

### III. LOS ORGANISMOS

Sin duda, el estudio de los organismos asociados a distintas áreas es una de las temáticas más comunes entre manejadores de recursos. Para iniciar estos estudios se requiere de bases sólidas en el diseño del muestreo que permitan obtener representatividad en las muestras y poder tomar las decisiones con la información correcta.

Este planteamiento básico implica una gran complejidad. Aunque en principio el muestreo de los distintos grupos de organismos está sustentado en los mismos principios, existen muchas diferencias en la biología de los organismos que se traducen en ajustes metodológicos indispensables.

El muestreo de organismos sésiles como las plantas o de los microorganismos del suelo, requiere de técnicas y métodos muy diferentes a los empleados en comunidades y poblaciones de moluscos, insectos o vertebrados. De la misma manera, entre los distintos grupos animales las diferencias no son menores. Este apartado no incluye todos los grupos animales, ya que se hubiera requerido de mucho mayor amplitud, sin embargo, se seleccionaron algunos grupos que pueden ser un buen modelo de muestreo y que proveen metodologías que pueden ser aplicadas a otros grupos zoológicos no incluidos.

Este apartado incluye las técnicas para muestrear los microorganismos del suelo, insectos terrestres (aunque se hacen algunas menciones a acuáticos), moluscos, aves, mamíferos y vegetación.



## 6

### MICROORGANISMOS DEL SUELO

José Alberto Ramos Zapata\*

#### Introducción

Para entender la fisiología de un microorganismo en el suelo, es necesario que la naturaleza física y química del ambiente suelo sea entendida. El suelo consiste de minerales de varios tamaños, formas y características químicas, junto con las raíces de las plantas, población de organismos vivos y un componente de materia orgánica en varias etapas de descomposición. La porción abiótica del ecosistema del suelo posee varios componentes reconocibles: las condiciones físicas y químicas y los aspectos estructurales.

Cada especie de microorganismo posee un valor óptimo para cada factor físico y químico, que influye en su crecimiento o actividad, los cuales declinan a ambos lados del valor óptimo, influyendo en el desarrollo de la población total.

*Superficies.* Principalmente arena, arcilla y limo. Las arcillas retienen iones y una gran variedad de las enzimas del suelo por lo que muchas de las reacciones son llevadas a cabo en esta superficie. Contribuyen a la formación de espacios porosos que pueden afectar el comportamiento de las comunidades microbianas (Lynch, 1983; Rutherford y Juma, 1992; England *et al.*, 1993; Killham, 1994).

*Agua.* El agua es indispensable para la movilidad de los microorganismos del suelo. La cantidad de agua en el suelo depende de su textura y estructura, los poros muy pequeños retienen fuertemente el agua contra la fuerza de gravedad, pero también impiden que algunos organismos la puedan emplear (Lynch, 1984; Lynch y Hobie, 1988; Saring *et al.* 1992).

---

\* Departamento de Biología Experimental. FMVZ, Universidad Autónoma de Yucatán, México.

*Temperatura.* Las actividades microbianas son gobernadas por las leyes de termodinámica. Los cambios en la temperatura del suelo tienen marcada influencia sobre la actividad microbiana. Un aumento en la temperatura tienen un efecto estimulador si la humedad no es limitante (Lynch y Hobie, 1988).

*Acidez y alcalinidad.* La composición de la comunidad microbiana del suelo es altamente dependiente del valor de pH del suelo. La medición del pH del suelo, puede indicar la capacidad de los suelos para soportar las reacciones microbianas.

Cuadro 1

Constituyentes	Diámetro o grosor (mm)
Inorgánicos	50-2000
Arena	2-50
Limo	< 2
Arcilla	
Microorganismos	
Bacteria	0.5-1.0
Actinomicetes	1.0-1.5
Hongos	0.3-10
Plantas	
Pelos radiculares	40-100

Tamaño de los constituyentes del suelo (Modificado de Lynch, 1983)

En el suelo se han hallado más de 1000 enzimas, algunas de las cuales son pH dependientes (Lynch, 1983; Sinsabaugh *et al.*, 1991; Killham, 1994).

*Gases.* Los gases del suelo son nitrógeno, oxígeno y bióxido de carbono. Esta atmósfera es el resultado de un número de procesos relacionados. En la respiración se utiliza oxígeno y se libera bióxido de carbono. Cuando el oxígeno desaparece, la actividad microbiana continúa en las comunidades capaces de emplear otros aceptores de electrones (Killham, 1994)(Cuadro 2).

*Potencial Redox.* Las actividades no fotosintéticas oxidan substratos reducidos obteniendo energía de origen orgánico e inorgánico produciendo ATPs. El aceptor de electrones efectivo en un suelo está determinado por el potencial redox del mismo (afinidad de una sustancia por ganar o perder electrones) (Lynch, 1983; Killham, 1994)(Cuadro 2).

Diversos componentes del suelo funcionan como fuente de nutrimentos para los microorganismos que lo habitan, entre ellos destacan: los minerales, materia orgánica, exudados radicales y biomasa (organismos y plantas). A continuación se mencionan brevemente:

*Minerales del suelo.* Captación de gran cantidad de energía por medio de la intemperización de los minerales. Producción de ácidos orgánicos por las pobla-

ciones quimioautótrofas, estas reacciones normalmente están acopladas a fuentes de energía luminosa (Paul y Clark, 1989; Hassink, 1994).

*Materia orgánica.* Fuente primordial de energía para los microorganismos. La materia orgánica es degradada por una serie de reacciones secuenciales, regidas por enzimas. La lignina es el componente vegetal más recalcitrante. La degradación provoca la formación de ácidos húmicos. La población microbiana en general lleva a cabo este proceso, siendo los hongos los descomponedores más

Cuadro 2

Aceptor terminal de electrones y producto final reducido	Proceso ambiental	Potencial redox a pH 7 (mV)	Biota del suelo involucrada
$O_2 + e^- = H_2O$	Respiración aeróbica	+820	Raíces de plantas, animales y microorganismos aeróbicos
$NO_3^- + e^- = N_2$	Denitrificación	+420	<i>Pseudomonas</i>
$Mn_4^+ + e^- = Mn_3$	Reducción de manganeso	+410	<i>Bacillus</i> , etc.
Materia orgánica + $e^- =$ ácidos orgánicos	Fermentación	+400	<i>Clostridium</i> , etc.
$Fe_3^+ + e^- = Fe_2^+$	Reducción de hierro	-180	<i>Pseudomonas</i>
$NO_3^- + e^- = NH_4^+$	Reducción desasimilatoria de nitrato	-200	<i>Achromobacter</i>
$SO_4^{2-} + e^- = H_2S$	Reducción de sulfato	-220	<i>Desulfovibrio</i>
$CO_2 + e^- = CH_4$	Metanogénesis	-240	<i>Methanobacterium</i>

Secuencia de los aceptores terminales de electrones utilizados en el ambiente del suelo asociado con el potencial redox a un pH 7 (Modificado de Killham, 1994).

activos (Lynch y Hobie, 1988; Paul y Clark, 1989; Parkinson y Coleman, 1991; Sinsabaugh *et al.*, 1991; Killham, 1994).

*Rizodeposiciones o exudados radicales.* Se encuentran principalmente constituidos por carbohidratos (90%) y aminoácidos (10%). Crecimiento microbiano abundante alrededor de las raíces (Barber y Lynch, 1976), lo que provoca la incorporación de carbohidratos simples al metabolismo microbiano. Mientras que los carbohidratos complejos son degradados e incorporado en etapas secuenciales. Población microbiana de la rizosfera. Organismos simbióticos que de alguna

manera regulan las excreciones. Ej. *Rhizobium*, *Glomus*, *Phytophthora* (Subba Rao, 1982, Richards, 1987, Lynch y Hobie, 1988; Paul y Clark, 1989; Killham, 1994).

*Biomasa viva*. La cual se utiliza por medio de la ingestión de organismos vivos del suelo. Se emplean los otros microorganismos para su reproducción. Los protozoarios depredan bacterias. Hongos depredan nemátodos. Virus depredan bacterias (Parkinson y Coleman, 1991; England *et al.*, 1993; Hassink *et al.*, 1994; Hintze *et al.*, 1994).

### **Biomasa microbiana**

La biomasa microbiana del suelo es la fuerza de conducción de la mayoría de los ecosistemas terrestres ya que esta biomasa controla la tasa de reciclamiento y mineralización de los substratos orgánicos (Parkinson y Coleman, 1991; Killham, 1994; van Elsas y Smalla, 1997).

Muchos de los suelos representan un ambiente «oligotrófico» nutricionalmente pobre. Los microorganismos y sus actividades, por lo tanto, no se encuentran a lo largo de todo el perfil del suelo, concentrándose únicamente en ciertos nichos o «manchas hospederas» tales como la rizosfera, tracto digestivo de algunos animales, cerca de substratos orgánicos e inorgánicos disponibles, y los más pequeños en los poros del suelo llenos de agua donde sus depredadores se ven excluidos (England *et al.*, 1993; Hassink, 1994).

Aunque menos del 0.5% del espacio poroso se encuentra realmente ocupado por los microorganismos, existen pocos, si algunos, poros en el suelo en los que no existan microorganismos. Los poros del suelo de mayor diámetro son accesibles para todos los microorganismos, mientras que los poros muy pequeños tienden a ser ocupados únicamente por ciertas bacterias. Incluso los poros muy pequeños serán ocupados por virus del suelo (Lynch, 1983; England *et al.*, 1993). La biomasa microbiana del suelo incluye a:

Las bacterias poseen una gran variedad de funciones en el suelo. La descomposición de animales, plantas y residuos microbianos es llevada a cabo por bacterias heterótrofas. Estas bacterias tienden a ser los miembros más numerosos de la comunidad microbiana del suelo y su selectividad de los substratos varía grandemente de una especie de bacteria a otra. Las bacterias quimioautótrofas del suelo, juegan un papel importante en los ciclos de nutrimentos (Alexander, 1980; Lynch, 1983; Parkinson y Coleman, 1991; Killham, 1994).

La composición de la población bacteriana del suelo frecuentemente puede indicar las condiciones físicas y químicas del mismo. La presencia activa de una bacteria como *Clostridium*, es indicativa de condiciones anaeróbicas, ya sea en el

suelo en su totalidad o bien en los micrositios. Ejemplos: *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*.

Muchos de los actinomicetos del suelo, son saprófitos de vida libre, capaces de descomponer una gran cantidad de substratos carbonados. Es debido a su habilidad para degradar compuestos altamente recalcitrantes tales como quitina, celulosa y hemicelulosa, en condiciones particulares de valores altos de pH del suelo, lo que hace que los actinomicetos sean altamente especializados. Entre los actinomicetos del suelo se encuentran especies patógenas, como es el caso de *Streptomyces scabies*. Muchos de los actinomicetos del suelo producen antibióticos como la estreptomycin. Los actinomicetos generalmente no constituyen una parte importante de la comunidad de microorganismos del suelo, sólo en condiciones severas y de gran estrés este grupo predomina en un suelo. Ejemplo: *Streptomyces* (Lynch, 1983; Killham, 1994).

En biomasa, los hongos son los dominantes en la microbiota del suelo. Los hongos poseen un amplio rango de funciones en el suelo, incluyendo su papel como simbioses de plantas, patógenos de plantas y animales, oligótrofos, e incluso carnívoros, sin embargo su papel más importante en el suelo desde el punto de vista ecológico, es la descomposición de la materia orgánica desde los azúcares simples y aminoácidos hasta polímeros muy resistentes como la lignina y complejos de ácidos húmicos del suelo. Gracias a su gran tolerancia a la acidez, comparado con las bacterias heterótrofas, la descomposición de la materia orgánica en suelos ácidos es en su mayoría realizada por hongos. El papel de los hongos como simbioses, específicamente en micorrizas, es de gran importancia para el desarrollo de plantas, por su papel en la toma de nutrimentos, resistencia a enfermedades y relaciones hídricas favorables. Ejemplos: *Glomus*, *Fusarium*, *Gigaspora*, *Trichoderma*, *Pythium*, *Penicillium* (Alexander, 1980; Lynch, 1983; Parkinson y Coleman, 1991; Killham, 1994).

La población de algas del suelo, ve restringida su distribución y actividad a las partes del suelo en las que penetra la luz solar. Por lo tanto la superficie del suelo y las grietas del mismo son las zonas de mayor actividad de las algas (Lynch, 1983; Killham, 1994).

En general, en suelos de climas templados, las algas verdes son las más abundantes. En suelos tropicales sin embargo, las algas verde-azules son las más numerosas y de mayor importancia ecológica (Lynch, 1983).

Debido a que las algas son fotoautótrofas, no dependen de materia orgánica preformada en el suelo, por lo que son de una importancia fundamental como colonizadores primarios de áreas desiertas expuestas a la luz solar. El papel de las algas como colonizadores, se ve reforzado por la producción de ácidos carbónicos como resultado de su metabolismo, lo cual acelera el intemperismo de los minerales y la formación de suelo, particularmente durante sus primeras etapas.

Ejemplos: *Chlorella*, *Clamydomonas*, *Nostoc*, *Anabaena*, *Pinnularia*, *Navicula*, *Heterothrix* *Heterococcus* (Alexander, 1980; Lynch, 1983; Killham, 1994).

Los protozoarios se restringen a ocupar los primeros 15 a 20 cm del suelo, debido a la gran cantidad de presas microbianas posibles de ser consumidas. Las actividades alimenticias de los protozoarios no se basan únicamente en la depredación de microorganismos, ya que pueden involucrarse en la descomposición primaria de la materia orgánica del suelo. Los protozoarios toman y procesan partículas orgánicas finas, tal como ocurre en el tracto digestivo de muchos animales, y juegan un papel importante en la descomposición de residuos celulolíticos. Ejemplos: *Ciliata*, *Amoeba*, *Paramecium*, *Flagellata* (Alexander, 1980; Lynch, 1983; Killham, 1994).

El suelo no es el hábitat natural de los virus y la única actividad que realizan es sobrevivir, comúnmente se encuentran recluidos en los espacios porosos pequeños. Los virus son parásitos obligados que requieren de la presencia de un hospedero para reproducirse. Aunado a lo anterior, el aporte en biomasa a la cantidad de biomasa total del suelo es insignificante (Killham, 1994).

Los únicos virus que han captado la atención de los microbiólogos son aquellos capaces de producir enfermedades en las plantas y que permanecen latentes en el suelo. Otro ejemplo de virus capaz de afectar económicamente al hombre, son aquellos bacteriófagos que atacan a *Rhizobium* (Lynch, 1983; Killham, 1994).

## **Técnicas de muestreo para el estudio de microorganismos del suelo**

### *Aislamiento, cultivo e identificación de bacterias del suelo*

Los ambientes naturales son extremadamente diversos y la mayoría contiene un amplio rango de microorganismos que reflejan la naturaleza del hábitat y la habilidad individual para competir exitosamente y coexistir en un ecosistema dado.

Muchas veces el microorganismo de interés se encuentra en una cantidad o concentración baja en el ecosistema, por lo que es necesario alguna forma de enriquecer el medio para favorecer el crecimiento del organismo, antes del aislamiento. Este enriquecimiento deliberado de un microorganismo a expensas de otros data del trabajo de Schloesing y Müntz (1877) que demostraron que la oxidación de compuestos amoniacales a nitratos era un proceso biológico, esta técnica de enriquecimiento llevaron a Winogradsky y Beijerinck a fundar la ecología y fisiología de microorganismos.

*Tipos de sistemas enriquecidos*

En la actualidad dos sistemas de cultivos enriquecidos son usados: el medio enriquecido más comúnmente usado es el sistema cerrado, en el cual el inóculo se agrega al medio de crecimiento líquido o sólido al cual se ajustan las condiciones físico-químicas, de tal forma que se ve favorecido el microorganismo deseado. Por lo tanto la bacteria forma la población dominante bajo estas condiciones, favoreciendo su aislamiento. La mayor ventaja de este sistema cerrado es que requiere equipo simple: botellas o matraces y pocos reactivos económicos. Un microorganismo que se desarrolla en un sistema enriquecido, claramente depende de la composición química del medio usado, así como de otras características tales como temperatura, capacidad redox, pH, presencia de inhibidores, luz, fase gaseosa y otros. Aparentemente, por lo tanto, para enriquecer un medio de acuerdo a alguna bacteria es necesario conocer su fisiología, lo cual paradójicamente sólo es posible cuando se posee estudios del organismo en cultivos puros (Herbert, 1982; Parkinson y Coleman, 1991).

Las desventajas de estos sistemas son: que los sistemas cerrados tradicionalmente tienen un nivel de nutrientes inicial muy alto para promover el crecimiento de la bacteria de interés, sin embargo, como proceso de crecimiento hay un cambio en el medio y los niveles originales de nutrientes se modifican provocando una acumulación de subproductos. Ya que los cambios químicos se deben a las actividades metabólicas del inóculo, la composición química del medio no puede ser controlada, por lo tanto es importante no perder la etapa en la que el microorganismo de interés se vuelve dominante. Sin embargo, la complejidad de los cambios que ocurren durante el crecimiento en sistemas cerrados, son tales que es muy difícil predecir que especie se volverá dominante y cuando (Herbert, 1982).

Otra desventaja de estos sistemas, es que los niveles de nutrientes en sistemas cerrados son innecesariamente altos en comparación con los sistemas naturales los cuales son usualmente pobres.

En un intento de resolver estas desventajas del sistema cerrado, Jannasch (1965) ideó el uso de sistemas de cultivo continuo. En estos sistemas abiertos, tales como fermentadores, la extinción de los nutrientes y la acumulación de compuestos de desecho no son problema, ya que medio fresco es añadido continuamente y los productos de desecho removidos. De acuerdo con Jannasch (1965) las ventajas de este sistema continuo son:

- i) no ocurre una sucesión de especies, por lo que la predominancia de una especie se incrementa con el tiempo.

- i) el crecimiento ventajoso de un microorganismos no depende de la especificidad del substrato sino de los parámetros individuales de crecimiento del microorganismo en las condiciones de cultivo provistas, si estas son conocidas y estables, entonces el enriquecimiento es reproducible.
- iii) el enriquecimiento puede llevarse a cabo en presencia de concentraciones extremadamente bajas de un nutriente limitante de crecimiento, por lo tanto, se pueden obtener poblaciones de microorganismos que crezcan mejor en condiciones de baja concentración de nutrientes.

### **Manipulación de las condiciones ambientales y agentes selectivos usados en medios enriquecidos**

#### *Temperatura.*

La temperatura claramente afecta a los microorganismos en los sistemas enriquecidos así como lo hace en su ambiente natural. Los organismos psicrófilos requieren de una temperatura baja de incubación en los sistemas enriquecidos, mientras que organismos mesófilos crecen mejor a temperaturas entre 20 y 33° C. Los organismos termófilos pueden ser rápidamente aislados a temperaturas altas de 55 a 65° C. Por ejemplo si *Bacillus stearothermophilus* se encuentra presente en una muestra puede ser rápidamente aislado de otros componentes de la microflora, incubando la muestra a 65° C (Herbert, 1982; Lynch y Hobie, 1988).

#### *pH.*

El crecimiento y reproducción de los microorganismos se encuentra grandemente influenciado por el pH del medio de crecimiento. La mayoría de las bacterias pueden crecer únicamente dentro de un rango de pH de 4.0 a 9.0 con un crecimiento óptimo entre pH 6.5 y 8.5. Muy pocas bacterias pueden crecer a pH 3.0 o más bajo como son las bacterias acidófilas (Tiobacilos y Lactobacilos). Usando un medio selectivo con una baja capacidad de amortiguación, la producción ácida permite el enriquecimiento de bacteria acidófilas a expensas de la mayoría de la microflora del inóculo inicial. Por lo tanto, cuando se desea un medio enriquecido para aislar bacterias sensitivas al cambio de pH, frecuentemente se usan buffers en el medio (Herbert, 1982, Baath *et al.*, 1992; Killham, 1994).

Para minimizar este cambio de pH en sistemas cerrados, la concentración del o los compuesto(s) responsables del cambio de pH se deben reducir al mínimo.

Otra alternativa frecuentemente usada es transferir el medio desarrollados a un medio fresco para asegurar que no ocurra un cambio excesivo de pH (Herbert, 1982).

### *Luz.*

La selección de microorganismos fototróficos no depende solamente de las longitudes de ondas de la luz sino de los niveles de irradiación usados. Las bacterias sulfurosas verdes y azules son fototróficas, por lo que pueden ser enriquecidas selectivamente en un medio mineral en la presencia de  $H_2S$ , condiciones anaeróbicas y luz. Las bacterias azules no sulfurosas pueden ser aisladas de manera similar, cambiando el  $H_2S$  por un donador de electrones apropiado. Usando filtros se puede excluir una longitud de onda de luz particular.(v.g. filtros infrarrojos transmiten longitudes de ondas mayores de 800 nm, bacterias azules sulfurosas se pueden seleccionar en estas condiciones). La irradiación de luz aplicada también afecta significativamente el enriquecimiento y el aislamiento subsecuente de bacterias fototróficas (Herbert, 1982).

### *Condiciones aeróbicas o anaeróbicas.*

En sistemas cerrados la aerobiosis se obtiene en volúmenes aplanados de medio como en matraces o cajas de Petri. Sin embargo, aún en estas condiciones la tensión de oxígeno es alta solamente en la superficie del medio y el crecimiento desarrollado provoca que esta tensión disminuya incluso en la superficie. Si se requiere tensiones altas de oxígeno, éstas pueden ser alcanzadas ya sea por la agitación del medio o bien por la aireación con aire estéril. Sin embargo aún en aerobios estrictos la tensión de oxígeno es importante y el aumento de ésta puede provocar una disminución del crecimiento por lo que en muchos casos el enriquecimiento es más exitoso en cultivos estacionarios, donde el oxígeno es limitado que en condiciones con un exceso de oxígeno (Lynch, 1983; Lynch y Hobie, 1988; Killham, 1994; Phelps *et al.*, 1994).

La incubación de medios enriquecidos en ausencia de oxígeno, permite el desarrollo de bacterias quimio-organotróficas facultativas u obligadas y si la luz está presente de fotoautótrofos. Términos como micro-aerófilicos, anaerobios no exactos y estrictamente anaerobios deben ser evitados ya que son imprecisos. Una mejor descripción para expresar anaerobiosis es en los términos de potencial de oxidación-reducción (Eh) el cual puede ser medido de manera precisa (Herbert, 1982; Paul y Clark, 1989; Phelps *et al.*, 1994).

Diversos métodos para el crecimiento de anaerobios se encuentran disponibles: Jarras anaeróbicas, tubos rodantes, agar agitado, y tubos de Pankhurst. Sin embargo la forma más simple de un medio de enriquecimiento anaerobio es usar una botella con tapa rosca preferentemente con un radio más alto de líquido que de gas para minimizar el ingreso de oxígeno (Herbert, 1982).

#### *Elementos traza y cofactores.*

En condiciones normales hay suficientes elementos traza presente en los reactivos usados para preparar el medio de enriquecimiento. Sin embargo para evitar cualquier deficiencia en algún elemento traza, éstos son incluidos en el medio. Una importante característica de éstos elementos es que no solamente deben estar presentes sino disponibles. Un problema frecuente cuando se incorporan éstos es que coprecipitan cuando se esteriliza el medio en autoclave, para evitar esto, los elementos traza deben ser esterilizados por filtración y añadidos asépticamente cuando el medio se encuentra frío (Herbert, 1982).

Además de elementos traza, algunas bacterias requieren de factores de crecimiento. Por ejemplo: algunas bacterias sulfurosas azules o verdes requieren de vitamina B12, mientras que algunas bacterias azules no sulfurosas (*Rhodospseudomonas sphaeroides*) requieren tiamina, biotina y ácido nicotínico para crecer.

Los factores de crecimiento requeridos pueden ser satisfactoriamente añadidos en cantidades pequeñas de extracto de levadura, el cual contiene un amplio rango de aminoácidos y vitaminas del grupo B, aunque la vitamina B12 no está presente en extracto de levadura y debe de añadirse de manera adicional.

#### *Inhibidores.*

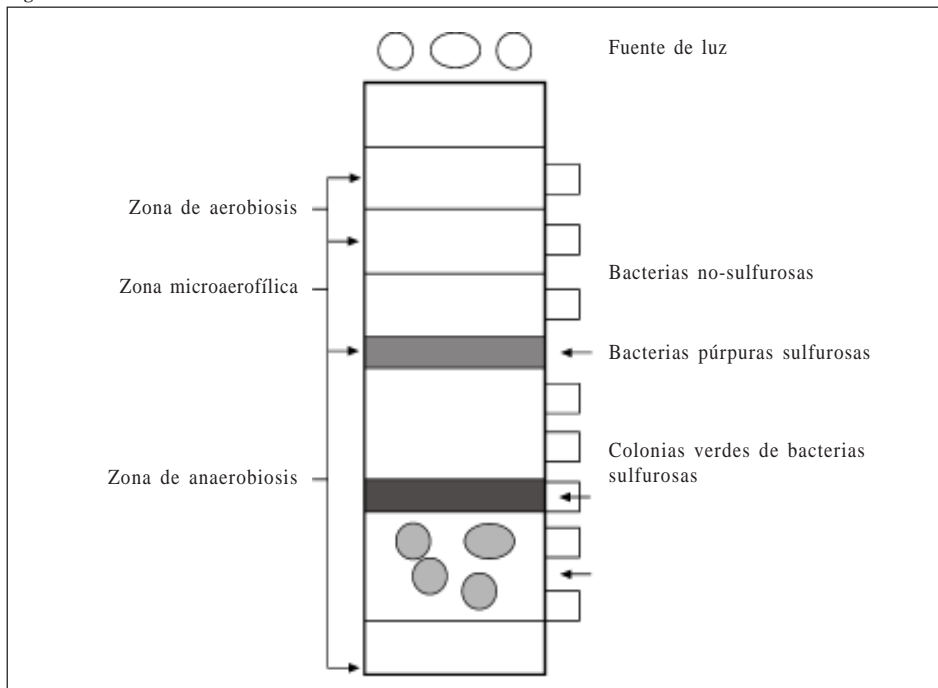
La adicción de compuestos inhibidores en los medios de enriquecimiento, suprime el desarrollo de la mayoría de la microflora no deseada en medio característicos. Un buen ejemplo de esto es la aplicación de 0.5% (w/v) de sales biliares para inhibir bacterias no intestinales permitiendo el crecimiento de *E. coli*. El empleo de antibióticos es asimismo un método muy usado para la selección (Herbert, 1982).

