364.
- Canto, A., Parra-Tabla, V. y Garcia-Franco, J. (2004) Variations in leaf production and floral display of *Anthurium schlechtendalii* (Araceae) in response to herbivory and environment. *Functional Ecology*, **18**, 692-699.
- Cepeda-Cornejo, V. y Dirzo, R. (2010) Sex-related differences in reproductive allocation, growth, defense and herbivory in three dioecious neotropical palms. *PLoS One*, **5**, e9824.

- Chamberlain, S. A. y Holland, J. N. (2008) Density-mediated, context-dependent consumer-resource interactions between ants and extrafloral nectar plants. *Ecology*, **89**, 1364-1374.
- Coley, P. D., Bryant, J. P. y Chapin, F. S., 3rd (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, **230**, 895-9.
- Cornelissen, T. y Stiling, P. (2005) Sex-biased herbivory: a meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. *Oikos*, **111**, 488-500.
- Crawley, M. J. (2009) Plant-Herbivore Dynamics. *Plant Ecology*. pp. 401-474. Blackwell Publishing Ltd.
- Dáttilo, W., Aguirre, A., Flores-Flores, R. V., Fagundes, R., Lange, D., García-Chávez, J., Del-Claro, K. y 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.
- Del-Claro, K., Berto, V. y Reu, W. (1996) Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). *Journal of Tropical Ecology*, **12**, 887-892.
- Del Val, E. (2012) Herbivoría. *Ecología y evolución de las interacciones bióticas* (eds E. Del Val y K. Boege). FCE, UNAM, México.
- Del Val, E. y Boege, K. (2012) Introducción: ¿Por qué estudiar las interacciones bióticas? *Ecología y evolución de las interacciones bióticas* (eds E. Del Val y K. Boege). FCE, UNAM, México.
- Del Val, E. y Dirzo, R. (2004) Mirmecofilia: las plantas con ejército propio. *Interciencia*, **29**, 673-679.
- Diaz-Castelazo, C., Rico-Gray, V., Ortega, F. y Angeles, G. (2005) Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. *Ann Bot*, **96**, 1175-89.
- Dirzo, R. (1984) Herbivory: a phytocentric overview. *Perspectives on plant ecology* (eds R. Dirzo y J. Sarukhan), pp. 141-165. Sinauer, Sunderland, MA. USA.
- Duffield, R. M., Blum, M. S. y Wheeler, J. W. (1976) Alkylpyrazine alarm pheromones in primitive ants with small colonial units. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, **54**, 439-440.
- Dungey, H. S., Potts, B. M., Whitham, T. G. y Li, H.-F. (2000) Plant genetics affects arthropod community richness and composition: evidence from a synthetic eucalypt hybrid population. *Evolution*, **54**, 1938-1946.
- Eckhart, V. M. y Seger, J. (1999) Phenological and developmental costs of male function in hermaphroditic plants. *Life history evolution in plants* (eds T. Vuorisalo y P. Mutikainen), pp. 195-213. Kluwer.
- Elias, T. S. (1983) Extrafloral nectaries: their structure and distribution. *The biology of nectaries* (eds B. Bentley y T. S. Elias), pp. 174-203. Columbia University Press, New York.
- Erb, M., Meldau, S. y Howe, G. A. (2012) Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends in Plant Science*, **17**, 250-259.
- Fischer, A. G. (1960) Latitudinal variations in organic diversity. *Evolution*, **14**, 64-81.
- Frederickson, M. E., Ravenscraft, A., Miller, G. A., Arcila, H., xez, L. M., Booth, G., Pierce, N. E., Associate Editor: Elizabeth, E. y Editor: Ruth, G. S. (2012) The Direct and Ecological Costs of an Ant-Plant Symbiosis. *The American Naturalist*, **179**, 768-778.
- Fujiwara-Tsujii, N., Yamagata, N., Takeda, T., Mizunami, M. y Yamaoka, R. (2006) Behavioral Responses To The Alarm Pheromone Of The Ant *Camponotus Obscuripes* (Hymenoptera: Formicidae). *Zoological Science*, **23**, 353-358.

- Futuyma, D. J. y Slatkin, M. (1983) Introduction. *Coevolution* (eds D. J. Futuyma y M. Slatkin). Sinauer Associates Incorporated, Massachusetts.
- Godínez-Álvarez, H. y Valverde, T. (2003) Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*, **69**, 173-201.
- González-Teuber, M., Silva Bueno, J. C., Heil, M. y Boland, W. (2012) Increased host investment in extrafloral nectar (EFN) improves the efficiency of a mutualistic defensive service. *PLoS ONE*, **7**, e46598.
- Gonzalez, A. M. y Marazzi, B. (2018) Extrafloral nectaries in Fabaceae: filling gaps in structural and anatomical diversity in the family. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **187**, 26-45.
- Heil, M. (2008) Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytologist*, **178**, 41-61.
- Heil, M., Fiala, B., Baumann, B. y Linsenmair, K. (2000) Temporal, spatial and biotic variations in extrafloral nectar secretion by *Macaranga tanarius*. *Functional Ecology*, **14**, 749-757.
- Heil, M., Koch, T., Hilpert, A., Fiala, B., Boland, W. y 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.
- Holland, J. N., Chamberlain, S. A. y 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. y 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.
- Holland, J. N., Ness, J. H., Boyle, A. L. y Bronstein, J. L. (2005) Mutualisms as consumer-resource interactions. *Ecology of predator-prey interactions* (eds P. Barbosa y I. Castellanos), pp. 17-35. Oxford University Press, Oxford
- Janczur, M. K., León Solano, H. J., Solache Ramos, L. T., Mendoza Reyes, C. H., Oro Cerro, M. d. C., Mariezcurrena Berasain, M. D., Rivas Manzano, I. V., Manjarrez, J., Villareal Benitez, J. L. y Czarnoleski, M. (2014) Chemical and physical defense traits in two sexual forms of *Opuntia robusta* in Central Eastern Mexico. *PLoS ONE*, **9**, e89535.
- Janzen, D. H. (1966) Coevolution of mutualism between ants and Acacias in Central America. *Evolution*, **20**, 249-275.
- Janzen, D. H. (1967) Interaction of the bull's-horn acacia (*Acacia cornigera* L.) with an ant inhabitant (*Pseudomyrmex ferruginea* F. Smith) in eastern Mexico. *Univ. Kansas Sci. Bull*, **47**, 315-558.
- Johnson, M. T. J. y Agrawal, A. A. (2005) Plant genotype and environment interact to shape a diverse arthropod community on evening primrose (*Oenothera biennis*). *Ecology*, **86**, 874-885.
- Karban, R. y Baldwin, I. T. (1997) *Induced responses to herbivory*. University of Chicago Press, Chicago, USA.
- Katayama, N. y Suzuki, N. (2011) Anti-herbivory defense of two *Vicia* species with and without extrafloral nectaries. *Plant Ecology*, **212**, 743-752.
- Koptur, S. (1984) Experimental evidence for defense of *Inga* (Mimosoideae) saplings by ants. *Ecology*, **65**, 1787-1793.
- Lennartsson, T., Nilsson, P. y Tuomi, J. (1998) Induction of overcompensation in the field gentian, *Gentianella campestris*. *Ecology*, **79**, 1061-1072.

- Marquis, R. J. (1984) Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science*, **226**, 537-539.
- Marquis, R. J. (1992) The selective impact of herbivores. *Plant resistance to herbivores and pathogens: ecology, evolution, and genetics*. (eds R. Fritz y E. Simms), pp. 301-325. University of Chicago Press, Chicago.
- Mathews, C. R., Brown, M. W. y Bottrell, D. G. (2007) Leaf extrafloral nectaries enhance biological control of a key economic pest, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), in Peach (Rosales: Rosaceae). *Environmental Entomology*, **36**, 383-389.
- McKey, D. (1979) The distribution of secondary compounds within plants. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites* (eds G. A. Rosenthal y D. H. Janzen), pp. 55-133. Academic Press, New York.
- Millan-Canongo, C., Orona-Tamayo, D. y Heil, M. (2014) Phloem sugar flux and jasmonic acid-responsive cell wall invertase control extrafloral nectar secretion in *Ricinus communis*. *J Chem Ecol*, **40**, 760-9.
- Miller, T. E. X. (2007) Does having multiple partners weaken the benefits of facultative mutualism? A test with cacti and cactus-tending ants. *Oikos*, **116**, 500-512.
- Nell, C. S., Meza-Lopez, M. M., Croy, J. R., Nelson, A. S., Moreira, X., Pratt, J. D. y Mooney, K. A. (2018) Relative effects of genetic variation sensu lato and sexual dimorphism on plant traits and associated arthropod communities. *Oecologia*, **187**, 389-400.
- Ness, J. H. (2003) *Catalpa bignonioides* alters extrafloral nectar production after herbivory and attracts ant bodyguards. *Oecologia*, **134**, 210-8.
- Nicolson, S. W. y Thornburg, R. W. (2007) Nectar chemistry. *Nectaries and nectar* (eds S. W. Nicolson, M. Nepi y E. Pacini), pp. xvii, 395 p. Springer, Dordrecht.
- Nogueira, A., Guimarães, E., Machado, S. R. y Lohmann, L. G. (2012) Do extrafloral nectaries present a defensive role against herbivores in two species of the family Bignoniaceae in a Neotropical savannas? *Plant Ecology*, **213**, 289-301.
- Oliveira, P. S. y Freitas, A. V. (2004) Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften*, **91**, 557-70.
- Oliveira, P. S., Rico-Gray, V., Castillo-Guevara, C. y Díaz-Castelazo, 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.
- Orona-Tamayo, D., Wielsch, N., Blanco-Labra, A., Svatos, A., Farías-Rodríguez, R. y Heil, M. (2013) Exclusive rewards in mutualisms: ant proteases and plant protease inhibitors create a lock-key system to protect *Acacia* food bodies from exploitation. *Molecular Ecology*, **22**, 4087-4100.
- Pacini, E., Nepi, M. y Vesprini, J. L. (2003) Nectar biodiversity: a short review. *Plant Systematics and Evolution*, **238**, 7-21.
- Petry, W. K., Perry, K. I., Fremgen, A., Rudeen, S. K., Lopez, M., Dryburgh, J. y Mooney, K. A. (2013) Mechanisms underlying plant sexual dimorphism in multi-trophic arthropod communities. *Ecology*, **94**, 2055-2065.
- Pickett, C. H. y Clark, W. D. (1979) The function of extrafloral nectaries in *Opuntia acanthocarpa* (Cactaceae). *American Journal of Botany*, **66**, 618-625.
- Ponzio, C., Gols, R., Pieterse, C. M. J. y Dicke, M. (2013) Ecological and phytohormonal aspects of plant volatile emission in response to single and dual infestations with herbivores and phytopathogens. *Functional Ecology*, **27**, 587-598.
- Preisser, E. L., Gibson, S. E., Adler, L. S. y Lewis, E. E. (2007) Underground herbivory and the costs of constitutive defense in tobacco. *Acta Oecologica*, **31**, 210-215.

- Puterbaugh, M. N. (1998) The Roles of Ants as Flower Visitors: Experimental Analysis in Three Alpine Plant Species. *Oikos*, **83**, 36-46.
- Redman, A. M., Cipollini, D. F.-J. y Schultz, J. C. (2001) Fitness costs of jasmonic acid-induced defense in tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Oecologia*, **126**, 380-385.
- Rhoades, D. F. (1979) Evolution of plant chemical defense against herbivores. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites* (eds G. A. Rosenthal y D. H. Janzen), pp. 3-54. Academic Press, New York.
- Rico-Gray, V. (2001) Interspecific Interaction. *eLS*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Rico-Gray, V., Oliveira, P., Parra-Tabla, V., Cuautle, M. y Díaz-Castelazo, C. (2008) Ant-plant interactions: Their seasonal variation and effects on plant fitness coastal dunes. (eds M. Martínez y N. Psuty), pp. 221-239. Springer Berlin Heidelberg.
- Rico-Gray, V. y Oliveira, P. S. (2007) *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. University of Chicago Press.
- Rutter, M. T. y Rausher, M. D. (2004) Natural selection on extrafloral nectar production in *Chamaecrista fasciculata*: The costs and benefits of a mutualism trait. *Evolution*, **58**, 2657-2668.
- Sagers, C. L., Ginger, S. M. y Evans, R. D. (2000) Carbon and nitrogen isotopes trace nutrient exchange in an ant-plant mutualism. *Oecologia*, **123**, 582-586.
- Schemske, D. W. (2002) Ecological and evolutionary perspectives on the origins of tropical diversity. *Foundations of tropical forest biology*, 163-173.
- Schemske, D. W. (2009) Biotic interactions and speciation in the tropics. *Speciation and Patterns of Diversity* (eds D. Schluter, J. Bridle y R. Butlin), pp. 219-239. Cambridge University Press, Cambridge.
- Schluter, D. (2000) *The Ecology of Adaptive Radiation*. Oxford University Press.
- Spiegel, L. H. y Price, P. W. (1996) Plant Aging and the Distribution of *Rhyacionia neomexicana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, **25**, 359-365.
- Stanton, M. L. y Palmer, T. M. (2011) The high cost of mutualism: effects of four species of East African ant symbionts on their myrmecophyte host tree. *Ecology*, **92**, 1073-1082.
- Stephenson, A. G. (1981) Flower and fruit abortion: Proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **12**, 253-279.
- Stoeffler, M., Maier, T. S., Tolasch, T. y Steidle, J. L. M. (2007) Foreign-language Skills in Rove-Beetles? Evidence for Chemical Mimicry of Ant Alarm Pheromones in Myrmecophilous *Pella* Beetles (Coleoptera: Staphylinidae). *Journal of Chemical Ecology*, **33**, 1382-1392.
- Strauss, S. Y. (1997) Floral characters link herbivores, pollinators, and plant fitness. *Ecology*, **78**, 1640-1645.
- Strauss, S. Y. y Agrawal, A. A. (1999) The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology & Evolution*, **14**, 179-185.
- Thompson, J. N. (2005) *The geographic mosaic of coevolution*. University of Chicago Press.
- Turley, N. E., Godfrey, R. M. y Johnson, M. T. J. (2013) Evolution of mixed strategies of plant defense against herbivores. *New Phytologist*, **197**, 359-361.
- van Dam, N. M., Vuister, L. W. M., Bergshoeff, C., de Vos, H. y van Der Meijden, E. (1995) The "Raison D'être" of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*: Deterrent effects against generalist herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 507-523.
- Vesprini, J. L., Galetto, L. y Bernardello, G. (2003) The beneficial effect of ants on the reproductive success of *Dyckia floribunda* (Bromeliaceae), an extrafloral nectary plant. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, **81**, 24-27.
- Way, M. J. (1963) Mutualism between ants and honeydew-producing homoptera. *Annual Review of Entomology*, **8**, 307-344.

- Weiner, J. (2004) Allocation, plasticity and allometry in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **6**, 207-215.
- Wilder, S. M. y Eubanks, M. D. (2010) Extrafloral nectar content alters foraging preferences of a predatory ant. *Biology Letters*, **6**, 177-179.
- Wilson, E. O. y Regnier, F. E. (1971) The Evolution of the Alarm-Defense System in the Formicine Ants. *The American Naturalist*, **105**, 279-289.

## CAPITULO II

### **Función de los nectarios extraflorales en *Opuntia robusta*: ¿atraen hormigas para defensa contra herbívoros?**

#### **RESUMEN**

Las plantas han desarrollado diversos mecanismos de defensa para contrarrestar los efectos negativos de la herbivoría, entre ellos los nectarios extraflorales, estructuras que producen néctar que atraen hormigas que son depredadores naturales de insectos herbívoros. El resultado de esta interacción puede variar debido a la composición, abundancia y agresividad del ensamble de hormigas, así como a la comunidad de herbívoros y la calidad de las recompensas ofrecidas por las plantas. Además, se sabe que hay variaciones intersexuales en la asignación de recursos que generan diferencias en la asignación de recursos a la reproducción, el crecimiento y las defensas. Aunque las interacciones hormiga-planta han sido ampliamente estudiadas, poco se sabe sobre los efectos de las hormigas visitantes en estructuras reproductivas y vegetativas entre los diferentes sexos. En este trabajo se examinó la composición del ensamble hormigas visitantes de los nectarios extraflorales y se evaluó su papel defensivo entre plantas de diferentes sexos de *O. robusta* mediante un experimento de exclusión de hormigas en campo. Para evaluar el papel defensivo de las hormigas, se cuantificó el porcentaje de herbivoría de flores y cladodios en desarrollo, además se calcularon las tasas de crecimiento relativo de estas estructuras y las curvas de supervivencia entre plantas de diferentes sexos. Se encontró que no hubo diferencias en herbivoría y tasas de crecimiento entre los tratamientos de exclusión y control de flores y cladodios en desarrollo, sin embargo, la herbivoría se relacionó con el sexo de la planta, la abundancia y composición del ensamble de hormigas visitantes de los nectarios extraflorales. Se encontró que los sexos más atacados por herbívoros tuvieron mayores probabilidades de supervivencia. En la población trioica de San Nicolás Tecoco, las plantas hermafroditas mostraron más herbivoría y mayor probabilidad de supervivencia que los otros sexos, mientras que en la población dioica de Cadereyta de Montes, las plantas masculinas se vieron más afectadas por los herbívoros y tuvieron mayor probabilidad de supervivencia. En ambas localidades los cladodios femeninos fueron más consumidos por herbívoros que sus flores. Los resultados de este estudio se ajustaron a las predicciones de la Teoría de Defensa Óptima, donde las flores fueron mejor defendidas que los cladodios en crecimiento en ambientes semiáridos. Los botones florales y cladodios en crecimiento que

fueron visitados por mayor número de hormigas y tuvieron mayor probabilidad de sobrevivir que aquellos sin hormigas. En este estudio la herbivoría fue mayor en estructuras con tasas de crecimiento lento. Además, se sugiere que la defensa indirecta mediada por hormigas depende en gran medida de la abundancia, la composición del ensamble de especies de hormigas y el sexo de las plantas.

## INTRODUCCIÓN

Diversas especies de hormigas son depredadores naturales de insectos, y algunas plantas han desarrollado adaptaciones fisiológicas y morfológicas para atraerlas, y contrarrestar los efectos negativos que sufren por herbivoría (Del-Claro et al., 1996, Oliveira y Freitas, 2004). Entre estas adaptaciones se encuentran los nectarios extraflorales, glándulas que secretan líquidos con azúcares (p.ej., sacarosa, hexosa) y otros compuestos orgánicos (p.ej., aminoácidos). Estas estructuras pueden encontrarse en distintas partes de la planta como hojas, peciolo, estípulas, tallos y tejidos reproductivos y vegetativos, y son funcionales durante su crecimiento (Elias, 1983, Gonzalez y Marazzi, 2018, Aguirre et al., 2013, Diaz-Castelazo et al., 2005). Existen diferentes hipótesis sobre la función de los nectarios extraflorales, entre ellas están la de distracción (Wagner y Kay, 2002), fertilizante para la planta (Wagner, 1997) y defensa de la planta, siendo esta última la más estudiada en las interacciones hormiga-planta (Rico-Gray y Oliveira, 2007).

El efecto de la interacción hormiga-planta sobre la defensa puede variar por factores como el tamaño y, la agresividad de las especies de hormigas que conforman el ensamble de visitantes a las plantas (Rico-Gray y Thien, 1989), así como la identidad y estrategias de alimentación de las especies que conforman la comunidad de herbívoros (Miller, 2007, Ness et al., 2006, Kost y Heil, 2005). Se sabe que la conducta defensiva desplegada por las diferentes especies de hormigas visitantes de los nectarios extraflorales puede influir en el resultado de la interacción hormiga-planta, debido a que cada especie difiere en el nivel de agresividad contra los insectos herbívoros, e incluso contra otras especies de hormigas (Miller, 2007). Esta variación en la conducta defensiva de las hormigas puede alterar la composición del ensamble, promoviendo la existencia de un recambio de especies asociadas a los nectarios extraflorales durante el día (Dáttilo et al., 2014, Anjos et al., 2017, Oliveira et al., 1999). Además puede ser influida por cambios en la composición y calidad del néctar ofrecido (Heil et al., 2000), especialmente en ambientes semiáridos, donde los recursos (p. ej. agua, nutrientes) son limitados y el néctar extrafloral representa una inversión para las plantas y es una importante

fFuente de alimento para los organismos que lo consumen (Holland et al., 2010). Por ejemplo, el néctar extrafloral de algunas cactáceas, como *Opuntia robusta* y *Pachycereus schottii* suele ser muy viscoso, lo que sugiere que está conformado por una alta concentración de azúcares (Sandoval-Molina et al., 2018, Holland et al., 2010).

Esto ha provocado que las plantas tengan un conflicto para la asignación de sus recursos entre los procesos vitales, como el crecimiento, la reproducción y la defensa (Coley et al., 1985). Aunque algunos estudios sugieren que la producción de néctar extrafloral representa un costo elevado, disminuyendo el crecimiento de la planta (Frederickson et al., 2012, Stanton y Palmer, 2011), se ha demostrado que es más costosa, en términos de biomasa, la producción de defensas directas (v.gr. sustancias defensivas), que defensas indirectas, mediante néctar extrafloral (Katayama y Suzuki, 2011, Holland et al., 2009, O'Dowd, 1979).

Por otro lado, se ha sugerido que las plantas invierten más recursos hacia la defensa de las partes más vulnerables a la herbivoría, como son tejidos vegetativos y reproductivos en crecimiento (Spiegel y Price, 1996, Boege y Marquis, 2005, Barton y Koricheva, 2010), ya que los herbívoros, principalmente los invertebrados prefieren consumir estas fases juveniles de crecimiento por ser más nutritivas (Fenner et al., 1999). De acuerdo con la Teoría de Defensa Óptima (TDO), la defensa será asignada a ciertas partes de la planta, en proporción al valor, tamaño, edad y a la intensidad de herbivoría, de esta forma disminuyen los costos asociados a la producción de defensas en la planta y aumenta la resistencia contra los herbívoros, (McKey, 1979, Rhoades, 1979, Holland et al., 2009). La TDO en plantas con nectarios extraflorales supone que las partes vegetativas y reproductivas en crecimiento deberían ser mejor defendidas (Wäckers y Bonifay, 2004), debido a que su daño impactaría la supervivencia y la reproducción de la planta, al reducir su capacidad fotosintética (van Dam et al., 1995) y el número de frutos y semillas (Bentley, 1977). Sin embargo, algunos investigadores han propuesto que el tejido vegetativo puede considerarse de menor valor, debido a que es relativamente fácil de reemplazar (McKey, 1979, Zangerl y Bazzaz, 1992), mientras que las flores y frutos son más valiosos, pues representan el éxito reproductivo de la planta (Strauss et al., 2004). Estas diferencias entre flores y cladodios podrían también verse reflejadas en el crecimiento, pues se ha reportado que la presencia de cladodios en desarrollo puede inhibir el crecimiento de botones florales (Inglese et al., 1994), mientras que un mayor número de frutos puede reducir el crecimiento de nuevos cladodios (Barbera et al., 1992). En este sentido, es posible que las plantas que utilizan defensas indirectas mediante nectarios extraflorales y hormigas, presenten diferencias en la asignación de recursos entre estructuras vegetativas y reproductivas, por

ejemplo asignando más recursos a la producción de néctar extrafloral de los botones florales en desarrollo y menor proporción en los tejidos vegetativos (Strauss et al., 2004, Wäckers y Bonifay, 2004). Lo anterior, puede ser aún más evidente en los ecosistemas de alto estrés ambiental y de recursos.

