



La fuerza del amor en el Neotrópico: Contraste en la eficiencia defensiva de dos especies de hormigas del género *Pseudomyrmex* sobre plantas de *Acacia cornigera*. (Parte II)

*I. R. Sánchez -Galván*¹ y *V. Rico-Gray*²

1 CENTRO IBEROAMERICANO DE LA BIODIVERSIDAD (CIBIO), UNIVERSIDAD DE ALICANTE, ESPAÑA. IRSGI@ALU.UA

2 INSTITUTO DE NEUROETOLOGÍA, UNIVERSIDAD VERACRUZANA – XALAPA, CALLE DR. LUIS CASTELAZO S/N, COL. INDUSTRIAL ÁNIMAS, CP. 91190, XALAPA, VERACRUZ, MÉXICO. TEL. (228) 842-1700 X 13601. VRICO@UV.MX

ABSTRACT

Extensive research conducted so far suggests that the physiological functionality of myrmecophilous *Acacia* and *Pseudomyrmex* ants have evolved through a coevolutionary process. This is one of the most recognized myrmecophilous interactions present in the Neotropics. In our system of *A. cornigera* and the ant *P. ferrugineus* and *P. gracilis*, we first reported a neighborhood effect in the colonization of plants by both ant species, a higher proportion of colonization and larger host plants colonized by *P. ferrugineus*. However, which is the function of *P. gracilis*, in classic terms of anti-herbivory, were the two ant species *Pseudomyrmex* equally efficient in defending their *Acacias*? A first level of observation is based on an index of herbivory per plant. We also used simulated herbivory and found that *P. ferrugineus* is more efficient, when present on plants less damage is caused by herbivores, and ants were recruited

faster in the presence of a potential herbivore. LARS *et al.* (2008) suggested that the coexistence of both species and especially the persistence of *P. gracilis* on a similar system with *Acacia hindsii* is because they have fast-growing, low-density colonies, suggesting reproductive winged forms as an r - strategy. However, these authors are not including chemical stimuli, only visual or physical stimuli, so which other mechanisms promote the interaction of *P. gracilis* with *Acacia cornigera*. We will find out in the next part (part III).

KEY WORDS:

Acacia cornigera, *Pseudomyrmex gracilis*, *Pseudomyrmex ferrugineus*, herbivory, defensive celerity

EL SISTEMA ACACIA-PSEUDOMYRMEX: ¿QUÉ ES LA MIRMECOFILIA?

Desde un punto de vista puramente “fito centrista”, las defensas biológicas más reconocidas en la naturaleza son las interacciones mirmecófilas, que se presentan cuando las plantas desarrollan sitios específicos de anidación y alimento para un cierto gremio funcional de hormigas, cuyo establecimiento y conducta de forrajeo sobre la planta le brindan a estas plantas una potencial fuerza defensiva anti-herbívoro (HUXLEY & CUTLER, 1991; RICO-GRAY & OLIVEIRA, 2007).

Se podrá considerar a aquellos linajes de plantas asociadas con hormigas como plantas verdaderamente mirmecófilas o de alto grado de especialización en su interacción mirmecófila cuando éstas dentro de su constitución morfo-fisiológica desarrollan:

- i) Los sitios de anidación y refugio para las hormigas a lo que llamamos domacios, los cuales pueden ser usualmente tallos o espinas huecas o algunas otras estructuras huecas en las hojas,
- ii) también cuando la planta desarrolla alimento para las hormigas por medio de glándulas secretoras de exudados de néctar creciendo en tejidos vegetativos como hojas, tallos, pecíolos o estípulas, llamados nectarios extra-florales (KOPTUR, 1992, DÍAZ-CASTELAZO *et. al.*, 2004), o por medio de cuerpos alimenticios como son los “cuerpos de Belt” en algunas especies de *Acacias* mirmecófilas, los “cuerpos de Müller” en especies de *Cecropia*, los “cuerpos de Beccari” en hojas de especies de *Macaranga* y “cuerpos en perla” en plantas de *Piper* sp. (FERNÁNDEZ, 2003).

Dentro de las relaciones mirmecófilas presentes en el Neotrópico, la relación entre *Acacias* y hormigas del género *Pseudomyrmex*, es quizás la más sobresaliente dentro de la literatura científica. Las 23.900 publicaciones asociadas a este fascinante sistema mutualista nos dan una idea del potencial de fascinación que suscita entre pioneros del naturalismo.