## Métodos de aislamiento

### *Microcosmos:*

- a) Columna de Winogradsky. La columna de Winogradsky provee de una extremadamente sencilla pero efectiva vía para simular ambientes sedimentarios naturales en el laboratorio y provee la presión selectiva necesaria para enriquecer un microorganismo específico a partir de una microflora inicial diversa. En esta columna plástica o de cristal un gradiente de nutrientes y productos finales del metabolismo es desarrollado como resultado del metabolismo fermentativo de los sedimentos y se forma un gradiente de oxígeno hacia la superficie de la columna. Estos gradientes permiten que tipos individuales de bacterias, si se encuentran en la columna, se desarrollen en puntos específicos de la misma en condiciones óptimas. (Figura 1)

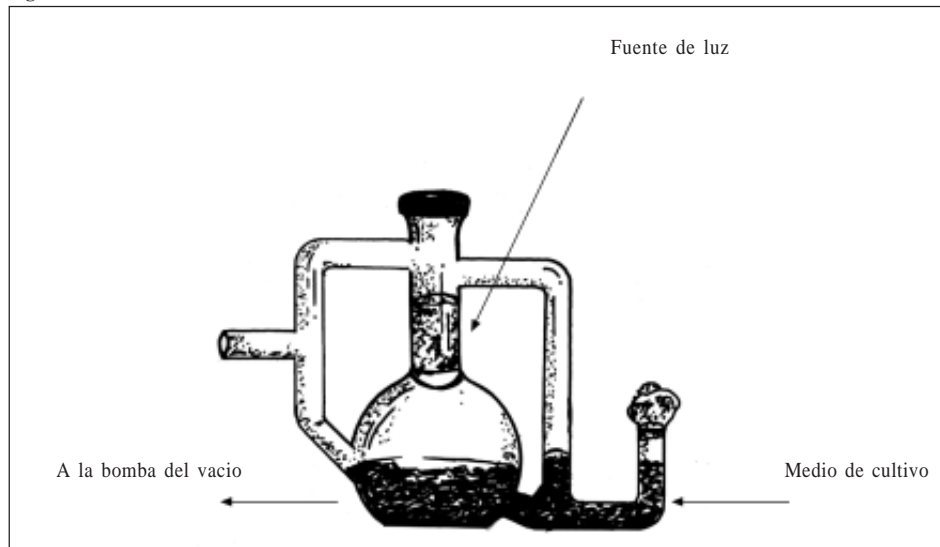
Figura 1



Columna de Winogradsky (Redibujada y modificada de Hebert, 1982).

- b) Método de enriquecimiento de suelo. Lees y Quastel (1946) desarrollaron el uso del aparato para enriquecer bacterias a partir de muestras de suelos, utilizando este sistema. Después de colocar la muestra de suelo o de sedimento en la cámara principal del aparato, el medio de enriquecimiento es recirculado a través de la columna de suelo gracias a la presión al vacío ejercida desde el exterior. Incorporando el substrato deseado, con o sin inhibidores, en el medio de percolación las bacterias de interés pueden ser enriquecidas de manera exitosa. Este método posee una ventaja añadida, ya que el medio de percolación puede ser circulado usando un gas inerte: nitrógeno puro o argón, con la finalidad de aislar anaeróbicos. (Figura 2)

Figura 2



Aparato empleado para el enriquecimiento del suelo (redibujado y modificado de Hebert; 1982)

## Modelos del sistema

### *Sistema de fermentadores enriquecidos.*

Las ventajas de los fermentadores enriquecidos ya han sido mencionadas. Un considerable número y diseño de fermentadores se encuentran disponibles. Sin embargo, de manera general, mientras más simple sea el diseño más manejable es el fermentador. Las desventajas de este sistema son: que no estima la abundancia de una bacteria en particular en un hábitat dado o si se encuentra fisiológicamente

activa en ese ambiente. Este sistema permite únicamente aislar a las bacterias que se adaptan mejor a las condiciones de crecimiento establecidas y por lo tanto pueden aumentar su población por sobre sus depredadores o competidores. Por lo tanto el papel jugado por una bacteria en su ambiente natural, aislada por este método, debe ser considerado con gran precaución.

### **Medios para aislar y cultivar bacterias**

Una gran cantidad de medios para crecer bacterias se han descrito en la literatura, a continuación se mencionan los más frecuentes, de acuerdo con el tipo de organismo y tipo de estudio.

#### *Identificación de bacterias*

El proceso de identificación se conoce como la ubicación de una bacteria desconocida, con base a su similitud, en un grupo taxonómico previamente descrito. Los microbiólogos necesitan identificar, en alguna de las etapas de su investigación, la bacteria con la cual se encuentran trabajando. Antes de que una bacteria pueda ser identificada es necesario que esta se encuentre creciendo en un cultivo puro, y debe de ser probada en un medio no selectivo. Otro de los requisitos es que las condiciones en las que se realice la identificación sean bien definidas, de otra manera ésta resulta sin significado alguno.

Las bacterias son inicialmente identificadas con base a sus características morfológicas y a sus reacciones bioquímicas. En adición algunos grupos de bacterias pueden ser identificadas con pruebas serológicas y/o de susceptibilidad a bacteriófagos. Métodos más sofisticados tales como: determinación de los rangos de bases de ADN, gel electroforesis de proteínas celulares, análisis de la pared celular, cromatografía de gases e hibridación de ADN, se encuentran disponibles (Pickup y Saunders, 1990; O'Donnell y Hopkins, 1993; Prosser, 1994; van Elsas y Smalla, 1997), sin embargo no son empleadas de manera rutinaria.

Debido a la gran diversidad de bacterias la práctica normal es realizar una serie preliminar de pruebas las cuales puedan dirigirnos hacia un grupo bacteriano apropiado. Las pruebas básicas determinan si las bacterias son fototróficas, quimiotótrofas, heterótrophas o bien utilizan carbohidratos por oxidación o fermentación. Estas características juntas con otras, tales como: forma y tamaño de la célula, reacciones de Gram, morbilidad, requerimiento de oxígeno, producción de endosporas, reacciones de oxidasas y catalasas, formación de cápsulas y pre-

sencia o ausencia de cuerpos de inclusión, pueden indicarnos un esquema adecuado de identificación (Hebert, 1982; Lynch, 1983; Richards, 1987).

Claves para la identificación de grupos específicos de bacterias se encuentran en la literatura descriptiva y de taxonomía de bacterias, por lo que la mención de las claves se excluye de este capítulo y se remite a los interesados a las claves reconocidas.

Sin embargo, independientemente de lo sofisticado de los métodos empleados para la identificación y de los resultados que estos arrojen, la interpretación inteligente de los datos nos proporciona información muy valiosa para el adecuado análisis de los procesos bacterianos que se presentan en los suelos.

#### *Aislamiento, cultivo e identificación de hongos del suelo*

Debido a que los hongos son organismos heterótrofos, su forma de vida es ya sea saprófita o parásita, así como simbióticos. Por lo tanto juegan un papel importante en ecosistemas terrestres como descomponedores de materia orgánica (con especial interés en el ciclo de nutrientes).

Las características ecológicas importantes de los hongos terrestres pueden ser resumidas según Harley (1971) como sigue:

- i) Su habilidad para alterar su ambiente vía la producción de enzimas extracelulares y la excreción de productos finales de su metabolismo (v.g. nutrimentos, inhibidores y antibióticos).
- ii) Su gran superficie de área más la estructura hifal, las cuales les permite un crecimiento expandido y los capacita para la penetración de substratos, tales como hojarasca y madera.
- iii) La habilidad de los hongos septados de formar fusiones hifales que les permiten producir redes de hifas y su heterocariósis (con mayor posibilidad para incrementar la variabilidad genética).
- iv) La habilidad de acumular nutrimentos en su talo.
- v) El hecho de que actúan como fuente de nutrimentos para otros organismos, ya sea indirectamente por la producción de productos metabólicos solubles o directamente cuando la hifa es comida por microartrópodos.

Consideraciones preliminares que deben tomarse en cuenta al momento de intentar el aislamiento de hongos en ambientes terrestres (Parkinson, 1982; Paul y Clark, 1989; Killham, 1994):

- 1) Una gran cantidad de especies de hongos pueden ser aisladas del suelo los cuales representan la mayoría de los grupos de hongos. El patrón de distribución de los hongos se ve afectado por la calidad de la materia orgánica que entra al suelo (naturaleza y calidad de la vegetación) y las condiciones ambientales de humedad disponible y temperatura.
- 2) Los hongos del suelo no están uniformemente distribuidos pero están asociados con microhábitats, tales como materia orgánica en descomposición y raíces vivas.
- 3) La mayoría de los hongos del suelo pueden existir en una gran variedad de formas morfológicas (y estados fisiológicos), tales como esporas, otras estructuras de resistencia e hifas. Las hifas fúngicas pueden ser estructuras temporales que empleen carbohidratos simples solubles o bien hifas permanentes que utilizan carbohidratos complejos insolubles.
- 4) Los métodos disponibles para el aislamiento de hongos del suelo son selectivos, por lo tanto, las listas de especies obtenidas en estudios de la calidad de la microflora son incompletas. Sin embargo, tales estudios son valiosos por su interés ecológico intrínseco, y porque las interacciones entre especies de hongos y sus patrones de distribución pueden ser factores importantes para determinar la velocidad y los patrones de descomposición de la materia orgánica. También puede ser posible deducir de tales listas de especies y datos sobre las propiedades fisiológicas de las especies individuales, información concerniente a las actividades fúngicas en el suelo.

### **Estudios ginecológicos**

El objetivo es conocer el número total de especies en una comunidad fúngica. Ya que los métodos disponibles para el aislamiento de los hongos del suelo son selectivos, entonces la dificultad mayor para conocer el papel ecológico de tales hongos es determinar que especies se encuentran en un ambiente particular junto con su estado de actividad vegetativa. Debe enfatizarse que, en investigaciones ecológicas los métodos deben de ser elegidos para contestar preguntas específicas y deben probarse antes de su uso regular (Parkinson, 1982, Lynch, 1983).

#### *Elección del medio de cultivo.*

Los estudios cualitativos de hongos del suelo requieren la siembra de muestras de suelo, materia orgánica o hifas y esporas en un medio de agar con nutrientes. Por

lo que la elección de un medio apropiado de selección es de gran importancia. La idea de que un agar enriquecido con nutrientes puede permitir el aislamiento de un gran número de especies fúngicas a partir del sustrato en estudio, surgió de la idea de desarrollar un medio de selección de amplio espectro (Lynch, 1983).

En algunos estudios, agar-agua puede ser usado para el aislamiento primario de un hongo a partir de algún sustrato en un intento de eliminar la selectividad de un medio enriquecido. Los aislamientos obtenidos deben de ser traspasados a un medio enriquecido tan pronto como los hongos se observen en primer aislamiento.

Una de las primeras preguntas que se deben hacer antes de un aislamiento masivo de hongos del suelo es ¿Qué medio enriquecido deberá ser usado?. En tales estudios es deseable usar diversos medios selectivos, pero los inconvenientes de tiempo rara vez permiten hacer esto. La elección de un medio de aislamiento para usar en estudios de un suelo en particular o un grupo de sustratos debe de seguir pruebas comparativas preliminares usando un rango de medios. Si la investigación se restringe al estudio de un grupo fisiológicamente individual de hongos del suelo, tales como celulolíticos o lignolíticos, entonces el uso de un medio selectivo es necesario (Parkinson, 1982; Lynch, 1983).

Cuando el aislamiento de hongos se realiza de suelos que contengan un alto número de bacterias, frecuentemente es necesario reducir la competencia bacteriana añadiendo sustancias antibacteriales al medio, o bien ajustar el pH del medio a un valor ácido (5.0) puede ser efectivo, otros compuestos que pueden restringir el desarrollo bacteriano son cristal violeta, rosa de bengala o propianato de sodio. Actualmente el uso de antibióticos (auereomicina o estreptomina 30 mg/l) en un medio de aislamiento es el método más frecuentemente usado para restringir el crecimiento bacteriano. Es importante probar antes estos compuestos para evitar que tengan un efecto en el crecimiento de hongos (Parkinson, 1982).

### *Enumeración.*

El método de diluciones fue, hasta recientemente, usado predominantemente para estudiar la naturaleza de comunidades fúngicas del suelo y consiste de los siguientes pasos:

- a) Preparar una suspensión inicial del suelo
- b) Preparación de una serie de diluciones de la suspensión inicial
- c) Siembra de la serie de diluciones apropiadas en un medio enriquecido apropiado.

Si se emplea este método, otras consideraciones deben tomarse en cuenta, tales como: la característica de la suspensión inicial de suelo (peso, volumen, y tipo de fluido suspendido), el tipo y tiempo de agitación para producir la suspensión inicial, el tipo de diluyente a usar en la serie de diluciones, el medio enriquecido y la técnica de siembra empleada (superficial o en el fondo) (Parkinson, 1982).

Sin embargo, esta técnica no es apropiada para hongos que no produzcan esporas o que no se encuentren en ese estado fisiológico en el suelo al momento de tomar la muestra, por lo que puede ser valiosa para conocer el contenido de esporas en el suelo, aunque es imposible ganar información acerca de las actividades fúngicas en el microhábitat del cual fue aislado (Lynch, 1983; Killham, 1994).

Una variante de la técnica de las diluciones es la desarrollada por Warcup (1950), en la cual se emplean agujas de disección estériles para tomar muestras pequeñas (5-15 mg de suelo), las cuales se colocan en cajas de Petri estériles a la cual se le añade una gota de agua estéril para disolver y dispersar el suelo, en el fondo de la caja. Posteriormente un volumen conocido de medio nutritivo tibio (10 ml, 45°C) se aplica a cada caja, luego la caja se rueda hasta distribuir todo el suelo diluido en el agar y posteriormente se incuban.

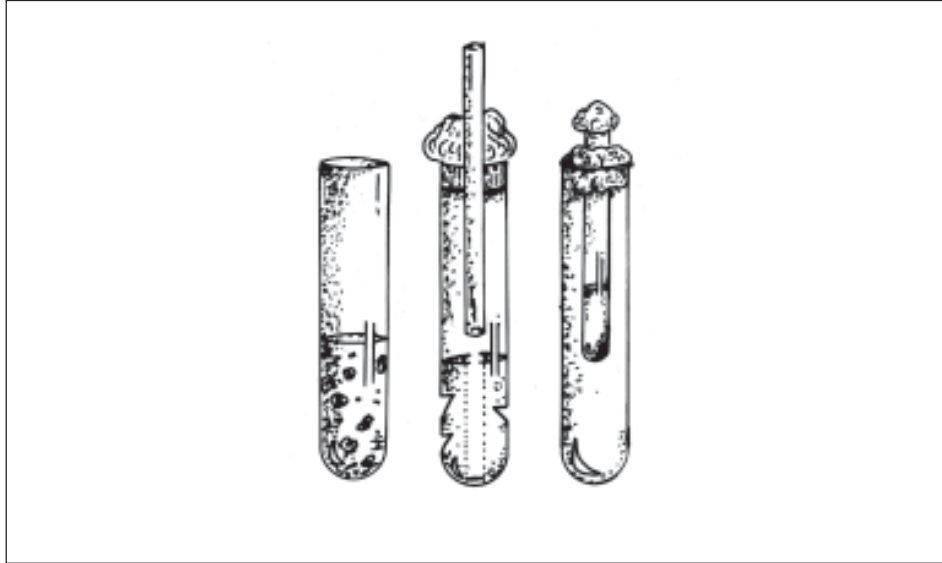
Los hongos desarrollados en las cajas se aíslan en cultivos puros para su posterior identificación, esta técnica presenta el mismo inconveniente de las diluciones, ya que los hongos aislados son sólo aquellos que se encuentran en condiciones de esporas.

#### *Aislamiento.*

Varios métodos de inmersión han sido desarrollados en un esfuerzo de aislar del suelo hongos que se encuentran sólo en su forma hifal. De la técnica original propuesta por Chesters (1940), se han desarrollado y modificado varias otras, sin embargo todas funcionan bajo el mismo principio: el medio de aislamiento es colocado en el suelo de tal forma que es separado del suelo por una trampa de aire. Este medio se deja en el suelo por un período de 5 a 7 días, después del cual es llevado al laboratorio donde pequeñas muestras son sembradas en cajas. Los hongos son entonces aislados y purificados, y se asume que estos hongos se encontraban en su forma activa de hifa ya que debieron colonizar el medio atravesando la separación de la trampa de aire (Figura 3).

Un método simple de inmersión es el descrito por Mueller y Durrell (1957), en este método tubos de plástico esterilizables para centrifuga son usados. Agujeros de 5 mm de diámetro son realizados en las paredes del tubo a diferentes posiciones, los tubos son cubiertos con cinta plástica esterilizable, y llenados con

Figura 3



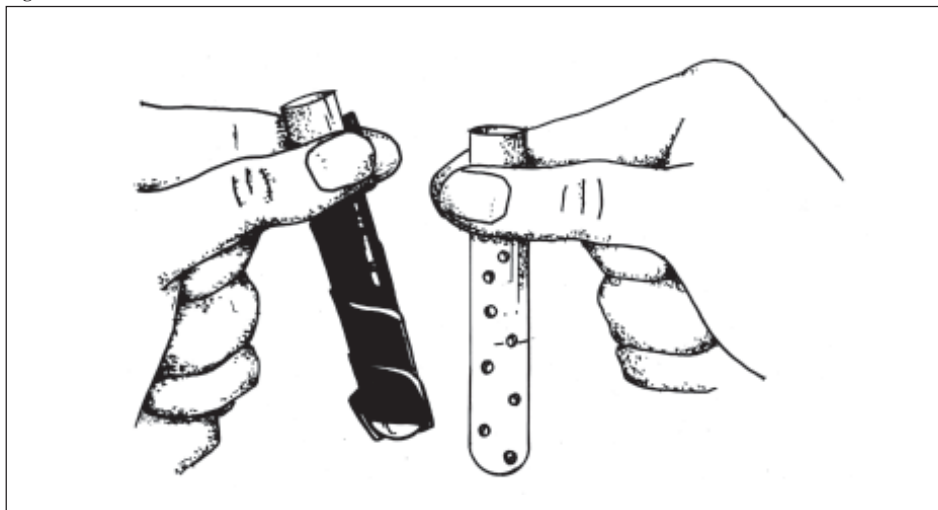
Tubos de inmersión de Chester (redibujado y modificado de Dhingra y Sinclair, 1995).

medio de cultivo dejando una distancia de 4 cm entre el medio y el borde del tubo, luego son sellados y esterilizados.

En el campo la cinta plástica es agujereada usando agujas estériles y el tubo es colocado en el suelo. Después de un tiempo predeterminado, los tubos son recuperados y llevados al laboratorio, donde los hongos son aislados removiendo el agar y sembrándolo en cajas con medio enriquecido (Figura 4). Sin embargo, estos métodos de inmersión tienen desventajas: ya que la colocación de aparatos de inmersión en el suelo (tubos, cajas, etc.) parece inducir la germinación de esporas cercanas al aparato introducido, por lo tanto el hongo aislado quizá se encontraba en su forma inactiva de spora en el suelo. Otra desventaja, es que pequeños animales quizá puedan introducirse al medio de aislamiento, llevando con ellos propágulos fúngicos.

Otro método de aislamiento fue propuesto por Harley y Waid (1955), en el cual se mostró la eficiencia del lavado de raíces, como una buena medida para remover los propágulos y permitir el aislamiento de los hongos en su forma hifal. Como resultado de este primer trabajo, un gran número de técnicas han sido desarrolladas para estudiar los hongos terrestres. Estos métodos van desde el simple lavado y decantado (Watson, 1960) hasta el uso de máquinas automáticas las cuales permiten trabajar con varias muestras de suelos en un sólo tiempo (Bissett y Widden, 1972).

Figura 4



Tubos de inmersión modificados. (A) se muestra el tubo sin la cinta con los agujeros realizados, en (B) se retira la cinta antes de colocar el tubo en el suelo (redibujado y modificado de Dhingra y Sinclair, 1995).

Los métodos de lavado de suelo, tienen la ventaja de ser de simple ejecución y cuando se utilizan las máquinas múltiples, permiten manejar numerosas muestras en tiempos cortos. Aunque es muy poco probable que el lavado remueva todas las esporas de las muestras de suelos, es altamente probable que los hongos aislados en las cajas a partir de partículas de suelo lavado sea a partir de las hifas que de esporas.

Una serie de lavados, seguido por la siembra en cajas de piezas pequeñas de material lavado ha probado ser un método valioso para estudiar las asociaciones fúngicas en la materia orgánica del suelo. Muchos de los datos de sucesión de hongos descomponedores de desechos vegetales y de hongos asociados con superficies radiculares han sido obtenidos usando este método (Hayes, 1979).

#### *Identificación.*

Siguiendo al aislamiento primario de los hongos, las colonias individuales formadas deben de ser cultivadas de manera aislada y pura tan pronto como sea posible, también se recomienda observar las cajas de aislamiento bajo microscopio de disección, con el fin de asegurarse que especies que crezcan sobre otras colonias o bien especies de crecimiento lento sean aisladas. La siembra inicial para purificar

el hongo, se recomienda que sea en cajas de Petri en lugar de tubos inclinados. Una gran cantidad de medios de cultivo son usados para el mantenimiento de hongos del suelo. Muchos de estos son medios naturales complejos tales como: Extracto de malta agar, extracto de papa agar, papa dextrosa agar, papa zanahoria agar y jugo vegetal V8 agar.

Cuando se desea la identificación de un grupo específico, un medio enriquecido y condiciones de crecimiento definidos deben ser usados. Las descripciones de estas condiciones pueden ser obtenidas a partir de las monografías taxonómicas usadas para la identificación de los aislamientos.

### **Estudios autoecológicos**

Muchos de los estudios autoecológicos de hongos del suelo se han enfocado en hongos patógenos, donde los datos de ocurrencia, potencial de inóculo y habilidades competitivas son requeridos. Diferentes métodos selectivos para los diferentes grupos han sido desarrollados, y la descripción de los mismos se pueden encontrar en la literatura específica.

Debe mencionarse que uno de los mayores problemas en estudios cualitativos en hongos del suelo, es la infrecuencia en el aislamiento de basidiomicetos de las muestras de suelo. Esto quizá se deba a los requerimientos específicos de nutrientes de muchos de estos hongos y/o a su susceptibilidad a la competencia (al menos en las cajas de cultivo) de especies de crecimiento más rápido.

#### *Diseño para el muestreo de microorganismos del suelo*

Para decidir el método que se va a emplear en un trabajo específico, debe de hacerse con cuidado considerando la capacidad para responder a la pregunta que se ha planteado. Después de elegir el método, este debe ser cuidadosamente verificado y si es necesario modificarlo, para adecuar su eficacia al sistema y tipo de suelo particular del estudio.

Cuadro 3

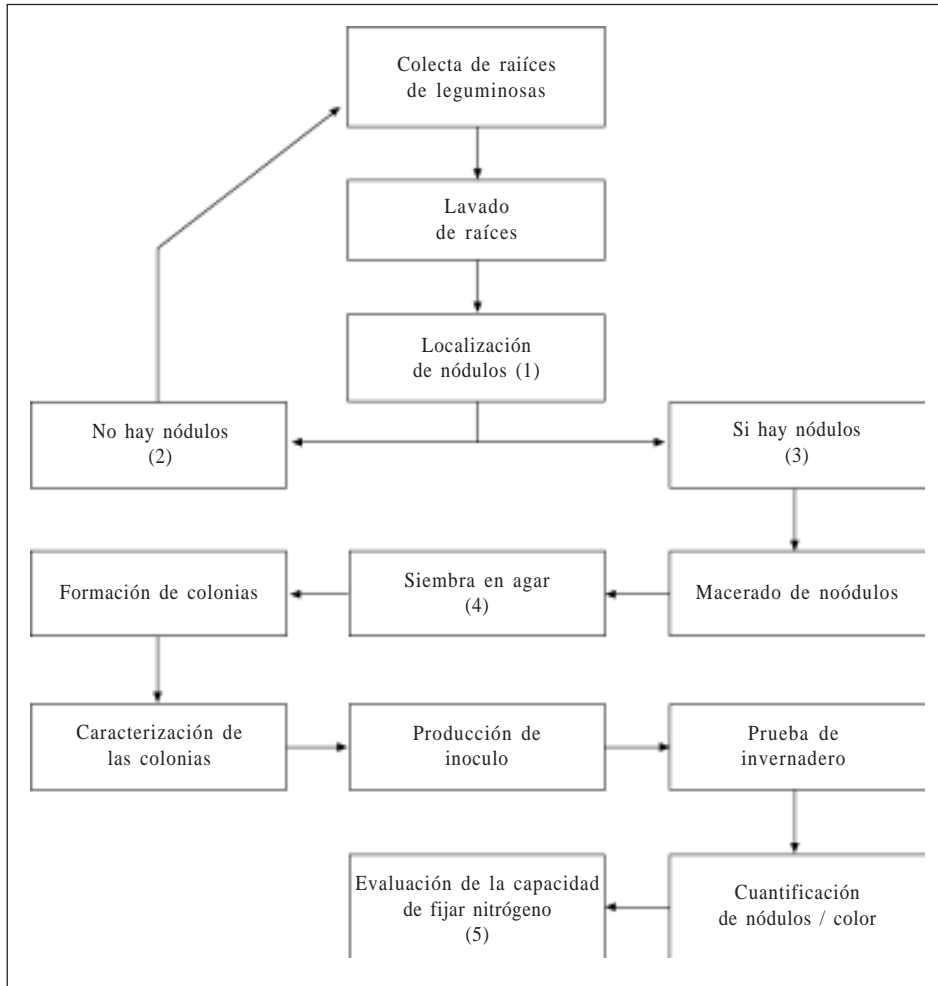
Pregunta	Procedimiento
¿Qué heterogeneidad se espera en el campo?	Inspección y caracterización de campo
¿Cómo diseñar el muestreo para alcanzar los objetivos del estudio?	Definición de los objetivos, diseño del muestreo
¿Qué tipo de muestreo se realizará?	Seleccionar el tipo de muestreo, de los diferentes que se conocen
¿Cómo se tomarán las muestras?	Definir la estrategia de acuerdo a los objetivos
¿Cuántas muestras deben tomarse?	Calcular el número de muestras necesario
¿Cómo se realizará el muestreo?	Definir las herramientas, evitar la contaminación entre las muestras
¿Cómo se transportarán, procesarán y analizarán las muestras?	Definir los métodos de análisis y procesamiento de muestras

Protocolo para el muestreo y procesamiento de microorganismos del suelo  
(Modificado de van Elsas y Smalla, 1997).