Un ejemplo de plantas presentes en ambientes con recursos limitados, son las Cactáceas, organismos de crecimiento lento adaptados a largos periodos de estrés ambiental (radiación solar, poca humedad en el suelo, nutrientes escasos) con lapsos de abundancia de recursos (lluvias estacionales). En estas plantas se ha observado la asociación hormiga-planta en los nectarios extraflorales, generalmente localizados en estructuras en crecimiento (Almeida et al., 2012, Holland et al., 2010, Blom y Clark, 1980, Ness, 2006, Mauseth, 1982, Mauseth et al., 2016, Mauseth, 2006). No obstante, son pocos los estudios sobre la función de los nectarios extraflorales en asociación con hormigas en *Opuntia*. Por ejemplo, en *Opuntia stricta* las hormigas que se alimentan de los nectarios extraflorales presentes en frutos y botones florales disminuyen la herbivoría, y aumentan el número de frutos maduros (Oliveira et al., 1999). En *Opuntia acanthocarpa*, hormigas de la especie *Crematogaster opuntiae* asociadas a los nectarios extraflorales defienden a la planta contra los herbívoros (Pickett y Clark, 1979). En contraste, las hormigas asociadas a los nectarios extraflorales en *Opuntia sulphurea* no tuvieron efecto sobre la herbivoría, las tasas de crecimiento y reproducción de la planta (Alma et al., 2015). Asimismo, son muy escasos los estudios que analizan el efecto de la interacción hormiga-planta poniendo en consideración los diferentes sexos de las plantas interactuantes (Beaumont et al., 2016). En *O. robusta* se sabe que existen diferencias asociadas al sexo de las plantas, por ejemplo las plantas unisexuales (femeninas o masculinas) presentan mayores tasas de crecimiento, supervivencia y frecuencia reproductiva que las plantas hermafroditas (del Castillo y Trujillo-Argueta, 2018). Además, se conoce que hay diferencias en la asignación de recursos a la defensa entre las plantas de diferente sexos, donde las hermafroditas son mejor defendidas que las femeninas considerando el número de espinas y concentraciones de sustancias defensivas (Janczur et al., 2014). Estas diferencias entre los sexos pueden reflejarse en la concentración de azúcar del néctar extrafloral y alterar las comunidades de artrópodos a diferentes niveles tróficos, incluyendo a las hormigas y a los insectos herbívoros. A pesar de que muchos estudios han abordado la prueba del mutualismo defensivo, siguen siendo desconocidos los efectos de la interacción hormiga-planta en relación al sexo de las plantas (hermafrodita, masculina y femenina) y sus rasgos de historia de vida en ambientes semiáridos.

Los objetivos de este estudio fueron evaluar el efecto del ensamble de hormigas asociadas con los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta*, en dos poblaciones con individuos de diferentes sexos (con individuos femeninos, masculinos y hermafroditas) de una zona semiárida del centro de México. Para ello se plantearon las siguientes preguntas: ¿el ensamble de hormigas asociadas con los nectarios extraflorales de botones florales (flores, de aquí en adelante) y cladodios en crecimiento defiende a las plantas contra los insectos herbívoros, disminuyendo la herbivoría? Además, si las hormigas defienden a las plantas y con base en las suposiciones de la TDO, que las partes más valiosas, como las flores, serán mejor defendidas ¿hay diferencias en el porcentaje de herbivoría entre flores y cladodios en crecimiento entre plantas de diferente sexo? Si la presencia de las hormigas influye en el nivel de daño ¿cuál es el efecto de la herbivoría y las hormigas sobre las tasas de crecimiento relativo y la supervivencia de las flores y cladodios en crecimiento entre los diferentes sexos de *O. robusta*? Además, si hay diferencias en la asignación de recursos entre los sexos, aquellas plantas que invierten más recursos en reproducción disminuyen su crecimiento, pero aumentan la defensa, siendo menos afectadas por la herbivoría (Coley et al., 1985), ¿hay diferencias en la composición del néctar y las tasas de crecimiento entre los sexos? Y ¿estas diferencias se relacionan con el porcentaje de herbivoría? Finalmente, si las plantas hermafroditas son más costosas debido a que producen ambos tipos de gametos (p. ej. óvulos y polen) ¿las flores y cladodios de plantas hermafroditas serán mejor defendidas y crecerán menos que las de plantas unisexuales?

## MÉTODOS

### Zona de estudio

El estudio se llevó a cabo en dos comunidades semiáridas del centro de México, en las que se han reportado diferencias en las concentraciones de nutrientes del suelo entre las formas sexuales de *O. robusta* (Martínez-Estrella & Janczur, datos no publicados). La primera se ubica en San Nicolás Tecoco (en adelante SNT) (20° 2' 38.2" N y 98° 35' 16" O) que pertenece al municipio de Singuilucan, Estado de Hidalgo, ubicado al sureste del estado de Hidalgo (INEGI, 1992, Hernández, 2006). Este sitio presenta un clima semiárido (BS1kw), templado, con temperatura anual que oscila entre 12°C y 18°C, la temperatura del mes más frío fluctúa entre -3°C y 18° C, la temperatura del mes más caliente es menor de 22°C; y las lluvias de verano son del 5% al 10.2% anual. La vegetación es dominada por *Opuntia robusta* Wendl. aunque también se pueden encontrar *Yucca* sp., *Opuntia* sp., *Ferocactus latispinus*, y otras cactáceas

(INEGI, 1992). La población de *Opuntia robusta* en esta comunidad es trioica, con individuos masculinos, femeninos y hermafroditas (Janczur et al., 2014).

La otra zona de estudio está ubicada en el Jardín Botánico Regional de Cadereyta “Ing. Manuel González de Cosío”, municipio de Cadereyta de Montes (en adelante CAD) (20° 41’ 14.155” N y 99° 48’ 17.295” O) en el Estado de Querétaro. Este sitio tiene un clima del subtipo semiseco-templado (BS1kw), con una precipitación media anual entre 400-450 mm y temperatura media anual entre 16 y 18°C (García, 1988). El Jardín Botánico Regional de Cadereyta tiene un área de 8.5 ha, donde la vegetación predominantemente es matorral xerófilo perturbado por actividades antrópicas. En esta zona dominan plantas de *O. robusta* y algunas especies leñosas, cactáceas y herbáceas anuales o perenes (de la Cruz et al., 2016). La población de *Opuntia robusta* en esta comunidad es dióica, con individuos masculinos y femeninos (del Castillo, 1986).

### **Especie de estudio**

*Opuntia robusta* Wendl. es una especie suculenta-arbustiva muy ramificada, de 1 a 2 m de altura; su tronco está más o menos definido, con ramas de ca. 1.5 m de largo y cladodios orbiculares o algo oblongos, de 15 a 40 cm de longitud o más (Britton y Rose, 1963, Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1978). Presenta nectarios extraflorales en las areolas de cladodios y flores en crecimiento que están activos únicamente en esta fase, con forma de espinas modificadas para la secreción de néctar que atraen hormigas (Sandoval-Molina et al., 2018).

El periodo de crecimiento de las flores y cladodios en ambas localidades es parecido, iniciando en febrero y terminado hacia finales de julio (M. Sandoval, obs. pers.). El tiempo que tardan los cladodios en alcanzar su tamaño máximo es variado, y puede ir desde 25 hasta 200 días, con crecimiento relativamente rápido al inicio, mientras que las flores tardan en desarrollarse de 50 hasta 80 días (Janczur et al., datos no publicados).

Los principales herbívoros de *O. robusta* son chinches, *Chelinidea* sp. (Coreidae) que introducen su probocis y succionan líquidos de los tejidos, dejando una cicatriz característica de daño; y coleópteros, *Moneilema* sp., que consumen proporciones considerables del tejido vegetativo y reproductivo (Vanegas-Rico et al., 2010, Jezorek et al., 2011, Mendoza et al., 2008, Palomares-Pérez et al., 2010).

## **Elección de plantas**

Las observaciones y experimentos se realizaron entre marzo y junio del 2017 en ambas localidades. Al inicio de la temporada de floración y crecimiento se hizo un censo para identificar plantas con brotes nuevos (florales/cladodios) de cada sexo: femeninas, masculinas y hermafroditas en SNT, y femeninas y masculinas en CAD. Se eligieron plantas con tamaño semejante, entre 1-2 m de altura y el mismo número de cladodios, con una distancia entre ellas de 5 a 10 m.

Para este estudio se utilizaron plantas marcadas y sexadas en temporadas previas. El sexo de la planta fue determinado por la inspección de las características morfológicas de las flores en base a las descripciones de Del Castillo (1986). Los individuos seleccionados tenían cladodios y flores en crecimiento en diferentes ramas para poder realizar en cada una diferentes observaciones y tratamientos. Se geoposicionó y se marcó para su identificación individual.

## **Composición del ensamble de hormigas, patrones de actividad, insectos herbívoros y robadores de néctar extrafloral.**

Para determinar las especies de hormigas que visitaron los nectarios extraflorales de las plantas de diferente sexo, se colectaron de 2 a 5 hormigas que forrajeaban durante el día en los nectarios extraflorales de cladodios y flores en ramas diferentes a las seleccionadas para los experimentos y observaciones que se detallarán adelante. Las hormigas se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 ml etiquetados con etanol al 70% para su conservación, y se identificaron a género usando las guías de Mackay y Mackay (1989), Fisher y Cover (2007) y la base de datos de AntWeb. Posteriormente la identificación hasta especie se realizó con ayuda de la colección entomológica IEXA del Instituto de Ecología A.C., donde se depositaron los ejemplares.

Para conocer los patrones de actividad de hormigas e insectos herbívoros y su relación con variables ambientales, se hizo un censo de hormigas de 9 am a 6 pm por dos días consecutivos en las ramas con tratamiento control (véase más adelante) de cada planta marcada. Cada hora se registró el número de hormigas y el número de ninfas de chinches y adultos (chinches y escarabajos) en periodos de 20s en cada rama marcada de cada planta de cada sexo, repitiendo el censo cada hora [(20s/rama con flores y 20s/rama con cladodios)/planta-masculinas + (20s/rama con flores y 20s/rama con cladodios)/plantas-femeninas + (20s/rama con flores y 20s/rama con cladodios)/plantas-hermafroditas]. Durante las observaciones, se utilizó una estación meteorológica portátil (Kestrel 4000, Nielsen Kellerman Corporation,

USA) para registrar la temperatura, humedad relativa y velocidad del viento a 1 m del suelo en cada planta.

Para determinar si el número de hormigas en las flores y cladodios en crecimiento en las plantas de diferentes sexo se relacionó con las variables ambientales, el área del botón/cladodio, el porcentaje de herbivoría (descrito más adelante), la presencia de insectos herbívoros, así como la interacción entre estas variables, se realizó un modelo lineal generalizado con efectos mixtos (GLMM) de medidas repetidas en R (RCoreTeam, 2018), usando la distribución cero inflado binomial negativa (nbinom2) de la paquetería glmmTMB (Brooks et al., 2017) que lidió adecuadamente con el exceso de ceros en los datos y la sobre dispersión. Se consideró el área total como una medida del tamaño de la flor/cladodio en lugar del volumen, debido a que estas dos variables resultaron altamente correlacionadas positivamente ( $r = 0.85$ ,  $p = < 0.001$ ). Para la formulación del modelo únicamente se consideraron las flores y cladodios del tratamiento control, es decir con acceso de las hormigas. Para disminuir la eficacia y el sesgo en las estimaciones estadísticas resultantes de observaciones incompletas (Rubin, 1996), se imputaron los datos faltantes de temperatura y humedad relativa con la paquetería MICE (van Buuren y Groothuis-Oudshoorn, 2011) en R (RCoreTeam, 2018), usando 100 imputaciones múltiples y empleando el promedio en el análisis. La hora del día se transformó con la fórmula:  $\text{Hora} = \sin(h/T * 2 * \pi) + \cos(h/T * 2 * \pi)$ , donde  $h$  es la hora del día;  $T$  es la duración del día en horas. El modelo incluyó como variables explicativas el tipo de estructura (factor: flor/cladodio), el sexo de la planta (factor: femenina, hermafrodita o masculina), la temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), la humedad relativa ambiental (%), el porcentaje de herbivoría, el número de chinches, la hora del día y el área total de la flor/cladodio, mientras que el componente fijo fue el número de hormigas. Se excluyó el número de escarabajos del análisis, debido a que su frecuencia fue muy baja. El componente aleatorio de los modelos incluyó el número de muestreo en función de la identidad del botón/cladodio anidado de la siguiente forma: planta/cladodio parental/identidad del botón floral o cladodio. La selección de los modelos comenzó con un modelo completo y usando la función `drop1` se removieron las variables que redujeron el criterio de información de Akaike (AIC) hasta encontrar el mejor modelo. Posteriormente se validó el ajuste del modelo reducido usando los residuales escalados creados mediante simulación de la paquetería DHARMA (Hartig, 2018). Para visualizar los resultados del modelo se utilizó la paquetería `visreg` en R, que permite realizar una regresión parcial (Breheny y Burchett, 2017).

## Conducta de las hormigas asociadas con los nectarios extraflorales

Con el propósito de caracterizar y cuantificar la conducta desplegada por las diferentes especies de hormigas contra herbívoros reales y potenciales, se realizaron observaciones conductuales de los individuos asociados con los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en ambas localidades. Para ello se realizaron experimentos en dos fases. La primera sólo consistió en categorizar la conducta defensiva, para lo cual se registró la respuesta de las hormigas ante un estímulo de agresión potencial, golpeando con un objeto (lápiz) suavemente por 10 segundos el cladodio/flor en crecimiento. La conducta desplegada por cada especie de hormiga se clasificó de acuerdo con los criterios de Nogueira et al. (2012) y Alma et al. (2015) (Tabla 1).

Tabla 1 – Lista de conductas desplegadas por hormigas en presencia de herbívoros de acuerdo a los criterios de Nogueira et al. (2012) y Alma et al. (2015).

Categoría	Conducta	Descripción
<i>Agresiva</i>	Muerde	<i>Cuando la hormiga muerde al herbívoro.</i>
<i>Agresiva</i>	Dobla el abdomen	<i>Cuando la hormiga dobla el gáster para liberar ácido fórmico contra el herbívoro.</i>
<i>Agresiva</i>	Embestida	<i>Cuando la hormiga toca al herbívoro con sus antenas y rápidamente embiste en esa dirección.</i>
<i>Agresiva</i>	Rodear	<i>Cuando la hormiga toca al herbívoro con sus antenas y lo inspecciona rodeándolo.</i>
<i>Pacífica</i>	Limpieza	<i>Cuando la hormiga toca con sus antenas y las limpia con sus partes bucales.</i>
<i>Pacífica</i>	Evita	<i>Cuando la hormiga toca con sus antenas, evita y huye del herbívoro.</i>
<i>Pacífica</i>	Antenación	<i>Cuando la hormiga toca al herbívoro con sus antenas y no realiza ninguna acción posterior.</i>

La segunda fase consistió en cuantificar y categorizar la conducta agresiva de las hormigas contra insectos herbívoros reales y artificiales en condiciones de laboratorio. Para ello se utilizaron hormigas presentes en 10 plantas de San Nicolás Tecoco y 5 de Cadereyta de Montes en plantas de diferentes sexos escogidas al azar. Se colectaron 10 hormigas de cada planta mientras se alimentaban de néctar extrafloral, 5 de una rama y 5 de otra diferente, que se colocaron en tubos individuales para conservar la identidad de la planta y asegurar que las hormigas colectadas pertenecieran a la misma colonia. Previo al experimento las hormigas fueron alimentadas con una solución 1g de azúcar en 1.5 ml de agua, con el fin de que tuvieran alimento que simulara al néctar extrafloral, y así asegurar que la conducta agresiva desplegada

no se debiera al hambre de las hormigas. Debido a que la identificación de especies de hormigas en campo es difícil, la identidad de los individuos colectados se determinó en laboratorio al final de las observaciones conductuales con ayuda de la colección entomológica IEXA del Instituto de Ecología A.C. Como resultado, algunas especies fueron más abundantes que otras y en algunas especies no tuvieron repeticiones.

Con el propósito de conservar las características de la planta (v.gr., olor, color, succulencia) y simular el daño por herbivoría, se obtuvieron fragmentos cilíndricos del tejido de flores y cladodios en crecimiento de cada planta (0.5 mm de diámetro x 0.5 mm de altura) usando un tubo Eppendorf de 0.5 ml a manera de sacabocados, conservando el tejido dentro del tubo en refrigeración hasta su uso. Posteriormente, se colectaron cuatro adultos del herbívoro *Chelinidea* sp. (Coreidae) presentes en ramas de *O. robusta* que se mantuvieron en frascos individuales. Además, con el fin de descartar que la conducta desplegada fuera dirigida a cualquier objeto dentro del espacio experimental, se elaboraron 2 herbívoros artificiales con plastilina de colores tratando de que fueran similares al herbívoro real en su forma y colores. Las observaciones se realizaron en una habitación cerrada donde la temperatura osciló entre los 18-22°C. Se usaron dos cajas Petri como espacios experimentales con una base de papel filtro, en cada una se colocaron cuidadosamente 5 hormigas de la misma especie asociadas a nectarios extraflorales de botones y 5 hormigas de la misma especie de cladodios en desarrollo de la misma planta, y se dejaron sin perturbar por un periodo de 2-5 minutos, para permitir que los organismos se tranquilizaran por la manipulación de los ejemplares. Posteriormente, se realizaron los siguientes dos tratamientos: El primer tratamiento consistió en colocar dentro de cada caja Petri con las hormigas un herbívoro artificial y el fragmento de tejido vegetal, y se dio un tiempo de dos minutos antes de comenzar las observaciones. El registro de la conducta de las hormigas se realizó durante 5 minutos mediante filmaciones con una cámara Nikon D3200 con un lente 18-55 mm. Una vez concluido el tiempo, se extrajo el herbívoro artificial esperando dos minutos antes de comenzar las nuevas observaciones. Posteriormente se aplicó el segundo tratamiento, que consistió en colocar uno herbívoro real de *Chelinidea* sp. dentro de las cajas con las hormigas y tejido, y el registro de la conducta de las hormigas se realizó siguiendo el protocolo descrito previamente. Al final de cada observación se sustituyó el papel filtro de cada caja Petri para eliminar cualquier rastro de olor de las hormigas y los herbívoros, antes de comenzar un nuevo registro de conducta con otro grupo de hormigas. Posteriormente se usó el software Boris (Friard y Gamba, 2016) para analizar y categorizar la conducta agresiva de las hormigas. Usando la lista de conductas descritas en la Tabla 1 se contabilizó el número

de interacciones desplegadas por el grupo de hormigas, donde las interacciones con una duración mayor a 15 segundos se volvieron a contar como nueva interacción. Debido a que el número de interacciones registradas fue bajo en cada caja de Petri, y que el grupo de hormigas utilizado fueron de la misma especie, se optó por sumar las interacciones en ambas cajas Petri, con el mismo tratamiento hasta completar 15 interacciones entre la hormiga y el herbívoro (real/falso). Posteriormente, se obtuvo el índice de agresión estándar (AI) propuesto por von Beeren et al. (2012), von Beeren et al. (2011):

$$\text{Índice de agresión} = \frac{(Ia - Ip)}{It}$$

Donde,  $Ia$  es el número de veces que la hormiga responde agresivamente,  $Ip$  es el número de veces que responde neutralmente,  $It$  la sumatoria del número de interacciones agresivas y pacífico-neutrales ( $It = Ia+Ip$ ). Un índice de agresión de +1 indica una conducta agresiva, mientras que un índice de -1 una respuesta pacífica.

### **Concentración de sacarosa en el néctar extrafloral**

Debido a las características del ambiente y la viscosidad del líquido no fue posible obtener el néctar extrafloral en el campo. En un estudio previo se colectaron cladodios de ocho plantas, cuatro de plantas femeninas y cuatro de masculinas de la localidad de San Nicolás Tecoco, que fueron llevados a un invernadero, donde fueron sembradas en macetas individuales y mantenidos con riego regular hasta que produjeron nuevos brotes (ca. 1 año). El néctar extrafloral se acumuló en las areolas de las flores en crecimiento y cladodios en forma de cristales, pero como la cantidad producida por cada estructura fue muy poca para poder realizar análisis químicos, se optó por juntar el néctar colectado de las flores y cladodios de la misma planta. El néctar se colocó en tubos Eppendorf y se etiquetó individualmente manteniendo la identidad y el sexo de la planta. Las muestras fueron transportadas en una hielera a  $-20^{\circ}\text{C}$  al Laboratorio Ecología de Poblaciones y Comunidades de la UAEMex (Universidad Autónoma del Estado de México) donde se analizaron mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) acoplada a un detector de índice de refracción. Posteriormente se buscaron diferencias en la concentración de sacarosa del néctar entre los sexos de las plantas mediante una prueba Wilcoxon en el programa R (RCoreTeam, 2018).

## Herbivoría de flores y cladodios

Para probar si las hormigas que visitan los nectarios extraflorales defienden los cladodios y flores en crecimiento de los insectos herbívoros, se llevó a cabo un experimento de exclusión. Se eligieron al azar 25 plantas en la población de SNT (11 femeninas, 6 masculinas y 8 hermafroditas) y 19 plantas en CAD (8 plantas femeninas y 11 masculinas). Cada planta tuvo al menos dos ramas con cladodios juveniles y dos ramas con flores en crecimiento. Dos ramas, una con cladodios y otra con flores en crecimiento, fueron escogidas como control y a las otras dos se les aplicó el tratamiento de exclusión de hormigas. La regla de decisión para la asignación del tratamiento fue completamente al azar. Para evitar que las hormigas accedieran a las estructuras juveniles se aplicó la resina Tanglefoot (Tanglefoot Co., MI, USA) en la base del cladodio parental donde se encontraban los cladodios y flores en crecimiento, y se removieron todas las hormigas presentes. Adicionalmente se retiraron todos los objetos que pudieran servir como puente a las hormigas (v.gr., ramas, plantas). La rama control se dejó intacta permitiendo el libre acceso a las hormigas.

Se estimó el daño por herbivoría en las flores y cladodios nuevos como el porcentaje de tejido removido desde el inicio del tratamiento hasta que los nectarios extraflorales cesaron la secreción de néctar o la estructura murió. Este tipo de daño fue cuantificado como el porcentaje total de área removida por los herbívoros. Otros tipos de daño, como cicatrices por insectos minadores o necrosis por microorganismos, se estimaron por medio de fotografías tomadas de frente al cladodio/botón con una cámara fotográfica Nikon D3200 con un lente AF-S DX NIKKOR 18-55mm f/3.5-5.6G VR, montada en un trípode a una distancia de ca. 50 cm a la base de la planta, y se colocó un cuadro de papel milimétrico de 1 cm<sup>2</sup> como escala de referencia. Posteriormente se analizaron las imágenes usando el software Image J, y obtener el área total del cladodio o flor en crecimiento y el porcentaje del área dañada. Solo se consideraron las marcas más evidentes de daños y se analizó el mismo lado del cladodio/flor durante todas las mediciones.

Para analizar la herbivoría registrada en los cladodios y flores en crecimiento de *Opuntia robusta* en función del sexo y el tratamiento, se utilizó un modelo lineal con efectos mixtos (LME) con distribución normal del error, en el que la variable de respuesta fue el logaritmo del cociente entre el porcentaje de tejido no dañado y el porcentaje dañado (transformación “logit”) (Aitchison, 1982) usando las paqueterías gmodels (Warnes et al., 2015). Además, para analizar la herbivoría registrada en los cladodios y los botones florales en crecimiento en función de las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales, se utilizó un modelo lineal con

efectos mixtos (LME) con distribución normal del error, en el que la variable de respuesta la herbivoría transformada “logit”. El modelo incluyó como variables explicativas las especies de hormigas, mientras que el componente fijo o de respuesta fue la herbivoría. El componente aleatorio del modelo incluyó el tiempo de medición en función de la identidad individual de la planta.