LAS ACACIAS Y SUS HORMIGAS PSEUDOMYRMEX. EL AMOR COMPARTIDO

La filogenia nos propone que el origen de esta interacción mirmecófila data entre el Mioceno tardío y el Plioceno medio, y que su centro de diversificación tanto para las hormigas mirmecófilas *Pseudomyrmex* como para las plantas de *Acacia* mirmecófilas fue Mesoamérica, esta relación de muy evidente cariz co-evolutivo surge en un ambiente tropical húmedo, principalmente a ambos lados del trópico de cáncer (JANZEN, 1966, RICO-ARCE, 2007, GÓMEZ-ACEVEDO *et. al.*, 2010), y fue quizá la actuación de las aves como buenas dispersoras de las semillas de estas *Acacias* mirmecófilas, la que hoy permitió que podamos contemplar en una multiforme expresión la amplia distribución de esta interacción sobre las selvas del Neotrópico (JANZEN, 1966,1969) .

Fue el Dr. Daniel H. Janzen en 1966, quien inició este relato en su prodigioso trabajo y con quien compartimos lo fundamental que es que las plantas mirmecófilas de *Acacia* sean ocupadas por hormigas *Pseudomyrmex* y que sería muy grave que esto no fuese así. En un experimento que sencillamente consistió en eliminar las hormigas de un lote de plantas mirmecófilas, al mismo tiempo que dejaba otras con sus hormigas (como plantas control), al contrastar la herbívora de ambos grupos encontró que aquellas *Acacias* que se enfrentaban a la rutinaria presión por herbívoros invertebrados eran vorazmente consumidas por ellos hasta incluso ocasionarles la muerte. Sólo con esto le bastó para establecer el sistema *Acacia-Pseudomyrmex* como un ejemplo clásico de relación mutualista, cuya imagen natural de la interacción ha trascendido hasta hoy en día.

Fue en ese mismo trabajo en que Janzen propone que la defensa química en las hojas de *Acacias* mirmecófilas, se ha perdido completamente, hecho justificado por el sabor suave de las hojas y no amargo como el sabor de hojas de aquellas especies de *Acacias* no mirmecófilas. Esta acertada predicción no fue comprobada, hasta unos años después en 1973 por Rehr y colaboradores (entre ellos Janzen) quienes



Figura 1. Escenario encontrado por D. Janzen en 1966 tras su experimento de remoción de hormigas.

realizan un contraste del contenido químico de una especie de *Acacia* mirmecofita (*Acacia cornigera*), una especie de *Acacia* no mirmecófita (*A. farnesiana*), y una especie de *Acacia* con asociación facultativa con hormigas (*A. chiapensis*), donde se encontró que las dos especies de *Acacias* no mirmecófilas (*A. farnesiana* y *A. chiapensis*) contenían en su follaje, químicos asociados a defensa en plantas como lo son los glucósidos cianógenos, mientras que la *Acacia* mirmecófita no poseía estos químicos en sus hojas, lo que provocaba que fueran más aceptables por los herbívoros y también por el paladar del Dr. Janzen. Sorprendentemente en un estudio posterior SEIGLER & EBINGER (1987) indicaron que a pesar de la presencia en las hojas de *A. cornigera* de β -glucosidasa, enzima que al hidrolizarse libera el glucósido cianogénico, las plantas no presentan defensa por cianogénesis. En conclusión, parece que las relaciones defensivas por las especies de hormigas *Pseudomyrmex* significó un notable impacto evolutivo en la estrategia constitutiva de las *Acacias* mirmecófilas ocurrentes en el Neotrópico.

En relación a las plantas, Janzen también hace observaciones referentes al impacto evolutivo en la estrategia constitutiva de las hormigas *Pseudomyrmex* en su trabajo de 1966, que valdría la pena recordarlas, el refiere que las hormigas tienen una peculiar morfo-fisiología y un peculiar comportamiento que notablemente promueven su interacción mirmecófita con las plantas. Estas especies de hormigas representan una distribución restringida a América tropical. Otras características tales como el presen-