A manera de guía, en el cuadro 3, se enlistan varias preguntas comunes relacionadas con el muestreo de microorganismos del suelo, así como las posibles respuestas y procedimientos a seguir.

Los procedimientos necesarios para aislar microorganismos simbióticos (*Rhizobium* y micorrizas arbusculares) y que degradan la materia orgánica, se colocan organizados a manera de diagramas de flujos con el fin de facilitar su interpretación, se debe recordar que cada uno de los pasos debe ser validado previamente para el tipo de sistema particular, con el objetivo de obtener las mayores ventajas de los métodos (Figuras 5, 6 y 7).

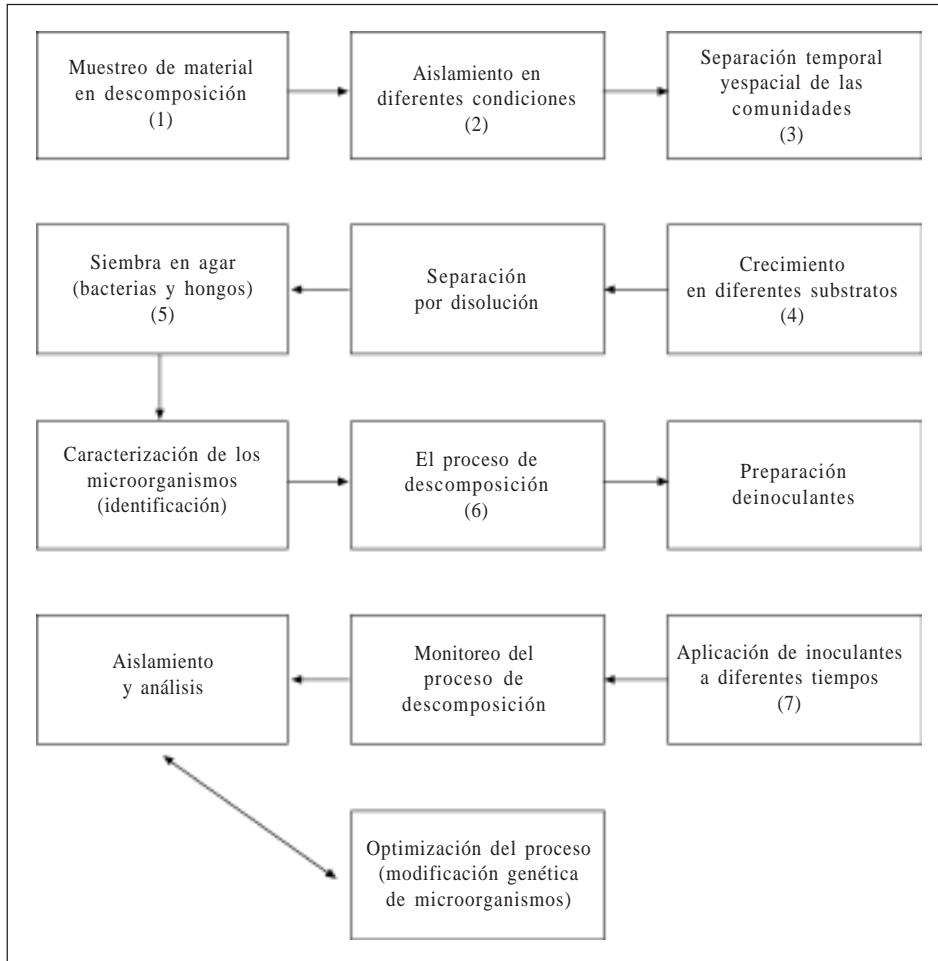
Figura 5



1) La búsqueda se realiza en las raíces secundarias. Generalmente distribuidas en los primeros 30 cm. del suelo; 2) La ausencia de nódulos en las raíces se puede deber a dos circunstancias: a) no se encuentra presente la bacteria *Rhizobium* en el ambiente analizado; b) las raíces elegidas son muy gruesas y la etapa de crecimiento de la planta impide la detección; 3) Los nódulos rosados son evidencia de actividad de fijación de nitrógeno y deben ser los elegidos para su estudio; 4) El medio empleado es el FW-79, rico en manitol; 5) Con pruebas de contenido de nitrógeno comparado con plantas control, reducción de acetileno.

Diagrama de flujo para la evaluación de un sistema de fijación biológica de nitrógeno:  
*Rhizobium*

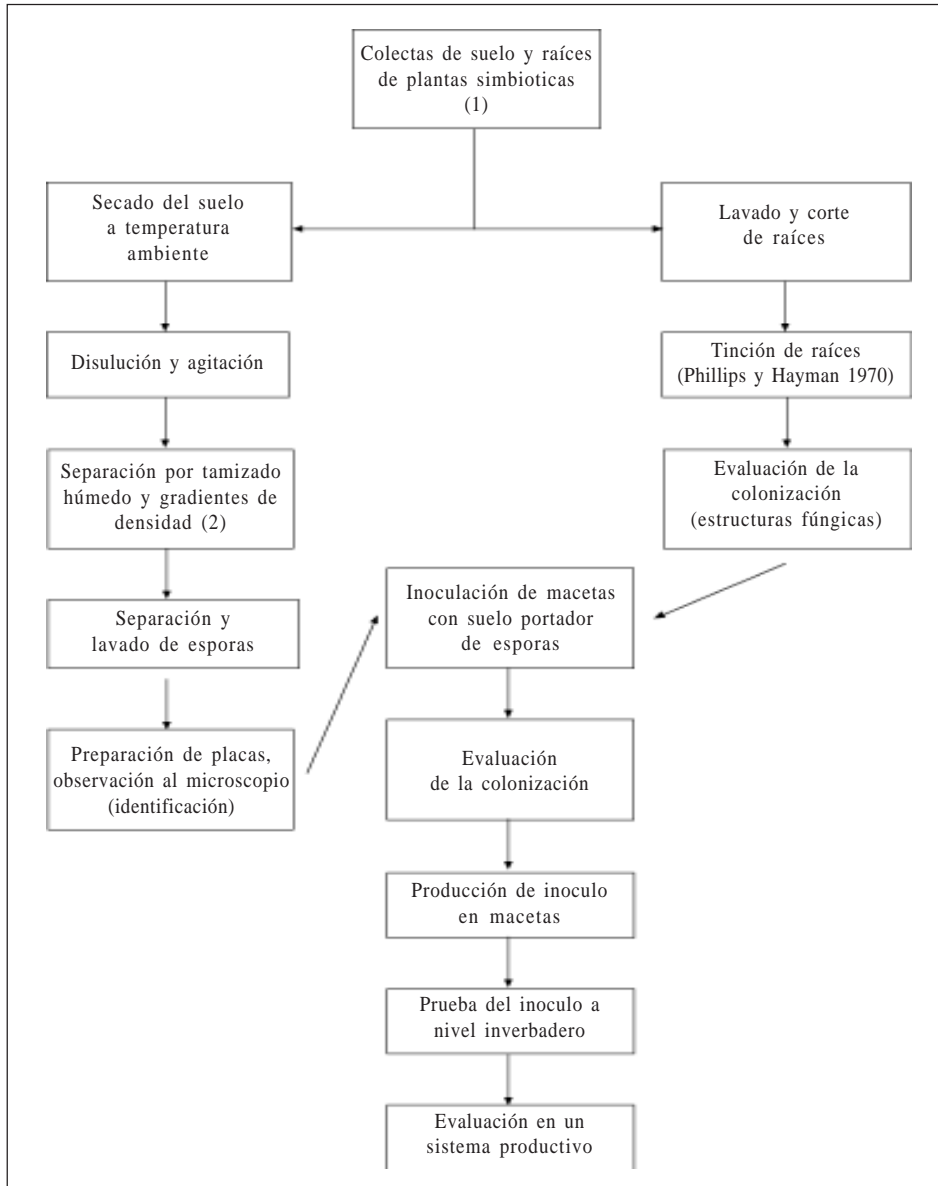
Figura 6



1) En diferentes etapas del proceso de degradación; 2) De temperatura, valores de pH, disponibilidad de oxígeno y de agua; 3) A lo largo de todo proceso, con diferentes temporales y de ubicación (diferentes profundidades relativas), para determinar el orden de aparición; 4) Importancia de su participación en el proceso, evaluando la capacidad de utilizar las diferentes fuentes de carbono; 5) Separación de los diferentes componentes microbianos, empleando antibióticos o diferentes grados de diluciones; 6) Inoculando con diferentes combinaciones de microorganismos; 7) Imitando el proceso de descomposición en sus diferentes etapas.

Diagrama de flujo para el estudio del proceso de degradación microbiana de compuestos orgánicos

Figura 7



- 1) El 90% de las plantas en sistemas tropicales, presentan este tipo de simbiosis (Allen, 1991);  
 2) Con la técnica propuesta por Pacioni (1992).

Diagrama de flujo para la obtención de inóculo de hongos micorrízicos vesículo- arbusculares (MVA). Aislamiento y evaluación del grado de colonización.

## Referencias

- Alexander M. 1980. *Microbiología del suelo*. AGT Editores. México.
- Allen M. 1991. *The ecology of mycorrhizae*. Cambridge Studies in Ecology. Gran Bretaña.
- Baath E., Frostegard A. y Fritze H. 1992. Soil bacterial biomass, activity, phospholipid fatty acid pattern, and pH tolerance in an area polluted with alkaline dust deposition. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(12): 4026-4031.
- Barber D. A. y Lynch J. M. 1976. Microbial growth in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.*, 9: 305-308.
- Bisset, J. y P. Widden 1972. An automatic, multichamber soil-washing apparatus for removing fungal spores from soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 18:1399-1409.
- Chesters C. 1940. A method for isolating soil fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 24:352-355.
- Dhingra O. y Sinclair J. 1995. *Basic plant pathology methods*. 2a. ed. CRC Press. EUA.
- Giller K. E. y Day J. M. 1985. Nitrogen fixation in the rhizosphere: significance in natural and agricultural systems. In: Fitter A.H., Atkinson D., Read D.J. y Usher M.B. (Eds.). *Ecological interactions in soil: plants, microbes and animals*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, Gran Bretaña.
- England L., Lee H. y Trevors J. 1993. Bacterial survival in soil: effect of clays and protozoa. *Soil Biol. Biochem.*, 25 (5): 525-531.
- Hassink J. 1994. Effect of soil texture on the size of the microbial biomass and on the amount of C and N mineralized per unit of microbial biomass in Dutch grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(11): 1573-1581.
- Harley J. 1971. Fungi in ecosystems. *Journal of Ecology*, 59:653-668.
- Harley J. y Waid J. 1955. A method for studying active micelia on living roots and others surfaces in the soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 38:104-118.
- Hayes A. 1979. The microbiology of plant litter decomposition. *Science Progress*, 66:25-42.
- Herbert R. 1982. Procedures for the isolation, cultivation and identification of bacteria. In: Burns, R.G. y Slater J.H. (Eds.). *Experimental microbial ecology*. Academic Press, EUA.
- Hintze T., Gehlen P. y D. Schroder. 1994. Are microbial biomass estimations equally valid with arable soils and forest soils?. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(9):1207-1211.
- Holben W. E., Jansson J. K., Chelm B. K. y Tiedje J. M. 1988. DNA probe method for the detection of specific microorganisms in the soil bacterial community. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54(3): 703-711.
- Killham K. 1994. *Soil ecology*. Cambridge University Press. Gran Bretaña.
- Jannasch H. W. 1965. Continuous culture in microbial ecology. *Laboratory practice*, 14:1162-1166.
- Lees M. y Quastel J. 1946. Biochemistry of nitrification in soil. 1. Kinetics of, and effects of poison on soil nitrifications as studied by soil perfusion technique. *Biochemical Journal*, 40:803-810.
- Lynch J. M. y Hobie J.E. 1988. *Microorganisms in action: concepts and applications in Microbial ecology*. Blackwell Scientific Publications, Gran Bretaña.

- Mueller K. y Durrell L. 1957. Sampling tubes for soil fungi. *Phytopathology*, 47:243.
- O'Donell A. y Hopkins D. 1993. Extraction, detection and identification of genetically engineered microorganisms from soils. In: Edwards C. (Ed.). *Monitoring genetically manipulated microorganisms in the environment*. John Wiley and Sons Ltd. EUA.
- Parkinson D. 1982. Procedures for the isolation, cultivation and identification of fungi. In: Burns, R.G. y Slater J.H. (Eds.). *Experimental microbial ecology*. Academic Press, EUA.
- Parkinson D. y Coleman D. 1991. Microbial communities, activity and biomass. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 34:3-33.
- Paul EA. y Clark F. E. 1989. *Soil microbiology and biochemistry*. Academic Press. EUA.
- Pacioni G. 1992. Wet-sieving and decanting techniques for the extraction of spores of vesicular-arbuscular fungi. *Methods in microbiology*, 24:317-322.
- Phelps T. J., Pfiffner S.M., Sargent K.A. y White D. C. 1994. Factors influencing the abundance and metabolic capacities of microorganisms in Eastern coastal plain sediments. *Microbial Ecology*, 28: 351-364.
- Phillips J. y Hayman D. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-161.
- Pickup R. W. y Saunders J. R. 1990. Detection of genetically engineered traits among bacteria in the environment. *Trends in Biotechnology*, 8:329-335.
- Prosser J. I. 1994. Molecular marker systems for detection of genetically engineered microorganisms in the environment. *Microbiology*, 140: 5-17.
- Richards B. N. 1987. *The microbiology of terrestrial ecosystems*. Logman, Gran Bretaña.
- Rutherford P. y Juma N. 1992. Influence of soil texture on protozoa-induced mineralization of bacterial carbon and nitrogen. *Can. J. Soil. Sci.*, 72: 183-200.
- Sarig S., Roberson E.B. y Firestone M. 1993. Microbial activity-soil structure: response to saline water irrigation. *Soil Biol. Biochem.*, 25(6):693-697.
- Schloesing T. y Müntz A. 1877. Sur la nitrification per le ferments organisén. Comptes rendus. *Academie science*, 80:30-39.
- Sinsabaugh R., Antibus R. y Linkins A. 1991. An enzymatic approach to the analysis of microbial activity during planta decomposition. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 34:43-54.
- Subba Rao N. S. 1982. *Advances in agricultural microbiology*. Butterworth Scientific Publications. Gran Bretaña.
- van Elsas J. y Smalla K. 1997. Methods for sampling soil microbes. In: Hurst C. J., Knudsen G. R., McInerney M. J., Stetzenbach L. D. y Walter M. V. (Eds.). *Manual for environmental microbiology*. American Society of Microbiology. EUA.
- Warcup J. H. 1950. The soil plate method fro isolations of fungi from soil. *Nature*, 166:117.
- Watson R. D. 1960. Soil washing improves the value of the soil dilution and plate count method for estimating population of soil fungi. *Phytopathology*, 50:792-794

# 7

## MOLUSCOS

Edna Naranjo García y Catalina Gómez Espinosa\*

### **Introducción**

Los moluscos son el grupo de invertebrados con el número de especies más grande y diverso, después de los artrópodos (Morton, 1967). Son organismos de cuerpo blando, no segmentados, con un pie muscular y con manto (estructura que secreta la concha calcárea). El grupo es tan diverso que los moluscos pueden presentar concha (caracoles) o carecer de ella (babosas), o reducida en diversos grados hasta consistir solamente de unos gránulos sobre el manto (babosas), puede ser externa (almejas) o interna (calamares). La mayoría de los moluscos presentan una estructura raspadora llamada rádula (con excepción de los bivalvos) empleada para alimentarse (Brown, 1991).

Los moluscos viven en ambientes marinos, dulceacuícolas o terrestres y son de vida libre, excepto por unos pocos que son parásitos. Se les encuentra desde las profundas trincheras submarinas hasta la zona de intermareas en el mar. En los lagos, algunos de ellos llegan a los 55 m de profundidad (Russell-Hunter, 1978); en la tierra se les encuentra desde el nivel del mar hasta los 4 000 m de altitud.

En este capítulo se abordarán las técnicas de colecta de moluscos, así como las técnicas de preparación y preservación de ejemplares y algunas recomendaciones para su cultivo.

Se recomienda que antes de iniciar una colecta se establezca claramente el objetivo o propósito de la misma. Ya que dependiendo del tipo de estudio que se haga (anatómico, sistemático, histólogo, genético o filogenético) así será la for-

---

\* Departamento de Zoología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Apartado Postal 70-153, México, D.F. 04510. México.

ma como se preparará el material, con lo que se evitará desperdicio de organismos y de esfuerzo. Por ejemplo: se debe tener especial cuidado en obtener ejemplares adultos, completamente desarrollados para estudios de sistemática o ejemplares de diversos estadios para estudios de ontogenia. La preparación especial de los especímenes debe ser considerada de acuerdo con los lineamientos establecidos por la American Malacological Union (1974).

### **Colecta**

La fotografía de los organismos vivos en su medio ambiente, es muy importante en su identificación taxonómica (por ejemplo es primordial en el estudio de nudibrancios y de babosas terrestres - Hans Berth, com. pers.; Castillejo, 1998), la mayoría de los moluscos pierden su colorido al ser fijados. La toma de fotografías de los moluscos será una herramienta útil cuando se avance en el estudio que se este realizando.

#### *Terrestres.*

A los moluscos terrestres se les encuentra casi en cualquier parte, mientras exista algún tipo de abrigo donde puedan refugiarse (Clench, 1974). Estos organismos tienen hábitos nocturnos y entran en actividad cuando se dan las condiciones favorables de temperatura y humedad. Durante el día, se refugian entre las hendiduras de las rocas, debajo de ellas, debajo de la hojarasca o entre ella bajo troncos caídos, en troncos de arboles, bajo la corteza y en el dosel de los arboles, solo se exponen al sol cuando la humedad relativa es muy alta, de otra manera podrían desecarse (Gaviño *et al.*, 1974; Roscoe, 1974; Lincoln y Sheals, 1979), los caracoles evitan zonas que sean extremadamente secas durante alguna de las estaciones del año. En esa temporada, buscan refugio enterrados o semi - enterrados. Los caracoles son frecuentes y abundan en las áreas montañosas, las áreas donde existen rocas calizas, amplio sombreado, mucho musgo y hojarasca. También frecuentan los alrededores de arroyos o estanques (arriba del área de inundación), las zonas sombreadas de los cañones y barrancas donde haya humedad en el suelo y una buena cubierta de hojarasca (Clench, 1974; Knudsen, 1966).

En algunas regiones de México, donde las estaciones climáticas son muy marcadas (temporada de lluvia y de sequía); la colecta de moluscos vivos puede ser abrumadora, llevarse mucho tiempo y finalmente llevar a la frustración (Bequaert y Miller, 1973). Una muy buena captura se traduce en un organismo

vivo. Frecuentemente ese único ejemplar no es adulto. Si el colector posee las instalaciones adecuadas para mantener a los ejemplares vivos en condiciones de laboratorio o bioterio; se recomienda trasladar los ejemplares y mantenerlos en condiciones artificiales hasta la madurez. Si no se tienen esas condiciones, es mejor dejar al animal en su lugar.

Los moluscos terrestres se buscan entre la vegetación, en las veredas de los bosques, en los muros de las construcciones (Knudsen, 1966) y pueden colectarse de manera directa con ayuda de pinzas o manualmente con guantes de cuero. Las especies más pequeñas que viven en la hierba pueden ser colectadas con redes de golpeo y los habitantes de árboles y arbustos pueden ser colectados utilizando un lienzo o una caja de madera colocada sobre el piso directamente bajo la rama que se golpeará fuertemente con un palo (Lincoln y Sheals, 1979).

Pearce (com. pers.), para la obtención de moluscos terrestres, revisa el lugar por cinco minutos en búsqueda de organismos, después se va a otra área. Otro método empleado por Pearce (1994) es buscar con una linterna por la noche después de llover; bajo esas condiciones, los moluscos salen de sus guaridas y están activos.

Krull y Mapes (1951) emplearon la siguiente trampa con buenos resultados en pastizales abiertos: se coloca sobre el suelo un saco de yute empapado y doblado de 3 a 6 veces, se cubre con 2 o más capas de rocas, la primera capa es de piedras pequeñas, las siguientes capas se hacen con rocas planas grandes. La trampa es relativamente poco pesada para permitir la entrada de los caracoles debajo de ella, la circulación del aire y para mantenerla sombreada. El suelo se mantiene fresco y húmedo por más tiempo. Las trampas se examinan de 2 a 4 veces por semana.

Los moluscos que habitan en el musgo pueden colectarse tomando trozos de este material que crece en las áreas más húmedas, a la orilla de pantanos o en bosques mesófilos, arriba de la zona de inundación. El musgo se coloca en bolsas de papel bien cerradas y se deja secar. Posteriormente, los trozos se separan y ese material se pasa por tamices de varias aberturas de malla (de la fina a la gruesa) o se observa bajo el microscopio estereoscópico (La Rocque, 1974).

En estudios para determinar la diversidad y riqueza de especies hemos colectado de la forma siguiente: mensualmente y al azar (calculado por medio de tablas de azar para no introducir sesgo) se tira una cinta de 50 m de largo. En cada sitio se toman dos muestras (tomando 10 muestras, con una réplica, en total 20) con un cuadrado de alambre de 25 x 25 cm, una a cada lado de la cinta. Se toma toda la hojarasca, humus y tierra suelta dentro del cuadrado. La muestra se deposita en una bolsa de plástico y se le pone su etiqueta por dentro y por fuera. En el laboratorio se separa la muestra pasándola en una serie de tamices de varias aber-

turas de malla. El tamizado puede realizarse en seco (dejando secar la muestra) o por el método húmedo (“*wet-sieving*” de Williamson) (Lincoln y Sheals, 1979).

Coney *et al.* (1981) dan el siguiente método que es una variante del método de tamizado húmedo. Estos autores lo recomiendan para obtener moluscos diminutos con la máxima eficacia (*Pupillidae*, *Punctum*, *Striatura* y *Vertigo*). Se toman muestras de hojarasca del suelo o musgo, tomando también de 5 a 10 cm de suelo, lo cual asegura incluir moluscos de la interfase hojarasca/suelo. Las muestras se colocan en bolsas de plástico. En el laboratorio la muestra se coloca en un tamiz con abertura de malla de 5 mm, se separan de la tierra las conchas grandes y organismos vivos. Posteriormente, el tamiz se coloca sobre una cubeta y se lava con agua, la cual se acumula en la cubeta.

En la cubeta habrá un sobrenadante que contiene conchas y restos de plantas; el sobrenadante se coloca en un tamiz con abertura de malla del No. 60, se lava con agua, con un chorro suave para evitar salpicar o dañar los materiales. El tamizado se seca en la estufa aproximadamente a 60 °C, hasta que se ha secado completamente, *ca.* 48 horas. Cuando la muestra esta seca por completo se vacía en un vaso de precipitados que contiene Xilol (puede ser reemplazado por tolueno o benceno), se agita periódicamente y se deja asentar (cerca de una hora). Cuando los detritos dejan de caer, se recoge el material que esta flotando, se coloca en papel filtro y se deja secar a la intemperie. Posteriormente, se examina con una lupa o bajo el microscopio estereoscópico. Las conchas se recogen con un pincel o con una aguja de disección humedecida en alcohol etílico. Las conchas se almacenan dentro de viales. La otra parte de la muestra que quedó en el fondo de la cubeta se tamiza con la malla del No. 60, lavándola bien con agua. Después se coloca en una estufa a 60° C y, cuando está seca, se examina bajo el microscopio estereoscópico.

Si también se quiere estudiar la fauna que vive en la hojarasca acumulada sobre la vegetación; en el campo se tira una cinta de 50 m, se eligen 10 sitios al azar (sobre la línea) y en cada sitio se toma una muestra de toda la hojarasca que ha caído sobre la vegetación contenida en 5 m cuadrados (desde los arbustos mas bajos hasta donde el brazo alcance), nosotros usamos pinzas de panadero para evitar tocar las plantas espinosas o ponzoñosas. La muestra se coloca en una bolsa de plástico y se procesa de la misma forma que la tomada sobre el suelo.

El mismo método del transecto de 50 metros, con 10 sitios calculados al azar, se utiliza para estudiar a los organismos enterrados en el suelo. Con un *nucleador* (cilindro de aproximadamente 10 cm de diámetro y 15 de profundidad) se toman 20 muestras, dos a cada lado de la cinta métrica. Las muestras se colocan en bolsas de plástico y en el laboratorio se tamizan, para separar de la tierra las conchas y organismos vivos.

Para complementar la colecta de caracoles, también pueden utilizarse atraentes químicos durante la noche. Algunos de los cebos más efectivos contienen metaldehído como uno de los constituyentes activos (Lincoln y Sheals, 1979). Nosotros hemos colocado pequeños vasos de plástico enterrados al ras del suelo y, como atraente, un poco de cerveza. Los moluscos son altamente atraídos por ella, se relajan dentro (posiblemente el alcohol los anestesia, siendo ya incapaces de salir del líquido) y solo es necesario fijarlos en alcohol al 70%. Otros materiales como la avena y la crema de cacahuete también los atrae fácilmente.

Después de colectados los moluscos se depositan en frascos o en bolsas de plástico con un poco de vegetación para disminuir las secreciones y para evitar que se aplasten (Thomé, 1986).

Los organismos colectados se separan en conchas vacías y vivos. Si se desea conservar a los moluscos vivos en alcohol, para futuros estudios, estos se relajan (en agua hervida fría y un poco de tabaco, se dejan en un sitio fresco por 4 a 6 horas, después se colocan en el refrigerador en la parte de abajo donde la temperatura es de 4 °C. Se mantienen en refrigeración hasta cuando ya no se contraen al tocar suavemente con una aguja de disección –la relajación de moluscos terrestres puede tomar de tres a 5 días, la de dulceacuícolas puede tomar hasta dos semanas en refrigeración– y luego se fijan en alcohol al 70%, Castillejo (com. pers.) recomienda agregar bórax al alcohol para evitar que los organismos se pongan demasiado rígidos. No especifica la cantidad, diciendo que el bórax se diluirá conforme se agregue más alcohol al recipiente.