Los modelos fueron ajustados con la paquetería nlme (Pinheiro et al., 2018) y los contrastes con lsmeans (Lenth, 2016) del software R (RCoreTeam, 2018). La transformación logit de la variable herbivoría mejoró considerablemente la distribución de los residuales de los modelos estadísticos. El modelo incluyó como variables explicativas el tratamiento, el sexo y el área total de la flor/cladodio en crecimiento, mientras que el componente fijo o de respuesta fue la herbivoría transformada con “logit”. El componente aleatorio de los modelos incluyó el tiempo de medición en función de la identidad individual de la planta, el cladodio parental, el tratamiento aplicado y la identidad individual de la flor o cladodio en crecimiento. Además se realizaron pruebas de Wilcoxon para contrastar la herbivoría por tipo de daño (remoción/otro daño) según el tratamiento aplicado, para ello se usó la función *wilcoxon.test* de R (RCoreTeam, 2018).

### **Tasas de crecimiento relativo de flores y cladodios**

Por otro lado, para saber si la herbivoría tiene un efecto en el crecimiento de los cladodios y flores (botones florales) en crecimiento en las plantas de diferentes sexos, se obtuvieron las tasas de crecimiento relativo. Para ello se registró el largo, ancho y grueso de cada cladodio/flor. El largo de las flores se midió desde la base hasta el inicio de los sépalos. Se calculó el volumen inicial, considerado en el momento que surgió el botón, y el volumen final de las estructuras, como la medida del último muestreo o la muerte de la estructura. En el caso de las flores, el volumen final se consideró como la última medición después de la antesis, que coincide con el momento en que cesó la secreción de néctar extrafloral en estas estructuras. El momento que los nectarios no produjeron más néctar fue detectado debido a que las espinas-nectario dejan de presentar su cono secretor apical característico, causado por la lignificación de la espina. Para obtener el volumen inicial y final de la flor/cladodio en crecimiento, primero se calculó el área con la fórmula matemática de una elipse, usando la siguiente fórmula:  $\text{área de la elipse} = [(a/2) \times (b/2) \times \pi]$ . Posteriormente el resultado de esta operación se multiplicó por el grueso de cada cladodio/flor para obtener el volumen total ( $\text{cm}^3$ ). Como lo indica la siguiente fórmula usada por Amorim et al. (2015):

$$\text{Volumen de la estructura} = [\pi * 0.5 (a) * 0.5 (b)] \times c$$

Dónde: a = largo de la estructura (cm), b= ancho de la estructura (cm), c= grueso de la estructura (cm),  $\pi = 3.141592$ . Para obtener el volumen de las flores y debido a que estas son ovoides, se consideró el grueso igual que el ancho de la flor.

Luego se calculó la tasa de crecimiento relativo (TCR) usando la fórmula sugerida por Hunt (2012):

$$TCR = \frac{(\ln Vf - \ln Vi)}{(t2 - t1)}$$

Dónde: ln= logaritmo natural, Vf = volumen final (cm<sup>3</sup>), Vi = volumen inicial (cm<sup>3</sup>), t1 = tiempo inicial, t2 = tiempo final en días.

Para analizar la tasa de crecimiento relativo en San Nicolás Tecoco se utilizó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución del error Gamma y función de liga logit, en el que se utilizó como variable respuesta la TCR y como variables explicativas la herbivoría final acumulada, el sexo de la planta, el tipo de tejido (botón floral o cladodio), tratamiento/control, el número total de flores y cladodios presentes en cada rama, así como la interacción entre sexo-tratamiento y sexo-tipo de tejido (botón/cladodio). Mientras que para Cadereyta de Montes se usó un modelo lineal generalizado (GLM) con distribución del error gaussiana y función de liga log usando las mismas variables explicativas y de respuesta que en el modelo de SNT. Los modelos fueron ajustados con el software R (RCoreTeam, 2018) y los contrastes se realizaron con gmodels (Warnes et al., 2015) y lsmeans (Lenth, 2016). Se escogió el modelo con el menor AIC, y se compararon los modelos con una prueba de ANOVA, y se validó el ajuste del modelo usando los residuales escalados creados mediante simulación de la paquetería DHARMA (Hartig, 2018). Para visualizar los resultados del modelo se utilizó la paquetería visreg en R, que permite realizar una regresión parcial (Breheny y Burchett, 2017). Finalmente se calculó el valor de R<sup>2</sup> del modelo con la paquetería rsq (Zhang, 2018) y MuMIn (Barton, 2018).

### **Supervivencia de flores y cladodios**

Para analizar el porcentaje de cladodios y flores abortados se construyeron curvas de supervivencia usando el método Kaplan-Meier. Este método es útil para predecir la probabilidad de supervivencia a partir de una fracción de individuos vivos en un cierto tiempo (Rich et al., 2010). El análisis comenzó desde el momento en que se registró la aparición de la flor/cladodio en forma de botón, hasta que ocurrió la muerte de la estructura por alguna razón.

Las curvas de supervivencia fueron generadas usando la función *ggsurvplot* del paquete *survminer* en R (Kassambara et al., 2018, RCoreTeam, 2018). Los contrastes entre sexos y tratamientos se realizaron con la función *survdiff* de la paquetería *survival* (Therneau y Lumley, 2015).

## RESULTADOS

### Composición del ensamble de hormigas, patrones de actividad, insectos herbívoros y robadores de néctar extrafloral.

Las especies de hormigas que se asocian con los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* varían espacial y temporalmente, además de que pueden encontrarse de 1 o más especies visitando la misma planta en diferentes momentos. En este estudio no se registraron las especies nocturnas de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales, únicamente se consideraron las especies diurnas. Además, en ambas localidades se registraron como ladrones de néctar extrafloral a dípteros, coleópteros y avispas, siendo los dípteros los más abundantes en flores y cladodios en crecimiento. En San Nicolás Teacoaco las especies hormigas registradas fueron *Liometopum apiculatum*, *Camponotus atriceps*, *Camponotus andrei* y *Formica altipetens* (Fig. 1), siendo más abundantes las dos primeras en los nectarios extraflorales.



Figura 1. Especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en San Nicolás Teacoaco, Hidalgo. (A) *Camponotus atriceps*, (B) *Camponotus andrei*, (C) *Formica altipetens*, (D) *Liometopum apiculatum*.

En la localidad de Cadereyta de Montes las especies registradas fueron: *Crematogaster* sp., *Liometopum apiculatum*, *Camponotus andrei*, *Monomorium eveninum*, *Forelius pruinosus*, *Pseudomyrmex championi* y *Pseudomyrmex pallidus* (Fig. 2), siendo *L. apiculatum*, *Crematogaster* sp. y *P. championi*, las especies más abundantes, mientras que *Forelius pruinosus* y *Monomorium eveninum* fueron las especies menos abundantes.

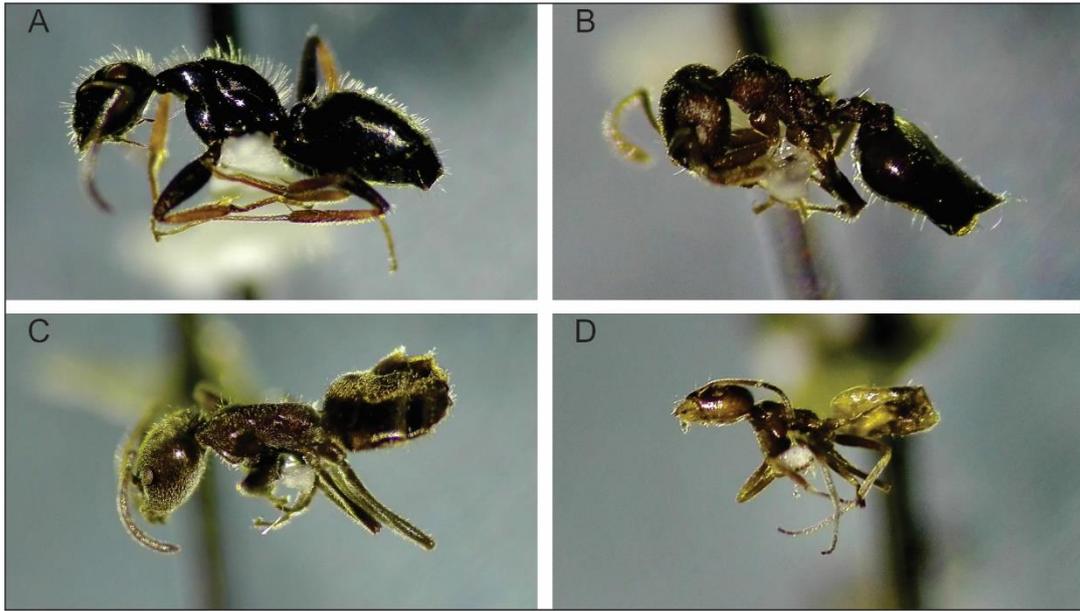


Figura 2. Especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en Cadereyta de Montes, Querétaro. (A) *Camponotus andrei*, (B) *Crematogaster* sp, (C) *Liometopum apiculatum*, (D) *Monomorium eveninum*.

El censo de hormigas alimentándose de los nectarios extraflorales de flores y cladodios en crecimiento en la comunidad de San Nicolás Teacoaco muestra mayor actividad a las 16:00 h (Fig. 3A). Mientras que en Cadereyta de Montes hay un pico de mayor actividad a las 12:00 h (Fig. 3B).

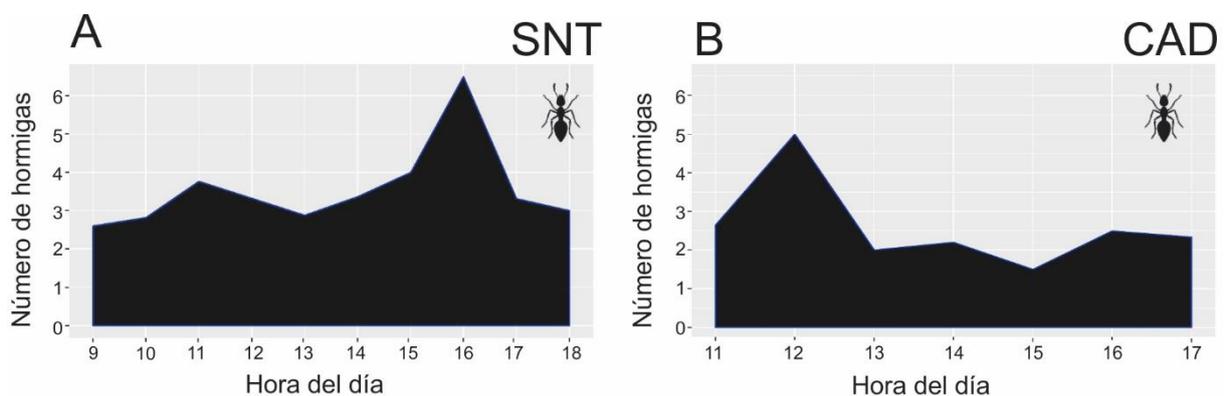


Figura 3. Patrones de actividad de las hormigas independientemente de la especie asociada con los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta*. Promedio del número de hormigas en las

plantas de San Nicolás Tecoco, Hidalgo (A) y promedio del número de hormigas en las plantas de Cadereyta de Montes, Querétaro (B).

En la localidad de San Nicolás Tecoco, en las plantas masculinas los cladodios tuvieron más hormigas que las flores (contraste post-hoc:  $Z=-4.05$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 4A). Se observó una tendencia de un mayor número de hormigas en los cladodios masculinos que en los cladodios femeninos (contraste post-hoc:  $Z=2.70$ ,  $p=0.06$ ; Fig. 4A). El número de hormigas se relacionó significativamente con el área de las flores y los cladodios en crecimiento: las estructuras más pequeñas tuvieron el mayor número de hormigas (GLMM:  $z=-2.493$ ,  $p=0.01$ ; Suplementos: Tabla 1S; Fig. 4B). Además, la herbivoría de flores y cladodios en crecimiento se relacionó negativamente con el número de hormigas, es decir que cuando el número de hormigas fue menor hubo mayor herbivoría (GLMM:  $z=-3.01$ ,  $p=0.002$ ; Suplementos: Tabla 1S; Fig. 4C). Se encontró en las flores que cuando aumenta la temperatura del día disminuye el número de hormigas (GLMM flores:  $z=-2.093$ ,  $p<0.05$ ; Suplementos: Tabla 1S; Fig. 4D), y que a mayor número de chinches mayor número de hormigas (GLMM flores:  $z=4.030$ ,  $p<0.001$ ; Suplementos: Tabla 1S; Fig. 4E). En general, no hubo diferencias en el número de hormigas presentes en las plantas de diferente sexo.

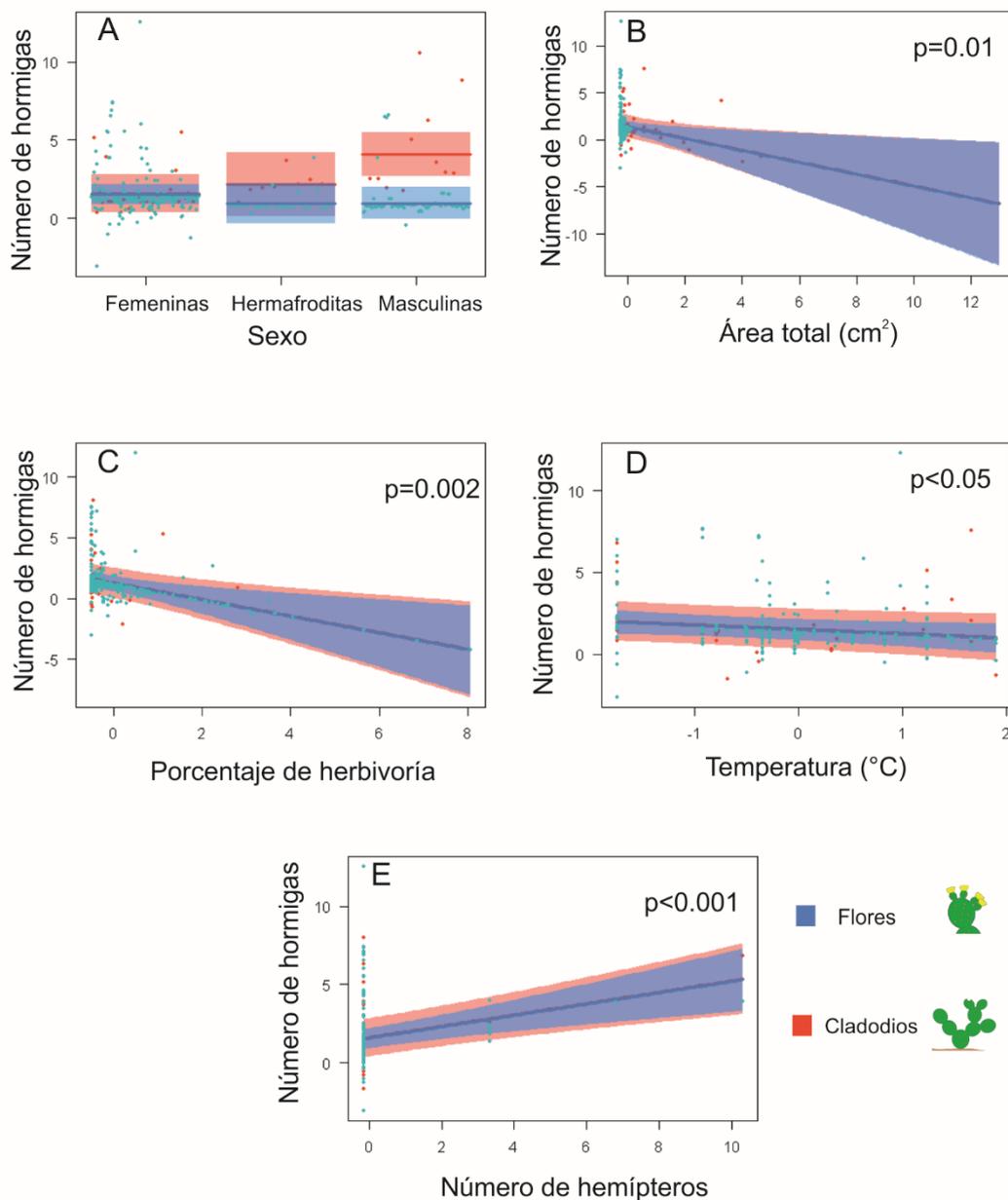


Figura 4. Regresión parcial de las variables significativas del modelo cero inflado binomial negativo para el número de hormigas en San Nicolás Tecoco, Hidalgo. En el eje Y el número de hormigas y su relación con: (A) sexo; (B) área del cladodio o flor; (C) porcentaje de herbivoría; (D) temperatura (°C); (E) número de hemípteros (herbívoros). Se excluyeron las variables no significativas ( $p > 0.1$ ).

En Cadereyta de Montes, los cladodios de plantas femeninas tuvieron más hormigas que los cladodios de plantas masculinas (contraste post-hoc: cladodios:  $z=-3.11$ ,  $p=0.009$ ; Fig. 5 A). El tamaño de las estructuras en desarrollo influyó en el número de hormigas: las más pequeñas tuvieron mayor número de hormigas (GLMM:  $t=-2.160$ ,  $p=0.031$ ; Suplementos: Tabla 2S; Fig. 5B). La temperatura y la humedad relativa del ambiente tuvieron un efecto significativo, ya que al aumentar disminuye el número de hormigas (Temperatura: GLMM:  $t=-3.01$ ,  $p=0.002$ ; Fig. 5C; humedad relativa: GLMM:  $t=2.37$ ,  $p=0.01$ ; Suplementos: Tabla 2S). Asimismo se encontró una tendencia que conforme transcurrió el día el número de hormigas aumentó (GLMM:  $t=1.72$ ,  $p=0.08$ ; Suplementos: Tabla 2S; Fig. 5E). En general, las plantas femeninas tuvieron mayor número de hormigas que las plantas masculinas (contraste post-hoc:  $z=-3.82$ ,  $p<0.001$ ). Las variables herbivoría y el número de chinches no resultaron significativas.

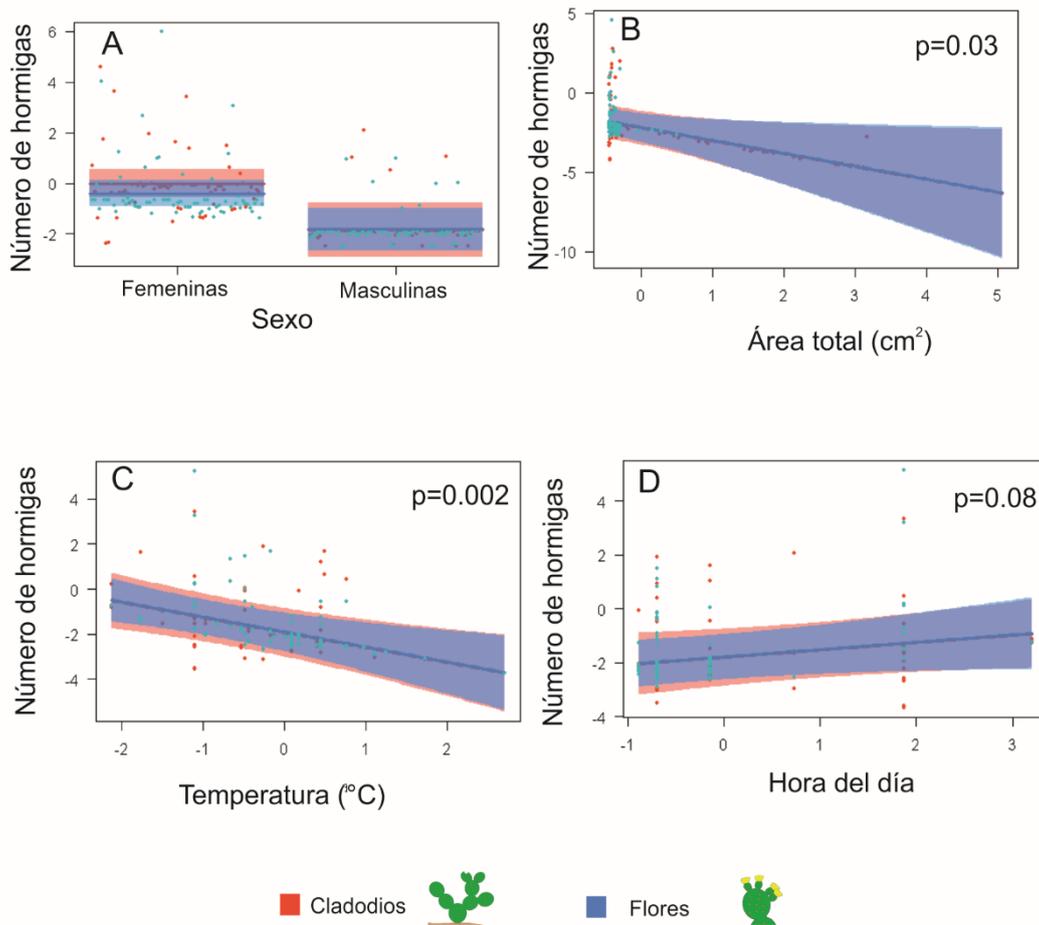


Figura 5. Regresión parcial de las variables significativas del modelo cero inflado binomial negativo para el número de hormigas en Cadereyta de Montes, Querétaro. En el eje Y el número de hormigas y su relación con: (A) sexo; (B) área del cladodio o flor; (C) temperatura (°C); (D) hora del día. Se excluyeron las variables no significativas ( $p > 0.1$ ).

## Conducta de las hormigas asociadas a los nectarios extraflorales

Durante las observaciones conductuales en el campo *Camponotus andrei* y *Liometopum apiculatum* no exhibieron ninguna conducta agresiva en respuesta a la perturbación realizada manualmente, *Formica altipetens* mostro agresividad al arquear el abdomen en respuesta al estímulo, al igual que lo hizo *Crematogaster* sp., y finalmente las hormigas *Camponotus atriceps* huyeron ante el estímulo. En cambio, en Cadereyta de Montes las hormigas *Liometopum apiculatum* y *Pseudomyrmex* sp. exhibieron una conducta pacífica al huir ante el estímulo.

En el experimento en donde se examinó la conducta de las hormigas ante la presencia de un herbívoro real y un artificial, se encontró que las especies *Camponotus andrei*, y *Liometopum apiculatum* de la localidad de San Nicolás Teacoaco, tuvieron índices de agresión negativos, es decir que exhibieron un mayor número de interacciones pacíficas y neutrales en presencia de los herbívoros en ambos tratamientos. Sin embargo, *L. apiculatum* se mostró más agresiva en presencia del herbívoro real (Tabla 2). Únicamente se observaron índices de agresión positivos en *Formica altipetens* al ser expuestas al herbívoro artificial, pero cuando se introdujo al herbívoro real desplegaron un mayor número de interacciones pacíficas (Tabla 2). Por otro lado, las hormigas *Crematogaster* sp. y *Liometopum apiculatum* de la localidad Cadereyta de Montes mostraron índices de agresión positivos ya que tuvieron mayor número de interacciones agresivas contra los herbívoros en ambos tratamientos, siendo más agresivas contra el herbívoro real. No obstante *Camponotus andrei* y *Pseudomyrmex championi* tuvieron índices negativos, es decir con pocas o nulas interacciones agresivas contra los herbívoros artificiales y reales (Tabla 2).

Tabla 2. Índice de agresión promedio ( $\pm$ sd) de las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de *Opuntia robusta* en las localidades de San Nicolás Teacoaco y Cadereyta de Montes. Se muestra el número de interacciones de agresión en contra de herbívoros artificiales y reales. N es el número de veces que se registró la especie de hormiga. NA indica que sólo se registró una muestra de la especie sin repeticiones, por lo que no fue posible calcular la desviación estándar (sd).