tar un movimiento rápido gracias a la presencia de un post peciolo, estructura que hace que su cuerpo sea aerodinámico (WARD, 1993), además de su comportamiento agresivo asestando sobre cualquier intruso una picadura tenaz y terrible, y presentar un patrullaje constante. Algunas especies tienen además anidación exclusiva sobre *Acacias* mirmecófilas (como *Pseudomyrmex ferrugineus*, *P. belti*, *P. spinicola*, *P. nigrocincta*, *P. satanica* y *P. nigropilosa*), y ojos grandes lo que indica que presentan muy buena visión. A estas características se les ha anclado otras que indican también que los nectarios extraflorales de las *Acacias* mirmecófilas carecen de sacarosa y contienen sólo glucosa y fructuosa una característica consistente con que las hormigas *Pseudomyrmex*, son incapaces de degradar la sacarosa por la ausencia dentro de su tracto digestivo de invertasa indicándonos una atinada “especialización adaptativa” para este linaje de hormigas (HEIL *et al.*, 2005, KAUTZ *et al.*, 2009).

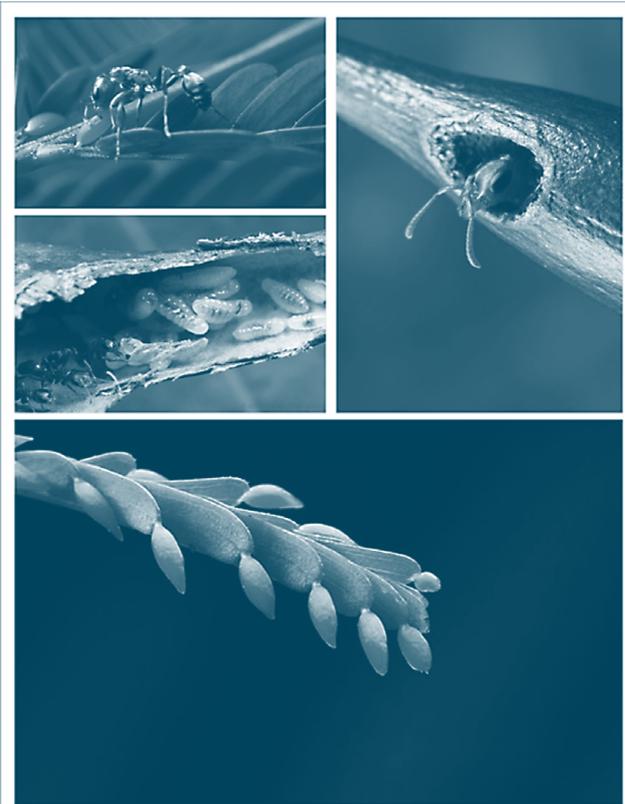


Figura 2. Fotografías que muestran a detalle la actividad de rutina de las hormigas *Pseudomyrmex* sobre plantas de *Acacia* (Imágenes adaptadas para la presente contribución con el permiso de ALEX WILD. Tomadas de <http://www.alexanderwild.com>).

LAS ACACIAS Y SUS HORMIGAS PSEUDOMYRMEX. PORQUE TAMBIÉN EN EL AMOR, NO TODO LO QUE RELUCE ES ORO.

Los lugareños conocen a las plantas de *Acacia* (LEGUMINOSAE) como “cornezuelos” o “hui-saches”, y se reparten formando un componente característico de los matorrales espinosos y de las selvas tropicales, tanto pioneras como estacionales de México y Centroamérica (GÓMEZ POMPA, 1966; DIRZO, *et al.* 1997).

El propósito principal del artículo es presentar resultados de los estudios que reportan los condicionantes de esta interacción mutualista. Hay autores que demuestran que el patrullaje defensivo de las hormigas se efectúa condicionado por factores ambientales como la intensidad lumínica y masiva en sitios de producción de alimento (RAINE, WILLMER & STONE, 2002). También la presencia en actitud defensiva de las hormigas sobre las *Acacias*, se efectúa sólo ante la presencia de los atributos alimenticios (nectarios extra florales y cuerpos de Belt) (EUBANKS *et al.*, 1997). Es notable el hecho de que las hormigas que patrullan las plantas hospederas de *Acacia* a las que les brindan protección, no lo hacen de un modo meramente altruista dado que las hormigas i) se deberán enfrentar a la posible desecación, ii) a la presencia de potenciales depredadores y iii) al gasto energético derivado de un patrullaje constante.