En la actualidad por la rápida diseminación de organismos, entre ellos de parásitos como los nemátodos y por las condiciones de contaminación fecal en grandes regiones, se recomienda usar guantes de cuero cuando se colectan caracoles terrestres o tener cuidado de lavarse muy bien las manos después de la colecta.

## **Moluscos Acuáticos**

### *Dulceacuícolas*

Las aguas alcalinas con gran cantidad de plantas acuáticas son generalmente las más ricas para colectar especies de agua dulce (Lincoln y Sheals, 1979). Russell-Hunter (1978) piensa que las condiciones ambientales primordiales para los moluscos dulceacuícolas son tanto la dureza del agua como el estado trófico del cuerpo de agua, siendo secundarios los otros factores ambientales. Los moluscos toleran altas cantidades de calcio y un ambiente eutrófico.

Los moluscos se encuentran en todo tipo de aguas dulces, en lagos, estanques, pantanos, arroyos de corriente lenta y agua estancada (Lincoln y Sheals, 1979), en cuerpos efímeros de los meandros y de los bosques. Se les encuentra en aguas de corriente rápida (ríos, arroyos) (Baker, 1974). Se distribuyen principalmente en las orillas de los cuerpos de agua, fijos a las rocas o a plantas sumergidas, o bajo troncos sumergidos (Lincoln y Sheals, 1979).

Moluscos como la *Lymnaea*, los *planórbidos* y los *físid*os, prefieren las aguas tranquilas y habitan entre la vegetación cerca de la orilla o en las playas rocosas con mucho alimento, mientras que algunos *hidróbidos*, *pleurocéridos* y *paquiquilidos* prefieren los bordes de los ríos y arroyos. Otros moluscos viven en agua poco profunda en las rocas de caliza u otro tipo de roca que crea bordes protegidos o en los rompeolas los cuales se forman más allá de la orilla de los ríos. Los estanques de la playa y el agua atrapada por barreras pueden ser buenos sitios de colecta.

En América los moluscos se localizan entre los 7 metros de profundidad y la superficie del agua; sin embargo, la mayoría se localiza a partir de los 2 metros (límite de la vegetación enraizada). Canales a la orilla de los caminos, con muy poca agua y vegetación abundante puede tener moluscos pequeños (Baker, 1974), en este tipo de cuerpos de agua y en otros de agua estancada se encuentran especies de *Pisidium*. En bosques sombreados algunos arroyos que se secan en el verano tienen especies que se entierran en el lodo en esa época del año, algunas otras se localizan debajo de las plantas acuáticas y otras más se localizan en los bancos de arena (Ward y Whipple, 1918). Ward y Whipple (1918) hacen varias recomendaciones útiles, dicen que es mejor tener una concha vacía que no tener nada, si se encuentran ejemplares vivos no deben recogerse conchas y, si hay un gran número de ejemplares tomarlos, ya que las poblaciones cambian año con año.

Otra forma de colectar moluscos dulceacuícolas es colectando la vegetación acuática y examinándola. La draga o cucharón Walker fue ampliamente usada por su inventor Dr. Bryant Walker y por Frank Baker. Consiste de un mango de aproximadamente 1.5 m y la cuchara propiamente tiene un diámetro de 15 cm arriba, 13 cm en el fondo y una profundidad de 8 cm; el fondo está sellado con una malla de cobre. La luz de malla es lo suficientemente grande para permitir el paso del lodo y agua y retener las conchas. Con ese cucharón se barre la superficie del agua, la vegetación y los hoyos de lodo. En lugares amplios con vegetación abundante es mejor tomar y colocar la vegetación dentro de una palangana grande, la vegetación se lava y sacude dentro de ella para hacer caer a los moluscos. Los moluscos de la familia *Ancylidae* se buscan sobre los lirios acuáticos y sobre los tallos de los pastos acuáticos (ciperáceas). La colecta en un lago generalmente debe hacerse con ayuda de un bote de remos (Baker, 1974).

Appleton (1996) recomienda el uso de una red con luz de malla de 1.5 a 2.0 mm, colocada en un bastidor de acero con un diámetro de 300 mm y con un mango de aluminio de 1.4 m de largo; esa red es apropiada para coleccionar en la vegetación acuática, en el lodo y en la arena.

Los moluscos *hidróbidos* se coleccionan dejando un mechudo en el agua cerca de un mes (Coney, manuscrito no publicado, sin fecha).

Para coleccionar *Viviparidae*, cerca del borde del lago o de los ríos, se pasa la mano o el cucharón Walker a través del lodo y de la arena. Cuando los moluscos viven sobre las rocas cerca de la orilla de ríos y lagos, pueden ser coleccionados a mano (Baker, 1974). En aguas someras se pueden coleccionar las plantas acuáticas con una red de mango largo, en aguas más profundas el material puede ser coleccionado con una draga (Lincoln y Sheals, 1979; Ward y Whipple, 1918). Además, Ward y Whipple (1918) agregan que es mejor usar una draga con una abertura de 25 x 15 cm cuando se trabaja a solas y en sitios profundos y, recomiendan llevar un buen número de bolsas de plástico de tamaño medio, así como de frascos de boca ancha para mantener los ejemplares de cada sitio separados. Los ejemplares frágiles deben separarse de los más pesados, para evitar que se dañen cuando se mueven. Por la misma razón los frascos se llenan parcialmente con agua del sitio, ya que los moluscos se adhieren a las paredes y de esa forma sufren menos durante su transporte.

Los moluscos carroñeros (*Viviparidae* y *Physidae*; ocasionalmente también bivalvos) se atrapan con mucho éxito en los arroyos dejando un pescado que pese aproximadamente 500 g o estiércol seco de pollo colocado dentro de bolsas de tela, en las inmediaciones de un lugar donde se encuentren algunos de los moluscos buscados. De una semana a 10 días más tarde se busca a los moluscos en un radio de 30 cm y una profundidad de 15 cm. Las trampas hechas con estiércol de pollo deben ser hechas de tela oscura y bien amarradas por los extremos. Se ancla la trampa al fondo. Para marcar el sitio, se entierra una vara que sobresalga del agua y que, además, pase inadvertida por personas que pudieran interferir con la colecta. Esta trampa permanece efectiva por 6 semanas; se sugiere que se mueva de sitio cada 10 días o 2 semanas para lograr mejores resultados. Al remover la trampa, se tamiza el lodo presente en un radio de 40 cm. También puede probarse esta trampa en lagos transparentes con fondos arenosos (Allison, 1974).

En los pozos artesianos se coleccionan moluscos dejando un colador de luz de malla pequeño por varios días (Lyman, 1974).

Los bivalvos de tamaño mediano a grande se coleccionan buscando sobre el fondo del cuerpo de agua con los pies o con una draga (Hoeh, com. pers.). Van der Schalie (1974) sugiere coleccionar almejas cuando los arroyos están bajos; en el norte de América, sucede entre agosto y octubre y, algunas veces en mayo, posi-

blemente esto suceda en algunas regiones de nuestro país. Sin embargo, en algunas áreas existe una temporada de ciclones; entonces, la mejor época en esas áreas es hacia el final de la primavera. En las pequeñas corrientes no hay mucha diferencia. Es de importancia especial elegir la temporada cuando el agua se encuentra a su mínimo nivel para colectar en una área dada. Nosotros hemos observado en el oeste de México que el mínimo nivel en arroyos grandes es entre febrero y junio antes de la temporada de lluvia.

Las almejas habitan en corrientes y lagos; sin embargo, hay menos especies en los lagos. En general, el número de especies que habitan un lago está en relación con la influencia que ejerce la corriente sobre el lago. Así, lagos con arroyos tienen menos especies que los lagos con ríos; no obstante también la fisiografía del lugar es importante para un cuerpo de agua y de ella dependerá del número de especies presentes en el área. Las almejas son más abundantes en corrientes lentas, enterrados en la grava, arena o lodo del fondo. La acumulación de conchas en la orilla es una buena indicación de la proximidad de un bajo y donde puede haber una buena colecta.

Otro buen indicio es la acumulación de conchas dejadas por algún animal (ratas, tejones, zorrillos). Esos animales comen cualquier tipo de almeja, buscando entre los concheros se pueden encontrar especies raras. Los almejas son muy sensibles a la contaminación y al transporte brusco de sedimentos, por lo que se les localiza fácilmente en corrientes donde el fondo se ve claramente; ahí aparecen sobre el fondo un par de pequeñas aberturas, los sifones (por medio de los cuales respiran y obtienen su alimento).

En sitios sombreados, donde hay poca visibilidad, se puede emplear una bielta para ostiones. Con ella se escarba sobre el fondo, con movimientos contra la corriente, la corriente limpiará las almejas lo cual permitirá verlas fácilmente. Es recomendable llevar consigo un colador para tamizar en diferentes sitios y colectar pequeños ejemplares. También en sitios sombreados, con reflejos u oleaje se puede emplear una cubeta con fondo de vidrio.

En cuerpos de agua corriente con gran profundidad, es necesario emplear una draga manejada desde un bote. En estos lugares también se puede usar la escafandra, la que permite trabajar a 2.5 o 3 m de profundidad; este aditamento es un auxiliar para la colecta a mano. Receptáculos a emplear para el transporte de las muestras pueden ser, canastos, bolsas o sacos. Es mejor llevar consigo sacos grandes (30 kg), por si se encuentra un área muy productiva. Las bolsas o sacos deben estar bien asegurados para evitar la mezcla de unas con otras (van der Schalie, 1974).

La colecta nocturna con redes manuales o de dragado da buenos resultados. El material colectado de esta manera puede ser revisado manualmente o someti-

do a técnicas de lavado o tamizado (Lincoln y Sheals, 1979). Los ejemplares colectados se pueden depositar en recipientes con agua para ser transportados al laboratorio (Knudsen, 1966).

En estudios de demografía, Brown (1979), considerando que las poblaciones de moluscos acuáticos se localizan en parches, eligió tomar cada muestra de la siguiente forma: se pasa una red rectangular, de 15 por 80 cm con una malla de 1 mm de luz, por la vegetación acuática durante 5 minutos, se toman 5 réplicas cada vez, se llevan al laboratorio e inmediatamente se separan los moluscos y las puestas de huevos. Cada muestra se vuelve a revisar uno o dos días después en caso que se hubiera quedado algún molusco. Según Brown la técnica tiene un 90 % de eficiencia.

Para estudios de densidad de adultos, Brown (1979) colocó un cilindro de metal de 25 cm de diámetro sobre el fondo del cuerpo de agua; luego cortó toda la vegetación dentro y colectó los moluscos adultos dentro del cilindro y en el fondo, haciendo 20 réplicas para estimar la variación en el muestreo.

El siguiente método se recomienda para hacer estudios cuantitativos de los organismos que habitan la vegetación acuática flotante y los del bentos. Este consiste de dos cajones, uno más angosto que va dentro de otro más amplio. El primer cajón es rectangular, de 44.5 cm por 70.5 cm de alto, los lados están cerrados con malla de bronce. El fondo es una puerta corrediza también cubierta con malla de bronce; los dos cajones deberán tener una puerta corrediza en uno de los lados. Los cajones (uno dentro del otro) se colocan sobre la vegetación acuática y se fijan firmemente al fondo. Con tijeras de podar se corta la vegetación, cuidando de cortar al ras y para molestar lo menos posible a los organismos adheridos a ella. Cuando se termina de cortar, se empujan las puertas corredizas y se saca el cajón interno del agua. Las plantas se sacan del cajón y se colocan en una cubeta con agua, éste se enjuaga varias veces con agua corriente y los organismos contenidos en él se colocan en un recipiente junto con los que se encuentren entre la vegetación colocada en la cubeta.

El segundo cajón (externo) permanece en su lugar y los organismos bentónicos se colectan con una draga Ekman de 15 cm cuadrados. La draga se baja dentro de la cubierta exterior de la trampa, se entierra bien dentro del fondo y con la mano se confirma que la draga ha cerrado para evitar que las raíces impidan el cierre de ella. En el laboratorio las dos muestras tomadas se procesan de la siguiente forma: se agrega a la cubeta con vegetación un poco de formaldehído, de esa forma los organismos se desprenden de ella, cada planta se lava sobre los tamices no 6, 16 y 35 (de 3360 a 500 micras de abertura). Los organismos del fondo se retiran del lodo uno por uno. Después, los animales se cuentan, se separan, se relajan y se colocan en alcohol al 70% (Gerking, 1957).

Para estudios de interacción, se observa la actividad de los organismos una hora cada día (Savino y Stain –1982– hicieron sus observaciones durante dos veranos).

Los organismos se colocan en cuatro estanques de acero, con el interior pintado de blanco (que facilita la observación). El agua se aerea y se hace reciclar por medio de un filtro de arena (concentración de Oxígeno 7mg/l). Se coloca una cuerda de plástico amarilla para permitir el crecimiento de *perifiton* (Savino y Stain, 1982).

### *Marinos*

Los gasterópodos se encuentran en todo tipo de ambiente marino y una gran cantidad de ellos habita en la zona de mareas. En bahías y estuarios donde las especies tienen hábitos nocturnos las colectas durante la noche son más productivas que durante el día (Knudsen, 1966; Gaviño *et al.*, 1974).

En playas rocosas, a lo largo del mar abierto se deben revisar las zonas de salpicadura por encima de la marea alta, donde varios moluscos se alimentan de algas microscópicas; se debe poner especial atención a los huecos donde el agua que salpica se acumula y regresa al mar. Moviéndose hacia abajo en la zona intersticial, se deben revisar las rocas, por encima, a los lados y en la parte de abajo y colocarlas después en su posición original. Se revisan los crecimientos de algas en las pozas que se descubren cuando baja la marea. Los nudibranchios generalmente se encuentran en las zonas rocosas de la costa, adheridos a las algas u otros substratos (Knudsen, 1966; Gaviño *et al.*, 1974).

Se debe revisar en las playas, donde varias especies se protegen enterrándose, dejando impresiones en la superficie de la arena al moverse hacia abajo; también en bahías y estuarios, alrededor de las plantas marinas y los depósitos de rocas. Para coleccionar en aguas más profundas, se recomienda el dragado y el buceo. Al coleccionar por buceo en zonas de sustrato duro se debe revisar directamente en grietas, cuevas y cañones, revisando la superficie de las rocas y entre las algas marinas en su totalidad (Lincoln y Sheals, 1979).

Los moluscos carnívoros pueden atraerse a trampas poniendo de cebo pedazos de jaiba, cangrejo, camarón o pescado. Las trampas deben dejarse en un mismo sitio por 24 horas y los moluscos entrarán a ellas. Como trampa, se sugiere utilizar sacos de yute con rocas entre las cuales se colocan los cebos; estas trampas se dejan en la marca de la marea baja durante la noche y se revisan al día siguiente (Knudsen, 1966; Gaviño *et al.*, 1974).

Las especies sésiles adheridas a rocas pueden ser coleccionadas con un martillo y un cincel. Los *quitones* se desprenden de las rocas con una espátula que se coloca

debajo del pie, se desliza con un movimiento firme y rápido para que no se adhieran al sustrato. Posteriormente, deben colocarse en el fondo del recipiente en el que se van a transportar para evitar que se enrosquen (Gaviño *et al.*, 1974).

Examinar el contenido estomacal de pescados también da buenos resultados, ya que muchos peces son depredadores de moluscos (Lincoln y Sheals, 1979).

Las larvas planctónicas se colectan por medio de finas redes de arrastre (Lincoln y Sheals, 1979).

## Tratamiento y preservación de ejemplares

### *Narcotización y relajación*

Antes de fijarse los moluscos deben ser anestesiados. De no ser así los organismos quedaran contraídos al ser fijados. Emberton (1989) ha comprobado que cuando los ejemplares no han sido apropiadamente relajados antes de fijarse; las estructuras internas se deforman y existen errores del 10 al 30% en las mediciones que normalmente se realizan de ciertos órganos reproductores en estudios de sistemática de moluscos terrestres y dulceacuícolas.

Terrestres. Si puede mantenerse al organismo vivo debe dejarse en ayuno durante 4 o 5 días para que se vacíe el tubo digestivo (Thomé, 1986). La recomendación de Thomé posiblemente tiene que ver con el hecho que en babosas *veronicélicas* los órganos del tracto digestivo se localizan sobre los órganos reproductores.

Los moluscos terrestres pueden ser relajados sumergiéndolos en un recipiente con agua fría hervida que no contenga oxígeno, luego el recipiente se tapa lleno al ras con agua. El organismo debe dejarse en el agua durante 24 horas o hasta que este completamente relajado (Knudsen, 1966; Gaviño *et al.*, 1974; Thomé, 1986), el proceso puede acelerarse adicionando al agua sustancias anestésicas como mentol, uretano, o una pizca de tabaco (Lincoln y Sheals, 1979). Otro método es sumergir al ejemplar en agua hirviendo sujetándolo con un palo contra el fondo del recipiente para mantenerlo extendido; sin embargo, con este procedimiento, generalmente los tentáculos quedan contraídos y el cuerpo no queda completamente extendido. Además hay una gran cantidad de secreción de moco. Otras técnicas que se han experimentado es agregar al agua aceite de clavo, cloroformo, o sumergirlos directamente en formol al 10 % o en AFA, sin embargo con estas técnicas se obtienen resultados parciales (Knudsen, 1966).

*Acuáticos.* Las especies acuáticas pueden ser anestesiadas con sulfato de magnesio, uretano, mentol o nembutal. En las especies de bivalvos, se han obtenido buenos resultados con fenoxetolpropileno y fenoxetol BPC. Coney (manus-

crita no publicado, sin fecha) recomienda, para estudios de anatomía, la relajación de almejas con sulfonato de metano (tricaine methane sulfonate) de 12 a 16 horas y posteriormente en 2-fenoxi etanol por 12 horas. Ya que algunas especies tienden a descomponerse en soluciones acuosas, es recomendable relajarlos poniéndolos a congelar con un poco de agua del medio de donde se colectaron. Antes de congelarlos, es preferible ponerlos un tiempo en el refrigerador y, cuando el agua este fría, pasarlos al congelador. Cuando el agua que rodea al animal ya se ha solidificado puede depositarse en formol (Lincoln y Sheals, 1979).

Otra técnica que se utiliza para la narcotización es poner a los ejemplares en un recipiente con agua de su hábitat y agregar alcohol gota a gota hasta llegar a una solución al 10%. También puede agregarse al agua en lugar de alcohol, cristales de sal epsom (sulfato de magnesio), lentamente cada 10 o 15 minutos, incrementando la cantidad cada hora. Después cuando los organismos están relajados, pueden transferirse a alcohol al 35% o formol al 5 o 10 %, para matarlos sin que haya contracción. También se ha sugerido depositar a los ejemplares en agua y calentar ésta gradualmente hasta que dejen de reaccionar cuando se les toca delicadamente con una aguja de disección; sin embargo, este método no es muy satisfactorio (Knudsen, 1966).

La técnica para *planórbidos* seguida por Paraense (1976) es como sigue: se colocan en un pequeño vaso con 100 mL de una solución de Nembutal al 0.2%, preparada con agua corriente de clorinada. Se dejan por 6 horas; cuando los caracoles están inactivos y bien extendidos, se toman con cuidado con las pinzas, con la abertura hacia arriba, se colocan en agua caliente a 70 °C por unos 45 segundos. Para desprenderlos de la concha se tira del cuerpo con suavidad y se les coloca en una solución de Railliet-Henry (Paraense, 1976).

Para organismos marinos se recomienda el agua de mar diluida con un volumen igual de solución isotónica de cloruro de magnesio. La narcosis superficial ocurre en pocos minutos. Esta misma sustancia, en solución 8 molar (M/8), se recomienda para organismos dulceacuícolas (Lincoln y Sheals, 1979).

*Nudibranchios* - Uno de los métodos consiste en narcotizarlos con mentol y después sumergirlos directamente en ácido acético glacial. Para los ejemplares más delicados, se recomienda el uso de alcohol y después formol, el gradual envenenamiento con formol o la técnica de congelado. Otra técnica consiste en adicionar al agua mentol y cubrir el recipiente por 12 horas y, después de este tiempo, adicionar lentamente formol, unas pocas gotas a un mismo tiempo, por un periodo de varias horas. En algunas ocasiones puede añadirse Benzocaína al agua y, después de 6 a 12 horas, cuando el ejemplar está completamente relajado, se adiciona lentamente formol gota a gota, para envenenarlo, o fijarlo directamente en formol al 5 o 10 % (Knudsen, 1966).

*Pelecípodos* - Los *pelecípodos* marinos mueren al ser depositados en agua dulce. También pueden narcotizarse en agua con alcohol o con mentol. Finalmente deben fijarse con alcoholes graduales hasta el 75% (Knudsen, 1966; Gaviño *et al.*, 1974).

*Quitones* - Se pueden anestesiar agregando al agua, donde se han depositado, varias gotas de aceite de clavo, aproximadamente media hora. También se amarran dos ejemplares pie con pie, se recomienda no sujetarlos con ligas y, se fijan en alcohol al 35% o formol al 10% (Knudsen, 1966; Gaviño, *et al.*, 1974).

### *Fijación*

Para moluscos marinos generalmente se utiliza como medio de fijación formol neutralizado al 5 %, en tanto que para los terrestres y dulceacuícolas se utiliza alcohol al 70% (Knudsen, 1966; Gaviño *et al.*, 1974). Después de mantener a los organismos en el fijador durante 48 horas, la solución debe cambiarse para que quede limpia de moco (Thomé, 1986). Para algunos grupos de moluscos se utiliza fenoxetol propileno, para una larga conservación (Lincoln y Sheals, 1979). El fijar los *nudibranchios* en formol al 5 % es más adecuado ya que, aunque con el alcohol los tejidos se mantienen más firmes, probablemente altera el color (Lincoln y Sheals, 1979). Los organismos sacrificados en formol que vayan a ser fijados en alcohol, primero deben lavarse en agua y ponerse en alcoholes graduales hasta el de 70 % (Gaviño *et al.*, 1974). En los *pelecípodos*, para que el fijador penetre bien, se deben mantener abiertas las valvas; esto puede lograrse introduciendo un pedacito de madera entre ellas. Si los organismos se van a utilizar en técnicas histológicas deben ser fijados con AFA o con Bouin (Knudsen, 1966).

La preservación de material para estudios de filogenia requiere que los organismos estén recién muertos y que las partes que se conserven sean congeladas de inmediato. De los bivalvos se cortan las branquias. De los moluscos terrestres se conservan el pie y la glándula digestiva. Las muestras se colocan en pequeños viales con tapa de broche, se etiquetan con tinta indeleble. En el campo, se almacenan dentro de un cilindro de Nitrógeno líquido. En el laboratorio se colocan en una ultracongeladora a - 70 °C.

### *Conchas*

Cuando sólo se quieren conservar las conchas sin los tejidos, se recomiendan varias técnicas para la extracción de éstos. Los organismos pueden ser sacrificados en

agua hirviendo, posteriormente se lavan y enfrían. Este proceso ocasiona que la masa visceral se desprenda fácilmente al darle un tirón firme; sin embargo, en los organismos en los cuales la concha está muy enrollada, es preferible desenroscarla lentamente con pinzas o con un gancho. Si han quedado residuos del cuerpo del organismo, la concha puede depositarse en un frasco con dos tercios de agua dulce que se debe mantener cerrado por varios días para que las bacterias descompongan los tejidos, posteriormente, se debe lavar con abundante agua para evitar el mal olor. En el caso de los quitones, la concha puede obtenerse desprendiendo el ejemplar a través de la disección. Si el anillo externo se desprende del manto, lo cual se logra después de haber fijado al organismo en formol al 10% por 24 horas, el caparazón se puede obtener completo; de no ser así, las placas deben numerarse con tinta indeleble iniciando la numeración con la placa anterior (Knudsen, 1966; Gaviño *et al.*, 1974).

### *Notas de campo*

Cuando se han tomado los ejemplares necesarios, se recomienda apartarse a un lugar confortable y tomar notas de la colecta: fecha, número de muestras tomadas, nombre del cuerpo de agua, distancia, dirección del pueblo más cercano, el municipio y el estado.

Los datos ecológicos son importantes para la localización de ambientes similares. Las muestras deben etiquetarse, una o varias etiquetas deben colocarse en las muestras (sacos, bolsas, frascos), diversos autores enfatizan la importancia de tener ejemplares con etiqueta y lo inútiles que son aquellos que no tienen datos. Las etiquetas serán escritas con lápiz en papel de buena calidad, recuerde que los organismos acuáticos están húmedos (almejas) y pueden estar sucios, lo cual permitirá que la etiqueta se moje, se ensucie y pueda desintegrarse: Si los ejemplares se procesarán al día siguiente o en dos (en el caso de las almejas solamente), se coloca a las muestras una etiqueta de metal con un número, el cual se anota en la libreta de campo. Las bolsas o sacos deben estar bien asegurados para evitar la mezcla de unas con otras. Los ejemplares en concha deben lavarse con un cepillo duro para quitarle las incrustaciones. Ejemplares muy sucios pueden limpiarse colocándolos en un recipiente con agua y unos granos de ácido oxálico (van der Schalie, 1974). Algunos almejas se resquebrajan con el tiempo, para evitar esto en parte, se esparce con una brocha parafina disuelta en Xilol o se unta vaselina a los ejemplares (van der Schalie, 1974).

Las notas de campo (Polaco com. per.) y la etiqueta de los ejemplares colectados son muy importantes para mantener e incrementar el valor de la colección.

En el diario de campo la información que aparece debe ser clara (fácil de leer). La información que se toma en el campo es la siguiente: Colector, Fecha, Altitud, Localidad y Estado.

Las localidades deben ubicarse con precisión, para que cualquiera que intente llegar al sitio de colecta lo logre. Para esto se fija un punto de referencia, que puede ser una ciudad, una carretera, un accidente geográfico que no cambie y que aparezca en los mapas comerciales (fáciles de obtener), si se toma como referencia una ciudad o un pueblo importante. Al mismo tiempo el sitio de referencia debe ubicarse dentro de los límites políticos (mismo estado) que la localidad. La localidad tiene un radio de aproximadamente 500m. Ejemplo:

26 km N, 15 km E, San Josecito, Nuevo León, 1500 m. 23-mayo-1993. Apellido Completo, Nombre abreviado.