Especie	Tipo de Herbívoro	N	Índice de agresión	sd
San Nicolás Teacoaco, Hgo.				
<i>Camponotus andrei</i>	ARTIFICIAL	2	-0.416	0.117
	REAL	2	-0.875	0.176
<i>Formica altipetens</i>	ARTIFICIAL	1	0.142	NA
	REAL	1	-0.428	NA
<i>Liometopum apiculatum</i>	ARTIFICIAL	7	-0.494	0.558
	REAL	7	-0.030	0.449
Cadereyta de Montes, Qro.				
<i>Camponotus andrei</i>	ARTIFICIAL	1	-1.0	NA
	REAL	1	-0.714	NA
<i>Crematogaster</i> sp.	ARTIFICIAL	2	0.7	0.424
	REAL	2	1	0
<i>Liometopum apiculatum</i>	ARTIFICIAL	2	0.492	0.152
	REAL	2	0.766	0.047
<i>Pseudomyrmex championi</i>	ARTIFICIAL	1	-1.0	NA
	REAL	1	-1.0	NA

### Concentración de sacarosa en el néctar extrafloral

En promedio el néctar extrafloral de las plantas femeninas presentó  $7.52 \pm 4.93$  mg/ml (media y desviación estándar) de sacarosa, mientras que el néctar de las plantas masculinas sólo  $4.27 \pm 1.91$  mg/ml. No se encontraron diferencias significativas entre la concentración de sacarosa entre plantas masculinas y femeninas ( $W = 10$ ,  $p = 0.6$ ). No se tuvieron registros de las plantas hermafroditas.

## Herbivoría de flores y cladodios

Durante el muestreo se analizaron 560 flores y 110 cladodios provenientes de 11 plantas femeninas, 6 masculinas y 8 hermafroditas en SNT. Mientras que en CAD, se analizaron 148 flores y 130 cladodios de 8 plantas femeninas y 11 masculinas. Se encontró que los insectos herbívoros más comunes son hemípteros de los géneros *Chelinidea* sp. y *Narnia* sp. (Hemíptera: Insecta), y el escarabajo *Moneilema* sp. (Coleóptera: Insecta). En las dos localidades estudiadas, el daño promedio causado por remoción de tejido (comúnmente causado por escarabajos) en las plantas de los diferentes sexos fue mayor que el causado por otros insectos (como las chinches, insectos minadores, etc.) (Fig. 6). No se encontraron diferencias en la herbivoría según el tipo de herbívoro en flores y cladodios con el tratamiento de exclusión y control. Sin embargo, el daño por remoción, como el que infligen los escarabajos fue mayor que el daño por otros herbívoros en ambas localidades (SNT:  $W = 326020$ ,  $p = < 0.001$ ; CAD:  $W = 202$ ,  $p < 0.001$ ).

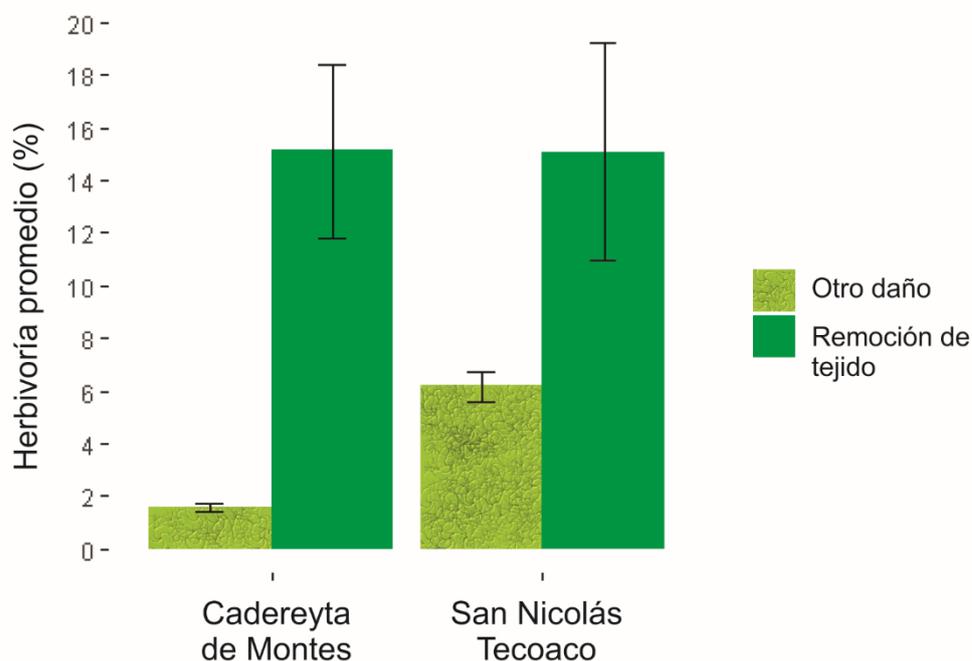
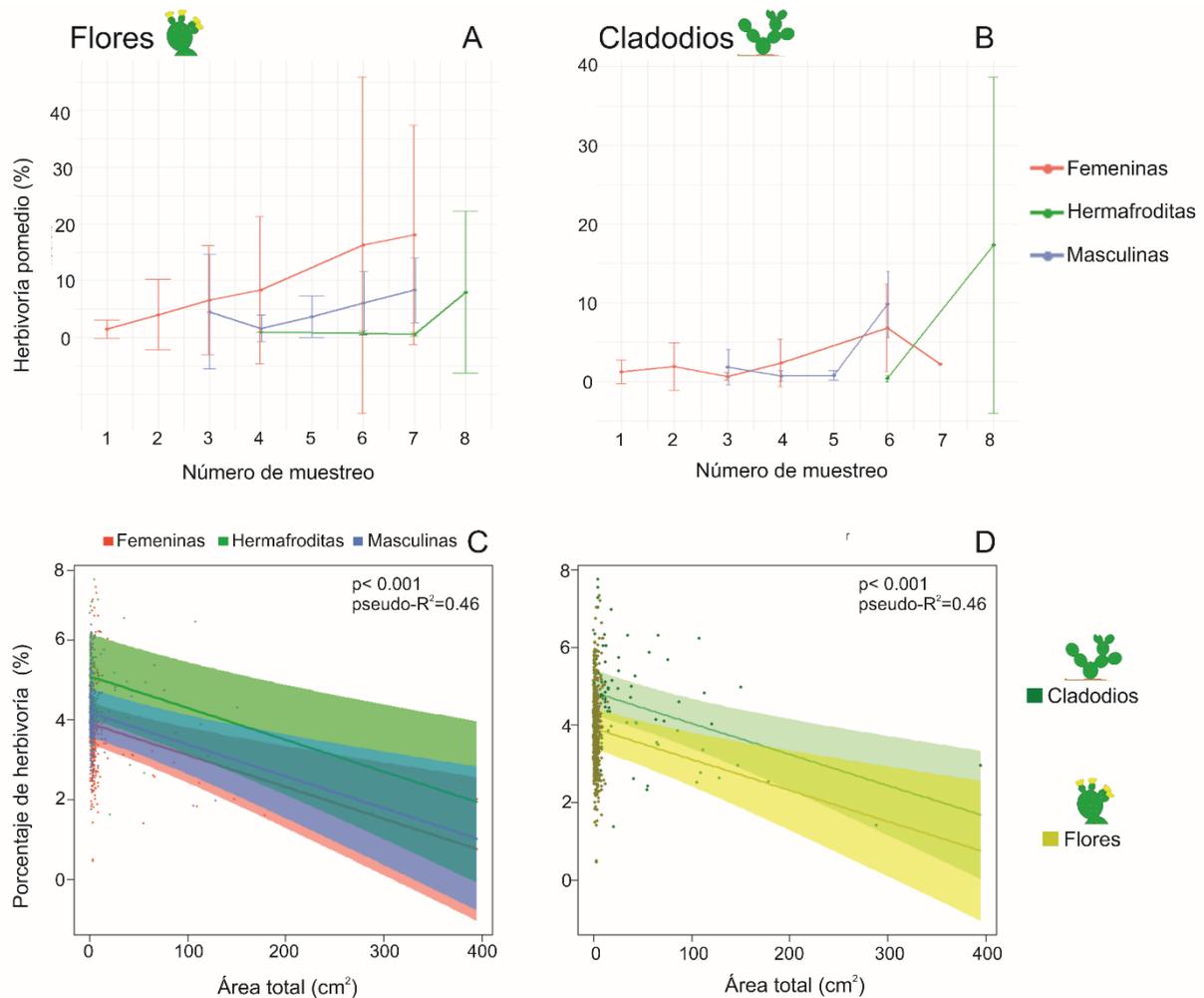


Figura 6. Promedio del porcentaje de herbivoría total producido por herbívoros en las dos localidades. Remoción de tejido por escarabajos (verde oscuro), otros insectos (verde claro). Las líneas en las barras indican la desviación estándar.

En la localidad de SNT, la herbivoría promedio de flores y cladodios en crecimiento es constante en el tiempo y muestra el desfase en la temporada de floración en los diferentes sexos de *O. robusta* (Fig. 7 A y B). Además, se encontró que la herbivoría es menor cuando aumenta el tamaño de la estructura (flor/cladodio) (linear mixed-effects model:  $t=-3.677$ ,  $p<0.001$ ; Suplementos: Tabla 3S; Fig. 7 C y D), es decir que a medida que se van desarrollando las flores y cladodios, estos tuvieron menos herbivoría, o posiblemente dejan de tener herbivoría.



**Figura 7.** Porcentaje de herbivoría a través del tiempo de muestreo en flores (A) y cladodios (B) de *O. robusta* en San Nicolás Teacoaco. Considerando desde la etapa de botón hasta fruto o cladodio maduro. El número de muestreo corresponde al intervalo de tiempo desde que inició el muestreo hasta que finalizó. Porcentaje de herbivoría en relación al área total de acuerdo al sexo de las plantas (C) y al tipo de estructura, flor y cladodio (D). Se muestra el valor de  $p$  de la variable área total y el valor pseudo- $R^2$  condicional del modelo.

En San Nicolás Tecoaco no se encontraron diferencias en el porcentaje de herbivoría de flores y cladodios entre los tratamientos de exclusión y control en las plantas diferentes sexos (Fig. 8 A y B; Suplementos: Tabla 3S). Por otro lado, tampoco hubo diferencias en la herbivoría entre flores y cladodios independientemente del tratamiento de plantas hermafroditas y masculinas, con excepción de los cladodios de plantas femeninas que tuvieron un mayor porcentaje de herbivoría que las flores del mismo sexo (contraste post-hoc:  $t= 2.38$ ,  $p=0.02$ ; Fig. 8C). En general e independientemente del tratamiento de exclusión, los cladodios mostraron porcentajes mayores de herbivoría que las flores, es decir fueron más consumidos por herbívoros (contraste post-hoc:  $t= 2.18$ ,  $p=0.03$ ), y se observa que las hermafroditas tuvieron ligeramente mayor herbivoría que el resto de los sexos (Fig. 8D).

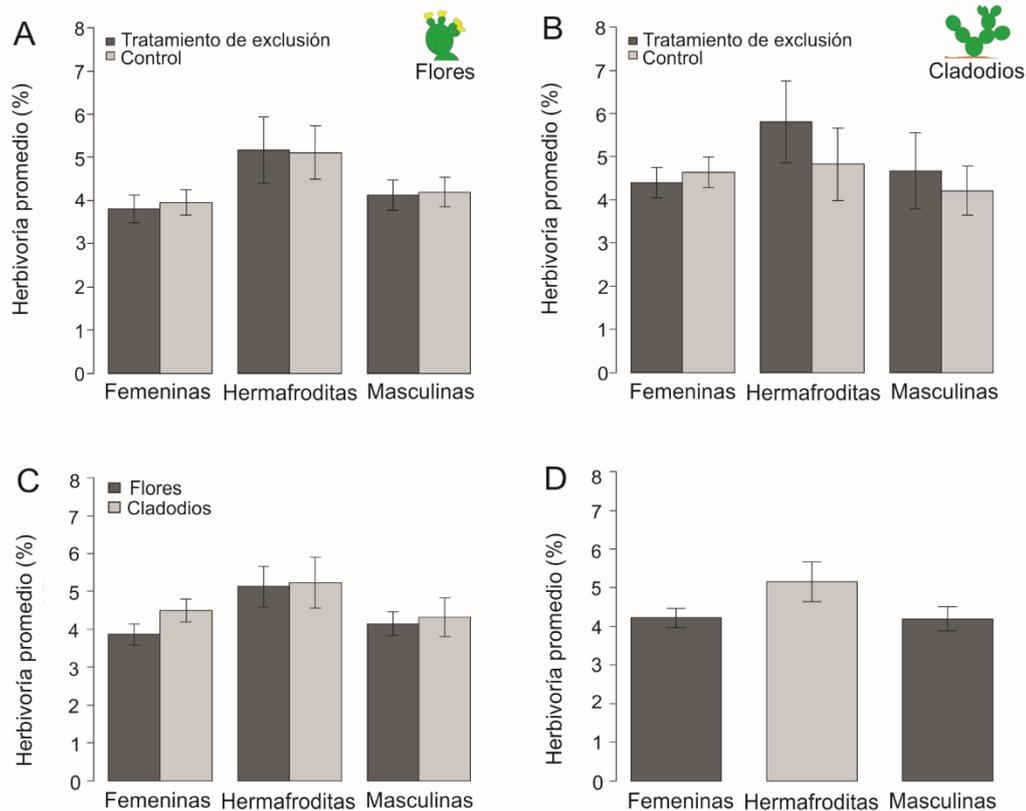
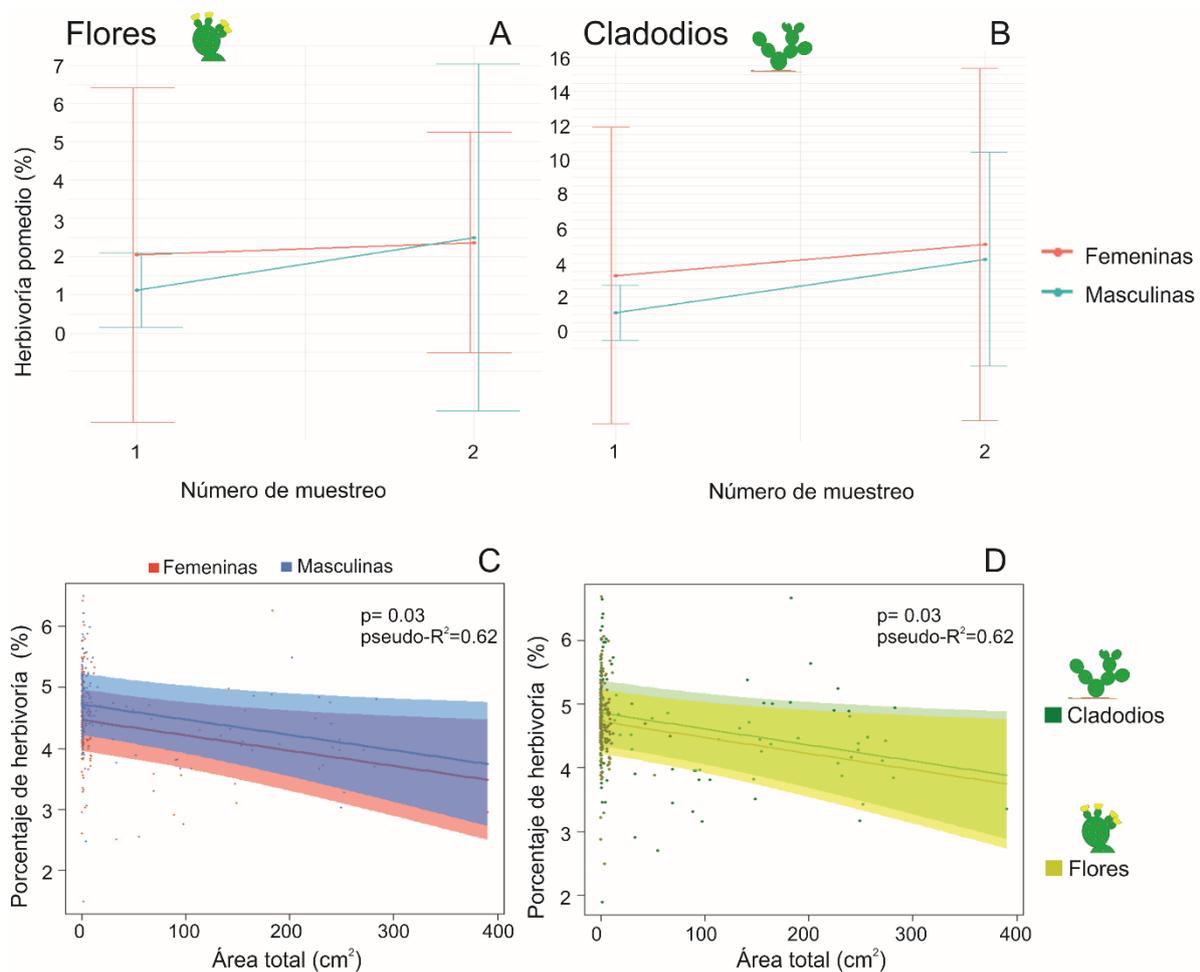


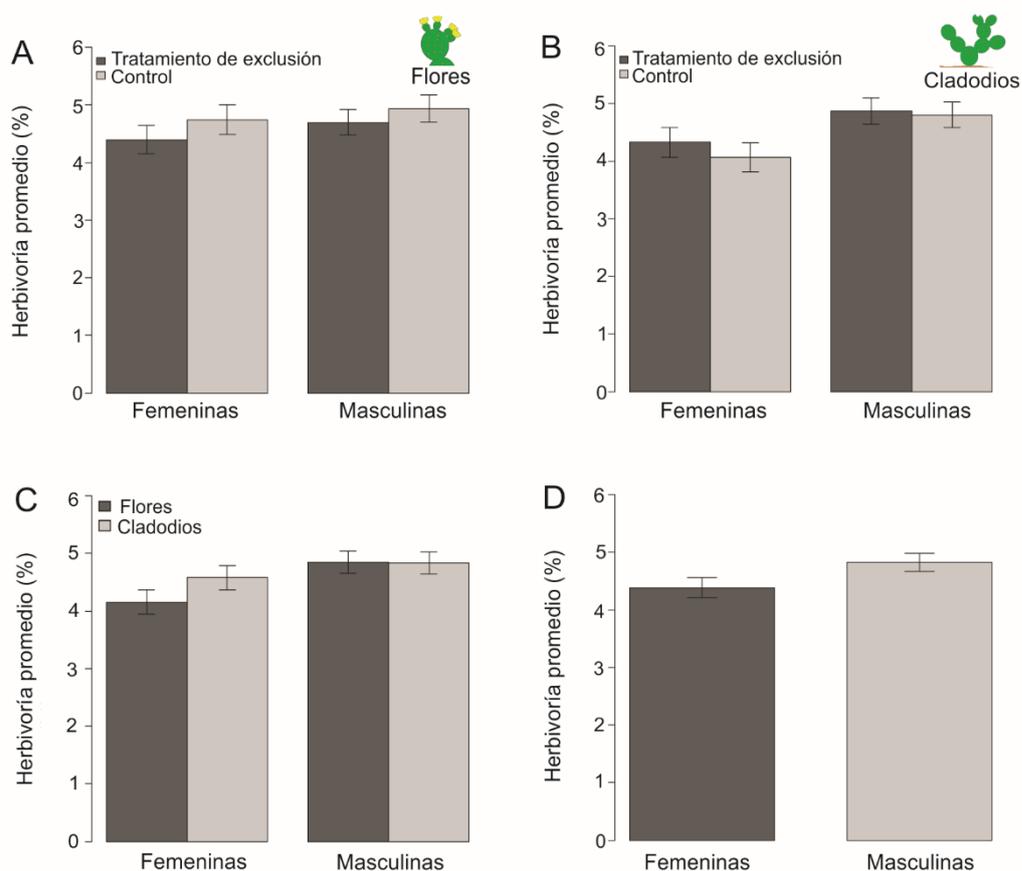
Figura 8. Herbivoría en plantas de *O. robusta* en la localidad de San Nicolás Tecoaco. Promedio de herbivoría en flores (A) y cladodios (B) registrada en las plantas bajo tratamiento de exclusión y control. Promedio de herbivoría en flores y cladodios (C) en las plantas de diferente sexo. Promedio de herbivoría de flores y cladodios en las plantas diferente sexo (D).

En la localidad de Cadereyta de Montes, se observó una tendencia similar a la reportada en San Nicolás Tecoaco: la herbivoría promedio de flores y cladodios en crecimiento aumenta ligeramente con el tiempo (Fig. 9 A y B). Además se encontró que la herbivoría fue menor cuando aumenta el tamaño de la estructura (flor/cladodio) (linear mixed-effects model:  $t=-2.20$ ,  $p<0.03$ ; Suplementos: Tabla 3S; Fig. 9 C y D); es decir, a medida que se van desarrollando las flores y cladodios, estos tuvieron menos herbivoría, o dejan de tener herbivoría.



*Figura 9.* Porcentaje de herbivoría a través del tiempo de muestreo en flores (A) y cladodios (B) de *O. robusta* en Cadereyta de Montes. Considerando desde la etapa de botón hasta fruto o cladodio maduro. El número de muestreo corresponde al intervalo de tiempo desde que inició el muestreo hasta que finalizó. Porcentaje de herbivoría en relación al área total de acuerdo al sexo de las plantas (C) y al tipo de estructura, flor y cladodio (D). Se muestra el valor de  $p$  de la variable área total y el valor pseudo- $R^2$  condicional del modelo.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de herbivoría de flores y cladodios con el tratamiento de exclusión y control en las plantas femeninas y masculinas (Fig. 10 A y B; Suplementos: Tabla 3S). No hubo diferencias en la herbivoría entre flores y cladodios de plantas masculinas, sólo en las plantas femeninas se encontró una tendencia de un mayor porcentaje de herbivoría en los cladodios que en las flores de su mismo sexo (contraste post-hoc:  $t = -1.84$ ,  $p = 0.08$ ; Fig. 10C). Además, se encontró una tendencia de que las plantas masculinas tuvieron mayor porcentaje de herbivoría total que las plantas femeninas (contraste post-hoc:  $t = -1.93$ ,  $p = 0.054$ ; Fig. 10D).



*Figura 10.* Herbivoría en plantas de *O. robusta* en la localidad de Cadereyta de Montes. Promedio de herbivoría en flores (A) y cladodios (B) registrado en las plantas bajo tratamiento de exclusión y control. Promedio de herbivoría en flores y cladodios (C) en las plantas de diferente sexo. Promedio de herbivoría total en las plantas diferente sexo (D).

Asimismo, a lo largo del día, diferentes especies de hormigas fueron atraídas a los nectarios extraflorales de las plantas, dando como resultado que se encontraran una o más especies de hormigas en el mismo individuo de *O. robusta* y que, en consecuencia, tuvieran diferentes porcentajes de herbivoría en las plantas con relación a las especies de hormigas asociadas (Suplementos: Tabla 4S; Fig. 11). En la localidad San Nicolás Tecoco se encontró que los cladodios de plantas visitadas por *Liometopum apiculatum* tuvieron mayor porcentaje de daño en comparación con las flores visitadas por la misma especie de hormiga (contraste post-hoc:  $t= 6.13$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 11A). Los cladodios y flores visitados por las especies *Camponotus andrei* y *Formica altipetens* tuvieron los porcentajes más altos de herbivoría (Fig. 11A). Además, las flores visitadas por *Liometopum apiculatum* tuvieron porcentajes más altos de herbivoría, seguidas de flores visitadas por *Camponotus atriceps*, una especie rara en la comunidad. Finalmente, las flores visitadas por *Formica altipetens* tuvieron menor herbivoría (Fig. 11A).

En promedio, las plantas visitadas por *Liometopum apiculatum* tuvieron 3.2% de herbivoría total, 3.4% por *Camponotus atriceps*, 7% por *Formica altipetens* y 4.6% por *Camponotus andrei*, mientras que en las plantas que fueron visitadas por dos especies de hormigas, la herbivoría depende de la identidad de las hormigas: con *Liometopum apiculatum* y *Formica altipetens* tuvieron 3.7% de herbivoría total, 3.8% en las plantas con *Liometopum apiculatum* y *Camponotus andrei*, 4% aquellas visitadas por *Liometopum apiculatum* y *Camponotus atriceps*, y 7.2% por *Camponotus andrei* y *Formica altipetens* (Fig. 11B). .