Por otro lado, los cuerpos de Belt presentes en plantas mirmecófilas de *Acacia* del Neotrópico, son cosechados activamente por las hormigas como fuente principal de alimento, ya que contienen los aminoácidos y ácidos grasos como el ácido linoleico que es vital para el buen desarrollo de los insectos en general. Dado que son estructuras ricas en nitrógeno, para su producción requiere una generosa inversión metabólica por parte de las plantas. (HEIL *et al.*, 2004). Además si en la planta hay visitación de flores por las hormigas, se verá reducida la viabilidad del polen (WAGNER, 2000), y dado el carácter agresivo de las hormigas *Pseudomyrmex*, las plantas

han adquirido una sustancia repelente de hormigas liberada en las flores de las *Acacias* y así poder permitir la entrada de polinizadores en horarios donde ambos, hormigas defensivas y los polinizadores coinciden espacio temporalmente (RAINE *et al.*, 2001). Además la producción de cuerpos de Belt sólo se da en hojas jóvenes donde se encuentra el tejido fotosintético más valioso para la planta, para dirigir puntualmente allí su defensa (JANZEN, 1966).

Finalmente subrayar la disyuntiva a la que ciertas especies de plantas mirmecófilas de *Acacia* y hormigas *Pseudomyrmex* se han tenido que enfrentar a lo largo de un gran tramo de tiempo geológico, de la que ahora nosotros sólo somos espectadores de los resultados expresados en un mosaico dinámico de estrategias evolutivas que han tomado y que siguen tomando este tipo de especies para su subsistencia dentro del planeta.

Los objetivos del estudio son:

LA EVALUACION DE LA EFICIENCIA DEFENSIVA DE DOS HORMIGAS DEL GÉNERO PSEUDOMYRMEX SOBRE PLANTAS DE ACACIA CORNIGERA

El escenario fue una zona de selva baja caducifolia del centro de Veracruz, donde se daba la interacción mirmecófila de *Acacia cornigera* (L.) Willendow con dos especies de hormigas *Pseudomyrmex*: *P. ferrugineus* Smith y *Pseudomyrmex gracilis* Roger (WARD, 1993). Tras haber encontrado a nivel exploratorio que *P. ferrugineus* coloniza 2.1 veces más plantas de *Acacia cornigera* que *P. gracilis*, y que las plantas colonizadas por *P. ferrugineus* son más grandes en tamaño (medido en cobertura, altura y diámetro basal) que aquellas plantas colonizadas por *P. gracilis* y que además hay un posible efecto de contagio en la colonización de las plantas, el sistema brinda la oportunidad de indagar sobre la aparente diferencia en el potencial defensivo de ambas especies de hormigas sobre sus plantas huésped. (Para más detalles leer: SÁNCHEZ-GALVÁN & RICO-GRAY, 2011)

¿PRESENTAN LAS DOS ESPECIES DE HORMIGAS PSEUDOMYRMEX IGUAL EFICIENCIA DEFENSIVA PARA CON SUS ACACIAS HOSPEDERAS?

Para contestar esta pregunta fue necesario hacer uso de un Índice de herbivoría (IH) propuesto por DOMÍNGUEZ & DIRZO en 1995 para evaluar el desempeño defensivo de las hormigas en la protección de sus plantas. Este índice toma valores en un rango categórico que va de 0-5, cada valor categórico representa un intervalo de porcentaje de tejido foliar consumido por herbívoros (CATEGORÍA 0= 0% (sin daño foliar), CATEGORÍA 1= 1-6% de tejido dañado, CATEGORÍA 2= 7-12% de tejido dañado, CATEGORÍA 3=13-25% de tejido dañado, CATEGORÍA 4= 26-50%, CATEGORÍA 5= DE 50%-100%). Cada categoría la modificamos y adaptamos a las observaciones en campo sobre la herbivoría de las hojas compuestas de las *Acacias* evaluadas. De cada planta aleatoriamente se escogieron 10 hojas y por cada foliolo que conformaba cada hoja se determinaba y registraba su herbivoría utilizando la categoría de daño antes mencionada para después expresarlo en la siguiente fórmula:

$$IH = \sum (Hi) (i) / n$$

Dónde:

Hi es el número absoluto de foliolos en la categoría *i* de daño; *i* es la categoría (que va de 0 a 5) y *n* es el número total de foliolos que hay en la hoja.

Por último una vez obteniendo el IH por hoja se extrapola mediante un promedio para obtener un Índice de Herbivoría por árbol y así por grupo para su posterior contraste (árboles colonizados por *P. ferrugineus* Vs. árboles colonizados por *P. gracilis*).