Las notas de campo incluyen las condiciones de las vías de acceso, el personal que viajó en esa expedición, una relación de las actividades de colecta, registro de los animales observados. Tipo de vegetación, condiciones ambientales, temperatura. Debe registrarse las facilidades de hospedaje, alimentación, transporte, gasolina. Nombre y dirección de los informantes del lugar. Condiciones de captura de interés, la topografía.

Castillejo (1998) recomienda tomar el mayor número de datos. El trabaja con babosas y ha encontrado necesario, para su determinación taxonómica, anotar: longitud de la marcha, color del cuerpo y costados, existencia de bandas o manchas, color de la suela pedia y color del moco del cuerpo y de la suela, así como el comportamiento durante la cópula, tomar fotografías o hacer dibujos.

El diario de campo convencional es de tamaño esquila rayado, con perforaciones. Se hace un segundo margen a un centímetro del margen rojo con tinta china indeleble en todas y cada una de las hojas; sólo se escribe de un lado de las hojas y no se enumeran.

En el primer renglón se pone la fecha, el día y el mes completo. Se inicia la escritura en el segundo renglón. El nombre del colector se escribe en el primer renglón del lado derecho. El año en el primer renglón entre los dos márgenes. El año, nombre y la fecha se repiten en cada hoja. Complementos del Diario de Campo son tarjetas y lápiz (Polaco, com. pers.).

### *Envíos*

Cuando se desea enviar ejemplares para su revisión e identificación, donación o comprobación, se recomienda 1) emplear bolsas de plástico para ejemplares “en espíritu”, los ejemplares se colocan sobre toallas de papel blanco (las que tienen

algún color lo desprenden con el alcohol y el ejemplar toma algo del color) para protegerlo y para absorción del líquido. El ejemplar envuelto en la toalla, se coloca junto con su etiqueta en una bolsa de plástico, se añade líquido hasta que la toalla quede empapada, luego se cierra la bolsa lo mejor posible; si se posee un sellador de calor es mejor pues no se perderá nada de líquido. Se vuelve a colocar el ejemplar en otra bolsa de plástico y se asegura que no se derrame el líquido. El ejemplar o ejemplares se colocan dentro de una caja de cartón resistente o de madera sobre cacahuates de poliuretano u otro material amortiguante, luego se cubren con otra capa de material amortiguante y la caja se cierra.

Cuando se envían conchas y son diminutas, se colocan dentro de cápsulas de gelatina dentro de un vial con su etiqueta, se cierran con un pedazo de algodón procurando que la abertura del vial quede bien cerrada y así evitar la salida de los ejemplares. Evite mezclar conchas grandes con pequeñas, o frágiles con fuertes pues podrían dañarse. Use generosas cantidades de amortiguante cuando empaque conchas frágiles. Los viales se colocan entre cacahuates de poliuretano u otro material amortiguante. Ward y Whipple (1918) recomiendan, al empaquetar las conchas, no mezclar ejemplares pequeños con grandes, pues los pequeños se perderán dentro de los grandes.

## **Cultivo**

### *Terrestres*

Nosotros seguimos la técnica empleada por Walter B. Miller (com.pers.). Al tiempo de coleccionar los moluscos vivos se toma un poco de tierra del sitio de muestreo. Los organismos se mantienen en cajas en el cuarto de cultivo. Se coloca la tierra (tomada del sitio de muestreo) sobre el piso de la caja de cultivo, luego se depositan los ejemplares vivos. La hojarasca o tierra húmeda permite que los organismos tengan donde refugiarse (Thomé, 1986). La caja se cubre con su tapa y una toalla empapada con agua. A la caja se le pone una etiqueta con los datos de colecta y colector, además del número de organismos colectados. Los ejemplares se revisan una o dos veces por semana, se retiran las excretas y el alimento no consumido. Al remover el alimento se recomienda poner especial cuidado y cerciorarse que los ejemplares no se van con los desperdicios al bote de basura, el mismo número de organismos colocado en la caja es el mismo que debemos de tener al tapar la caja, pues los moluscos pueden escapar fácilmente.

Las cajas de plástico pueden lavarse con una solución débil de detergente, se enjuagan muy bien.

Nosotros alimentamos a los moluscos terrestres con lechuga fresca, un poco de avena, trozos delgados de zanahoria y apio; Thomé (1986) también recomienda hojas de alfalfa y col. Las cajas se mantienen en cuartos con temperatura controlada, entre 18 y 20 grados C. Las cajas se elaboran con madera resistente a la humedad y al crecimiento de microorganismos (*red wood*), también hemos utilizado cajas herméticas de plástico. Las cajas de madera tienen las siguientes dimensiones: 18 x 30 x 14 cm. La tapa ligeramente más ancha que la caja: es un rectángulo cubierto en toda su extensión por una malla de plástico (1 mm de luz).

Las cajas empleadas por Thomé (1986) para mantener babosas *veronicélicas* en el laboratorio son de plástico y más grandes que las empleadas por Miller para caracoles (40 x 30 x 15 cm); además en ambos tipos de cajas ha logrado reproducir a los moluscos terrestres.

A la tapa de la caja de plástico, le hemos cortado un rectángulo, dejando un margen para pegar una malla de tela.

Los organismos bajo cultivo se mantienen activos en el laboratorio o cuarto de cultivo, respetando las temporadas de lluvia y sequía de sus lugares de origen, en caso contrario los organismos pueden morir.

## Acuáticos

### *Dulceacuícolas*

Estos organismos se mantienen bien entre 15 y 20 grados C (especies de regiones templadas) o entre 20 y 25 grados C (especies subtropicales). El agua del tanque se debe reciclar a través de un filtro de grava o de carbón o cambiarse al menos una vez por semana. Se calcula que la densidad de moluscos adecuada es uno por litro de agua, para evitar problemas de confinamiento. Un fotoperiodo de 12 horas (12 hr luz, 12 de oscuridad) permitirá el crecimiento de perifiton. Los moluscos dulceacuícolas se alimentan agregando a los tanques plantas o substratos duros cubiertos con perifiton, tomados de sus lugares de origen; otros alimentos pueden ser: lechuga, cereal o espinaca. La alta tasa de reproducción de los *físid*s se controla manteniéndolos a bajas temperaturas. Las puestas de huevos deben retirarse para controlar las poblaciones (Brown, 1991). Los estanques se rotulan con los datos de colecta de los ejemplares.

### *Marinos*

Los tanques para mantener a los moluscos marinos son básicamente parecidos a los descritos para mantener en el laboratorio a los dulceacuícolas. El agua de mar

puede transportarse desde el sitio de muestreo en bidones o el agua se prepara con la mezcla de sustancias adecuadas (*Instant Ocean*) que puede conseguirse en una buena tienda para acuarios. El agua debe ser aireada, haciendo pasar aire a través del filtro de grava. El alimento de estos moluscos pueden ser pedacitos de camarón congelado, levadura fresca, ostión fresco o alimento para peces, agregado dos veces por semana (Malek y Cheng, 1974).

**Anexo 1. Material**

A.1.1 Para el campo	
Aceite de clavo, cloroformo	Escafandra
Agua hervida fría	Espátula
Alcohol etílico 70%	Estuche de disección
Avena	Etiquetas
Benzocaína	Frascos (100 ml, 250 ml, 1000 ml)
Bielda para ostiones	Frascos de boca ancha (50, 100, 250, 500, 1000 ml)
Bolsas de papel	Guantes de cuero
Bolsas de plástico (1/2 kg, 1 kg, 3 kg)	Lápiz
Bolsas de tela	Linterna
Bote de remos	Martillo
(2) cajones rectangulares (con malla de bronce), dos: uno dentro del otro	Mechudo
Cámara fotográfica	Mentol, uretano, o pizca de tabaco
Canastos, bolsas o sacos grandes (30 kg)	Nucleador (cilindro ca.10 cm de diámetro y 15 de profundidad)
Cebo: pedazos de jaiba, cangrejo, camarón o pescado (moluscos marinos)	Pescado o estiércol seco de pollo 500 g
Cerveza	Pinzas
Cilindro de metal (25 cm de diámetro)	Pinzas de panadero
Cilindro de Nitrógeno líquido	Red con mango largo
Cíncel	Redes de arrastre finas
Cinta de 50 m de largo	Red de golpeo: lienzo o caja de madera y un palo
Cloruro de magnesio	Red rectangular (15 x 80 cm con malla de 1 mm de luz)
Colador	Saco de yute

MOLUSCOS

Crema de cacahuete	Sulfato de magnesio, uretano, mentol o nembutal
Cuadrado de alambre de 25 x 25 cm	Tabaco
Cubeta	Tarjetas
Cubeta con fondo de vidrio	Tijeras para podar
Diario de campo	Tinta indeleble
Draga Ekman de 15 cm cuadrados	Vasos de plástico
Draga o cucharón Walker	Viales
Equipo de buceo	Viales con tapa de broche

A1.2 Para el alboratorio

Ácido acético glacial	Filtro de arena
AFA	Formaldehído
Alcohol etílico	Formol
Algodón	Formol al 10 %
Bórax	Lupa o microscopio estereoscópico
Cacahuates de poliuretano	Papel filtro
Cajas rectangulares de plástico o madera (40 x 30 y 15 cm con tapas de tela fina)	Pincel o aguja de disección
Cápsulas de gelatina	Solución de Railliet-Henry
cuerda de plástico amarilla	sulfonato de metano
Estanques de acero	Tamices de varias aberturas de malla (de la fina a la gruesa)
Estufa	Toallas de papel blanco
Fenoxetol BPC	Vaso de precipitados
Fenoxetol propileno (fijador)	Xilol (o tolueno o benceno)

## **Anestésicos**

- *Mentol*

Los organismos se depositan en agua limpia o agua de mar para especies marinas y se dispersan algunos cristales de mentol sobre la superficie del agua (Lincoln y Sheals, 1979).

- *Sulfato de Magnesio*

El organismo se coloca en un recipiente con una solución saturada de sulfato de magnesio, aunque se obtienen mejores resultados si se colocan los cristales de esta sustancia gradualmente sobre la superficie del agua cuando el organismo ya está sumergido en ella. Aunque también puede ser agregado al agua gradualmente con lapsos de varias horas en la forma de solución al 20 o 30 por ciento. Para organismos marinos generalmente se utilizan 150 g por litro de agua de mar, sin embargo debido a la presión osmótica que se ejerce sobre el organismo, se pueden ocasionar cambios tisulares en él (Lincoln y Sheals, 1979).

- *Cloruro de Magnesio*

Los organismos marinos se sumergen en una solución isotónica de cloruro de magnesio la cual se prepara usando 7.5%  $MgCl_2 \cdot 6 H_2O$  disuelto en agua dulce o agua destilada (Lincoln y Sheals, 1979).

- *Fenoxetol propileno*

Los organismos deben sumergirse en agua y adicionar fenoxetol propileno en una proporción que no exceda el 1 % del volumen de agua en el recipiente (Lincoln y Sheals, 1979).

- *Fenoxetol BPC (B - phenoxyethylalcohol)*

Los organismos deben sumergirse en una solución acuosa al 1 ó 2% de Fenoxetol BPC (Lincoln y Sheals, 1979).

**Fijadores**• *Bouin (Picro - Formol)*

Solución acuosa saturada de ácido pícrico	75 ml
Formol (comercial)	25 ml
Acido acético (glacial)	5 ml

El material puede fijarse en esta sustancia por 12 horas o dejarse en ella indefinidamente (Lincoln y Sheals, 1979).

• *Bouin alcohólico (AFA)*

Acido pícrico	1 g
Acido acético (glacial)	15 ml
Formol (comercial)	60 ml
Alcohol (80%)	150 ml

El tiempo de fijación debe ser de alrededor de dos horas o quizá un poco más para especies muy esclerotizadas (Lincoln y Sheals, 1979).

• *Solución de Railliet-Henry*

Formol	5 ml
Acido Acético	2 ml
Cloruro de Sodio acuoso al 0.6%	93 ml

**Agradecimientos**

Agradecemos a Fernando Chiang Cabrera y a Oscar J. Polaco la revisión crítica el manuscrito.

## Referencias

- Allison L. N. 1974. Trapping freshwater snails. In: How to Study and Collect Shells, American Malacological Union, A Symposium. Pp.59-61
- American Malacological Union. 1974. How to Study and Collect Shells, American Malacological Union, A Symposium.
- Appleton C. C. 1996. *Freshwater mollusks of Southern Africa: with a chapter on bilharzia and its snail hosts*. University of Natal Press, Pietermaritzburg.
- Baker F.C. 1974. Collecting non-marine shells, fresh water snails. In: How to Study and Collect Shells, American Malacological Union, A Symposium. Pp. 56-59.
- Bequaert J. C. y Miller W. B. 1973. *The mollusks of the arid southwest, with an Arizona Check list*. University of Arizona Press, Tucson, Arizona, EUA.
- Brown K. M. 1979. The adaptive demography of four freshwater Pulmonate snails. *Evolution*, 33(1):417-432.
- Brown K. M. 1991. Mollusca: Gastropoda. In: Thorp J. H. y Covich A. P. (Eds.). *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press. Nueva York, EUA.
- Castillejo J. 1998. *Guía de las babosas Ibéricas*. Real Academia Gallega de Ciencias, Santiago, España.
- Clench W. J. 1974. Land shell collecting. In: How to Study and Collect Shells, American Malacological Union, A Symposium. Pp. 67-68.
- Coney A.C., Wallace A. T. y Bohannon R. 1981. A method of collecting minute land snails. *The Nautilus*, 95(1):43-44.
- Emberton K. C. 1989. Retraction/extension and measurement error in a land snail: effects on systematic characters. *Malacologia*, 31(157-173).
- Gaviño de la T. G., Juárez C. y Figueroa H. H. 1974. *Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo*. Limusa. México.
- Gerking S. D. 1957. A method of sampling the littoral macrofauna and its application. *Ecology*, 38(2):219-226.
- Knudsen J. W. 1966. *Biological techniques, collecting, preserving, and illustrating plants and animals*. Harper and Row, EUA.
- Krull W. H. y Mapes C. R. 1951. Studies on the biology of *Dicrocoelium dendriticum dendriticum* (Rudolphi, 1819) Loos, 1899 (Trematoda: Dicrocoeliidae), including its relation to the intermediate host, *Cionella lubrica* (Müller). *The Cornell Veterinarian*, 41(3).
- Lincoln R. y Sheals J. G. 1979. Invertebrate animals, collecting and preservation. British Mus. Nat. Hist. Cambridge Univ. Gran Bretaña.
- Lyman F. 1974. Artesian wells. In: How to study and collect shells. American Malacological Union, A Symposium. p. 61.
- Malek E. A. y CHENG T. C. 1974. *Medical and economic malacology*. Academic Press, Nueva York, EUA.
- Morton J. E. 1967. *Mollusks*. Hutchinson University Library, Londres, Inglaterra.

- Paraense W. L. 1976. A natural population of *Helisoma duryi* in Brazil. *Malacologia*, 15(2):369-376.
- Pearce T. A. 1994. Effect of intraspecific crowding on growth rates in three terrestrial snail species. Tesis de Doctorado (Ph.D.) Universidad de Michigan, Ann Arbor, USA.
- Rocque L. A. A. 1974. Short notes on land snails. In: How to Study and Collect Shells, American Malacological Union, A Symposium. Pp. 69 - 71.
- Roscoe E. J. 1974. Collecting mollusks in desert regions. In: How to Study and Collect shells, American Malacological Union, A Symposium. Pp. 73 -76.
- Russell-Hunter W. D. 1978. Ecology of freshwater pulmonates. In: Fretter, V. y Peake J. (Eds.). *Pulmonates*. Vol. 2A. Academic Press, Londres, Inglaterra.
- Savino J. F. y STAIN R. A. 1982. Predator-prey interactions between largemouth bass and bluegills as influenced by simulated, sumerged vegetation. *Transactions of the American Fisheries Society*, 111(3):255-266.
- Schalie Van Der H. 1974. Fresh water mussels. In: How to Study and Collect Shells, American Malacological Union, A Symposium. Pp. 61- 67.
- Thome J. W. 1986. Instructions to Veronicellidae's preparation. Fundacao Zoobotanica do Rio Grande do Sul, Brasil.
- Ward H. B. y Whipple G. H. 1918. *Fresh-water biology*. John Wiley and Sons, Inc. New York, EUA.



# 8

## INSECTOS TERRESTRES

Hugo Delfín González y Pablo C. Manrique Saide\*

### **Introducción**

Los insectos son los animales más abundantes y diversos que han colonizado la tierra. Han invadido prácticamente todos los ambientes terrestres y acuáticos existentes. Este grupo de animales se puede definir, en sentido amplio, como organismos que se desarrollan mediante metamorfosis además de presentar ciclos de vida cortos. Estas y otras muchas características los constituyen como el grupo biológico más exitoso que haya colonizado la tierra. La gran diversidad de los insectos es evidente y representa más del 75% de los artrópodos conocidos e incluye cerca de 30 ordenes distintos. Así, los insectos son, por mucho, el grupo de animales metazoarios más importante en biomasa, variedad genética e interacciones bióticas en ecosistemas terrestres. Su estructura, fisiología y comportamiento han sido objeto de selección natural continua para producir un vasto arreglo de morfologías y estilos de vida, que los ha hecho ocupar millones de nichos.

Las interacciones planta-insecto son las relaciones terrestres más variadas sobre la tierra. Los insectos son importantes actores en los distintos procesos de los ecosistemas y en la sobrevivencia de las plantas. Los insectos son polinizadores de la mayoría de las plantas con flores y recicladores de nutrientes, muchos son herbívoros que dan soporte a muchos parasitoides, depredadores y mutualistas, todos los cuales requieren atención y conservación.

---

\* Departamento de Zoología, FMVZ, Universidad Autónoma de Yucatán.

En cuanto a riqueza de especies, los estimados varían desde 750,000 a más de un millón de especies conocidas. Los cálculos estimados para el probable número de especies que realmente existen, y del que solo se conoce una parte, varían desde 1.84 millones hasta 50 millones, entre las cuales una postura sensata sería cercana a los 10 millones de especies, muchas de las cuales pese a ser muy abundantes son desconocidas para la ciencia. Si consideramos que México es el cuarto país más rico en diversidad biológica y que, cerca del 10% de las especies de los grupos mejor conocidos tienen representación en el País, una estimación conservadora (con ajustes de acotación) permitiría afirmar que México cuenta con cerca de medio millón de especies de insectos.

La riqueza y la abundancia de los insectos está limitada por factores bióticos y abióticos. La mortalidad de los insectos es alta y variable, aunque normalmente la descendencia es alta. La complejidad y la variabilidad de estos factores de mortalidad, en tiempo y espacio, hacen que las predicciones de sobrevivencia de las especies sea incierta. Esta dificultad de predecir es particularmente aguda cuando la perturbación causada por el humano es creciente y la fragmentación del paisaje, modifican las relaciones interespecíficas existentes. La adversidad climática se incrementa hacia las regiones polares, seguida de un decremento general de riqueza de especies, mientras que en las regiones tropicales el comportamiento es inverso. Este decremento aparentemente es condicionado más por adversidad climática que por la productividad primaria en plantas. Como consecuencia de este patrón, durante millones de años, en los trópicos muchas especies de plantas han evolucionado, merced a la menor adversidad climática. Estos factores, aparejados con cambios coevolutivos planta-insecto, y el efecto de los procesos alelopáticos, han contribuido a la gran variedad de insectos en los trópicos. Estos argumentos que intentan explicar la gran riqueza de especies de insectos en los trópicos no son los únicos, existen otros muchos (cerca de 20) pero no es intención de este texto discutirlos (para detalles consulte Pianka, 1978; Stevens, 1989).

Sin embargo, en la aparente estabilidad de las selvas tropicales, hay variaciones diarias de clima, que afectan el comportamiento estacional de las poblaciones de insectos. La variación de las poblaciones es evidente en los trópicos y en zonas templadas, haciendo que el monitoreo de presencia/ausencia o abundancia sea importante en todas las latitudes.

Ecológicamente hablando, la Clase Insecta incluye representantes de todos los gremios, en prácticamente todos los ecosistemas conocidos. De hecho, muchos de los modelos ecológicos que se conocen han sido desarrollados utilizando poblaciones de insectos como objeto de estudio. Esta gran heterogeneidad permite que los insectos provean excelentes modelos de monitoreo y de criterio de selección de áreas naturales protegidas. Los sitios de reserva deben de ser tan

grandes como sea posible para incluir el amplio espectro de fluctuaciones poblacionales. Así, el sitio de reserva debe contener áreas de fauna postglacial, insectos de ecosistemas típicos y raros, refugios de especies endémicas y áreas de especies dinámicas.

Pese a todos estos argumentos, desde el punto de vista conservacionista, los insectos son un enigma. Para muchos especialistas en manejo de fauna silvestre, los insectos no pertenecen a este grupo. Más aún, dentro de las normas oficiales mexicanas donde se indican las especies amenazadas o en peligro de extinción, sólo dos o tres especies de insectos son incluidas, cuando se sabe que existen grupos completos (v.g. abejas nativas con cerca de 2 000 especies en México) que están siendo amenazados por la reducción en los sitios naturales de nidación, por la conversión inadecuada de las áreas silvestres a zonas de cultivo o pastoreo.

Desde la perspectiva antropocéntrica, muchas especies son plagas agrícolas, otras son vectores de enfermedades o son susceptibles de explotación comercial. En muchos textos de entomología o temas afines, se privilegia el estudio de las especies nocivas, soslayando el estudio o la mera mención de las especies benéficas, con lo cual dejan la sensación de que los insectos son animales predominantemente perjudiciales, cuando en la realidad las especies dañinas representan a una minoría de los grupos de insectos existentes. De hecho, algunos de los grupos considerados benéficos son muy diversos y abundantes, baste como ejemplo los insectos parasitoides y los polinizadores que tienen cerca de 120,000 especies, que representan cerca del 10% de todas las especies de organismos conocidas.

Los representantes con importancia económica son muchos y de muy diversos grupos. En la agricultura mexicana se conocen cerca de 500 especies importantes, con representantes regionales como *Schistocerca pisceifrons*, *Bemisia tabaci* y *Myndus crudus* que han ocasionado verdaderos desastres en distintas zonas de la Península de Yucatán. En el área de salud existe una gran cantidad de insectos relevantes. A manera de ejemplo, se conocen vectores de enfermedades como *Aedes aegypti*, vector del dengue; especies del género *Anopheles*, transmisoras del paludismo; *Triatoma dimidiata*, vector de la enfermedad de Chagas y *Cochliomyia hominivorax*, causante de la miasis o gusanera del ganado.

Existen otros muchos grupos con importancia económica, por los beneficios que de ellos derivan, aunque la mayoría de ellos tienen un uso relativamente restringido en el País. La mayoría de ellos presentan expectativas de desarrollo en tecnología y explotación que no han sido exploradas a plenitud. Entre los ejemplos más importantes están el complejo multiespecífico de abejas nativas, útiles como polinizadoras controladas de cultivos en los que se ha probado, con algunos ejemplos, que incrementan sensiblemente la productividad; y los grupos de avispas, moscas, escarabajos y hormigas (parasitoides y depredadores) útiles como controladores de poblaciones plaga

y verdaderas alternativas al uso de plaguicidas. Otros ejemplos son el gusano de seda (*Bombix mori*), la cochinilla de la grana y el grupo de los insectos comestibles, sin soslayar la importancia de los grupos silvestres.

En todos los casos la información es muy abundante y no es intención de este texto agotarla. Sin embargo, lo aquí referido sirve de justificación o de razón de estudio para los profesionales en manejo de recursos naturales. Es indispensable que el profesional conozca con cierta amplitud este grupo de organismos y las posibilidades que se tienen de manejarlos como recurso. Para alcanzar este gran objetivo de manejo, es necesario cubrir requerimientos de conocimiento que van desde el proceso inicial de conocer a los artrópodos hasta aquellos que contribuyan al conocimiento de la diversidad, relaciones insecto-humano existentes y descubrimiento de otras, para posteriormente poder manejarlos como recurso, ya sea promoviendo los procesos en que se involucran o interrumpiendo los mismos. Sin embargo, entre ambas etapas existen otras que requieren trabajar con los artrópodos y que serán tema del siguiente texto, tales como: los principios generales para muestrear insectos terrestres, los métodos generales para la recolecta y preservación de artrópodos, y finalmente ejercicios para discutir y poner en uso algunos de los conceptos e información suministrada.

Para ampliar distintos aspectos de los temas aquí descritos sugerimos consultar para aspectos generales de poblaciones animales a Andrewartha (1973) y Pianka (1978); de muestreo de insectos a Morris (1963), Southwood (1978), Calabuig (1988), Morón y Terrón (1988) y Kuno (1991); para muestreo en áreas agrícolas a Barfield (1989), Ruesink y Kogan (1990), Pedigo y Buntin (1993); y para métodos de recolecta de muestras a Carballo (s/f), Marcos-García (1988), Martin (1977), Muirhead-Thompson (1991), Peterson (1964), Papaverio y Vanzolini (1990)

### **Principios generales**

Todo aquel que pretende estudiar algún grupo de insectos, debe contemplar que una de las partes más importantes de su trabajo es el diseño del muestreo, mediante el cual pretende generar información que le permita contestar las preguntas que se ha planteado. Los aspectos generales de este diseño y algunos de los análisis posibles son explicados en el primer capítulo de este texto. Es importante destacar que en este capítulo se incluyen sólo algunos aspectos generales del muestreo de poblaciones de insectos, ya que los detalles y posibilidades que se requieren son prácticamente imposibles de incluir aquí. Más aún, muchos de los detalles metodológicos deberán ser ajustados dependiendo de la población que se pretende estudiar.

Es común que se confundan los términos colecta y muestreo, cuando en realidad son fundamentalmente diferentes. Se establece un programa de colectas o recolectas cuando la información que se requiere no va más allá de la composición de especies de un sitio (listados florísticos o faunísticos), de establecer el estado de desarrollo fenológico de la población a estudiar o de estimar el grado de parasitismo que presenta un área dada. En cambio, los programas de muestreo permiten establecer parámetros poblacionales (v.g. densidad, mortalidad, natalidad, etc.) basados en la representatividad de las muestras. Por estas razones, ambos tipos de programas son aplicables a poblaciones plaga o silvestres, pero cuando se trata de poblaciones experimentales o aisladas, carece de sentido establecer programas de recolecta.