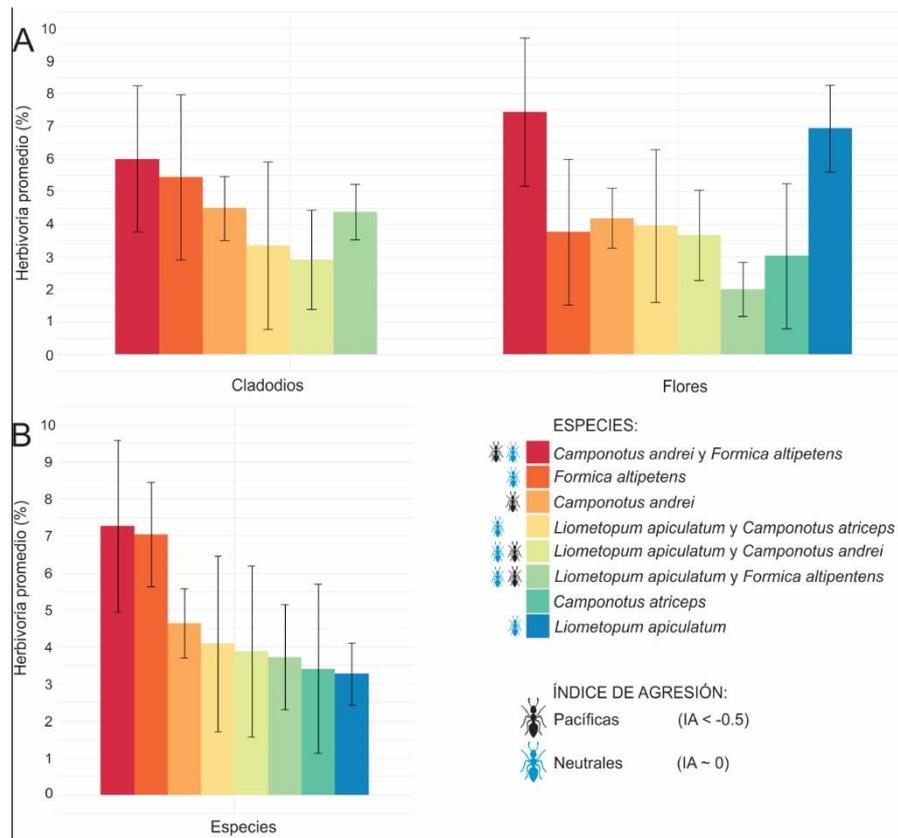


Figura 11. Herbivoría promedio en relación a las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de cladodios y flores en crecimiento de *O. robusta* en la localidad de San Nicolás Teacoaco (A). Herbivoría total promedio de las plantas de acuerdo a las especies de hormigas (B). Se muestra representado el índice de agresión para cada especie de hormiga. Las líneas en las barras indican la desviación estándar.

En la localidad Cadereyta de Montes se encontró que los cladodios y flores visitados por *Pseudomyrmex championi* tuvieron menor porcentaje de herbivoría que aquellos visitados por *Crematogaster* sp. (contraste post-hoc: cladodios:  $t = -3.57$ ,  $p = 0.03$ ; flores:  $t = -3.79$ ,  $p = 0.01$ ; Fig. 12A) y por *Liometopum apiculatum* (contraste post-hoc: cladodios:  $t = -3.56$ ,  $p = 0.03$ ; flores:  $t = -3.83$ ,  $p = 0.01$ ). En las flores visitadas por *Forelius pruinosus* se encontró mayor herbivoría que en los cladodios visitados por *P. championi* (contraste post-hoc: flores:  $t = 4.84$ ,  $p = 0.02$ ; Fig. 12A).

En general, las plantas que fueron visitadas por *Crematogaster* sp. mostraron porcentajes mayores de herbivoría que las plantas visitadas por *P. championi* (contraste post-hoc:  $t = -3.57$ ,  $p = 0.01$ ; Fig. 12B). De igual forma ocurrió con las plantas visitadas por *L. apiculatum*, que mostraron mayores porcentajes de daño por herbívoros que las visitadas por *P. championi* (contraste post-hoc:  $t = -3.56$ ,  $p = 0.01$ ; Fig. 12B).

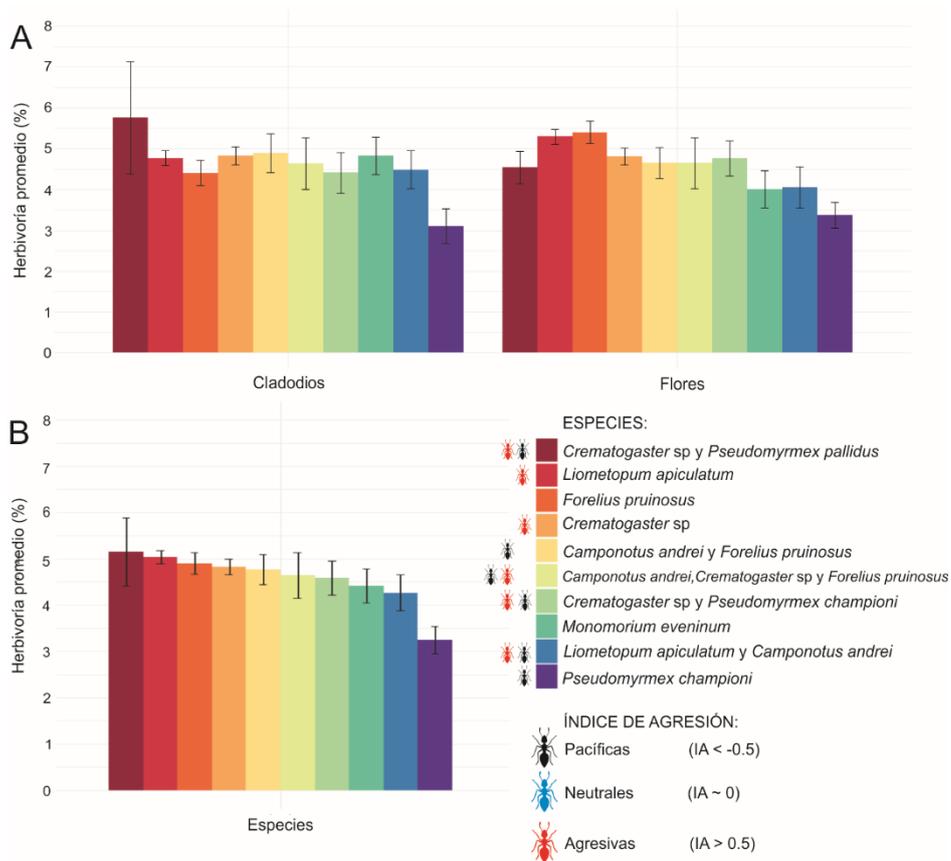
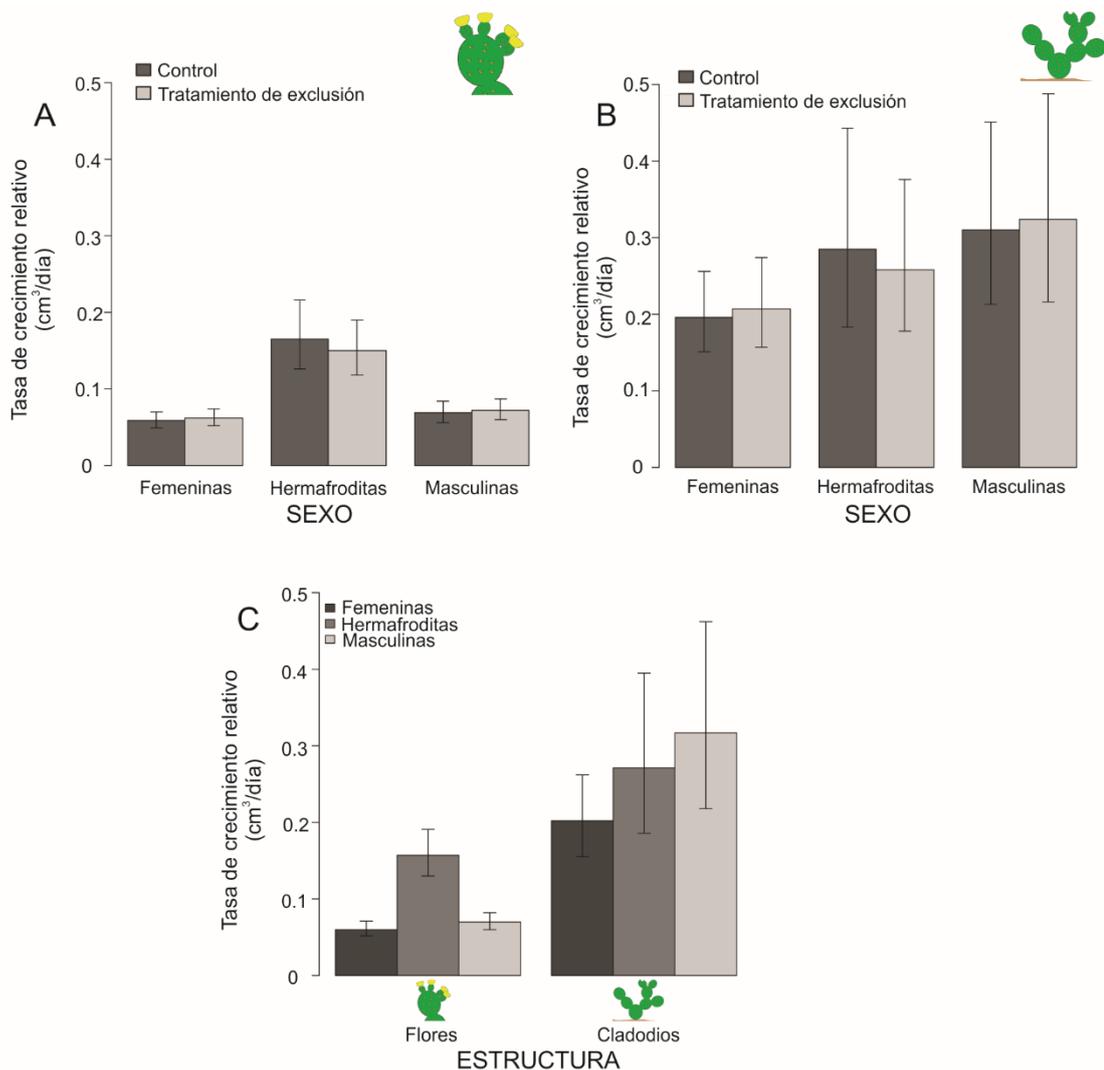


Figura 12. Herbivoría promedio en relación a las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de cladodios y flores en crecimiento de *O. robusta* en la localidad de Cadereyta de Montes (A). Herbivoría total promedio de las plantas de acuerdo a las especies de hormigas (B). Se muestra representado el índice de agresión para cada especie de hormiga. Las líneas en las barras indican la desviación estándar.

### Tasas de crecimiento relativo (TCR)

En San Nicolás Tecoco las flores femeninas crecen en promedio  $0.06 \text{ cm}^3/\text{día}$ , las flores hermafroditas  $0.15 \text{ cm}^3/\text{día}$  y las flores masculinas  $0.07 \text{ cm}^3/\text{día}$ ; mientras que los cladodios de plantas femeninas crecen  $0.2 \text{ cm}^3/\text{día}$ , los hermafroditas  $0.27 \text{ cm}^3/\text{día}$  y los masculinos  $0.31 \text{ cm}^3/\text{día}$ . No hubo diferencias en TCR entre el tratamiento de exclusión y el control en flores y cladodios de plantas de diferentes sexos (Suplementos: Tabla 5S; Fig. 13A y B). En general, las flores de plantas hermafroditas tuvieron TCR mayores que las femeninas (contraste post-hoc:  $Z = -4.6$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 13C) y las masculinas (contraste post-hoc:  $Z = 3.7$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 13C); sin embargo, no hubo diferencias significativas en las tasas de crecimiento relativo entre flores femeninas y masculinas.



*Figura 13.* Tasa de crecimiento relativo de flores y cladodios en San Nicolás Tecoaco. (A) Tasas de crecimiento relativo entre tratamiento de exclusión y control en flores. (B). Tasas de crecimiento relativo entre tratamiento de exclusión y control en cladodios. (C) Tasas de crecimiento relativo promedio de flores y cladodios entre individuos de diferente sexo.

Asimismo, las flores y los cladodios que crecieron más lento tuvieron porcentajes mayores de herbivoría (GLM:  $t = -3.7$ ,  $P < 0.001$ ; Suplementos: Tabla 5S; Fig. 14A). En general, en la localidad SNT los cladodios de *O. robusta* tuvieron TCR mayores que las flores (contraste post-hoc:  $Z = -4.2$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 14A). Además, las TCR disminuyeron cuando aumentó el número de cladodios creciendo en el mismo cladodio parental (GLM:  $t = -2.8$ ,  $P < 0.01$ ; Suplementos: Tabla 5S; Fig. 14C).

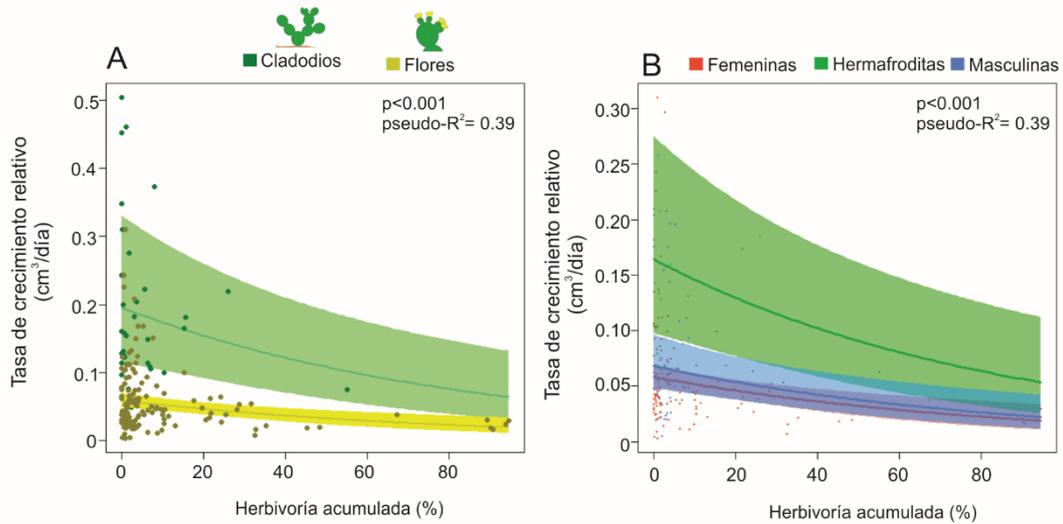
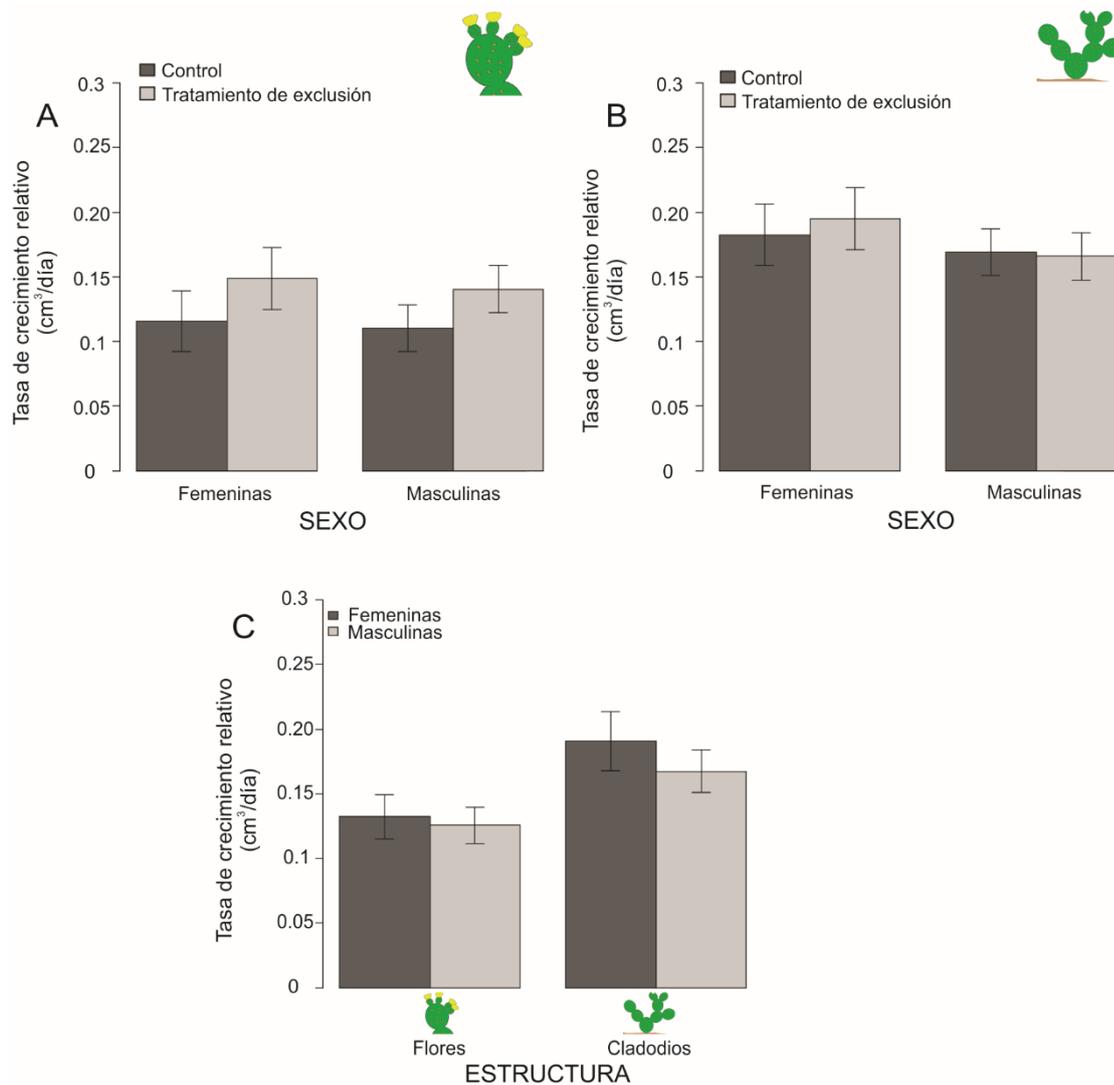


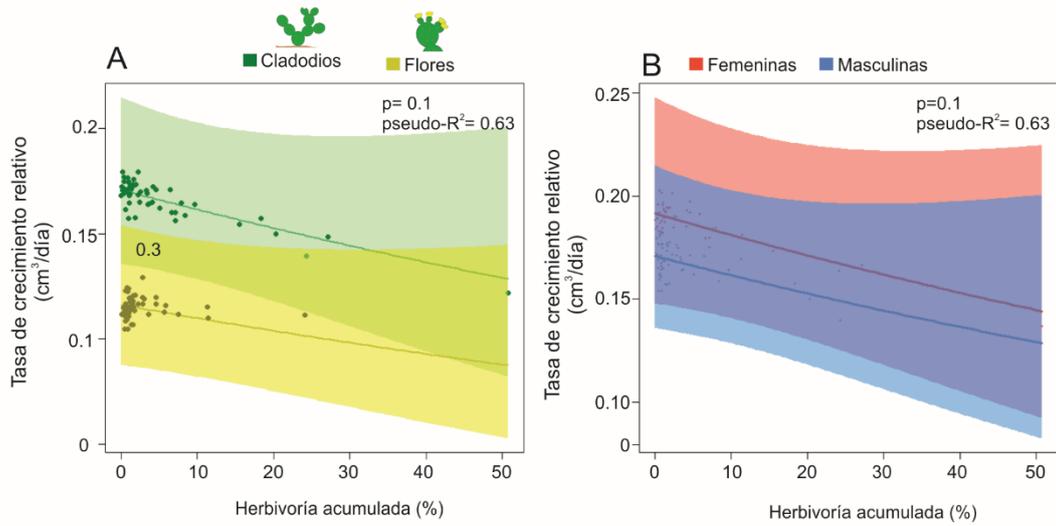
Figura 14. Regresión parcial de las tasas de crecimiento relativo y la herbivoría acumulada en (A) flores y cladodios en crecimiento de plantas de *O. robusta* en San Nicolás Teacoaco. (B) Tasas de crecimiento y herbivoría en plantas de diferentes sexos. Se incluye el valor de pseudo-R<sup>2</sup> del modelo y p de la variable estimada.

En Cadereyta de Montes no hubo diferencias en la TCR de flores y cladodios en *O. robusta* de plantas de diferentes sexos con tratamiento de exclusión y control (Suplementos: Tabla 5S; Fig. 15A y B). Los cladodios de plantas femeninas tuvieron TCR mayores que sus flores (contraste post-hoc:  $Z = -4.4$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 15C); del mismo modo, los cladodios de plantas masculinas tuvieron TCR mayores que las flores masculinas (contraste post-hoc:  $Z = -3.6$ ,  $P < 0.001$ ; Fig. 15C). No hubo diferencias significativas en las tasas de crecimiento relativo de flores y cladodios entre plantas femeninas y masculinas. En promedio las flores femeninas crecen  $0.13 \text{ cm}^3/\text{día}$  y las flores masculinas  $0.12 \text{ cm}^3/\text{día}$ , mientras que los cladodios de plantas femeninas crecen  $0.19 \text{ cm}^3/\text{día}$  y las masculinas  $0.16 \text{ cm}^3/\text{día}$ .



*Figura 15.* Tasa de crecimiento relativo de flores y cladodios en Cadereyta de Montes. (A) Tasas de crecimiento relativo entre tratamientos en flores. (B). Tasas de crecimiento relativo entre tratamientos en cladodios. (C) Tasas de crecimiento relativo de flores y cladodios entre individuos de diferente sexo.

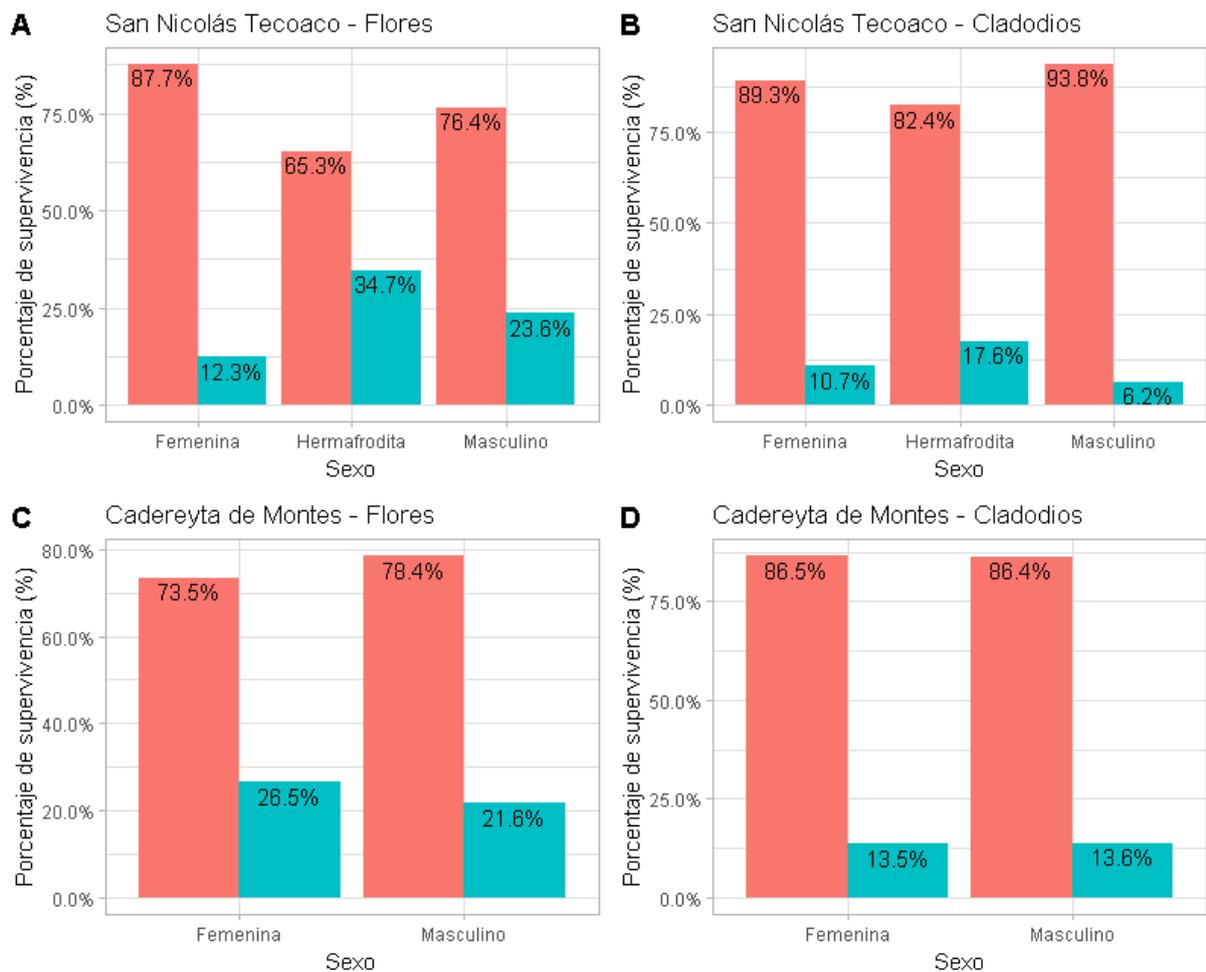
Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas entre las TCR y la herbivoría acumulada, el número de cladodios y el número de flores entre las plantas de diferentes sexos en Cadereyta de Montes (Fig. 16 Ay B).