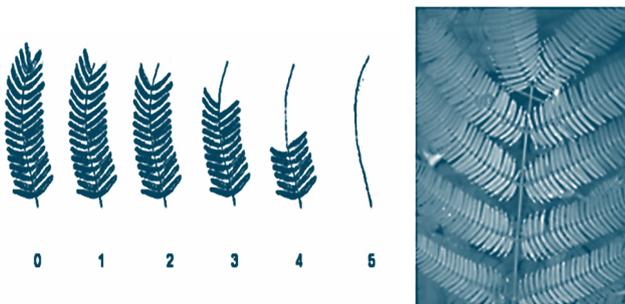


Figura 3.- Esquema del índice categórico seguido en campo, que detalla el índice adaptado para evaluar la herbivoría de las hojas compuestas de las acacias encontradas en los transectos estudiados (n=169 plantas).

Como resultado se encontró que, las *Acacias* ocupadas por *P. ferrugineus* tienen menor daño foliar que aquellas colonizadas por *P. gracilis* ($t=-11.525$, $gl=167$, $p<.001$). Este resultado sigue coincidiendo con la idea de que las hormigas *Pseudomyrmex ferrugineus* para este sistema son más eficientes en términos de defensa anti-herbívoro para las plantas que *P. gracilis*.

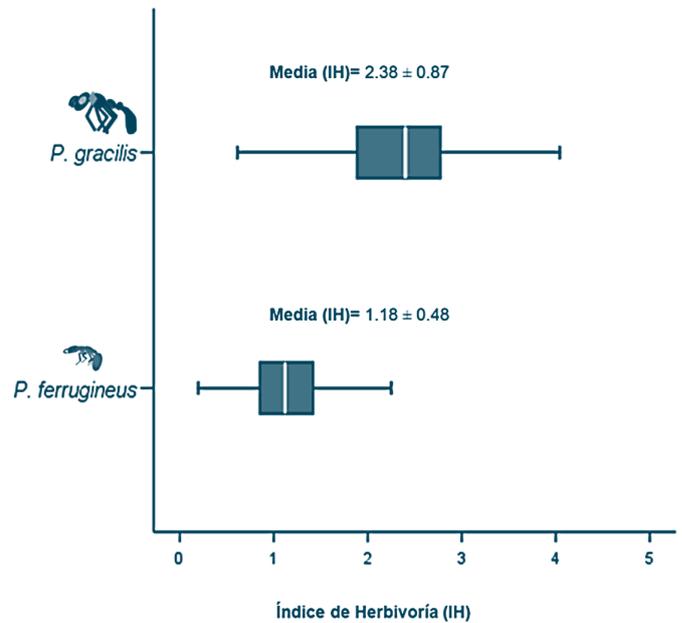


Figura 4.- Diagrama que representa los valores medios de herbivoría de aquellas plantas ocupadas por *P. gracilis* y de aquellas ocupadas por hormigas *P. ferrugineus* en los transectos evaluados (n=169 plantas).

Tras este resultado, aún se podría preguntar, si la especie de hormiga *P. ferrugineus* coloniza activamente más plantas, que son las más grandes y con menos herbivoría por una cuestión meramente casual o por otras razones donde no necesariamente se deben a su efectividad defensiva al compararla con *P. gracilis*. Sin embargo la historia natural de la interacción advierte que las plantas son colonizadas en estados ontogénicos tempranos por lo cual el desempeño subsecuente de las plantas es producto de la asociación con la hormiga. Tenemos hasta ahora una evidencia indirecta de que las hormigas *P. ferrugineus* brindan una mejor función defensiva a las plantas, todo a un nivel de observación robusta en campo, lo siguiente es corroborarlo a nivel experimental.

La manipulación experimental consistió en simular la presencia de los herbívoros con orugas hechas de plástico que colocamos en el centro de hojas focales en árboles colonizados por *P. ferrugineus* y por *P. gracilis* respectivamente. También se procuró que ambos grupos de plantas fueran de arquitecturas similares. Los estímulos fueron colocados a un mismo nivel filotaxico y se colocaron al mismo tiempo, registrando el tiempo de respuesta de la primera hormiga que se acercaba a este falso intruso (es decir el tiempo de la llegada de la primera hormiga) durante el tiempo de aplicación de este estímulo (durante 5 minutos).

herbívoro falso (5 minutos= 300 segundos). Y como resultado obtuvimos que la especie de hormiga *P. ferrugineus* responde significativamente más rápido ante tal estímulo (Cox's $F=1.75$, $P<0.001$).