Antes de iniciar cualquier trabajo de este tipo, es importante establecer objetivos claros para el estudio que se pretende iniciar. Desafortunadamente, es relativamente común encontrar estudios ecológicos en los cuales se ha sacrificado el planteamiento de hipótesis con sentido biológico por el diseño novedoso de experimentos. Las técnicas modernas de muestreo son sólo herramientas que seducen con facilidad, por lo que es conveniente ser cauto para no valorar parámetros con significado biológico limitado. Más aún, un buen diseño estadístico debe estar soportado por métodos adecuados de trabajo de campo y por la selección correcta del equipo y técnicas de toma de muestras. Un diseño experimental correcto abastecido de información obtenida mediante técnicas inadecuadas puede llevar a conclusiones incorrectas. De ahí que sea importante efectuar una revisión bibliográfica extensa. La mayoría de los aspectos metodológicos relevantes para el diseño y toma de muestras pueden ser resueltos durante esta revisión. Algunos detalles metodológicos requerirán ser resueltos con la experiencia o creatividad del investigador.

En general, el muestreo de insectos se realiza para conocer distintos aspectos de las poblaciones silvestres (interés científico) o para establecer programas de manejo de poblaciones específicas (v.g. plagas, vectores de enfermedades, grupos indicadores, etc.). En ambos casos, es de uso común entre los entomólogos desarrollar programas preliminares de muestreo en el que se definen una serie de parámetros útiles en el diseño formal que ha de ser utilizado.

Los programas preliminares de muestreo (preliminares), permiten adquirir conocimientos mínimos sobre el grupo de interés y permiten establecer los límites del universo de trabajo. Lo usual es que cuando se pretende muestrear un solo hábitat se establezcan programas de carácter intensivo en los cuales el número de muestras y el esfuerzo de colecta por unidad de muestra es mayor que cuando se establecen programas extensivos (para dos o más hábitats). Esta definición del universo de muestreo la mayoría de las veces se traduce en estimaciones de la extensión de la zona de muestreo y del número de especies que serán estudiadas.

Normalmente cuando las especies de interés se ubican en áreas de cultivo se considera la plantación completa como el universo. En estos casos es importante reconocer si la especie de interés es plaga directa (produce daño directo por alimentación) o indirecta. Las plagas indirectas no siempre son fáciles de reconocer ya que puede tratarse de vectores de algún patógeno como virus o que sus secreciones o excreciones sean utilizadas por otros organismos para desarrollarse, como las mielecillas residuales de los pulgones que producen fumaginas que son las que realmente deterioran el producto. En poblaciones silvestres es necesario restringir el área a muestrear, ya que normalmente la distribución natural del grupo de interés supera la capacidad operativa y financiera del investigador .

Un primer aspecto que es establecido mediante el muestreo preliminar es la disposición espacial relativa de la población. En la literatura se consignan muchos patrones de distribución distintos, aunque en la práctica se conocen tres fácilmente reconocibles: uniforme, agregada y al azar. A partir de un número arbitrario de muestras (tomadas durante el muestreo preliminar) se calcula la proporción media: varianza, cuando los valores son muy similares se acepta que la población presenta una distribución al azar (muy común en poblaciones silvestres), cuando el valor de la media es superior al de la varianza se trata de poblaciones con distribución uniforme y, cuando la varianza es mayor al valor de la media se trata de poblaciones con distribución agregada. La distribución uniforme y la agregada de poblaciones de insectos son comunes en áreas de cultivo y plantaciones. Durante este muestreo es importante probar con distintos tamaño de muestra, para elegir aquel que incluya la mayor variación posible y que mejor represente el comportamiento de la población.

Un aspecto no siempre señalado en las descripciones de métodos de muestreo es la estimación de la relación costos/esfuerzo del trabajo de campo. Resulta poco práctico hacer proyecciones que implican números de muestras y costos que superan la capacidad técnica y financiera del grupo de trabajo. Es más recomendable, reducir estos números a niveles manejables, aunque se esté por debajo del número de muestras calculado. Con los valores obtenidos durante la prospección es posible establecer el número teórico de muestras (N) como:

$$N = (S/E X)^2$$

S = Desviación estándar de las muestras

X = Media de las muestras

E = Error estándar predeterminado

Sin duda, conocer la biología básica del grupo o de la especie a estudiar permite que el diseño y el muestreo logren su objetivo. Es condición deseable cono-

cer las características biológicas de las especies de interés, al menos en general, tales como el tipo de metamorfosis, duración del ciclo de vida, hábitos alimenticios y aspectos de conducta importantes (v.g. tanatosis, donde el adulto se finge muerto y se arroja al suelo para evitar el ataque de depredadores). La toma de muestras debe ser especialmente rigurosa en estos aspectos, ya que no siempre se toman muestras de todos los estadios de desarrollo de la especie. Es común que los diferentes estadios de desarrollo de grupos relativamente sésiles (v.g. fauna edáfica, pulgones) sean muestreados simultáneamente (ametábolos y muchos paurometábolos). Sin embargo, cuando las formas adultas son voladoras activas se requiere al menos de dos muestreos distintos para representar las formas juveniles y las adultas. De ahí que sea necesario establecer con anticipación la etapa o etapas fenológicas sobre las que se aplicará el muestreo.

En los grupos ápteros, las formas juveniles se distinguen de las adultas por las diferencias en tallas y los caracteres sexuales externos (ametábolos). En otros grupos de insectos las formas juveniles son similares a las formas adultas, excepto por las diferencias en tamaño, el desarrollo de las alas y los caracteres sexuales externos (paurometábolos). Los insectos con formas adultas que son voladores activos incluyen grupos en el que las formas juveniles son distintas morfológica y ecológicamente de las adultas, (v.g. larvas acuáticas, adultos voladores) (hemimetábolos); grupos que presentan formas larvales, pupales y adultas totalmente distintas entre si (holometábolos); y grupos que también presentan formas larvales, pupales y adultas, sólo que las etapas larvales presentan al menos dos formas totalmente distintas (hipermetábolos).

El tamaño de la unidad de muestreo. Es la subdivisión arbitraria del habitat, de manera que cada unidad es perfectamente reconocible, que sea estable o que los cambios sean cuantificables y que todas las unidades tengan la misma probabilidad de ser seleccionadas. Morón y Terrón (1988) establecen dos tipos de unidades muestrales: las especiales y las temporales. Las primeras incluyen las unidades de superficie, de volumen, de peso y unidades biológicas, de manera que las unidades se refieren como número de insectos por unidad (v.g. número de escarabajos xilófagos por m<sup>2</sup> de corteza, número de moscas por kilo de fruto, número de ectoparásitos por ave). Las unidades temporales se refieren al número de insectos capturados por alguna trampa utilizada en un tiempo determinado, de manera que las unidades se refieren como individuos / área / tiempo.

Otro aspecto que debe ser establecido es la posible estratificación de la muestra, que está directamente relacionado con el habitat colonizado por el grupo de interés. No todos los muestreos requieren de estratificación, solo aquellos en que la población a estudiar muestra una marcada preferencia por algún habitat. Es necesario tener en cuenta que la estratificación debe corresponder y ser congruente

con los objetivos del estudio. Los diferentes estratos que se decidan deben ser lo más homogéneos posibles, de modo que con una muestra de cada estrato se obtenga una estimación precisa de la media. Los estratos serán utilizados como variables independientes del estudio. Ya que las modalidades que pueden adquirir las estratificaciones son prácticamente infinitas, es difícil generalizar. Las estratificaciones más comúnmente utilizadas están referidas a la ubicación preferencial de las especies en las distintas “capas” de la cubierta vegetal (y todas las subdivisiones posibles), la ubicación en los cultivos, densidad y distribución de plantas hospederas, los accidentes del terreno, a distintos factores físicos como temperatura o niveles de humedad, distintos horarios de actividad y cambios edáficos, entre otros. La literatura puede ser muy útil en este trabajo, aunque la experiencia del investigador es un factor muy importante. A continuación describiremos algunos ejemplos hipotéticos que consideramos pueden aportar algunas ideas útiles.

- a) En una isla recientemente colonizada, se decidió introducir por primera vez cultivos de tomate. Después de varias cosechas exitosas, inesperadamente surgió una enfermedad viral desconocida. Los antecedentes sobre enfermedades similares en otros sitios sugieren que los virus son transmitidos por insectos fitófagos que al momento de absorber la savia de la planta inoculan el patógeno. También se sabe que en los casos reportados algunos de los fitófagos atacan solo los brotes nuevos, en otros la base de la planta y en otros la planta completa. En este caso, donde no existe información directa del problema, es recomendable establecer una estratificación tan fina como sea posible, para reconocer los fitófagos en las muestras de fauna edáfica, en la fauna directamente asociada a la raíz y a cada parte de la planta, que sería la manera más clara de definir cual es la especie o especies problema y si ésta muestra distribución preferencial en la planta y en el cultivo.
- b) En un estudio de diversidad se pretende probar si existen diferencias entre la composición de las comunidades de insectos asociadas a monocultivos y cultivos mixtos de maíz y frijol. La estratificación de ambos tratamientos debe ser esencialmente igual aunque los cultivos mixtos, por definición, presentan más estratos. En los monocultivos de maíz es posible establecer una gran cantidad de estratos. La fauna asociada a las axilas de las hojas es diferente a la encontrada sobre la caña, la asociada a la raíz y a la fructificación. ¿La fauna encontrada en las cañas y axilas inferiores es igual a encontrada en las superiores? Probablemente en el monocultivo las diferencias sean pequeñas y estén dadas por factores como luminosidad, pero en los cultivos mixtos, donde las plantas de frijol generan un microambiente diferente, probablemente las diferencias en la composición sean significativas.

- c) Se pretende establecer en una comunidad urbana una campaña de control de poblaciones larvianas de *Aedes aegypti*, el mosquito vector del dengue. Se sabe con anterioridad, que las larvas de este mosquito se desarrollan en criaderos (receptáculos pequeños de agua naturales o artificiales) ubicados preferentemente en ambientes domésticos y peridomésticos en asentamientos urbanos y suburbanos, y que existen otras especies de mosquitos que también se desarrollan en estos mismos criaderos. Sin embargo, se desconoce cuáles son los principales criaderos para *Aedes aegypti* y las otras especies en la comunidad, la importancia potencial de cada uno de los mismos y las variables ambientales o socioeconómicas relevantes para el caso. La estratificación de las muestras (tipos de receptáculo y disposición) deberá indicar cuáles son los microambientes y áreas prioritarias para establecer el programa de control haciendo más eficiente la distribución de los recursos humanos y económicos.
- d) En un cultivo con alto valor comercial, se pretende discriminar aquellas insectos visitantes que efectúan los mayores aportes a los procesos de fecundación, la planta presenta flores hermafroditas y flores femeninas. Por literatura se sabe que otras especies de la misma familia de plantas, son visitadas principalmente por abejas nativas y mariposas que utilizan los recursos florales aparentemente con preferencias de actividad horaria. La estratificación de las muestras implicaría la separación de los insectos que visitan los diferentes tipos florales, segregando las muestras en función de horarios preestablecidos.

### **Localización espacial de las muestras**

Tan importante como los factores antes descritos, es la disposición de las muestras, es decir, el método para la toma de muestras. Se han descrito muchos métodos distintos, aquí solo se incluyen los que se consideraron más generales. En todas las descripciones se asume que ya se ha realizado el muestreo prospectivo y que ya se conoce el patrón general de distribución, el tamaño de la muestra, el número de muestras y se ha establecido la estratificación de la muestra.

- a) “A troche y moche”. El colector toma las muestras totalmente al azar y sin ningún orden definido. Este “método” lleva a considerar densidades y patrones de distribución de la población erróneas.
- b) Al azar simple o sin reemplazo. Útil cuando la población a muestrear no presenta preferencias marcadas por un habitat. Se establecen cuadrantes, me-

diante números aleatorios se eligen los cuadrantes que han de ser muestreados (ignorando los números que aparezcan más de una vez y eliminando los periféricos para evitar el efecto de borde), se efectúa el muestreo y se contabiliza la muestra. Aunque este método se utiliza cuando se pretende coleccionar todos los insectos del cuadrante, el no estratificar la muestra resta la calidad de la información que se puede obtener.

- c) Al azar estratificado. Útil cuando la población a muestrear tiene marcadas preferencias por un habitat. Se utilizan los mismos pasos que en el muestreo al azar simple, pero requiere que previamente se establezcan los estratos a muestrear.
- d) Sistemático. Uno de los métodos más utilizados en entomología. La toma de muestras se realiza a intervalos regulares de distancia y/o tiempo, es decir, se obtienen muestras fácilmente comparables sin necesidad de ajustes estadísticos sofisticados. Las modalidades más comunes que se utilizan son los transectos y los censos. Los transectos son rutas de muestreo rectas de distancia y anchura predeterminadas, a través de las cuales se capturan las muestras a intervalos regulares. En el estudio de poblaciones silvestres los transectos adquieren la dirección que el investigador decide. Es frecuente que los métodos de muestreo que implican el uso de trampas (activas o pasivas) se coloquen en transectos a intervalos de distancia regulares. En cultivos agrícolas se utilizan muchas modalidades generales: transecto diagonal, dos transectos formando una “X”, transectos con forma de “N”, de “W” y de “C”, la toma de las muestras se puede hacer manualmente, con red o con trampas. En cambio, los censos normalmente se utilizan para muestrear poblaciones en función de tiempos predeterminados, normalmente cortos. Es muy común el uso de esta técnica para muestrear polinizadores en flores previamente elegidas durante lapsos de tiempo igualmente cortos.
- e) Sistemático con inicio al azar. Metodológicamente es igual que la modalidad anterior, sólo que el inicio de la toma de muestras es al azar y no predeterminado.
- f) Secuencial. Este método permite separar las distintas densidades o fluctuaciones de la población que pueden presentarse a lo largo de intervalos de tiempo predeterminados. El método supone que el patrón de distribución de la población no varía en el tiempo, cosa que puede ser o no cierta, según el caso (v.g. grupos migratorios, picos poblacionales de plagas, etc.). En entomología este método es muy utilizado, aunque normalmente se utiliza junto con alguna variante del sistemático, de modo que se obtienen fluctuaciones temporales, es decir, cambios estacionales de la población.
- g) Orientado o localizado. Este método en general se considera poco formal, pero resulta muy útil para efectuar detecciones o comparaciones rápidas, que deberán ser validadas mediante algún procedimiento formal.

## Estimadores de densidad

En la literatura se reconocen tres métodos para estimar densidades poblacionales. Los absolutos, los relativos y los índices de población. Los más prácticos son los relativos.

### *Métodos absolutos*

Producen resultados del tipo densidad/unidad de superficie. Existen cuatro modalidades generales.

### *Exclusión o remoción*

Se basa en el hecho de que si miembros de una población son removidos, las subsecuentes capturas serán más reducidas, entonces la tasa de declinación puede ser usada para estimar el tamaño original de la población. Gráficamente se pueden computar las capturas (variable independiente) contra los valores de las capturas (variable dependiente). El método presupone al menos dos muestreos secuenciales, y que durante el tiempo entre muestras no han ocurrido, nacimientos, muertes ni migraciones. En la práctica el método se realiza con la toma de muestras con red, trampas o por el aislamiento de áreas predeterminadas y la captura de todos los organismos presentes.

El aislamiento de áreas predeterminadas y la captura de todos los organismos presentes tiene varios inconvenientes, además del sacrificio masivo de organismos. Al momento de instalar las cámaras de exclusión normalmente las formas adultas que son voladoras activas escapan al confinamiento y ya no son muertas o colectadas con las aspiradoras. El uso de este procedimiento resulta útil cuando lo que se pretende muestrear son formas sésiles.

### *Distancia al vecino más próximo*

Método muy utilizado en plantas y que en insectos sésiles y edáficos ha probado ser útil. Las muestras se valoran mediante el índice de Clark y Evans, donde:

$$m = (\overline{pr})^{-2}$$

donde: m = densidad por unidad de área.

r = distancia media entre vecinos.

p = índice de agregación. Con p = 2 en grupos con distribución al azar y p > 2 en grupos con distribución agregada.

Muestreo por unidad de habitat. Se refiere a la toma de muestras estratificadas de las distintas unidades ambientales posibles. Para el muestreo del aire se utilizan redes y trampas rotatorias. Para los muestreo de vegetación se puede utilizar el total de la vegetación/unidad de muestreo o referir los resultados por planta o parte de planta, según se haya estratificado la muestra (densidad = número de insectos por planta, por plantas o por unidad de superficie). El muestreo de la fauna edáfica normalmente se estratifica como fauna de la hojarasca y la fauna propiamente del suelo. Las capas del suelo se pueden estratificar mientras que establecer estratos en la hojarasca es mucho más complejo.

#### *Método de captura/recaptura*

El método también presupone que durante el tiempo entre muestras no han ocurrido, nacimientos, muertes, migraciones y todos los organismos tienen la misma probabilidad de ser capturados. Se valora mediante el índice de Lincoln.

Los mejores estimados se obtienen cuando el número de organismos marcados y liberados ( $a$ ) es muy similar a los recapturados ( $n$ ):

$$p = \frac{(an)^2}{r}$$

Donde:  $p$  = tamaño de la población total  
 $a$  = número de organismos marcados y liberados  
 $n$  = número de organismos recapturados  
 $r$  = número de organismos marcados y recapturados

#### *Métodos relativos*

Dado que el objetivo de estos métodos para estimar densidades poblacionales es el de muestrear una proporción constante de los organismos presentes, producen resultados del tipo densidad/unidad de esfuerzo, la unidad de esfuerzo se expresa en función del método relativo empleado. Las unidades de esfuerzo pueden pertenecer a dos grandes grupos: conteos visuales y trampas. Los primeros sólo se utilizan para detecciones tempranas de plagas, normalmente comparadas con estándares conocidos, de algunos cultivos como el algodón, el cafeto, frijol, pastos y caña de azúcar, entre otros. Un buen ejemplo de esto es la valoración del nivel crítico de la plaga del picudo en frijol. El procedimiento establece revisar 20

vainas por parcela, se considera que la plaga alcanza niveles críticos si el 3% de estas vainas está dañado.

Los métodos de trapeo son los más utilizados. Sin embargo, existen diversos factores de la biología de los organismos y ecológicos que deben ser considerados para efectuar estimaciones de densidad por métodos relativos. Así, los factores que pueden afectar la captura hecha son la densidad o tamaño real de la población, el número de animales que hay en una fase de desarrollo determinada (grado de maduración), el nivel de actividad de la especie y la respuesta de la especie y sexo ante la trampa. Más indirectamente las condiciones climáticas, la actividad horaria, la disponibilidad de alimento y la eficiencia del método de muestreo. Es importante conocer los principios en los cuales están basadas las trampas para efectuar selecciones de equipo adecuadas a los objetivos. Los valores así obtenidos se refieren como índices relativos de población (v.g. número de organismos / trampa / tiempo).

#### *Índices indirectos de población*

En el sentido más amplio, estos índices son estimaciones indirectas de la población, referidas a distintas unidades operativas. Así, un índice relativo puede ser el número de nidos por unidad de área (v.g. termitas, avispas, abejas), el número remanentes de presas en contenidos estomacales de un depredador, de la frecuencia del daño en plantas en porcentaje, etc. Estos índices son de uso e interpretación limitados.

#### *Recolección y preservación*

La recolección de insectos hace referencia a la captura de insectos para su estudio posterior, sin considerar los aspectos poblacionales de la especie obtenida, atendiendo únicamente a propósitos cualitativos. Una recolección general es aquella en la que se toman todos los insectos vistos por el recolector. Sin embargo, para los fines de este texto, es más relevante la conocida como específica, que tiene un objetivo concreto de estudio y relación con conocimiento de microambientes.

De manera general, podemos dividir a nuestros métodos de captura en dos grandes grupos: *métodos directos* y *métodos indirectos*<sup>1</sup>. Los primeros hacen

---

<sup>1</sup> Clasificación basada en Morón y Terrón, 1988. Pueden seguirse otros criterios tales como adultos-inmaduros; diurnos-nocturnos; voladores activos-no voladores; terrestres-acuáticos-aéreos, etc.

referencia a aquellos que se utilizan cuando se tiene conocimiento de los hábitos del insecto e implican localizarlo en su microambiente (*v.gr.* suelo, aire, agua, etc.), aplicando herramientas de captura de acuerdo con su talla, velocidad o hábitos. En contraste, los métodos indirectos se utilizan cuando no podemos observar con facilidad al insecto (densidades poblacionales bajas o inaccesibilidad de microambientes), necesidad de grandes muestras de ejemplares o existe un desconocimiento (en grado variable) de los hábitos. En el cuadro 1 se enumeran los principales métodos, herramientas de captura y observaciones generales con relación a los mismos. Cada uno de ellos será el tema del texto subsecuente y se describen a continuación.

### **Métodos directos**

#### *Red aérea*

Consiste en un aro circular de metal (preferentemente acero inoxidable) sujeto en un mango de tubo de plástico (PVC) o de aluminio y que sostiene una red de tela de “nylon”. Las redes entomológicas pueden ser adquiridas de casas especializadas o pueden ser caseras, la segunda opción es mucho más económica y no requiere de gran esfuerzo. Para confeccionar una red, primero se forma un aro de alambre cuya unión con el mango debe hacerse de manera que los extremos queden doblados en la forma que se ilustra en la figura 1. Los extremos se ensamblan en los orificios hechos en un extremo del mango. Esta estructura puede ajustarse con alambre o con una abrazadera. Lo segundo es más aconsejable pues facilita el transporte de la red (puede ser desmontada), lavada e incluso reemplazada cuando se requiera.

En cuanto al tamaño, todo corresponde a conveniencia personal; sin embargo, las medidas recomendables son: un mango de un metro de largo con un aro cuyo diámetro sea entre 30-45 cm. Hay que tener en cuenta que un aro grande capturará más insectos y será más cómodo a la hora de extraerlos del interior de la red; pero uno más pequeño será más cómodo en su manejo en cuestión de velocidad y esfuerzo, además de ser mucho más maniobrable en zonas con vegetación densa o espinosa. La bolsa debe confeccionarse de “nylon” de color claro<sup>2</sup>. En cuanto a sus medidas, el largo debe equivaler de 1.5 a 2 veces al diámetro del aro. La bolsa debe tener el fondo redondeado y el borde superior debe

---

<sup>2</sup> El color de la bolsa puede ser variable. En este caso se recomienda clara para facilitar la ubicación de los insectos al interior de la red, aunque también se ha sugerido que el color verde es más apropiado para recolectar abejas o el azul o verde claro para mariposas.

Figura 1



Red aérea o entomológica

estar protegido con una tira de manta u otra tela de algodón resistente, para evitar el desgaste por el roce continuo con la vegetación. El largo de la bolsa recomendable es entre 60-70 cm

La captura con la red no es difícil, pero requiere de cierta práctica. Al pasar un insecto volando o estando posado, se da un golpe brusco, haciendo que entre en la bolsa de tela; se voltea inmediatamente el aro hacia abajo, de modo que el fondo de la bolsa (donde debe de haber quedado atrapado el insecto) quede colgando, impidiendo la salida del ejemplar. Éste se sostiene entonces delicadamente por fuera de la red y se pasa al tubo de captura. También puede irse redeando sobre la vegetación, para después revisar la red. Es posible coleccionar muchas cosas de esta manera, en especial cosas que no vemos volar. Con esta herramienta podemos recolectar casi todos los tipos de insectos voladores como mariposas, grillos, escarabajos, chinches, avispa, abejas y moscas de tamaño variable (un centímetro en adelante).

### *Red acuática*

Esta red se utiliza para recolectar insectos que viven libremente o en el lecho de cuerpos de agua, ya sea en su estado adulto o en alguna etapa juvenil. Esta red es

semejante en diseño con la red aérea; sin embargo, los materiales para su confección son más resistentes. El aro puede ser circular, semicircular o triangular (con esquinas redondeadas) (figura 2), y se recomienda que el material del aro sea de aluminio y esté sujeto a un mango de tubo de aluminio con la red de malla plástica de mosquitero. La captura con esta red varía dependiendo del nivel o estrato del agua donde se pretenda utilizar. Así, simplemente desplazándola en el agua, apoyada en el sustrato o como pala si se trabaja sobre el fondo. Con esta red podemos recolectar insectos en sus diferentes etapas de desarrollo (larva, pupa, ninfa o adultos), como escarabajos, chinches, larvas de moscas y mosquitos, náyades de libélulas, etc.

#### *Aspirador*

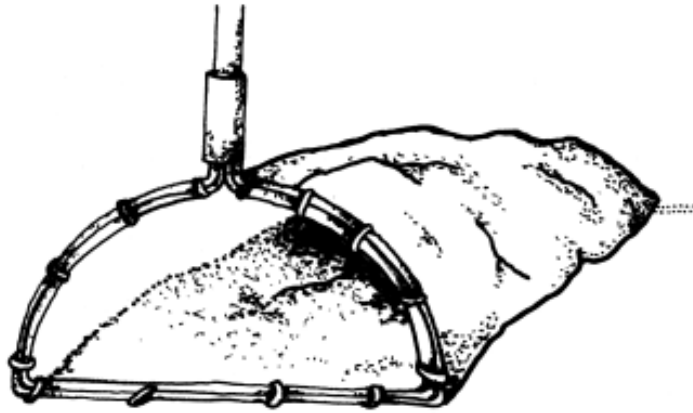
Es un aparato para recolectar rápidamente un gran número de insectos pequeños (pequeñas moscas y mosquitos, escarabajos, chinches, chicharritas, etc.), en particular si uno desea atraparlos y mantenerlos vivos. Hay dos tipos de aspiradores: la variedad de captura directa y la de aspirador en forma de U. La primera consiste en un simple tubo de cristal con una manguera de látex (Figura 3). El extremo de unión del tubo y la manguera se cubre con una malla fina, para evitar que al succionar, los insectos pasen a través. Los insectos quedan atrapados, para de inmediato ser traspasados a un tubo separado.

En el segundo caso, está formada por un tubo de ensaye o algún recipiente parecido, al cual en la boca se le coloca un tapón de hule con dos perforaciones; por una de ellas entra un tubo (boquilla) con el extremo protegido por una malla, y por la otra, un tubo en cuyo extremo se coloca una manguera de látex (colector) (Figura 3). Los insectos quedan retenidos en el interior del frasco, donde pueden ser sacrificados o aturridos con un poco de humo de cigarro o transferidos a un frasco con alcohol al 75%.