*Figura 16.* Regresión parcial de las tasas de crecimiento relativo y la herbivoría acumulada en (A) flores y cladodios en crecimiento de plantas de *O. robusta* en Cadereyta de Montes. (B) Tasas de crecimiento y herbivoría en plantas de diferentes sexos. Se incluye el valor de pseudo-R<sup>2</sup> del modelo y p de la variable estimada.

### Supervivencia de flores y cladodios

En general, el número promedio de flores y cladodios de *O. robusta* que fueron abortados es alto. En San Nicolás Teacoaco, las flores y cladodios de plantas hermafroditas fueron más abortadas que los otros sexos (Fig. 17 A y B). Mientras que en Cadereyta de Montes el porcentaje de flores femeninas abortadas fue mayor que las flores masculinas. Sin embargo el porcentaje de cladodios abortados fue similar en plantas masculinas y femeninas (Fig. 17 C y D).

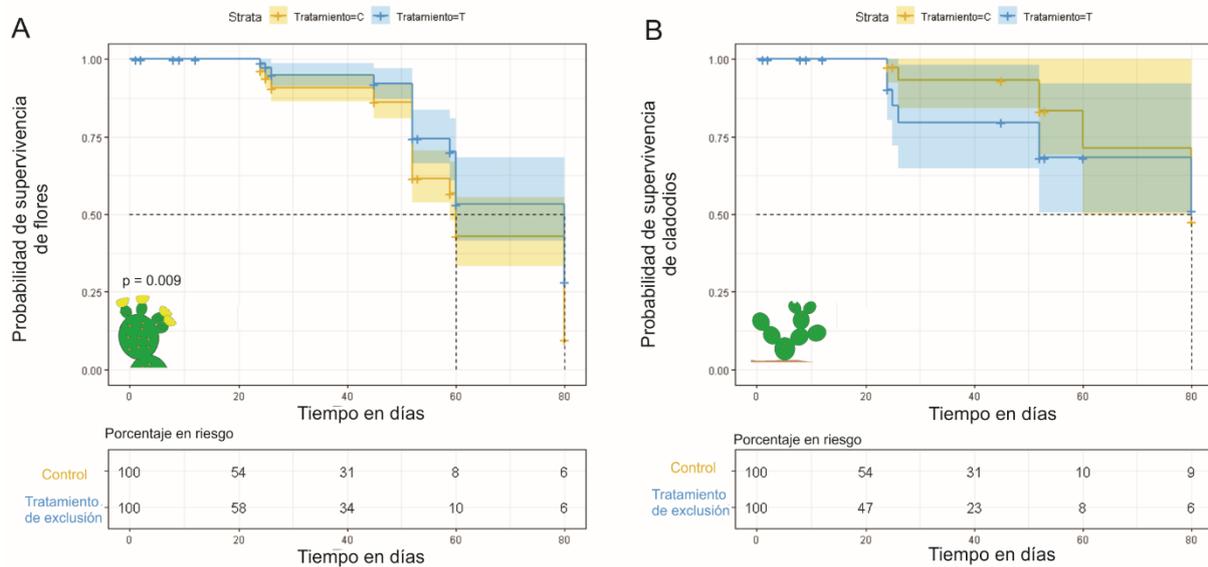


**Figura 17.** Porcentaje de supervivencia de flores y cladodios entre los sexos de *O. robusta* durante la temporada de crecimiento en las localidades de San Nicolás Tecoco (SNT) y Cadereyta de Montes (CAD). (A) Porcentaje de aborto en flores en SNT. (B) Porcentaje de aborto en cladodios en SNT. (C) Porcentaje de aborto en flores en CAD. (D) Porcentaje de aborto en flores en CAD. Las barras rosas representan las estructuras que sobrevivieron, y las azules, las que fueron abortadas.

El análisis de supervivencia Kaplan-Meier en las plantas de San Nicolás Tecoco muestra que la probabilidad de supervivencia de las flores durante los primeros 30 días de crecimiento fue de  $0.92 \pm SE 0.01$ , bajando a  $0.47 \pm SE 0.04$  a los 60 días y  $0.17 \pm SE 0.03$  a los 80 días. Mientras que para los cladodios la probabilidad de supervivencia durante los primeros 30 días de crecimiento fue de  $0.87 \pm SE 0.04$ , bajando a  $0.70 \pm SE 0.08$  a los 60 días y  $0.49 \pm SE 0.1$  a los 80 días.

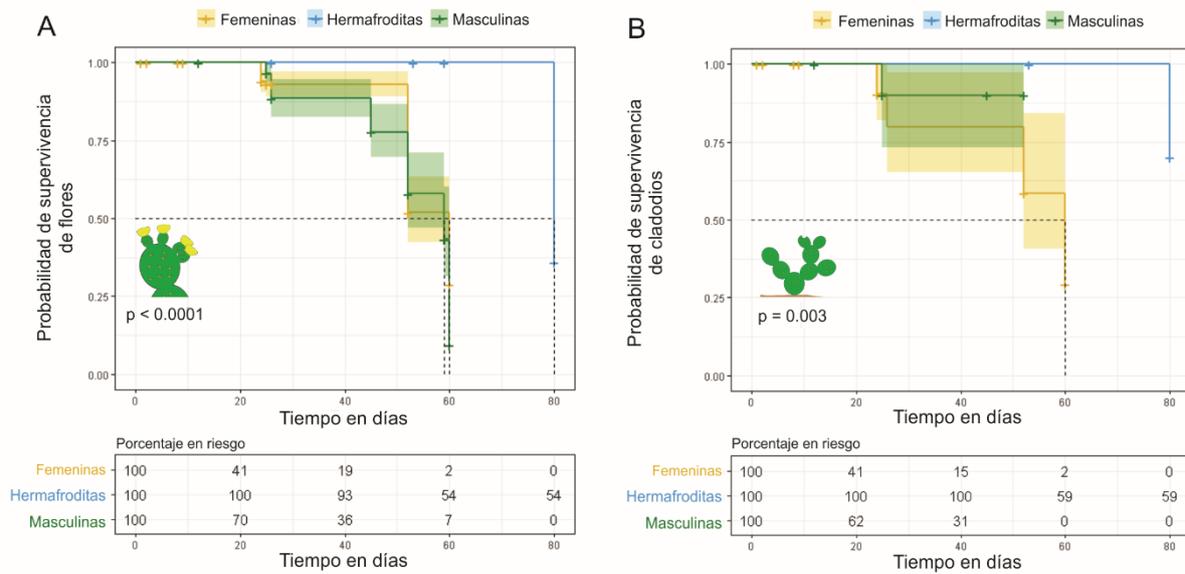
Hubo diferencias significativas en la supervivencia de flores entre tratamientos, siendo mayor en flores con hormigas (no excluidas) que con tratamiento de exclusión (log rank test:

chi-cuadrada = 6.9, d.f. = 1,  $p = 0.009$ ; Fig. 18A). Sin embargo los cladodios no presentaron diferencias en la supervivencia entre los tratamientos con y sin hormigas (log rank test: chi-cuadrada = 0.8, d.f. = 1,  $p = 0.4$ ; Fig. 18A).



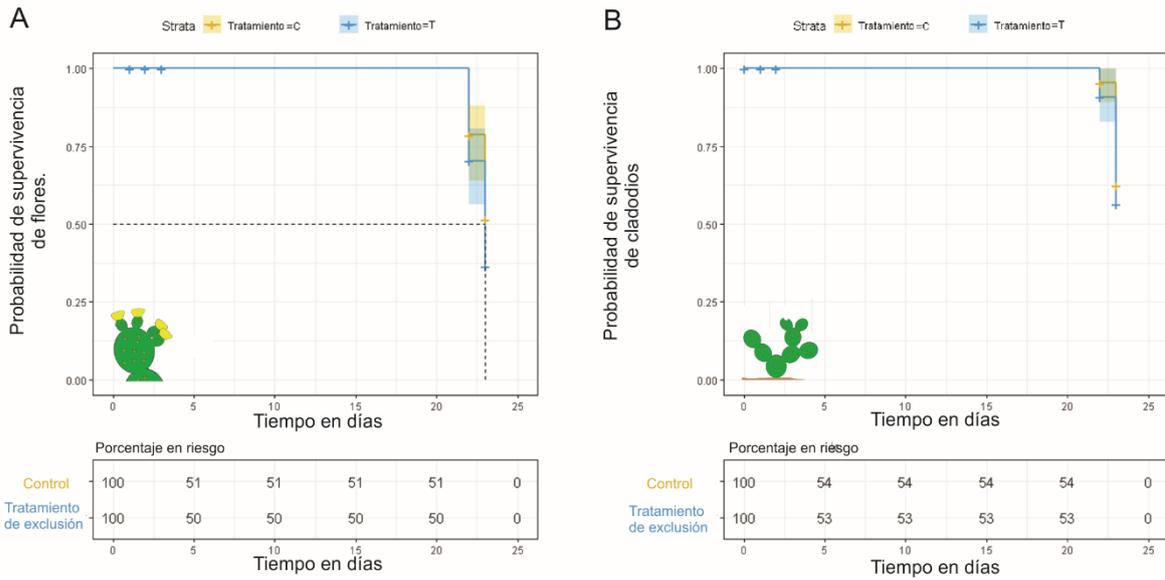
**Figura 18.** Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento bajo tratamiento de exclusión (T) y control (C) registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta* en San Nicolás Teacoaco. La tabla de riesgo muestra el porcentaje de flores o cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El valor de  $p$  es el nivel de significancia de la prueba log-rank entre las curvas de supervivencia entre tratamientos. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.

Además se encontraron diferencias en la supervivencia de flores y cladodios entre los diferentes sexos de *O. robusta*. Las flores y los cladodios en crecimiento de plantas hermafroditas tuvieron una mayor probabilidad de supervivencia que las provenientes de plantas masculinas y femeninas (log rank test: flores: chi-cuadrada = 78.3, d.f. = 2,  $p < 0.001$ ; cladodios: chi-cuadrada = 11.8, d.f. = 2,  $p = 0.003$ ; Fig. 19). La probabilidad de supervivencia disminuye a la mitad a los 60 días para flores masculinas y femeninas. En general, no hubo diferencias significativas en la supervivencia entre flores y cladodios, sin embargo los cladodios mostraron ligeramente mayor probabilidad de supervivencia que las flores (log rank test: chi-cuadrada = 3.6, d.f. = 1,  $p = 0.054$ )



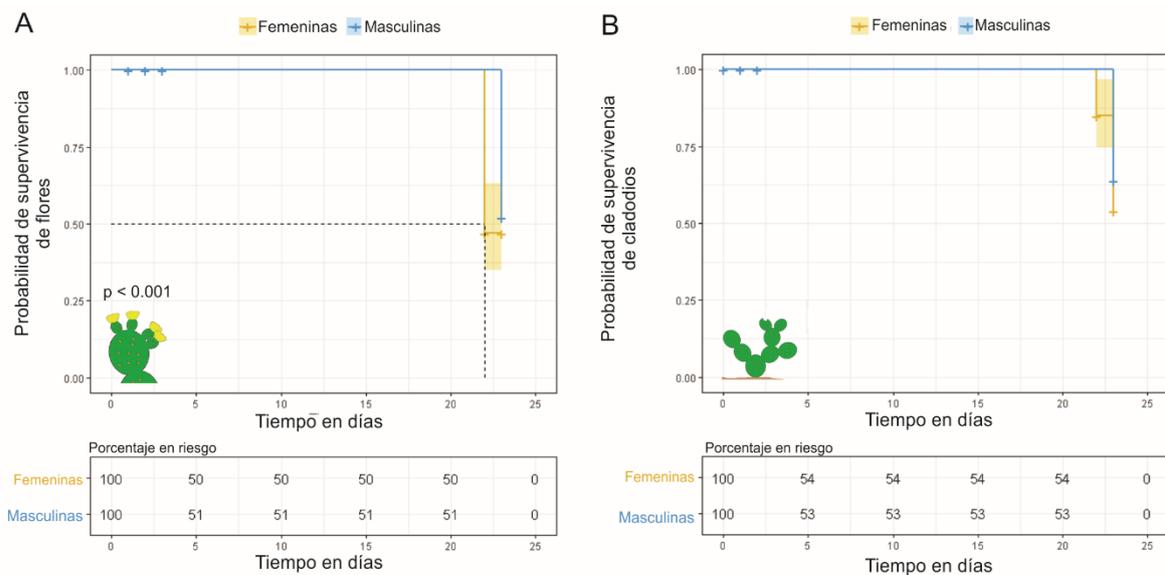
*Figura 19.* Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento de diferentes sexos registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta* en San Nicolás Tecoaco. La tabla de riesgo muestra el porcentaje de flores o cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El valor de  $p$  es el nivel de significancia de la prueba log-rank entre las curvas de supervivencia entre los diferentes sexos. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.

En Cadereyta de Montes la probabilidad de supervivencia de las flores durante los primeros 22 días de crecimiento fue de  $0.74 \pm SE 0.04$ . En esta localidad no se encontraron diferencias en la supervivencia de flores y cladodios con tratamiento de excusión y control (log rank test: flores: chi-cuadrada = 2, d.f. = 1,  $p = 0.2$ ; cladodios: chi-cuadrada = 0.4, d.f. = 1,  $p = 0.5$ ; Fig. 20).



**Figura 20.** Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento bajo tratamiento de exclusión y control registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta* en Cadereyta de Montes. La tabla de riesgo muestra el número de flores o cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.

Las flores de plantas masculinas tuvieron mayor probabilidad de supervivencia que aquellas provenientes de plantas femeninas (log rank test: chi-cuadrada = 15.3, d.f. = 1,  $p < 0.001$ ; Fig. 21A). No hubo diferencias en la probabilidad de supervivencia de cladodios entre los sexos de esta localidad (log rank test: chi-cuadrada = 3, d.f. = 1,  $p = 0.08$ ; Fig. 21B).



**Figura 21.** Curvas de supervivencia Kaplan-Meier de flores (A) y cladodios (B) en crecimiento entre los diferentes sexos registrados en el tiempo (días) en plantas de *O. robusta*

en Cadereyta de Montes. La tabla de riesgo muestra el porcentaje de flores o cladodios que se tenía registro de estar vivos durante el estudio. El área sombreada representa el intervalo de confianza al 95%.

## DISCUSIÓN

En este estudio se trató de probar si las diferentes especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales de botones florales y cladodios en crecimiento de *Opuntia robusta* defienden a la planta contra los insectos herbívoros. Según lo reportado por Oliveira et al. (1999) las hormigas que se alimentan del néctar extrafloral de *Opuntia stricta* disminuyen la herbivoría de los botones florales en desarrollo, y por lo tanto el número de frutos en la planta se incrementa. De igual forma en *Opuntia acanthocarpa* las hormigas visitantes de los nectarios extraflorales disminuyeron el tiempo que los insectos herbívoros pasan en la planta, y el número de hormigas se relacionó con la cantidad de néctar producido (Pickett y Clark, 1979).

Contrario a lo esperado, las flores y cladodios en crecimiento de *O. robusta* con tratamiento de exclusión de hormigas no mostraron diferencias significativas en el porcentaje de herbivoría en comparación con el tratamiento control entre los diferentes sexos. Estos resultados fueron similares en ambas localidades de estudio. En general los resultados concuerdan con lo reportado por Alma et al. (2015) en *Opuntia sulphurea*, donde las diferentes especies de hormigas asociadas no defienden a la planta, ni disminuyen la herbivoría. No obstante, se observó una tendencia que apunta a que la presencia de las hormigas puede ser benéfica para las flores y cladodios, aumentando su probabilidad de supervivencia, principalmente en las flores, pues en términos de adecuación y según la TDO, representan una estructura valiosa para las plantas. Sin embargo, este puede ser un efecto temporal, debido a que la actividad de las hormigas en las plantas puede cambiar por diversos factores, como la temperatura ambiental o la calidad de la recompensa. Además, el beneficio antiherbivoría de la asociación con hormigas parece ser más evidente a mediano plazo; ya que en un estudio a 8 meses realizado por Grangier et al. (2008) analizando la interacción entre la planta *Hirtella physophora* y hormigas *Allomerus decemarticulatus* registró que la herbivoría disminuyó, y se encontró que las hormigas defienden a la planta sólo durante las fases juveniles de crecimiento de las hojas. Hubo una tendencia a disminuir la herbivoría con el paso del tiempo y conforme las estructuras iban creciendo. Se debe tener en consideración que el porcentaje de daño fue bajo, además es importante el papel de las sustancias defensivas en los experimentos de exclusión, pues es probable que la herbivoría genere respuestas de resistencia en las estructuras donde fue aplicado el tratamiento de exclusión de hormigas, que disminuyan el consumo por parte de los herbívoros y que atenúen las diferencias entre los tratamientos (Frederickson et al., 2013).

Pickett y Clark (1979) y Oliveira et al. (1999) registraron en otras cactáceas resultados similares a los del presente estudio: el ensamble de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales es poco efectivo para ahuyentar a los hemípteros herbívoros. Por otro lado, los resultados sugieren que la intensidad de la herbivoría en las plantas es dependiente de la abundancia y composición de especies de hormigas que visitan los nectarios extraflorales, ya que el número de hormigas en la planta y la variación en su conducta agresiva juega un papel preponderante en la eficiencia defensiva. Las plantas que fueron visitadas por especies de hormigas pacíficas y agresivas, como *Pseudomyrmex pallidus* y *Crematogaster* sp. respectivamente, tuvieron mayores porcentajes de daño por herbivoría. Las especies del género *Pseudomyrmex* son conocidas por presentar colonias pequeñas y conductas de forrajeo solitario, lo que sugiere que no son efectivas defendiendo a las plantas contra los herbívoros (Wetterer, 2010). Además, se conoce que las plantas que poseen nectarios extraflorales interactúan con múltiples especies de hormigas, y por consiguiente los beneficios varían de acuerdo con la calidad defensiva de la hormiga, como el nivel reclutamiento y agresividad (Rudgers y Gardener, 2004). Por ejemplo, Miller (2007) encontró que los nectarios extraflorales de *Opuntia imbricata* son visitados por distintas especies de hormigas, siendo *Liometopum apiculatum* más efectiva defendiendo a la planta contra los herbívoros en comparación con *Crematogaster* sp. Del mismo modo, en el presente estudio se encontró que en SNT, las plantas visitadas por *Liometopum apiculatum* tuvieron menor porcentaje de herbivoría que cuando estuvieron presentes el resto de las especies; no obstante en la localidad de CAD esta especie tuvo poca eficiencia contra los herbívoros. Lo anterior sugiere que la eficacia defensiva puede variar entre localidades, y ser el resultado de diversos factores, como la abundancia y la condición de la colonia de la hormiga, la composición y abundancia de los herbívoros, así como las características de las plantas (vigor, néctar secretado), entre otros. Esto es un aspecto que merece investigación futura.

Además, se encontró que la especie *Crematogaster* sp. es poco efectiva contra los herbívoros (Tabla 2) a pesar de que es abundante en las plantas y suele ser una especie muy agresiva. Es probable que el tamaño del cuerpo de *Crematogaster* sp. sea un limitante en su eficacia contra los herbívoros presentes durante esta temporada, pues se sabe que el tamaño del cuerpo de las hormigas y la densidad de las colonias son factores importantes que influyen en la actividad defensiva (Pringle et al., 2012, Rico-Gray y Thien, 1989). Por ejemplo, las plantas de *Schomburgkia tibicinis* visitadas por especies de hormigas pequeñas fueron más consumidas por herbívoros, en contraste con aquellas visitadas por especies de hormigas más grandes (Rico-

Gray y Thien, 1989). Entre las especies de hormigas de mayor talla registradas en este estudio, *Camponotus atriceps* resultó ser eficiente, pues las plantas visitadas por esta tuvieron menor herbivoría. Las hormigas *C. atriceps* son una especie que rara vez forrajea de día, pero que se ha reportado abundante y agresivamente defendiendo a las plantas con nectarios extraflorales en los ambientes áridos (Cuautle et al., 2005, Dáttilo et al., 2015, Schoereder et al., 2010). Por otro lado, especies de hormigas de tamaño mediano como *Formica altipetens* resultaron ser poco efectivas contra insectos herbívoros en el presente trabajo. Algunos estudios en otras especies del género *Formica* han demostrado su ineficiencia frente a los insectos herbívoros (Beckmann Jr. y Stucky, 1981, Heads y Lawton, 1985).

Por otro lado, se ha reportado que las condiciones ambientales determinan la conducta de forrajeo de las hormigas en los nectarios extraflorales de *Opuntia stricta* (Oliveira et al., 1999). Este patrón fue observado en este estudio, donde el número de hormigas alimentándose en los nectarios extraflorales está relacionado con la temperatura y la humedad relativa ambiental. Es probable que las especies de hormigas dominantes sean más activas en temperaturas moderadas, mientras que especies menos agresivas se limiten a temperaturas más extremas, cuando los recursos están disponibles (Bestelmeyer, 2000).

Algunos estudios han registrado que existe un recambio de especies asociadas a los nectarios extraflorales a diferentes horas del día en ambientes semiáridos (Dáttilo et al., 2014, Anjos et al., 2017, Oliveira et al., 1999). Sin embargo, en este estudio no se tuvo registro del recambio de las especies a lo largo del día, pero se registró el recambio de especies entre las diferentes fechas del muestreo. En general, una sola especie de hormiga fue registrada en los nectarios extraflorales, aunque en algunas ocasiones se pudieron registrar dos o más especies interactuando en diferentes momentos sobre la misma planta. Es posible que la variación en la composición y la concentración del néctar extrafloral ofrecido por las plantas a lo largo del tiempo, promueva la coexistencia de las especies de hormigas asociadas a los nectarios en la misma planta, y en consecuencia modifica el efecto antiherbivoría (Blüthgen et al., 2004, Wilder y Eubanks, 2010, González-Teuber et al., 2012, Heil et al., 2000). Anjos et al. (2017) encontraron que durante el día el néctar extrafloral de *Bionia coriacea* es más concentrado, presentándose unas pocas especies de hormigas dominantes, mientras que en la noche el néctar poco concentrado favorecía la coexistencia de un mayor número de especies de hormigas. No obstante, en el presente estudio, debido a las características de producción del néctar extrafloral de *O. robusta*, la muestra del contenido de azúcares en el néctar fue baja, y posiblemente por

ello no se pudo registrar diferencias en las concentraciones de néctar extrafloral, aunque fueron ligeramente mayores en las plantas femeninas que en masculinas.