Hasta el momento con estos hallazgos obtenidos: *i) el mayor porcentaje de colonización, ii) mantener plantas más grandes y más libres de herbivoría, iii) responder de manera más rápida al herbívoro simulado*, ya se pueden tener argumentos suficientes para decir que la hormiga *P. ferrugineus* es dentro de este sistema (*Acacia-P. ferrugineus*, *P. gracilis*), una especie más eficiente en la defensa de Acacias que *P. gracilis*.

Sin embargo, sin duda alguna la presencia de *P. gracilis* dentro de este sistema es de un 32.4% de ocupación del total de las plantas monitoreadas. Al respecto LARS y colaboradores en el 2008 señalan que *P. gracilis* tiene una historia de vida diferente a *P. ferrugineus* que involucra la producción de colonias pequeñas con una alta proporción de formas aladas, características que le confieren la capacidad de moverse más y colonizar más plantas. Esto se interpreta como una estrategia "r" que involucra un crecimiento rápido y óptimo en la inversión reproductiva. Pero, ¿podría haber otros mecanismos que estén promoviendo la persistencia de la interacción *Acacia- P. gracilis*?, Quizás la manipulación experimental con un herbívoro simulado solo en apariencia, no es un estímulo completamente fiel para simular la herbivoría, porque seguramente hay sustancias químicas intrínsecas a las plantas que estén mediando la interacción mirmecófila (Para seguir esta historia, es importante ahora leer AGRAWAL & DUBIN THALER, 1999)

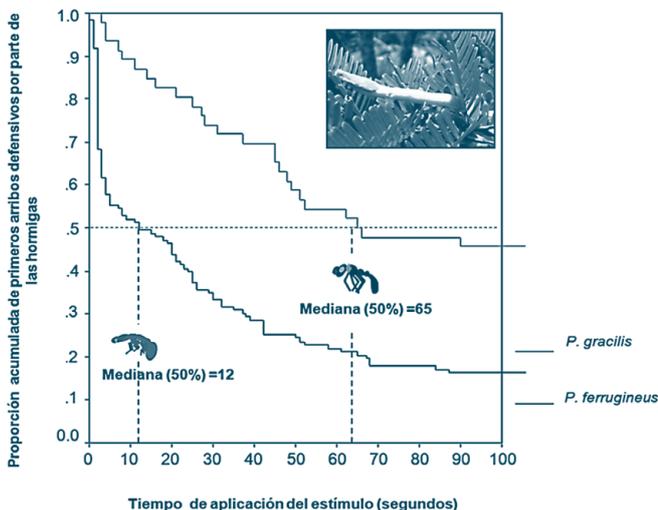


Figura 5.- Diagrama de Kaplan-Meier que representa el radio agregado de los tiempos de la primera llegada en un diseño experimental pareado (n=55 pares) ante los estímulos aplicados sobre plantas colonizadas por *P. ferrugineus* y *P. gracilis*.

Un Análisis de Tiempo de Fallas fue aplicado en la determinación de celeridad defensiva para ambas especies de hormigas, donde obtuvimos la mediana de los tiempos de la primera llegada (50% de primeras llegadas de hormigas que arribaron a un j tiempo) para las dos especies de hormigas *Pseudomyrmex* ante la exposición de la presencia del

AGRADECIMIENTOS

Los autores queremos hacer un especial agradecimiento al Dr. Alex Wild por las imágenes de la interacción *Acacia-Pseudomyrmex* que nos ha proporcionado amablemente.