#### *Separación manual directa*

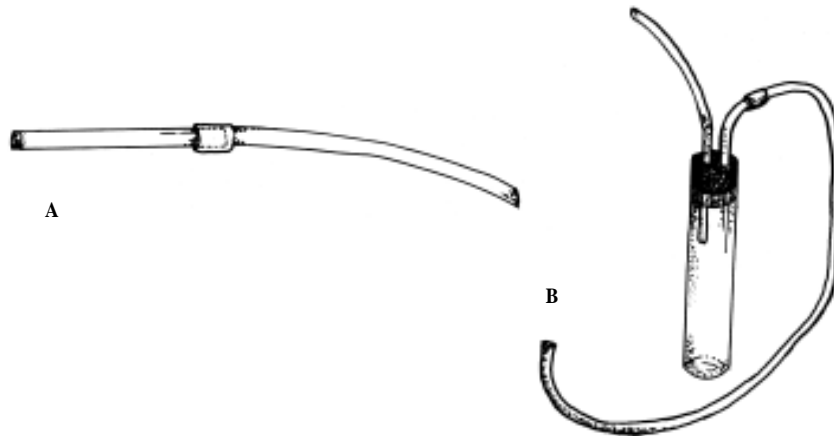
Este método se recomienda en el caso de los insectos que viven en el suelo (edáficos). Consiste en delimitar un área de muestra (comúnmente de 0.5 m<sup>2</sup>) eliminando la vegetación aérea, donde se excava un foso alrededor y se separa la fauna asociada a cada estrato determinado (5-20 cm de espesor dependiendo del tipo de suelo, profundidad y objetivo de estudio) desmenuzando meticulosamente el suelo. De esta manera, recolectaremos la macrofauna edáfica.

Figura 2



Red acuática o Seine semicircular.

Figura 3



Aspiradores de insectos. A. Aspirador de boca para captura directa. B. Aspirador de boca modificado o en forma de "U".

En el caso de microfauna, puede utilizarse la separación manual después de un lavado de tierra, para el cual se toma un bloque cilíndrico de tierra con un nucleador (la unidad o medidas depende del tipo de suelo, profundidad y objetivo de estudio) y se separa en los distintos estratos deseados en bolsas o botes para

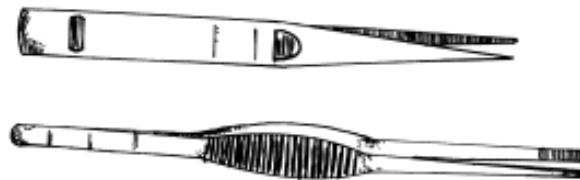
posteriormente depositarlos en cubetas con cinco litros de agua. Una vez disuelta la tierra, el contenido se vierte sobre un tamiz de malla con abertura de 4 mm<sup>2</sup> hacia otra cubeta. Los materiales retenidos en la malla se pasan a un frasco con fijador-conservador y el agua lodosa se pasa por otro tamiz con malla de 2 mm<sup>2</sup> para separar a los insectos más pequeños, repitiendo la operación si es necesario con otro tamiz más fino.

La separación manual también se hace cuando queremos recolectar insectos asociados con tejidos xilosos de los árboles, barrenadores de tallo, frutos o semillas, minadores de hojas, visitantes de flores, insectos sociales o eusociales y habitantes de madrigueras de vertebrados o ectoparásitos. Lo que se recomienda es obtener datos particulares del microambiente (área, ubicación específica, especie asociada, signos de daño, etc) e ir revisando cada una de las partes del microambiente conservando cada una de las faunas por separado. También deben de tenerse atención en relaciones larva-pupa-adulto, parasitoides, depredadores o comensales.

#### *Pinceles, pinzas, frascos y tubos*

Estas son herramientas de uso general para recolectar o manipular a los insectos en el campo y el laboratorio. Los pinceles, preferentemente de pelo natural (v.gr. pelo de camello) de varios tamaños y humedecidos con alcohol, son útiles para la recolecta de insectos pequeños. Las pinzas de acero cromado o inoxidable son las herramientas más útiles para manejar insectos. El tamaño y forma de las mismas va en relación con el insecto que se desee manipular; sin embargo, es útil tener, al menos, una de mango ancho y puntas finas (aguja de precisión o de relojero) y una de punta roma de tamaño mediano (Figura 4).

Figura 4



Pinza de relojero (arriba) y pinza de punta roma.

Los frascos y tubos son útiles en todo el proceso de recolección y preservación del insecto. Sirven para capturar, transportar y almacenar insectos. Los más utilizados son de: 50-100 mL. para muestras pequeñas o medianas, de 250-500 mL para las muestras grandes. Cualquiera que sea el volumen, los frascos deben ser de fondo plano y boca ancha, con tapa de rosca (hermético) y de material resistente. Es recomendable que los frascos pequeños sean de vidrio y que los de mayor volumen sean de plástico (poliestireno).

### *Métodos indirectos*

Pueden reconocerse tres grandes grupos de métodos indirectos de acuerdo a los principios en que basen la recolección y captura de insectos (Cuadro 1). El primero se basa en la acción mecánica o física generalizada sobre un substrato en la que es posible encontrar una especie. El segundo, en el aprovechamiento de atrayentes visuales u olfativos que puedan estimular al insecto a grandes distancias. Estos métodos y trampas están basados en la respuesta a estímulos propios del comportamiento innato o adquirido por los individuos de cada especie. Finalmente, podemos reconocer un tercer grupo de métodos, basado en la probabilidad aleatoria que tiene un organismo de cruzar por una o varias trampas pasivas. Estas trampas se utilizan para insectos caminadores, saltadores o voladores y son pasivas, inertes o de intercepción<sup>3</sup>.

Figura 5



Red entomológica de golpeo.

<sup>3</sup> Si se desea ahorrar tiempo y mejorar en cuanto a eficiencia de la captura, la mejor opción es usar trampas. Las trampas son elementos pasivos y requieren para su funcionamiento de la actividad y movilidad de los insectos. Son particularmente útiles en aquellos estudios que incluyen el conteo de número de individuos y la aplicación de algún análisis estadístico que compare lo atrapado por las trampas o por sesión de trampeo.

## **Los métodos basados en la acción mecánica sobre un sustrato**

### *Red de golpeo*

Esta red se utiliza para recolectar insectos que viven en la vegetación o reposan en ella. Se incluye en los métodos indirectos porque la gran variedad de especies de insectos que encontramos en la vegetación, así como la variedad de sus hábitos, no son del todo conocidas por el recolector al usar esta herramienta. Es semejante en diseño con la red aérea (véase métodos directos); sin embargo, los materiales para su confección son más resistentes. El aro debe ser circular (figura 5), y se recomienda que el material del aro sea de alambre grueso y esté sujeto a un mango de madera con la red de manta gruesa con los bordes reforzados con una tira extra de manta.

La captura se realiza golpeando con firmeza la vegetación herbácea o arbustiva en forma horizontal. El contenido de la bolsa se vacía en un frasco grande de boca ancha o bolsas de plástico. Se utiliza principalmente para chinches y escarabajos, aunque también se colectan avispas y pequeñas moscas.

### *Paraguas entomológico*

Consiste en un rectángulo o cuadrado de tela blanca (manta) de 70 cm por lado, sostenida por dos varillas de madera o aluminio en forma de cruz, que se encajan en las esquinas de la manta (figura 6). Este rectángulo o “paraguas” se coloca bajo la vegetación arbustiva, mientras que con una vara o bastón se golpea la vegetación. Los insectos que hubieran estado posados, caerán sobre la tela y son recolectados con pinzas o un aspirador. Se utiliza principalmente para chinches y escarabajos.

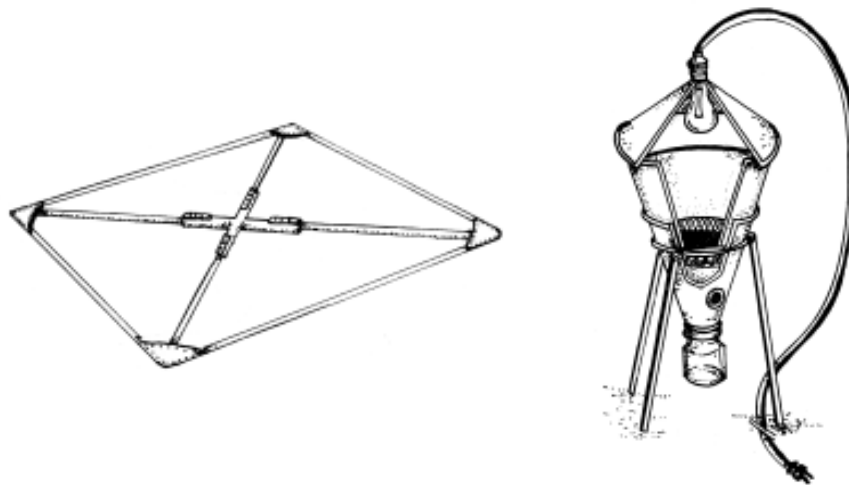
### *Malla cernidora*

Se utiliza para separar macrofauna asociada o escondida entre las partículas del suelo, aserrín, hojarasca o semillas. Por lo general consiste en un bastidor metálico o de madera (1 m<sup>2</sup> por lo general) sobre el cual se coloca una cantidad conocida de sustrato y que se hace pasar por movimiento por el tamiz.

*Embudo de Berlese*

Se usa para extraer micro o macrofauna de muestras de suelo, hojarasca, musgos, líquenes y desperdicios de nidos (v.gr. hormigas y termitas), así como para la extracción de insectos de muestras tomadas con otros aparatos que contengan cualquiera de los elementos mencionados. Consiste en un embudo de tamaño variable que se construye de cartulina, plástico o metal con una lámpara en el extremo superior (el borde más ancho) en el que se deposita la muestra y un frasco colector con alcohol al 75% en la base del embudo (figura 7). Los insectos asociados se extraen por efecto de la desecación lenta y gradual de los estratos superficiales de la muestra, de modo que los insectos al retirarse hacia los estratos de la muestra en la base del embudo que aún conserva mayor humedad y menor temperatura, terminan cayendo por el cuello del embudo hasta el frasco colector.

Figura 6



Paraguas entomológico

**Cuadro 1**

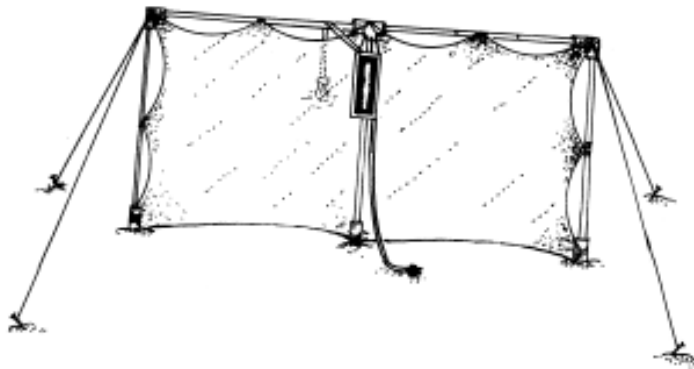
Tipo de métodos (principio)	Métodos y herramientas	Observaciones
Métodos directos	Red aérea	Insectos voladores; en reposo sobre plantas
	Red acuática	Insectos acuáticos (en sus distintas etapas de desarrollo)
	Separación manual directa	Insectos edáficos, asociados con cortezas
	Capturadores; pinceles, pinzas, frascos y tubos.	Insectos pequeños, malos voladores
Métodos indirectos		
<i>Acción mecánica o física generalizada sobre un substrato en la que es posible encontrar una especie</i>	Red de golpeo	Insectos malos voladores
	Paraguas entomológico	Insectos malos voladores
	Malla cernidora	Insectos edáficos
	Embudo de Berlese	Insectos edáficos
	Barrera tamiz de malla o red de corriente	Insectos acuáticos (en sus distintas etapas de desarrollo)
<i>Aprovechamiento de atrayentes visuales u olfativos que puedan estimular al insecto a grandes distancias</i>	Caladores , pipetas y goteros	Insectos acuáticos (en sus distintas etapas de desarrollo)
	Trampas de luz: de pantalla y embudo	Insectos nocturnos, voladores activos, de tamaños variable (pequeño a grande)
	Trampas de color: pegajosa o de agua	Insectos por lo general voladores activos
	Trampa con cebos: • origen animal, desechos orgánicos: NTP-80 • frutas, desechos orgánicos: trampas cilíndricas • sangre humana o animal: Shanon	Necrotrampas (necrófagos); Coprotrampa (coprófagos); Carpotrampa (frugívoros); Coprotrampa (coprófagos) Hematófagos
	Trampas con atrayentes volátiles: Mc Phail; Delta o Jackson	Feromonas, derivados fenólicos o alcohólicos
<i>La probabilidad aleatoria que tiene un organismo de cruzar por una o varias trampas pasivas</i>	Trampa "Pit fall" o de pozo seco	Insectos caminadores
	Trampa de barrera	Insectos voladores activos
	Trampa Malaise	Insectos voladores activos

Principales métodos para la captura y recolección de insectos y observaciones generales.

*Barrera de tamiz de malla o red de corriente*

Es una variante de la red acuática que se utiliza principalmente en ríos. Consta de una malla de plástico cuadrada o rectangular (1-1.5 m<sup>2</sup>) sujeta en cada extremo a postes de madera o aluminio de 1.2 m. Esta red se coloca contra corriente sosteniéndola por dos personas o enterrando los extremos de los postes en el substrato.

Figura 8



Trampa tipo cortina o de pantalla.

*Caladores, pipetas y goteros*

Se utilizan para la recolecta de insectos acuáticos en sus distintas etapas de desarrollo. Los caladores o cucharones se usan para capturar insectos cerca o en la superficie de agua estancada. Estos se sumergen rápidamente en el agua y los organismos atrapados se recogen dependiendo de su tamaño con una pipeta o gotero. Estas herramientas son útiles en caso de insectos acuáticos frágiles que se dañarían al ser recolectados con pinzas o redes.

*Métodos basados en el aprovechamiento de atrayentes visuales u olfativos que puedan estimular al insecto a grandes distancias*

Las trampas de luz se basan en la reacción locomotora helíptica o unidireccional de un insecto<sup>4</sup>, iniciada por la intensidad y longitud de onda de un estímulo lumínico (fototropismo positivo).

<sup>4</sup> Este comportamiento es común en los insectos adultos de hábitos nocturnos.

### *Trampa tipo pantalla, cortina o pared de manta*

El diseño consiste en una manta de 2 x 2 m. ( o 3 X 2 cuando más) sostenida en sus extremos o con cordones a ramas, postes o a un armazón de tubos de aluminio desarmable (figura 8). Esta trampa emplea como fuente de energía una lámpara de luz fluorescente blanca o ultravioleta o luz de vapor de mercurio, por separado o combinadas, de acuerdo con los objetivos de la colecta. La cantidad de wats empleados tendrá importancia sobre la efectividad de la trampa sobre todo en el radio de acción de la misma. La potencia promedio recomendable es de 80 wats para la luz fluorescente y de 160-175 wats para la luz de vapor de mercurio.

Usualmente se monta verticalmente (paralelo a la vegetación y con las lámparas colgando en la parte media superior). Los insectos se posan en la manta atraídos por la luz y son colectados directamente con aspiradores o tubos de colecta. Puede utilizarse sólo una lámpara, y revisar periódicamente la parte no iluminada con una linterna de mano para recolectar insectos que se hayan posado. La disposición de la trampa es importante ya que funciona mejor ubicándola con cierta elevación con respecto al resto del área y de preferencia en un claro, en un barranco o en una ladera de monte. Las mejores colectas se hacen generalmente en noches sin luna. Con esta trampa podemos recolectar adultos de tamaños variable (grandes y pequeños) de casi todos los órdenes de insectos; sin embargo es común que sean utilizadas en la recolecta de mariposas, escarabajos, chinches y moscas.

### *Trampa de embudo*

Esta trampa tiene muchas modificaciones, pero el diseño general consiste en un embudo con una fuente de luz en su borde superior que está conectado a un frasco colector en la base (figura 9). Estas trampas por lo general son utilizadas para atraer y atrapar insectos pequeños. Una de las modificaciones más conocidas y usadas es la trampa New Jersey (figura 9), diseñada originalmente para colectar mosquitos, combina la luz de una lámpara, que hace que los insectos se acerquen y la fuerza de succión de un ventilador. Esta trampa funciona en general para voladores débiles, y con una lámpara de luz ultravioleta pueden colectarse otro tipo de pequeños insectos, además de mosquitos. Un modelo pequeño basado en el mismo principio, pero portátil (a base de baterías) es la trampa CDC<sup>5</sup>.

---

<sup>5</sup> Siglas en inglés para el Centro para el Control de Enfermedades.

Las trampas de color tienen varios diseños, pero la mayoría son en forma de cilindros, cajas o platos. El color más utilizado es blanco o amarillo con un tamaño que varía de acuerdo con los objetivos de la recolecta. Estas trampas requieren de un componente o substrato que retenga a los insectos que hayan sido atraídos que por lo general es un material adhesivo (trampas pegajosas) o agua (trampas de agua).

#### *Trampa pegajosa*

Esta es una derivación del papel matamoscas. Los insectos se fijan en la superficie adhesiva y son retenidos. Puede utilizarse una gran variedad de adhesivos normalmente se utilizan resinas y grasas. Para insectos muy pequeños se utiliza también el aceite de castor. Los insectos capturados son separados calentando ligeramente la resina y luego remojando insectos y resto de resina en un disolvente orgánico como el tricloroetileno. La separación en el caso de las grasas es más sencillo, una mezcla de benceno y alcohol isopropílico disuelve rápidamente estos adhesivos. Por tanto, es recomendable, en lo posible, utilizar grasas. Las grasas funcionan particularmente bien sobre todo para la recolección específica de insectos pequeños y puede ser considerada más eficiente ya que el área efectiva de la trampa no se reduce al no caer insectos mayores en este adhesivo. Hay que tener en cuenta que en climas cálidos la grasa puede tornarse muy fluida. Para el caso de insectos más fuertes es por tanto, recomendable un adhesivo fuerte, como las resinas. Estas trampas requieren de poca atención; sin embargo, los insectos atrapados quedan en muy malas condiciones para su determinación, por lo que son recomendables para estudios de abundancia de especies y no para estudios faunísticos.

#### *Trampa de agua*

Estas son muy económicas, fáciles de hacer y atrapan a la mayoría de las familias voladoras de insectos. Son excelentes para moscas, avispas, chicharritas y otros visitantes de plantas y flores. Son simplemente tazones o charolas de plástico llenas de agua con un poco de detergente que hace que se rompa la tensión superficial y se incremente la colecta por ende. Al agua se le añade un preservativo que es por lo general formalina (1-2 mL) o sal de mesa común. Aunque estas trampas al igual que las trampas pegajosas se idearon aplicando el principio de interceptación, se ha observado que la efectividad, magnitud y calidad de captura

está influenciada por el color de la trampa. El color más utilizado es el amarillo; sin embargo otros colores han demostrado actuar específicamente sobre ciertos grupos de insectos, cuestión que hay que tener en cuenta y que puede afectar su eficiencia.

Estas trampas tienen ciertas ventajas sobre las trampas pegajosas, ya que los insectos atrapados quedan en buen estado para su determinación y la muestra es fácilmente separable, aunque requieren de mayor atención, ya que días lluviosos pueden rebosar o en caso contrario quedar vacías en la época seca. Las trampas deben ser revisadas una vez por semana para recoger el material y renovar la cantidad del agua. Los insectos pueden ser retirados con pinzas, pipetas o incluso filtrados para reutilizar el agua y depositados en recipientes con alcohol al 75% u 80%. Esta trampa puede colocarse en un lugar visible para los insectos o en alrededores de vuelo.

#### *Trampas con atrayentes*

Las trampas con atrayentes volátiles naturales o artificiales son útiles para capturar un gran número de insectos que son atraídos por el aroma de sustancias frescas o en descomposición<sup>6</sup>.

El atrayente puede ser de origen natural (animal o vegetal<sup>7</sup>) o artificial.

Los más utilizados son:

- a. De origen animal, para insectos que se alimentan en cadáveres (necrotrampa).
- b. De desechos orgánicos animales para los insectos que se alimentan de excremento (coprotrampa).
- c. De origen vegetal, para insectos que se alimentan de frutas o compuestos azucarados (carpotrampa).
- d. De sangre humana o animal para insectos hematófagos (cebo humano o animal).
- e. Compuestos volátiles naturales o artificiales: metabólicos (feromonas, dióxido de carbono) o químicos volátiles (derivados fenólicos y alcohólicos).

Independientemente del atrayente utilizado estas trampas pueden ser permanentes o temporales.

---

<sup>6</sup> A estos atrayentes también se les conoce comúnmente como cebos.

<sup>7</sup> En ocasiones puede ser el propio animal o planta.

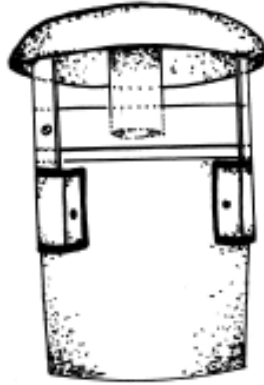
*Necrotrampa permanente (NTP-80)*

Esta trampa (Figura 10) está compuesta por cuatro piezas de plástico ensambladas:

- a. un recipiente colector plástico de 1.5 L al que se agrega un líquido preservador (comúnmente alcohol etílico al 70%);
- b. un embudo plástico recortado con dimensiones de 13 y 14 cm de diámetro superior e inferior, respectivamente, que tapa parcialmente el bote reduciendo la superficie de evaporación del líquido y que a su vez conduce al insecto hacia el interior del bote colector, evitando que salga;
- c. un plato de plástico sopero invertido de 21 cm de diámetro que está atornillado a tres soportes metálicos sujetos a la pared del bote colector y que también funciona como tapa para evitar la entrada de agua de lluvia;
- d. un recipiente de 6 cm ensamblada de diámetro, por 7 cm de altura con perforaciones en el cual se pone el atrayente que puede ser pescado, marisco, carne roja o excremento humano o animal.

Esta trampa es la más resistente de todas las copro y necrotrampas. Esta trampa puede colgarse de la vegetación o enterrarse y puede permanecer entre 115 días hasta varios meses, requiriéndose únicamente revisiones periódicas para retirar el material o agregar más preservador o atrayente.

Figura 10



Necrotrampa permanente (NTP-80)

*Trampa cilíndrica*

Consiste también en un cilindro de malla de “nylon”, con un extremo cerrado, que tiene un diámetro 35-50 cm y un largo 70-80 cm (Figura 11). Fijo al extremo abierto, dejando una ventana de 8 cm se coloca una tabla del mismo diámetro que el cilindro, suspendida por hilos. Sobre la tabla se colocará un plato con fruta fermentada, calamar o pescado en descomposición o excremento (cebo)<sup>8</sup>. La tapa se tapa con un círculo de plástico transparente. Al colocarse la trampa en un lugar soleado y donde no sople mucho viento, pronto atrae muchos insectos que penetran en su interior. Después de algún tiempo, cuando la cantidad de ejemplares es razonable, se retira el cebo y se recogen los insectos. Esta trampa tiene la ventaja de que al estar sostenida por una cuerda puede ser colocada a cualquier altura.

Figura 11



Trampa tipo Rydon Van Someren para mariposas

*Trampa Shannon*

Esta trampa ejemplifica la atracción con cebos animales vivientes para los insectos hematófagos como mosquitos, tábanos, chaquistes y papalotillas. El tipo simplificado es una caja grande de tela, suspendida por cordones cosidos en sus cuatro esquinas y que puede ser amarrado a los árboles o cualquier otro soporte a una altura, que será la entrada de medio metro con respecto del suelo. El lugar debe de limpiarse de troncos, maleza, espinas, etc. Los insectos entran espontá-

<sup>8</sup> Existen muchas modificaciones a esta trampa. Las modificaciones están dadas en cuanto al tamaño y altura a la que se coloca. Una modificación es la trampa tipo Van Someren, que fue creada para recolectar mariposas y que ha funcionado también para moscas.

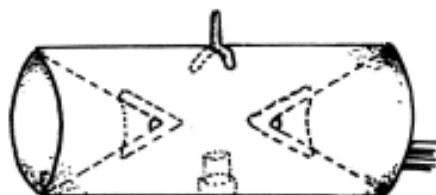
neamente atraídos por el cebo (pueden ser excretas de roedores, lagomorfos, equinos o humanos) y son recolectados en el frasco de captura o por medio del aspirador. El material para su confección más adecuado es de tela de “nylon”, aunque puede utilizarse manta. La primera opción hace que sea ligera, se doble fácilmente, ocupe poco volumen para su transporte y en caso de mojarse seque rápido. Sin embargo, se rasga con facilidad.

Figura 12



Trampa Mc Phail para moscas de la fruta.

Figura 13



Trampa Steiner para moscas.

### *Trampas con atrayentes volátiles*

Por lo general estas trampas funcionan con atrayentes en forma de pastillas o soluciones retenidas en material absorbente. Entre algunos ejemplos tenemos las trampas para la recolecta y vigilancia de moscas de la fruta (Familia Tephritidae): trampa Portici o Mc Phail, que es una botella de vidrio con el fondo invaginado y un orificio hacia el centro (Figura 12), en la que se coloca un atrayente químico biológico de tipo alimenticio (vinagre con melaza, levadura de cerveza o proteína

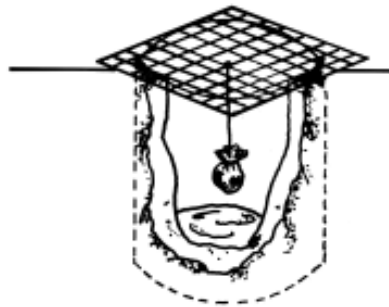
hidrolizada). Es posible también encontrarlas de material plástico; trampa tipo Steiner, que es un cilindro de plástico con dos tapas a manera de bases con una parte libre y otra cubierta con tela de malla (figura 13). En su interior se coloca una mecha de algodón impregnada con un atrayente químico de tipo sexual (Trimedlure). Se añade además, una mezcla de Lindano-Clordano como insecticida (en polvo) y trampa delta o Jackson, que es un triángulo de cartulina, con una laminilla de cartón insertada que está barnizada con una sustancia adhesiva y atrayente químico (Trimedlure al 5%).