Por otra parte, aparentemente el daño en las estructuras juveniles puede resultar en altos porcentajes de aborto (~ 80-81%) (Bentley, 1977), principalmente en cactáceas, donde un alto porcentaje de mortalidad es causado por escarabajos del género *Moneilema* que remueve y consume gran parte del tejido vegetal (Kass, 2001). En el presente estudio la presencia de este herbívoro y el daño que inflige a las flores y cladodios fue elevado en ambas localidades de estudio (Fig. 6), lo cual sugiere que los altos porcentajes de aborto en las estructuras juveniles pueden deberse al daño por este herbívoro. Aunado a la herbivoría, la mortandad de estas estructuras también puede deberse a otros factores y su interacción, como el estado de salud de la planta, el sexo y la asignación de recursos, donde las plantas reparten sus recursos disponibles con relación al estado ontogénico (Boege y Marquis, 2005, Obeso, 2002).

Los resultados de este estudio no concuerdan con la premisa de la teoría de defensa óptima, en la que las partes juveniles deberían estar mejor defendidas contra la herbivoría (McKey, 1979, Zangerl y Bazzaz, 1992), en este caso mediante la defensa indirecta por hormigas asociadas con los nectarios extraflorales. En ambas localidades las flores y cladodios juveniles más pequeños tuvieron el mayor número de hormigas, lo que sugiere que durante esa etapa la secreción de néctar o sus características puedan ser más atractivas para las hormigas como recompensa. Sin embargo, los elevados niveles de herbivoría en estas fases de desarrollo sugieren que no todas las hormigas asociadas a los nectarios extraflorales son efectivas defendiendo a la planta, a pesar de ser recompensadas con néctar extrafloral. Por otro lado, los resultados se ajustan con otra predicción de la TDO, en que no todas las partes de la planta serán igualmente defendidas, siendo las estructuras reproductivas mejor defendidas que las vegetativas (McKey, 1979, Zangerl y Bazzaz, 1992). En este estudio se encontró que los cladodios fueron más consumidos por los herbívoros que las flores entre los diferentes sexos de *O. robusta*.

Según la hipótesis de disponibilidad de recursos de Coley et al. (1985), la selección natural favorecerá a las plantas con crecimiento lento con mayores niveles de defensa. Sin embargo, en este trabajo se encontró una tendencia diferente a esta hipótesis debido a que las flores y cladodios con tasas de crecimiento lento se vieron más afectadas por la herbivoría que aquellas con crecimiento rápido. Si bien, estas observaciones sugieren un patrón interesante de limitación de recursos; la hipótesis de Coley (1985) hace referencia a las plantas en general, no

sólo a partes específicas de estas, así que los resultados de este estudio muestran una línea de investigación que requiere experimentos adicionales para entender el papel y el costo de las diferentes defensas desplegadas por las plantas, como el néctar extrafloral o sustancias defensivas, y su relación con la herbivoría y el crecimiento en *O. robusta*. Además se encontró que las tasas de crecimiento disminuyeron cuando aumentó el número de cladodios juveniles creciendo en el mismo cladodio parental que los sostiene, lo cual nos podría indicar un mayor costo energético para el desarrollo de estas estructuras y los nectarios extraflorales.

En ambas localidades los cladodios tuvieron tasas de crecimiento mayores que las flores de su mismo sexo, similar a lo registrado por Inglese et al. (1997) en *Opuntia ficus-indica*. De acuerdo con lo reportado por Nieddu y Spano (1992), los cladodios en crecimiento de *Opuntia ficus-indica* compiten por los recursos disponibles con las flores en sus diferentes estadios de desarrollo, por lo cual los cladodios presentan tasas de crecimiento mayores que los botones flores, y posteriormente cuando la flor ha sido polinizada, los frutos resultantes aumentan sus TCR y disminuyen las de cladodios. Esto puede explicarse como un costo asociado a la reproducción, debido a que para las plantas es más barato producir el tejido vegetativo que reproductivo (McKey, 1979, Zangerl y Bazzaz, 1992), y aunque la inversión en tejido vegetativo limita temporalmente el potencial reproductivo de la planta, los beneficios a mediano plazo por ejemplo en crecimiento y supervivencia de los frutos, podrían compensar la inversión de recursos en estas estructuras (La Mantia et al., 1997). Otra evidencia que apoya esta idea, es que en general en *O. robusta* de ambas localidades los cladodios de plantas femeninas presentaron mayor porcentaje de herbivoría que las flores, lo cual sugiere que la TDO es concordante con que las estructuras reproductivas en crecimiento son mejor defendidas que las vegetativas.

Se sabe que las plantas pueden presentar variaciones interanuales en el crecimiento, fecundidad y supervivencia, y que dichas diferencias dependen en gran medida de las condiciones ambientales y estadios de la planta en el momento en que ocurren (Rees et al., 2006, Miller et al., 2006). Especialmente en el género *Opuntia*, en que las plantas pueden alternar la producción de flores y cladodios entre las temporadas de un año a otro (Bowers, 1996), por esta razón no es extraño encontrar patrones diferentes de floración o crecimiento entre ambas localidades. En ambas localidades de este estudio la probabilidad de supervivencia de los cladodios en crecimiento fue mayor que la de flores. Posiblemente las condiciones ambientales y disponibilidad de recursos durante el muestreo fueron desfavorables, por lo que las plantas prefirieron invertir en crecimiento vegetativo y de esta forma aumentar su capacidad

fotosintética para la reproducción en temporadas posteriores. Además, en este trabajo en la localidad de SNT se encontró que los cladodios provenientes de plantas hermafroditas tuvieron mayor probabilidad de supervivencia que aquellos de plantas femeninas y masculinas, mientras que en la localidad CAD fueron las plantas masculinas las que tuvieron mayor probabilidad sobre las femeninas. Estos resultados son diferentes a lo reportado por del Castillo y Trujillo-Argueta (2018), en que los cladodios de plantas femeninas, tuvieron mayor probabilidad de supervivencia que cladodios hermafroditas y los masculinos tuvieron valores intermedios entre estos dos sexos.

Además, se sabe que en poblaciones sexualmente dimórficas y trimórficas, los diferentes morfos (hermafroditas, masculinas y femeninas) enfrentan diferentes presiones de selección que llevan a que cada sexo asigne diferencialmente sus recursos entre crecimiento, supervivencia, reproducción y defensa (Delph, 1999, Cornelissen y Stiling, 2005, Obeso, 2002). En el presente estudio las flores y cladodios juveniles de plantas hermafroditas mostraron una tendencia a tener mayor herbivoría que las de las plantas masculinas y femeninas, a pesar de que las plantas hermafroditas tienen niveles de defensa superiores, como un mayor número de espinas por areola y más sustancias defensivas que las plantas femeninas (Janczur et al., 2014). Una posible explicación es que, aunque las defensas desplegadas por las plantas hermafroditas sean mayores, los insectos herbívoros han desarrollado mecanismos físicos y fisiológicos para resistirlas o evadirlas, o conductuales para evadir a las hormigas (Torres-Castillo et al., 2015, Heads y Lawton, 1985, Oliveira y Freitas, 2004). En contraparte, los resultados muestran que aparentemente las plantas hermafroditas han respondido ante la herbivoría aumentando las TCR y de esta manera disminuyen el tiempo que las estructuras juveniles están expuestas al consumo por insectos herbívoros, mientras que en Cadereyta de Montes las plantas masculinas presentaron mayor herbivoría que las plantas femeninas a pesar de que tuvieron mayor número de hormigas. Esto sugiere que posiblemente las plantas masculinas invierten menos recursos en defensas (v.gr., sustancias defensivas) (Ågren et al., 1999, Cornelissen y Stiling, 2005, Abdala-Roberts et al., 2016), o bien que las especies de hormigas encontradas en plantas masculinas, como *Crematogaster* sp., a pesar de ser numerosas no son efectivas defendiendo.

A pesar que en ambientes poco productivos los individuos femeninos de algunas familias de plantas tienen un mejor desempeño que los hermafroditas (Poot, 1997). Los resultados muestran que en la población trioica de San Nicolás Tecoaco, las flores de plantas hermafroditas tuvieron TCR mayores que las flores masculinas y femeninas. Esto puede deberse a un ajuste fisiológico para igualar el desfase temporal de la floración y favorecer con la polinización

cruzada, ya que en esta población las plantas femeninas y masculinas son las primeras en florecer, y al final las hermafroditas.

En contraste en la población de Cadereyta de Montes, una población dioica, los resultados se ajustaron a lo reportado por del Castillo (1986): las flores y los cladodios masculinos tuvieron mayor probabilidad de supervivencia que aquellos de plantas femeninas. Es probable que dichas diferencias se deban a la capacidad de las plantas para optimizar sus recursos, también a diferencias en los nutrientes disponibles en el suelo a nivel de microambiente, por ejemplo en un estudio preliminar en esta localidad se encontró que el suelo de las plantas masculinas tuvo mayores concentraciones de fosforo y nitrógeno que el de plantas femeninas (Martínez-Estrella & Janczur, datos no publicados). De igual forma, en esta localidad se encontró que los cladodios de plantas masculinas tuvieron TCR mayores que las flores de su mismo sexo. Al haber más recursos disponibles es probable que las plantas masculinas inviertan menos recursos en reproducción que las femeninas (Obeso, 2002), y como consecuencia pueden crecer más rápido. Además se sabe que las plantas femeninas al invertir más recursos en reproducción expresan costos asociados que se ven reflejados por ejemplo, en tasas de crecimiento menores (Cipollini y Whigham, 1994), floración tardía (Thomas y LaFrankie, 1993) y reducción en la supervivencia (Allen y Antos, 1993).

Como conclusión podemos decir que este estudio es uno de los primeros en abordar la función defensiva de los nectarios extraflorales en relación al sexo de las plantas. Además que la hipótesis defensiva de los nectarios extraflorales en *O. robusta* es dependiente de la agresividad de las especies de hormigas asociadas a los nectarios extraflorales, y aunque la mayoría de los estudios se enfocan a probar el mutualismo defensivo entre hormigas y plantas, no se considera el sexo como un factor importante en la variación del resultado de la interacción. Las diferencias en el potencial defensivo entre los sexos son muy sutiles y se relacionan con estadios fenológicos y nutricionales de las plantas. Estudios subsecuentes deberían evaluar estas características en conjunto para entender patrones ecológicos en la interacción hormiga-planta en las poblaciones.

Adicionalmente, es probable que la función defensiva de los nectarios extraflorales no sea mutuamente excluyente con las demás hipótesis sobre su función en las plantas, tales como la hipótesis de distracción de hormigas (Wagner y Kay, 2002) o la hipótesis de fertilización de la planta (Wagner, 1997). De igual forma, los resultados de este estudio en flores y cladodios en desarrollo sugieren que se deben revisar experimentalmente las ideas propuestas por Coley

et al. (1985), considerando plantas de ambientes estresantes y con diferente expresión sexual, pues las plantas de *O. robusta* resultan comportarse de forma diferente a lo esperado en ambientes con pocos recursos disponibles. Finalmente, podemos concluir que *O. robusta* es una especie plástica que responde a las diferentes presiones ambientales de su hábitat, donde el resultado de la interacción hormiga planta y los rasgos de su historia de vida pueden variar entre las diferentes poblaciones alejadas geográficamente.

## LITERATURA CITADA

- Aguirre, A., Coates, R., Cumplido-Barragán, G., Campos-Villanueva, A. y Díaz-Castelazo, C. (2013) Morphological characterization of extrafloral nectaries and associated ants in tropical vegetation of Los Tuxtlas, Mexico. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **208**, 147-156.
- Aitchison, J. (1982) The Statistical Analysis of Compositional Data. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, **44**, 139-177.
- Allen, G. A. y Antos, J. A. (1993) Sex Ratio Variation in the Dioecious Shrub *Oemleria cerasiformis*. *The American Naturalist*, **141**, 537-553.
- Alma, A. M., Pol, R. G., Pacheco, L. F. y Vázquez, D. P. (2015) No defensive role of ants throughout a broad latitudinal and elevational range of a cactus. *Biotropica*, **47**, 347-354.
- Almeida, O. J. G. d., Paoli, A. A. S. y Cota-Sánchez, J. H. (2012) A macro- and micromorphological survey of floral and extrafloral nectaries in the epiphytic cactus *Rhipsalis teres* (Cactoideae: Rhipsalideae). *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, **207**, 119-125.
- Amorim, P. L. D., Martuscello, J. A., Araújo Filho, J. T. D., Cunha, D. D. N. F. V. D. y Jank, L. (2015) Morphological and productive characterization of forage cactus varieties. *Revista Caatinga*, **28**, 230-238.
- Anjos, D. V., Caserio, B., Rezende, F. T., Ribeiro, S. P., Del-Claro, K. y Fagundes, R. (2017) Extrafloral-nectaries and interspecific aggressiveness regulate day/night turnover of ant species foraging for nectar on *Bionia coriacea*. *Austral Ecology*, **42**, 317-328.
- Barbera, G., Carimi, F., Inglese, P. y Panno, M. (1992) Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear, *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller. *Journal of Horticultural Science*, **67**, 307-312.
- Barton, K. (2018) *MuMIn: multi-model inference*. R package version 1.42.1.
- Barton, K. E. y Koricheva, J. (2010) The ontogeny of plant defense and herbivory: characterizing general patterns using meta-analysis. *The American Naturalist*, **175**, 481-93.
- Beaumont, K. P., Mackay, D. A. y Whalen, M. A. (2016) Ant defence of a dioecious shrub, *Adriana quadripartita* (Euphorbiaceae), with extrafloral nectaries. *Australian Journal of Botany*, **64**, 539-546.

- Beckmann Jr., R. L. y Stucky, J. M. (1981) Extrafloral nectaries and plant guarding in *Ipomoea pandurata* (L.) G. F. W. Mey. (Convolvulaceae). *American Journal of Botany*, **68**, 72-79.
- Bentley, B. L. (1977) The protective function of ants visiting the extrafloral nectaries of *Bixa orellana* (Bixaceae). *Journal of Ecology*, **65**, 27-38.
- Bestelmeyer, B. T. (2000) The trade-off between thermal tolerance and behavioural dominance in a subtropical South American ant community. *Journal of Animal Ecology*, **69**, 998-1009.
- Blom, P. E. y Clark, W. H. (1980) Observations of Ants (Hymenoptera: Formicidae) visiting extrafloral nectaries of the barrel cactus, *Ferocactus gracilis* Gates (Cactaceae), in Baja California, Mexico. *The Southwestern Naturalist*, **25**, 181-195.
- Blüthgen, N., Stork, N. E. y Fiedler, K. (2004) Bottom-up control and co-occurrence in complex communities: honeydew and nectar determine a rainforest ant mosaic. *Oikos*, **106**, 344-358.
- Boege, K. y Marquis, R. J. (2005) Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 441-8.
- Bowers, J. E. (1996) More flowers or new cladodes? Environmental correlates and biological consequences of sexual reproduction in a Sonoran Desert prickly pear cactus, *Opuntia engelmannii*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **123**, 34-40.
- Bravo-Hollis, H. y Sánchez-Mejorada, H. (1978) *Las cactáceas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Breheny, P. y Burchett, W. (2017) visreg: Visualization of regression models. *The R Journal*. *R package version*, **9**.
- Britton, N. L. y Rose, J. N. (1963) *The Cactaceae; descriptions and illustrations of plants of the cactus family*. Dover Publications, New York,.
- Brooks, M. E., Kristensen, K., van Benthem, K. J., Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., Skaug, H. J., Machler, M. y Bolker, B. M. (2017) glmmTMB Balances Speed And Flexibility Among Packages For Zero-Inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R journal*, **9**, 378-400.
- Cipollini, M. L. y Whigham, D. F. (1994) Sexual dimorphism and cost of reproduction in the dioecious shrub *Lindera benzoin* (Lauraceae). *American Journal of Botany*, **81**, 65-75.
- Coley, P. D., Bryant, J. P. y Chapin, F. S., 3rd (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, **230**, 895-9.

- Cornelissen, T. y Stiling, P. (2005) Sex-biased herbivory: a meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. *Oikos*, **111**, 488-500.
- Cuautle, M., Rico-Gray, V. y Diaz-Castelazo, C. (2005) Effects of ant behaviour and presence of extrafloral nectaries on seed dispersal of the Neotropical myrmecochore *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **86**, 67-77.
- Dáttilo, W., Aguirre, A., Flores-Flores, R. V., Fagundes, R., Lange, D., García-Chávez, J., Del-Claro, K. y 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.
- Dáttilo, W., Fagundes, R., Gurka, C. A. Q., Silva, M. S. A., Vieira, M. C. L., Izzo, T. J., Díaz-Castelazo, C., Del-Claro, K. y Rico-Gray, V. (2014) Individual-Based Ant-Plant Networks: Diurnal-Nocturnal Structure and Species-Area Relationship. *PLOS ONE*, **9**, e99838.
- de la Cruz, Y. H. U., Aguilar, B. M., Martínez, E. S., Carrillo-Ángeles, I., Martínez, M. M. H. y Vázquez, H. G. A. (2016) Estrategias de conservación in situ para rehabilitar los paisajes del Semidesierto Queretano-Hidalguense. *Boletín de la Asociación Mexicana de Jardines Botánicos* **4**, 33.
- Del-Claro, K., Berto, V. y Reu, W. (1996) Effect of herbivore deterrence by ants on the fruit set of an extrafloral nectary plant, *Qualea multiflora* (Vochysiaceae). *Journal of Tropical Ecology*, **12**, 887-892.
- del Castillo, R. F. (1986) *La selección natural de los sistemas de cruzamiento en Opuntia robusta*. M.Sc., Colegio de Postgraduados, México.
- del Castillo, R. F. y Trujillo-Argueta, S. (2018) On the possible role of nonreproductive traits for the evolution of unisexuality: Life-history variation among males, females, and hermaphrodites in *Opuntia robusta* (Cactaceae). *Ecology and Evolution*, **8**, 6988-7001.
- Delph, L. F. (1999) Sexual dimorphism in life history. *Gender and sexual dimorphism in flowering plants* spp. 149-173. Springer, Heidelberg.
- Diaz-Castelazo, C., Rico-Gray, V., Ortega, F. y Angeles, G. (2005) Morphological and secretory characterization of extrafloral nectaries in plants of coastal Veracruz, Mexico. *Ann Bot*, **96**, 1175-89.
- Elias, T. S. (1983) Extrafloral nectaries: their structure and distribution. *The biology of nectaries* (eds B. Bentley y T. S. Elias), pp. 174-203. Columbia University Press, New York.

- Fenner, M., Hanley, M. E. y Lawrence, R. (1999) Comparison of seedling and adult palatability in annual and perennial plants. *Functional Ecology*, **13**, 546-551.
- Fisher, B. L. y Cover, S. P. (2007) *Ants of North America: a guide to the genera*. University of California Press, Berkeley, CA.
- Frederickson, M. E., Ravenscraft, A., Arcila Hernández, L. M., Booth, G., Astudillo, V. y Miller, G. A. (2013) What happens when ants fail at plant defence? *Cordia nodosa* dynamically adjusts its investment in both direct and indirect resistance traits in response to herbivore damage. *Journal of Ecology*, **101**, 400-409.
- Frederickson, M. E., Ravenscraft, A., Miller, G. A., Arcila, H., Hernández, L. M., Booth, G., Pierce, N. E., Associate Editor: Elizabeth, E. y Editor: Ruth, G. S. (2012) The Direct and Ecological Costs of an Ant-Plant Symbiosis. *The American Naturalist*, **179**, 768-778.
- Friard, O. y Gamba, M. (2016) BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, **7**, 1324-1330.
- García, E. (1988) *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. Instituto de Geografía, UNAM, México.
- González-Teuber, M., Silva Bueno, J. C., Heil, M. y Boland, W. (2012) Increased host investment in extrafloral nectar (EFN) improves the efficiency of a mutualistic defensive service. *PLoS ONE*, **7**, e46598.
- Gonzalez, A. M. y Marazzi, B. (2018) Extrafloral nectaries in Fabaceae: filling gaps in structural and anatomical diversity in the family. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **187**, 26-45.
- Grangier, J., Dejean, A., Malé, P.-J. G. y Orivel, J. (2008) Indirect defense in a highly specific ant-plant mutualism. *Naturwissenschaften*, **95**, 909-916.
- Hartig, F. (2018) DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level / Mixed) Regression Models.
- Heads, P. y Lawton, J. (1985) Bracken, ants and extrafloral nectaries. III. How insect herbivores avoid ant predation. *Ecological Entomology*, **10**, 29-42.
- Heil, M., Fiala, B., Baumann, B. y Linsenmair, K. (2000) Temporal, spatial and biotic variations in extrafloral nectar secretion by *Macaranga tanarius*. *Functional Ecology*, **14**, 749-757.

- Hernández, H. J. J. (2006) *Importancia de la temperatura ambiental y la capacidad termorregulatoria en la distribución de escarabajos carroñeros (coleoptera: silphidae) en un paisaje agrícola en Singuilucan Hidalgo*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo. México.
- Holland, J. N., Chamberlain, S. A. y 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. y 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.
- Hunt, R. (2012) *Basic growth analysis: plant growth analysis for beginners*. Springer Science & Business Media.
- INEGI (1992) *Síntesis geográfica del Estado de Hidalgo*. México.
- Inglese, P., Barbera, G. y La Mantia, T. (1997) Competitive growth of fruits and cladodes of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. and thermal time requirement. pp. 29-36. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.
- Inglese, P., Israel, A. A. y Nobel, P. S. (1994) Growth and CO<sub>2</sub> uptake for cladodes and fruit of the Crassulacean acid metabolism species *Opuntia ficus-indica* during fruit development. *Physiologia Plantarum*, **91**, 708-714.
- Janczur, M. K., León Solano, H. J., Solache Ramos, L. T., Mendoza Reyes, C. H., Oro Cerro, M. d. C., Mariezcurrena Berasain, M. D., Rivas Manzano, I. V., Manjarrez, J., Villareal Benitez, J. L. y Czarnoleski, M. (2014) Chemical and physical defense traits in two sexual forms of *Opuntia robusta* in Central Eastern Mexico. *PLoS ONE*, **9**, e89535.
- Jezorek, H., Stiling, P. y Carpenter, J. (2011) Ant predation on an invasive herbivore: can an extrafloral nectar-producing plant provide associational resistance to *Opuntia* individuals? *Biological Invasions*, **13**, 2261-2273.
- Kass, R. J. (2001) Mortality of the endangered Wright fishhook cactus (*Sclerocactus wrightiae*) by an *Opuntia*-borer beetle (Cerambycidae: *Moneilema semipunctatum*). *Western North American Naturalist*, **61**, 495-497.
- Kassambara, A., Kosinski, M., Biecek, P. y Survmminer, R. (2018) package: Drawing Survival Curves using ‘ggplot2’.