REFERENCIAS

- AGRAWAL, A. A. & DUBIN-THALER B. J. 1999. Induced responses to herbivory in the Neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Beh. Ecol. Socio.* 45:47-54
- DIAZ-CASTELAZO, C., V. RICO-GRAY, P.S. OLIVEIRA, & M. CUATLE. 2004. Extrafloral nectary-mediated ant-plant interactions in the coastal vegetation of Veracruz, México: richness, occurrence, seasonality and ant foraging patterns. *Ecoscience* 11: 472-481.
- DIRZO, R., MARTÍNEZ, R. I., Y SINACA COLÍN., S. 1997. *Acacia cornigera*. En: González, E., Dirzo, R. y Vogt, R.C. *Historia Natural de Los Tuxtlas*. (Eds.) CONABIO, Instituto de Biología, Instituto de Ecología UNAM, México. Pp. 87-88.
- DOMÍNGUEZ, C. A. & R. DIRZO. 1995. Plant herbivore interactions. En: S. H. Bullock, E. Medina & H. A. Mooney (eds.) *Mesoamerican tropical dry forests. Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge University Press. Cambridge. Pp. 304 – 325.
- EUBANKS, M., NESCI K., PETERSEN, K., LIU, M. & BONFIL, H. 1997. The exploitation of an ant-defended host plant by a shelter-building herbivore. *Oecología* 109:454-460.
- FERNÁNDEZ, F. (ED.). 2003. *Introducción a las Hormigas de la región Neotropical*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, Bogotá, Colombia. 424 pp.
- GÓMEZ-ACEVEDO, S., L. RICO-ARCE, DELGADO-SALINAS, A., S. MAGALLÓN & EGUIARTE, L. E. 2010. Neotropical mutualism between *Acacia* and *Pseudomyrmex*: Phylogeny and divergence times. *Mol. Phyl. and Evol.* 56:393–408.
- GÓMEZ-POMPA, A. 1966. *Estudios botánicos en la región de Misantla*, Veracruz. Instituto Mexicano de Recursos Naturales Renovables (Ed), A. C. México, D.F. 173 pp.
- HEIL M., BAUMANN B., KRÜGER, R., & LINSENMAIR, E. 2004. Main nutrient compounds in food bodies of Mexican *Acacia* ant- plants. *Chemoecology* 14:45-52.
- HEIL M., RATTKE, J. & BOLAND, W. 2005. Postsecretory hydrolysis of nectar sucrose and specialization in ant/plant mutualism. *Science* 308:560-563.
- HUXLEY, C. R. & CUTLER, D.F. (ED) 1991. *Ant-plant interactions*. Oxford: Oxford University Press. 601 pp.
- JANZEN, D.H. 1966. Coevolution of mutualism between ants and *Acacias* in Central America. *Evolution* 20:249-275.
- JANZEN, D. H. 1969. Birds and the Ant - *Acacia* interaction in Central America, with notes on birds and other myrmecophytes. *Condor* 71:240–256.
- KOPTUR S. 1992. Extrafloral nectary-mediated interactions between insects and plants. En: E. Bernays Boca Raton (Edit). *Insect-plant interactions*, FL: CRC Press. Pp. 81-129.
- LARS C.W., KÖPPEN S. C. W., BRAND A. W. & HEIL M. 2008. Strategies of a parasite of the ant-*Acacia* mutualism. *Beh. Ecol. Socio.* 62:953-962.
- RAINE N.E., WILLMER P. & STONE G.N. 2001. Spatial structuring and floral avoidance behavior prevent ant-pollinator conflict in a Mexican ant-*Acacia*. *Ecology* 83:3086-3096.
- RICO-ARCE, M. de L. 2007. A checklist and synopsis of American Species of *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae.) *CONABIO*, MÉXICO, 207 pp.
- RICO-GRAY, V. & OLIVEIRA, P. S. 2007. *The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions*. Chicago Press, USA. 320 pp.
- SÁNCHEZ, I. R. & RICO-GRAY, V. 2011. La fuerza del amor en el Neotrópico: Contraste en la eficiencia defensiva de dos especies de hormigas del género *Pseudomyrmex* sobre plantas de *Acacia cornigera*. (Parte I). *Cuadernos de Biodiversidad* No. 35. España, 23 pp.
- SEIGLER, D. S. & EBINGER, J. E. 1987. Cyanogenic glycosides in ant-*Acacias* of Mexico and Central America. *The Southwestern Naturalist* 32 (4):499-503.
- WAGNER, D. 2000. Pollen viability reduction as a potential cost of ant association for *Acacia constricta* (Fabaceae). *Amer. Jour. of Bot.* 87:711-715.
- WARD, P. S. 1993. Systematic studies on *Pseudomyrmex Acacia*-ants (Hymenoptera; Formicidae: Pseudomyrmecinae). *Jour. Hymenop. Research.* 2:117-168.
- ZAR, J. H. 1996. *Biostatistical Analysis*. 3rd edition. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, New Jersey, USA. 662 pp.