- Katayama, N. y Suzuki, N. (2011) Anti-herbivory defense of two *Vicia* species with and without extrafloral nectaries. *Plant Ecology*, **212**, 743-752.
- Kost, C. y Heil, M. (2005) Increased availability of extrafloral nectar reduces herbivory in Lima bean plants (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae). *Basic and Applied Ecology*, **6**, 237-248.
- La Mantia, T., Barbera, G., Gugliuzza, G. y Inglese, P. (1997) Effect of cladode shading on growth and ripening of fruits of cactus pear (*Opuntia ficus-indica* L. Miller). pp. 21-28. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.
- Lenth, R. V. (2016) Least-Squares Means: The R Package lsmeans. *2016*, **69**, 33.
- Mackay, W. P. y Mackay, E. E. (1989) Clave de los géneros de hormigas en México (Hymenoptera: Formicidae). *II Simposio Nacional de Insectos Sociales. Memorial. Oaxtepec. Morelos*, pp. 1-82.
- Mauseth, J. D. (1982) Development and ultrastructure of extrafloral nectaries in *Ancistrocactus scheeri* (Cactaceae). *Botanical Gazette*, **143**, 273-277.
- Mauseth, J. D. (2006) Structure-function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. *Annals of Botany*, **98**, 901-926.
- Mauseth, J. D., Rebmann, J. P. y Machado, S. R. (2016) Extrafloral nectaries in cacti. *Cactus and Succulent Journal*, **88**, 156-171.
- McKey, D. (1979) The distribution of secondary compounds within plants. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites* (eds G. A. Rosenthal y D. H. Janzen), pp. 55-133. Academic Press, New York.
- Mendoza, A. V., Hernández, A. F. y Suárez, J. B. (2008) Dinámica poblacional de las principales plagas de nopal *Opuntia spp.* en la zona semiárida de Querétaro *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, **7**, 21-27.
- Miller, T. E. X. (2007) Does having multiple partners weaken the benefits of facultative mutualism? A test with cacti and cactus-tending ants. *Oikos*, **116**, 500-512.
- Miller, Tom E. X., Tyre, Andrew J. y Louda, Svata M. (2006) Plant Reproductive Allocation Predicts Herbivore Dynamics across Spatial and Temporal Scales. *The American Naturalist*, **168**, 608-616.
- 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. y Bronstein, J. L. (2006) Integrating quality and quantity of mutualistic service to contrast ant species protecting *Ferocactus wislizeni*. *Ecology*, **87**, 912-21.

- Nieddu, G. y Spano, D. (1992) Flowering and fruit growth in *Opuntia ficus-indica*. pp. 153-160. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.
- Nogueira, A., Guimarães, E., Machado, S. R. y Lohmann, L. G. (2012) Do extrafloral nectaries present a defensive role against herbivores in two species of the family Bignoniaceae in a Neotropical savannas? *Plant Ecology*, **213**, 289-301.
- O'Dowd, D. J. (1979) Foliar nectar production and ant activity on a neotropical tree, *Ochroma pyramidale*. *Oecologia*, **43**, 233-248.
- Obeso, J. R. (2002) The costs of reproduction in plants. *New Phytologist*, **155**, 321-348.
- Oliveira, P. S. y Freitas, A. V. (2004) Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften*, **91**, 557-70.
- Oliveira, P. S., Rico-Gray, V., Castillo-Guevara, C. y Díaz-Castelazo, 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.
- Palomares-Pérez, M., Rodríguez-Leyva, E., Brailovsky, H. y Ramírez-Alarcón, S. (2010) First record of *Hesperolabops nigriceps* Reuter (Hemiptera: Miridae) on *Opuntia ficus-indica* in Milpa Alta, Mexico City. *Neotropical Entomology*, **39**, 829-830.
- Pickett, C. H. y Clark, W. D. (1979) The function of extrafloral nectaries in *Opuntia acanthocarpa* (Cactaceae). *American Journal of Botany*, **66**, 618-625.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. y Team, R. C. (2018) nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-137.
- Poot, P. (1997) Reproductive allocation and resource compensation in male-sterile and hermaphroditic plants of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). *American Journal of Botany*, **84**, 1256-1265.
- Pringle, E. G., Dirzo, R. y Gordon, D. M. (2012) Plant defense, herbivory, and the growth of *Cordia alliodora* trees and their symbiotic *Azteca* ant colonies. *Oecologia*, **170**, 677-685.
- RCoreTeam (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rees, M., Childs, Dylan Z., Metcalf, C. J., Rose, Karen E., Sheppard, Andy W. y Grubb, Peter J. (2006) Seed Dormancy and Delayed Flowering in Monocarpic Plants: Selective Interactions in a Stochastic Environment. *The American Naturalist*, **168**, E53-E71.

- Rhoades, D. F. (1979) Evolution of plant chemical defense against herbivores. *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites* (eds G. A. Rosenthal y D. H. Janzen), pp. 3-54. Academic Press, New York.
- Rich, J. T., Neely, J. G., Paniello, R. C., Voelker, C. C. J., Nussenbaum, B. y Wang, E. W. (2010) A practical guide to understanding Kaplan-Meier curves. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, **143**, 331-336.
- Rico-Gray, V. y Oliveira, P. S. (2007) *The ecology and evolution of ant-plant interactions*. University of Chicago Press.
- Rico-Gray, V. y Thien, L. B. (1989) Effect of different ant species on reproductive fitness of *Schomburgkia tibicinis* (Orchidaceae). *Oecologia*, **81**, 487-489.
- Rubin, D. B. (1996) Multiple Imputation After 18+ Years. *Journal of the American Statistical Association*, **91**, 473-489.
- Rudgers, J. A. y Gardener, M. C. (2004) Extrafloral Nectar as a Resource Mediating Multispecies Interactions. *Ecology*, **85**, 1495-1502.
- Sandoval-Molina, M. A., Zavaleta-Mancera, H. A., León-Solano, H. J., Solache-Ramos, L. T., Jenner, B., Morales-Rodríguez, S., Patrón-Soberano, A. y Janczur, M. K. (2018) First description of extrafloral nectaries in *Opuntia robusta* (Cactaceae): Anatomy and ultrastructure. *PLOS ONE*, **13**, e0200422.
- Schoereder, J. H., Sobrinho, T. G., Madureira, M. S., Ribas, C. R. y Oliveira, P. S. (2010) The arboreal ant community visiting extrafloral nectaries in the Neotropical cerrado savanna. *Terrestrial Arthropod Reviews*, **3**, 3-27.
- Spiegel, L. H. y Price, P. W. (1996) Plant Aging and the Distribution of *Rhyacionia neomexicana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, **25**, 359-365.
- Stanton, M. L. y Palmer, T. M. (2011) The high cost of mutualism: effects of four species of East African ant symbionts on their myrmecophyte host tree. *Ecology*, **92**, 1073-1082.
- Strauss, S. Y., Irwin, R. E. y Lambrix, V. M. (2004) Optimal defence theory and flower petal colour predict variation in the secondary chemistry of wild radish. *Journal of Ecology*, **92**, 132-141.
- Therneau, T. M. y Lumley, T. (2015) Package 'survival'. *R Top Doc*, **128**.
- Thomas, S. C. y LaFrankie, J. V. (1993) Sex, Size and Interyear Variation in Flowering Among Dioecious Trees of the Malayan Rain Forest. *Ecology*, **74**, 1529-1537.
- Torres-Castillo, J. A., Aguirre-Mancilla, C. L., Gutiérrez-Díez, A., Sinagawa-García, S. R., Torres-Acosta, R. I., García-Zambrano, E. A., Aguirre-Arzola, V. y Zavala-García, F.

- (2015) Intestinal proteases of *Moneilema armatum* (Coleoptera: Cerambycidae) fed with *Opuntia cladodes*. *Revista Colombiana de Entomología*, **41**, 249-256.
- van Buuren, S. y Groothuis-Oudshoorn, K. (2011) mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. *2011*, **45**, 67.
- van Dam, N. M., Vuister, L. W. M., Bergshoeff, C., de Vos, H. y van Der Meijden, E. (1995) The “Raison D'être” of pyrrolizidine alkaloids in *Cynoglossum officinale*: Deterrent effects against generalist herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 507-523.
- Vanegas-Rico, J. M., Lomeli-Flores, J. R., Rodríguez-Leyva, E., Mora-Aguilera, G. y Valdez, J. M. (2010) Enemigos naturales de *Dactylopius opuntiae* (Cockerell) en *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller en el centro de México. *Acta zoológica mexicana*, **26**, 415-433.
- von Beeren, C., Hashim, R. y Witte, V. (2012) The Social Integration of a Myrmecophilous Spider Does Not Depend Exclusively on Chemical Mimicry. *Journal of Chemical Ecology*, **38**, 262-271.
- von Beeren, C., Maruyama, M., Hashim, R. y Witte, V. (2011) Differential host defense against multiple parasites in ants. *Evolutionary Ecology*, **25**, 259-276.
- Wäckers, F. L. y Bonifay, C. (2004) How to be sweet? extrafloral nectar allocation by *Gossypium hirsutum* fits optimal defense theory predictions. *Ecology*, **85**, 1512-1518.
- Wagner, D. (1997) The Influence of Ant Nests on Acacia Seed Production, Herbivory and Soil Nutrients. *Journal of Ecology*, **85**, 83-93.
- Wagner, D. y Kay, A. (2002) Do extrafloral nectaries distract ants from visiting flowers? An experimental test of an overlooked hypothesis. *Evolutionary Ecology Research*, **4**, 13.
- Warnes, G. R., Bolker, B., Lumley, T. y C., J. R. (2015) gmodels: Various R programming tools for model fitting. Version 2.16.2.
- Wetterer, J. K. (2010) Worldwide Spread Of The Graceful Twig Ant, *Pseudomyrmex gracilis* (Hymenoptera: Formicidae). *The Florida Entomologist*, **93**, 535-540.
- Wilder, S. M. y Eubanks, M. D. (2010) Extrafloral nectar content alters foraging preferences of a predatory ant. *Biology Letters*, **6**, 177-179.
- Zangerl, A. R. y Bazzaz, F. A. (1992) Theory and pattern in plant defense allocation. *Plant resistance to herbivore and pathogens* (eds R. S. Fritz y E. L. Simms), pp. 363-391. The University of Chicago Press, United States.
- Zhang, D. (2018) rsq: R-Squared and Related Measures.

**SUPLEMENTOS**

Tabla 1S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (GLMM Binomial Negativo) para estimar el número de hormigas en San Nicolás Tecoco.

<i>Número de hormigas en cladodios y flores de San Nicolás Tecoco</i>				
<i>Variable</i>	Estimación	Error estándar	Z	p =
<i>(Intercepto)</i>	-1.07746643	0.53646703	-2.00844854	0.04459565 *
<i>Área de Flor/Cladodio</i>	-0.6314774	0.25322652	-2.49372539	0.01264103 *
<i>Temperatura</i>	-0.28234347	0.13483754	-2.09395296	0.03626417 *
<i>Humedad relativa</i>	0.08462868	0.1439942	0.58772284	0.55671834
<i>Herbivoría (%)</i>	-0.67987317	0.22527581	-3.01795902	0.00254483 **
<i>Número chinches</i>	0.36261222	0.08994463	4.03150486	5.54E-05 ***
<i>Hora del día</i>	-0.00656636	0.13411122	-0.04896208	0.96094952
<i>Sexo Hermafrodita</i>	0.62056707	1.09667612	0.56586175	0.57148776
<i>Sexo Masculino</i>	2.52640181	0.79284044	3.18651985	0.00143996 ***
<i>Tipo de estructura</i>	-0.06130739	0.54187334	-0.1131397	0.9099198
<i>Temperatura:Humedad.relativa</i>	0.12139664	0.10521069	1.15384325	0.24856444
<i>SexoHermafrodita:EstructuraFlor</i>	-1.19478073	1.2322313	-0.96960752	0.33224216
<i>SexoMasculina:EstructuraFlor</i>	-3.08277486	0.86600083	-3.55978281	0.00037116 ***
	Número de observaciones	AIC	BIC	Log Likelihood
	369	783.8	846.4	-375.9

\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

Tabla 2S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (GLMM Binomial Negativo) para estimar el número de hormigas en Cadereyta de Montes.

<i>Número de hormigas en cladodios y flores de San Nicolás Tecoaco</i>				
<i>Variable</i>	Estimación	Error estándar	Z	p =
<i>(Intercept)</i>	-0.54079579	0.29427202	-1.83774108	0.06610057 ·
<i>Área de Flor/Cladodio</i>	-0.81529852	0.37693782	-2.16295229	0.03054485 *
<i>Temperatura</i>	-0.63399787	0.21020566	-3.01608377	0.00256063 **
<i>Humedad relativa</i>	-0.03930961	0.22903782	-0.17162935	0.86372893
<i>Herbivoría (%)</i>	-0.48302237	0.35272655	-1.3693961	0.17087549
<i>Hora del día</i>	0.27292236	0.15862123	1.72059163	0.08532495 ·
<i>Sexo Masculino</i>	-1.82567412	0.5514547	-3.31065112	0.00093079 ***
<i>Tipo de estructura</i>	-0.3977796	0.33758826	-1.17829808	0.23867779
<i>Temperatura:Humedad.relativa</i>	0.40147904	0.16936983	2.37042826	0.01776749 *
<i>SexoMasculina:EstructuraFlor</i>	0.41475803	0.71509686	0.58000259	0.56191287
	Número de observaciones	AIC	BIC	Log Likelihood
	284	377	424	-175

\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001

Tabla 3S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (LMM, efectos mixtos) para estimar el porcentaje de herbivoría en relación al tipo de estructura (flor o cladodio) entre los sexos de San Nicolás Teacoaco, Hidalgo y Cadereyta de Montes.

<i>Table</i>		
	<i>San Nicolás Teacoaco</i>	<i>Cadereyta de Montes</i>
<i>Sexo Hermafrodita</i>	0.117 <i>Std.error</i> =(0.912) t = 0.128 p = 0.900	
<i>Sexo Masculino</i>	-0.622 <i>Std.error</i> =(0.666) t = -0.933 p = 0.361	0.605 <i>Std.error</i> =(0.364) t = 1.660 p = 0.115
<i>Flor</i>	-1.090** <i>Std.error</i> =(0.348) t = -3.137 p = 0.003	0.490 <i>Std.error</i> =(0.310) t = 1.580 p = 0.117
<i>Tratamiento de exclusión</i>	-0.414 <i>Std.error</i> =(0.375) t = -1.106 p = 0.270	0.225 <i>Std.error</i> =(0.330) t = 0.682 p = 0.498
<i>Area total</i>	-0.008*** <i>Std.error</i> =(0.002) t = -3.677 p = 0.0003	-0.003* <i>Std.error</i> =(0.001) t = -2.200 p = 0.031
<i>Sexo Hermafrodita:Flor</i>	0.979 <i>Std.error</i> =(0.962) t = 1.018 p = 0.313	
<i>Sexo Masculino:Flor</i>	0.863 <i>Std.error</i> =(0.649) t = 1.328 p = 0.186	-0.375 <i>Std.error</i> =(0.463) t = -0.809 p = 0.421
<i>Sexo Hermafrodita: Tratamiento de exclusión</i>	1.142 <i>Std.error</i> =(1.189) t = 0.960 p = 0.341	
<i>Sexo Masculino: Tratamiento de exclusión</i>	0.935 <i>Std.error</i> =(1.035) t = 0.904 p = 0.367	-0.195 <i>Std.error</i> =(0.467) t = -0.416 p = 0.679
<i>Flor: Tratamiento de exclusión</i>	0.293 <i>Std.error</i> =(0.423) t = 0.692 p = 0.490	-0.474 <i>Std.error</i> =(0.447) t = -1.060 p = 0.292
<i>Sexo Hermafrodita:Flor:Tratamiento de exclusión</i>	-0.965 <i>Std.error</i> =(1.480) t = -0.652 p = 0.517	
<i>Sexo Masculino: Flor: Tratamiento de exclusión</i>	-0.874 <i>Std.error</i> =(1.073) t = -0.814 p = 0.416	0.223 <i>Std.error</i> =(0.638) t = 0.350 p = 0.728
<i>Sexo femenino:Cladodio:Control (intercepto)</i>	5.070*** <i>Std.error</i> =(0.363) t = 13.950 p < 0.001	4.230*** <i>Std.error</i> =(0.260) t = 16.300 p = 0.000
<i>Observations</i>	672	287
<i>Log Likelihood</i>	-1111.165	-432.000
<i>Akaike Inf. Crit.</i>	2272.330	908.000
<i>Bayesian Inf. Crit.</i>	2384.598	988.000

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$

Tabla 4S. Estimación de parámetros y estadística de ajuste del mejor modelo (LMM, efectos mixtos) para estimar el porcentaje de herbivoría en relación al tipo de estructura (flor o cladodio) y a las especies de hormigas visitantes de plantas de *O. robusta* con nectarios extraflorales en San Nicolás Teacoaco, Hidalgo y Cadereyta de Montes.

<i>Porcentaje de herbivoría por especie de hormiga</i>			
San Nicolás Teacoaco		Cadereyta de Montes	
<i>Variable</i>	<i>LMM</i>	<i>Variable</i>	<i>LMM</i>
<i>Camponotus andrei</i> / <i>Formica altipetens</i>	1.520 <i>Std.error</i> = (2.452) t = 0.620 p = 0.536	<i>Camponotus andrei</i> / <i>Forelius pruinosus</i>	0.247 <i>Std.error</i> = (0.796) t = 0.310 p = 0.757
<i>Camponotus atriceps</i>	-1.157 <i>Std.error</i> = (2.402) t = -0.482 p = 0.630	<i>Crematogaster</i> sp.	0.197 <i>Std.error</i> = (0.676) t = 0.292 p = 0.771
<i>Formica altipetens</i>	2.758 <i>Std.error</i> = (1.618) t = 1.704 p = 0.089	<i>Crematogaster</i> sp. / <i>Pseudomyrmex championi</i>	-0.222 <i>Std.error</i> = (0.809) t = -0.275 p = 0.784
<i>Liometopum apiculatum</i>	-0.106 <i>Std.error</i> = (1.296) t = -0.082 p = 0.935	<i>Crematogaster</i> sp. / <i>Pseudomyrmex pallidus</i>	1.122 <i>Std.error</i> = (1.518) t = 0.739 p = 0.460
<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Camponotus andrei</i>	0.952 <i>Std.error</i> = (2.708) t = 0.352 p = 0.726	<i>Forelius pruinosus</i>	-0.232 <i>Std.error</i> = (0.709) t = -0.328 p = 0.744
<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Camponotus atriceps</i>	-1.133 <i>Std.error</i> = (2.747) t = -0.412 p = 0.681	<i>Liometopum apiculatum</i>	0.129 <i>Std.error</i> = (0.664) t = 0.194 p = 0.846
<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Formica altipetens</i>	-1.571 <i>Std.error</i> = (1.806) t = -0.870 p = 0.385	<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Camponotus andrei</i>	-0.155 <i>Std.error</i> = (0.790) t = -0.197 p = 0.845
<i>Flor</i>	-0.303 <i>Std.error</i> = (0.519) t = -0.583 p = 0.560	<i>Monomorium eveninum</i>	0.193 <i>Std.error</i> = (0.784) t = 0.246 p = 0.806
<i>Camponotus andrei</i> / <i>Formica altipetens</i> / <i>Flor</i>	1.734 <i>Std.error</i> = (1.336) t = 1.297 p = 0.195	<i>Pseudomyrmex championi</i>	-1.526* <i>Std.error</i> = (0.769) t = -1.985 p = 0.048
<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Flor</i>	-2.069** <i>Std.error</i> = (0.648) t = -3.195 p = 0.002	<i>Flor</i>	0.012 <i>Std.error</i> = (0.781) t = 0.015 p = 0.989
<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Camponotus andrei</i> / <i>Flor</i>	-1.373 <i>Std.error</i> = (1.272) t = -1.079	<i>Camponotus andrei</i> / <i>Forelius pruinosus</i> / <i>Flor</i>	-0.239 <i>Std.error</i> = (0.962) t = -0.249

<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Camponotus atriceps</i> / Flor	p = 0.281 0.904 Std.error= (1.287) t = 0.703	<i>Crematogaster sp</i> / Flor	p = 0.804 -0.034 Std.error= (0.826) t = -0.041
<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Formica altipetens</i> / Flor	p = 0.483 1.050 Std.error= (1.131) t = 0.928	<i>Crematogaster sp</i> / <i>Pseudomyrmex championi</i> / Flor	p = 0.968 0.336 Std.error= (0.956) t = 0.351
Intercepto	p = 0.354 4.482*** Std.error= (0.981) t = 4.570 p = 0.00001	<i>Crematogaster sp</i> / <i>Pseudomyrmex pallidus</i> / Flor	p = 0.726 -1.225 Std.error= (1.595) t = -0.768 p = 0.443 0.987 Std.error= (0.861) t = 1.146
		<i>Forelius pruinosus</i> / Flor	p = 0.252 0.522 Std.error= (0.814) t = 0.642
		<i>Liometopum apiculatum</i> / Flor	p = 0.521 -0.438 Std.error= (0.980) t = -0.448
		<i>Liometopum apiculatum</i> / <i>Camponotus andrei</i> / Flor	p = 0.655 -0.832 Std.error= (0.950) t = -0.876
		<i>Monomorium eveninum</i> / Flor	p = 0.382 0.256 Std.error= (0.901) t = 0.284
		<i>Pseudomyrmex championi</i> / Flor	p = 0.777 4.635*** Std.error= (0.638) t = 7.260 p < 0.001
		Constant	
<i>Observaciones</i>	607	<i>Observaciones</i>	284
<i>Log Likelihood</i>	-1296.565	<i>Log Likelihood</i>	-418.637
<i>Akaike Inf. Crit.</i>	2629.130	<i>Akaike Inf. Crit.</i>	885.275
<i>Bayesian Inf. Crit.</i>	2708.484	<i>Bayesian Inf. Crit.</i>	972.850

Note:  
\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$

Tabla 5S. Modelo lineal generalizado en Tasas de Crecimiento Relativo (TCR) de cladodios y flores en las dos localidades, San Nicolás Teacoaco y Cadereyta de Montes.

Variable	Tasa de crecimiento relativo en flores y cladodios	
	San Nicolás Teacoaco	Cadereyta de Montes
<i>Herbivoría final</i>	-0.012***	-0.006
	Std.error= (0.003)	Std.error= (0.005)
	t = -3.766	t = -1.172
	p = 0.0003	p = 0.245
<i>SexoHermafrodita</i>	0.371	
	Std.error= (0.458)	
	t = 0.812	
	p = 0.419	
<i>Sexo Masculino</i>	0.457	-0.062
	Std.error= (0.376)	Std.error= (0.097)
	t = 1.215	t = -0.638
	p = 0.226	p = 0.525
<i>Tratamiento de exclusión</i>	0.053	-0.007
	Std.error= (0.137)	Std.error= (0.107)
	t = 0.390	t = -0.064
	p = 0.697	p = 0.950
<i>Flor</i>	-1.209***	-0.411*
	Std.error= (0.276)	Std.error= (0.157)
	t = -4.382	t = -2.613
	p = 0.00003	p = 0.011
<i>Número de flores</i>	-0.001	-0.017
	Std.error= (0.024)	Std.error= (0.022)
	t = -0.030	t = -0.780
	p = 0.977	p = 0.438
<i>Número de cladodios</i>	-0.356**	0.042
	Std.error= (0.125)	Std.error= (0.043)
	t = -2.846	t = 0.973
	p = 0.006	p = 0.334
<i>Sexo Hermafrodita:Tratamiento de exclusión</i>	-0.149	
	Std.error= (0.355)	
	t = -0.420	
	p = 0.675	
<i>Sexo Masculino:Tratamiento de exclusión</i>	-0.008	-0.090
	Std.error= (0.268)	Std.error= (0.124)
	t = -0.029	t = -0.723
	p = 0.977	p = 0.472
<i>Sexo hermafrodita:Flor</i>	0.664	
	Std.error= (0.431)	
	t = 1.543	
	p = 0.125	
<i>Sexo masculino:Flor</i>	-0.301	0.143
	Std.error= (0.400)	Std.error= (0.128)
	t = -0.753	t = 1.116
	p = 0.453	p = 0.268
<i>Tratamiento de exclusión:Flor</i>		0.327*
		Std.error= (0.134)
		t = 2.444
		p = 0.017
<i>Sexo masculino: Tratamiento de exclusión:Flor</i>		
<i>Sexo femenino:Cladodio:Control (intercepto)</i>	-1.629***	-1.689***
	Std.error= (0.264)	Std.error= (0.105)
	t = -6.173	t = -16.147
	p < 0.001	p < 0.001
<i>Observaciones</i>	175	105
<i>Log Likelihood</i>	319.703	179.118
<i>Akaike Inf. Crit.</i>	-615.406	-332.236

Note: \*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001