### Trampas pasivas

#### *Trampa “Pit-fall” o de pozo seco*

Consiste en un bote plástico con perforaciones pequeñas en el fondo (para evitar que se acumule el agua), el cual se entierra en el suelo hasta que el borde superior quede al mismo nivel del piso, de tal forma que los insectos caminadores como escarabajos u hormigas, caigan al azar durante sus recorridos (Figura 14).

Figura 14



Trampa tipo Pit-fall o de pozo seco.

#### *Trampa de barrera*

Consiste en una lámina de plástico translúcido de 3 a 6 m de longitud por uno o dos metros de ancho, sostenida por postes o cables, con uno de sus lados en contacto con el piso. Con el mismo plástico se construyen dos canales, uno a cada lado de la lámina, que se llenan con agua y detergente, en los cuales quedan retenidos los

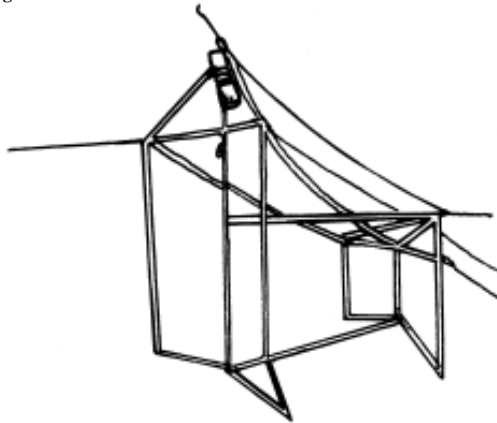
insectos que chocan contra la barrera y caen durante su vuelo. Es útil para escarabajos y chinches.

*Trampa Malaise*

Esta trampa es la más utilizada para la captura de insectos voladores. El principio de su funcionamiento es el siguiente: es una pantalla vertical de malla negra que se coloca en un corredor de vuelo, cuyos extremos laterales impiden el escape de los insectos, que suben por la malla y son guiadas hacia la cámara colectora (Figura 15). Es importante tener en cuenta el color y la forma ya que se ha observado que aún estos dos factores influyen en la captura. Algunas de sus desventajas son el costo y el tiempo de confección si se pretende su construcción. La cámara de colecta está construida por dos recipientes de plástico con tapa de rosca abiertas en el centro y pegadas, los insectos pueden ser colectados en alcohol o matados con cianuro en el bote colector. En la entrada es posible colocar una malla que evite la entrada de insectos más grandes como abejorros, escarabajos y mariposas que pueden dañar a los especímenes más frágiles.

La ubicación correcta de la trampa es muy importante. Las áreas protegidas son las mejores y en ellas la trampa se coloca atravesada en las vías de vuelo de los insectos como caminos, brechas, márgenes de la vegetación. El extremo de la trampa donde se halla el colector debe de colocarse donde recibe la mayor cantidad de luz, hacia la parte más despejada o donde la vegetación sea menos densa.

Figura 15



Trampa Malaise

Figura 16



Cámara letal

### *Técnicas de preservación*

Cámaras letales o tubos de captura. Si el insecto será preservado después de su captura, primero es necesario matarlo de una manera en la que no se maltrate. Se pueden utilizar recipientes de vidrio de varios volúmenes, de acuerdo al tamaño y forma de los insectos; sin embargo, para fines prácticos en el campo, funcionan perfectamente tubos de 3-5 cm de diámetro y 12-15 cm de largo con tapa de corcho o goma que cierre perfectamente a presión y con un fondo plano. Es también conveniente que independientemente del agente utilizado, se cubran los extremos con cinta adhesiva como protección en el caso de una ruptura por un golpe accidental.

El agente letal varía de acuerdo a preferencias personales. Algunas personas prefieren cianuro de potasio, en forma de sal debido a que las cámaras actúan con gran rapidez y su efecto es más prolongado a través del tiempo. El tubo de cianuro debe construirse de la siguiente manera: en el fondo se coloca una capa de algodón, después el cianuro, enseguida una cierta cantidad de yeso de dentista. Se golpea ligeramente el tubo sobre un soporte para asentar el yeso, se cierra y se deja secar. Después de secarse completamente, se limpian las paredes del recipiente del exceso del yeso y se cubre con una pieza de plastazote o papel secante o filtro. Otra opción es colocar directamente la sal en el fondo y colocar sobre esta, una o dos piezas de plastazote.

Actualmente, la mayoría de entomólogos utilizan acetato de etilo o cloroformo, aunque son muy volátiles y su efecto es menor que en el caso de las confeccionadas con cianuro. Sin embargo son más seguras y para recargar las cámaras basta con llevar un frasco gotero al campo. Para confeccionar una cámara letal con cualquiera de estas sustancias, se coloca en el fondo del recipiente de cristal que funcionará como cámara, trocitos de liga o corcho, aserrín, o algodón que se empapan cada vez que se requiera. El líquido se evapora continuamente, formándose en el interior del tubo una atmósfera saturada que mata a los insectos. Sobre este fondo se dispone una pequeña rueda de corcho donde se practican algunas muescas laterales o piezas de plastazote al igual que en el caso de las de cianuro. Es recomendable perforar ligeramente las piezas para así poder permitir la salida de los gases de cualquiera de los agentes letales seleccionados. Por encima del corcho o plastazote se pone un círculo de papel filtro que sirve para absorber las deyecciones de los insectos o el exceso del líquido usado en el interior del tubo (figura 16). Otro agente también utilizado es el éter.

*Frascos viales.* Los frascos de boca ancha de 100a 200 mL con tapa de plástico, vacíos o con alcohol al 75% y una variedad de tubitos con tapón de corcho, de plástico o baquelita son indispensables.

*Etiquetado.* Uno de los procesos básicos para el muestreo y recolección de cualquier organismo es el etiquetado. Por lo general, cada muestra debe de tener los datos mínimos que se mencionan a continuación:

- País, estado, municipio, localidad o ubicación exacta
- Fecha
- Ambiente: criadero, habitat, trampa, horario, tipo de cebo
- Colector

Las etiquetas deben de hacerse en papel de algodón (papel vegetal) con tinta indeleble al alcohol, con tinta china o lápiz de taquigrafía. Estas etiquetas se colocan en las muestras con alcohol o en seco. Cada una de las muestras deberá de llevar una etiqueta individual. Es recomendable también llevar un registro en una libreta o bitácora de campo. Desde que se generalizó el uso de impresoras laser o de chorro de tinta, en muchas colecciones el material se rotula con etiquetas elaboradas por computadora. Cuando se opte por esta alternativa se recomienda utilizar papel opalina para impresora laser y elaborar las etiquetas en letras de 4-5 puntos, utilizando algún tipo de letra sencillo (v.g. Courier) Ejemplos:

MEXICO, Yucatán, Hda. San Felipe, km 24 Carr. Mérida-Tizimín. 12-13/V/97 Selva baja caducifolia Trampa Malaise Col. M. Aburto y L. López	MEXICO, Yucatán, Rancho El Oasis, 84° 43' / 21° 12'. Peten, Selva mediana subperennifolia 23/VII/95 Cebo humano. 19:44 hrs Col. J.E. Colosio
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## Referencias

- Andrewartha H. G. 1973. Introducción al estudio de poblaciones animales. Alhambra. Madrid, España.
- Barfield C.S. 1989. El muestreo en el manejo integrado de plagas. In: Andrews K. L. y Quezada J. R. (Eds.). Manejo integrado de plagas insectiles en la agricultura: Estado actual y futuro. Departamento de Protección Vegetal. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Honduras. Capítulo 9.
- Calabuig E. L. 1988. Métodos cuantitativos en los estudios entomológicos. En: Barrientos J. A. (Coord.). Bases para un curso práctico de entomología. Asociación española de Entomología, Barcelona, España. Capítulo 4.
- Carballo V. M. s/f. Técnicas e instrumentos para muestrear insectos. Documento interno, Departamento de Protección Vegetal. Escuela Agrícola Panamericana El Zamorano, Honduras.

- Kuno E. 1991. Sampling and analysis of insect populations. *Annu. Rev. Entomol.*, 36:285-304.
- Marcos-García M. A. 1988. Métodos generales de captura. In: Barrientos J. A. (Coord.). Bases para un curso práctico de entomología. Asociación española de Entomología, Barcelona, España. Capítulo 2.
- Martin J. E. H. (Comp.). 1977. The insects and arachnids of Canada. Part 1, Collecting, preparing, and preserving insects, mites, and spiders. Agriculture Canada, publication 1643.
- Morón M. A. y Terrón R. A. 1988. Entomología práctica. Instituto de Ecología, A. C. México.
- Morris R. F. 1963. Sampling insect populations. *Annu. Rev. Entomol.*, 5:243-264.
- Muirhead-Thompson R. C. 1991. Trap responses of flying insects. The influence of trap design on capture efficiency. Academic Press. Gran Bretaña.
- Pianka E. R. 1978. Evolutionary ecology. Harper & Row, EUA.
- Peterson A. 1964. Entomological techniques. How to work with insects. Entomological reprints specialists, EUA.
- Ruesink W. G. y Kogan M. 1990. Bases cuantitativas del manejo de plagas: muestreo y medición. In: Metcalf R. L. y Luckmann W. H. (Eds.). Introducción al manejo de plagas de insectos. LIMUSA-Noriega, México. Capítulo 9.
- Southwood T. R. E. 1978. Ecological methods with particular references to the study of insect populations. Methuen, Londres, Inglaterra.
- Stevens G. C. 1989. The latitudinal gradient in geographical range: How so many species coexist in the tropics. *Amer. Natur.*, 133 (2):240-256.
- Papavero N. y Vanzolini P. E. 1990. Manual de recolección y preparación de animales. UNAM, México.
- Pedigo L. T. y Buntin G. D. (Eds.). 1993. Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture. CRC Press, EUA.

## 9

### AVES Y MAMIFEROS

Celia I. Sélem-Salas\*, Javier Sosa-Escalante y Silvia Hernández Betancourt

#### **Introducción**

El manejo de los recursos naturales requiere del conocimiento profundo de la riqueza biológica, así como de las condiciones en que se encuentran las poblaciones que constituyen los ecosistemas, para poder lograr una productividad razonable que permita la explotación de las especies útiles al hombre. Se requiere de la preservación de los acervos genéticos como banco fundamental de la biodiversidad. Es por eso que la conservación de los recursos naturales ha adquirido en los últimos años una importancia trascendental, que se ha convertido en una carrera contra el tiempo, si se considera el acelerado ritmo de destrucción que estos han sufrido en las últimas décadas por múltiples causas. Es necesario estar conscientes que en la conservación de los recursos naturales se finca el desarrollo de las generaciones futuras.

El manejo de la biodiversidad en México presenta problemas, que van desde la disminución drástica de las especies hasta la extinción de algunas de ellas, debido a la práctica exhaustiva de algunas actividades como: Ganadería, agricultura, deforestación, erosión del suelo, incendios sin control provocados por el hombre, contaminación, urbanización, tenencia de la tierra, comercio ilegal de flora y fauna, pérdida de etnias y su conocimiento sobre la naturaleza, además de los problemas políticos y sociales de cada región, agravan el conflicto ambiental y el uso de los recursos.

Los vertebrados mexicanos acuáticos y terrestres, son un grupo muy diverso que en especies está representado aproximadamente por un 10% de las especies a

---

<sup>12</sup> Departamento de Zoología, FMVZ, Universidad Autónoma de Yucatán.

nivel mundial. Los vertebrados terrestres presentan un alto porcentaje de endemismos entre las especies de anfibios, reptiles y mamíferos (61%, 53% y 30% respectivamente), como consecuencia de la variación climática y microambiental que se presenta en el país. Las aves son un grupo muy diverso (9000 especies), constituido por aves residentes y migratorias. Esto se debe a la ubicación geográfica del país, que sirve como puente entre Norte y Sudamérica y a las amplias zonas costeras y montañosas del país que son usadas como áreas de refugio alimentación y reproducción. Las Aves y los mamíferos históricamente han sido los grupos más manejados y explotados, y sus hábitats han sido dramáticamente desbastados, por lo tanto algunas especies se encuentran amenazadas o en peligro de extinción. Es preocupante que el 40% (aproximadamente 200 especies) de las especies de mamíferos se encuentran en peligro de extinción.

Es evidente que los conservacionistas y el manejadores de recursos deben conocer la diversidad y el que estado en que se encuentran las poblaciones, para poder tomar decisiones acerca de la explotación o los protección que se pueden aplicar. Para tener este conocimiento es necesario realizar muestreos poblacionales, que reflejen por medio de índices el estado real de la población ya que es muy difícil realizar censos. Es necesario conocer las características físicas y parámetros biológicos tales como el patrón de actividad diaria y estacional. Las aves y mamíferos pueden ser estudiados por técnicas de observación directa o indirecta, la evaluación numérica requiere de la concepción de unidades numéricas, que pueden ser unidades de tiempo y área para las aves o de área y desplazamiento lineal para mamíferos. Las aves pueden ser detectadas pos cantos, nidos, huevos, cascarones, desde el suelo hasta altos doceles en los árboles y desde la costa hasta lo alto de las montañas y los mamíferos pueden reconocerse por medio de huellas, excretas, pelos dientes, madrigueras y principalmente en hábitats terrestres.

En este capítulo se presentan las principales técnicas de estudio para estos dos importantes grupos de vertebrados, como son las aves y los mamíferos. En forma secuencial se presentan algunas consideraciones para la elaboración de la estrategia de muestreo, las técnicas de muestreo directo (observación y captura) e indirecta y los procedimientos para el marcaje de individuos.

### **Elaboración de la estrategia de muestreo**

Antes de realizar cualquier estudio, es necesario que se definan claramente los objetivos, a través de los cuales se realizará la planeación y ejecución del trabajo de campo. Es necesaria una estimación del financiamiento requerido para llevar

al cabo el trabajo y la planeación del muestreo, ya que el presupuesto variará de acuerdo al área a estudiar, los métodos a utilizar y la duración del proyecto.

La planeación de un estudio debe considerar tres etapas. En la primera, el investigador define la amplitud del trabajo en términos de las especies seleccionadas para el estudio. La selección dependerá de los objetivos, el tiempo de duración del estudio y el dinero disponible para los muestreos, así como en las características del área, particularmente su tamaño. En esta etapa, también es recomendable realizar una revisión extensiva de la información existente sobre las especies a trabajar.

En la segunda etapa, se seleccionan las técnicas más apropiadas para estudiar a las especies o poblaciones. La selección de la técnica de muestreo depende de los factores antes mencionados y otras variables, para lo que el investigador debe apoyarse en la revisión de literatura antes efectuada sobre las especies, los métodos y el área a trabajar se han hecho. La tercera etapa involucra la integración de la teoría y la práctica, adecuando las técnicas seleccionadas al área y a las especies a estudiar.

Habiendo adquirido el equipo y material necesario y organizado al personal involucrado en el estudio, es recomendable realizar inspecciones o muestreos preliminares para adecuar los métodos que se emplearán, ubicar los puntos a muestrear, e identificar los posibles obstáculos que limiten la ejecución de los muestreos y la toma de datos. Asimismo, es recomendable identificar los sitios de establecimiento del personal (campamentos, acceso a las instalaciones de las áreas protegidas, etc.). Realizado lo anterior, el investigador podrá iniciar formalmente su trabajo de campo.

### **Definición de objetivos**

El principal objetivo del muestreo de aves y mamíferos es estimar la riqueza de especies (el número de las especies presentes) y la abundancia de la(s) especies (el número de individuos de cada especie) dentro de un área en particular. Pero la información obtenida también es necesaria para cumplir otra serie de objetivos, como son aquellos que pretenden comparar la biodiversidad entre diferentes áreas y justificar el establecimiento de un área protegida, o la conservación y manejo de poblaciones de especies.

La planeación debe considerar si es necesaria la conservación y preservación de ejemplares de colección, ya que muchas especies no son fácilmente identificables en el campo, siendo indispensable la determinación a través de un examen detallado de los ejemplares recolectados, los cuales podrán incluso ser utilizados para estudios de sistemática y taxonomía.

## **Definición de los límites del muestreo**

### *Lista de especies*

El primer paso para preparar un muestreo, consiste en realizar una revisión de los trabajos que se han llevado al cabo en el área o en sitios cercanos a ella. La información obtenida es usada para desarrollar una lista preliminar de las especies que se pueden encontrar en el sitio de estudio. Dichas listas son importantes para definir los límites del muestreo, aunque no deben considerarse completas, ya que el investigador debe anticipar la posible aparición de nuevas especies, especialmente cuando las áreas son tropicales. De manera opcional, el investigador puede llevar al cabo un muestreo preliminar o prospectivo para obtener una lista de especies. De hecho, los muestreos preliminares son recomendables, a menos que se cuente con suficiente información del área. Estos muestreos deben ser cortos y rápidos, planeados bajo un cuidadoso diseño del muestreo.

### *Selección de las especies a estudiar*

Con la lista preliminar, el investigador puede seleccionar la especie, población o comunidad, que incluirá en sus muestreos. El financiamiento y el tiempo, aunado con las características del área, limitan el número y las especies a estudiar.

Las especies pueden ser seleccionadas con base en su abundancia relativa, o a la representatividad de los diferentes órdenes de aves o mamíferos. Asimismo, pueden ser seleccionadas por su tamaño, por los sonidos o vocalizaciones que emiten, por los rastros que dejan en el hábitat u otras características que faciliten la detección de la especie en el área. La selección de las especies puede incluso ser producto de algún interés específico, tales como aquellos que se relacionan con las colecciones, para estudios taxonómicos más detallados, o con la conservación. En este último caso, es posible seleccionar especies sobre las que se hipotetiza que sus poblaciones están disminuyendo o aumentando, o bien, especies que son consideradas como plagas o tienen alguna importancia económica.

### *Selección de las técnicas de campo*

Existen diversas técnicas de campo que pueden ser aplicadas para estimar la densidad y abundancia de una especie o para medir la riqueza de especies de aves y mamíferos existente en un área. De forma general, estas técnicas pueden ser

clasificadas como: técnicas de observación directa, técnicas de observación indirecta y técnicas de captura-recaptura.

### *Adecuación*

A pesar que las técnicas pueden ser aplicadas para diferentes especies y condiciones, éstas son seleccionadas con base en su eficiencia y adecuación con respecto a la especie o especies a estudiar, así como con la información requerida para lograr los objetivos previamente planteados. Por ejemplo, técnicas de observación directa e indirecta permiten obtener datos para estimar la abundancia de algunas especies. Sin embargo, si la primera aporta datos más confiables, la selección debe inclinarse hacia esta técnica. Si es posible, se recomienda la aplicación de ambas técnicas para poder realizar comparaciones.

### *Características físicas y comportamiento de las especies*

Para la selección correcta de la técnica que se empleará, debe tenerse un buen conocimiento de las características físicas y de la biología de las especies a estudiar, tales como es el patrón de actividad diaria y estacional. Para especies de hábitos diurnos, las técnicas de observación directa pueden ser una buena opción, lo que para aquellas de hábitos nocturnos, estas técnicas requieren de equipo adicional o de la aplicación de técnicas de captura y de registro indirecto.

### *Tamaño del área de muestreo*

La extensión del área es un factor determinante en la selección de las técnicas de muestreo. Por ejemplo, si la especie habita en un área relativamente pequeña, es posible cubrir el sitio en su totalidad. Si la especie habita en un área muy grande, se requiere un muestreo espacial. Este consiste en el establecimiento de unidades de muestreo dentro del área total.

La estimación global se basa en las estimaciones obtenidas en cada una de esas unidades. El tamaño del área puede incluso ser determinante en la selección de los métodos de muestreo. Por ejemplo, cuando el tipo de vegetación permite una adecuada visibilidad, los muestreos aéreos constituyen un método útil para áreas grandes y cuando la especie de estudio es fácilmente identificable.

### *Hábitat y clima*

Características del medio donde habita la especie pueden influir en la selección de las técnicas de campo. Por ejemplo, la densidad de la vegetación y el grado de heterogeneidad espacial pueden afectar las observaciones directas de los animales. El grado de nubosidad, niebla, lluvia y viento, pueden también influir negativamente en observaciones aéreas.

### *Personal y tiempo*

El arreglo de las técnicas de campo disponibles para un muestreo se incrementará con el número de personas involucradas en la investigación. La experiencia del personal puede aumentar la eficiencia de las técnicas de campo. Personas que viven o dependen de alguna manera del área de estudio, facilitan el trabajo de campo.

Es recomendable que las técnicas seleccionadas sean repetidas, con el fin de obtener estimados confiables de la riqueza y abundancia de especies. Sin embargo, en ocasiones es prácticamente imposible aplicar las técnicas de forma repetida. Como alternativa, se pueden seleccionar técnicas que provean datos para la obtención de índices de abundancia o limiten el número de especies a estudiar.

### *Financiamiento y equipo*

El fondo requerido para un muestreo influye en forma determinante en la selección de las técnicas de campo. Por ejemplo, los altos costos de las trampas o del equipo electrónico necesario para muchas de las técnicas de campo, pueden limitar su aplicación. Una buena selección, debe invariablemente considerar el equipo con el que se cuenta y el financiamiento necesario para adquirir el faltante.

### *Integración de la teoría con la práctica*

Después de haber concluido las dos primeras etapas de la planeación, el investigador debe decidir cuál de las técnicas y que tipo de muestreo seleccionará considerando las condiciones del área. Algunas de las sugerencias a considerar para adecuar la técnica al área de estudio son: uso de mapas, fotografías aéreas, imágenes de satélite, mediciones de la unidad de muestreo, selección de las unidades de manera aleatoria y selección de puntos aleatorios.

### **Técnicas de observación directa**

El tamaño de la población estudiada junto con el tamaño del área de muestreo y la distribución de las especies permite obtener dos mediciones: 1) la abundancia total o relativa, que se refiere al número de organismos registrados y 2) densidad cruda y ecológica, que se refiere al número de individuos de una especie por unidad de área de todo el sitio de estudio, y al número de individuos de una especie por unidad de área del hábitat que es utilizado por la especie, respectivamente. La estimación de la densidad ecológica es la adecuada, especialmente en áreas de muestreo donde las especies pueden ocupar únicamente ciertos tipos de hábitats.

La densidad y la abundancia (absolutas o relativas) pueden estimarse a partir de muestreos, a lo largo de diferentes escalas temporales o espaciales, para poder así ser comparadas con respecto a otras especies en el mismo o diferentes sitios, y al mismo o diferentes tiempos. Al comparar dos o más estimaciones, es importante considerar que los valores obtenidos sean potencialmente comparables, tanto con respecto al tamaño del área, esfuerzo invertido en la toma de datos y la técnica empleada para los muestreos.

Las técnicas de observación permiten realizar censos o conteos del total de individuos que se encuentran en el sitio de estudio, o definiendo muestras dentro del área total, siempre y cuando el total del área o la muestra sea cubierta, que todos los animales sean localizados, y que éstos sean contados con exactitud. Sin embargo, el cumplir con los requerimientos antes mencionados, o al menos estar seguro de haberlos cumplido, no siempre es factible, ya que aunque la búsqueda de los individuos sea intensa en toda el área, existe la posibilidad de que algún individuo no sea observado.

### *Métodos de conducción*

Se puede obtener el total de los individuos en todo el área o puede ser estimada a través de muestreos. Esta técnica consiste en ahuyentar o provocar a los animales para correr o volar, y conducir su huida a un sitio definido previamente para facilitar el conteo. Esta técnica es la más apropiada para especies de hábitos diurnos, de tamaño mediano, que habiten en sitios planos y abiertos. No es recomendable para especies que en momento de huir, se escondan en madrigueras, para depredadores grandes o para especies arborícolas. Esta técnica es adecuada para sitios pequeños, de pocos kilómetros. La técnica involucra a un grupo de observadores estacionarios y a un grupo de conductores no estacionario, los cuales

se ubican inicialmente en la periferia del área de estudio y la rodean por completo. Todos los observadores y conductores cuentan a los animales hacia un solo lado en el momento del disturbio o movilización. La distancia entre los observadores es un punto importante para asegurar que todos los animales sean contabilizados. Esta es establecida por el doble de la distancia más corta registrada entre la distancia mínima de dispersión ante la movilización, y la distancia máxima a la cual es visible la especie en su hábitat natural.

Es importante considerar la posibilidad de provocar estrés al animal o de que éste salga lastimado al momento de la huida, particularmente cuando se utilizan barreras. Por ejemplo, se ha observado que algunos marsupiales pueden arrojar a las crías de sus marsupios al momento de la huida. Estos problemas pueden ser minimizados cuando la técnica es aplicada en períodos de menor riesgo (fuera de períodos de nacimiento) y si la velocidad y la conducta de los conductores es regulada. Asimismo, es recomendable que los períodos entre muestreos utilizando esta técnica, sean lo suficientemente largos para permitir a los animales recuperarse del estrés ocasionado por este disturbio, ya que se ha observado que animales que son heridos o altamente estresados dejan el sitio por períodos largos, lo que conlleva a la subestimación del tamaño total de la población.

Esta técnica también es aplicable para contar el número de animales observados en pequeños bloques o unidades de muestreo (*e.g.* cuadrantes, cuadrados, transectos rectangulares) seleccionadas del área total de muestreo. Se requiere de menor número de personas que para el conteo total, y en esta modalidad, todos los miembros del equipo son conductores y contabilizan tanto a los animales que dejan las unidades de muestreo como a los que entran a ellas.

#### *Métodos de detección en silencio*

Otro tipo de técnica de observación, consiste en la detección en silencio de las especies. El observador se acerca lo más silenciosamente posible, o bien permanece en una torre de observación y cuenta a los animales sin perturbarlos. Pueden adecuarse tanto a especies de tamaño pequeño como aquellas de tamaño mediano y grande, de hábitos diurnos y nocturnos, especies arborícolas, fosoriales y a especies marinas. Esta técnica es más recomendable que la anterior, ya que no produce estrés sobre los animales.

El acercamiento y conteo de los animales a través de la detección en silencio a pie, es un proceso lento y se invierte mucho tiempo. Por lo que muestreos a pie son solo recomendables para áreas de menos de 10 km<sup>2</sup>. Para áreas mayores, es

común utilizar plataformas móviles, como son caballos, mulas, vehículos terrestres, aeroplanos, botes o barcos.

A través de esta técnica, puede lograrse la identificación individual de los organismos estudiados, registrar abundancias de los organismos al emerger de sus perchas, sitios de reproducción, anidación y maternidades, madrigueras, u observaciones directas en campo.

#### *Identificación de individuos*

Si el estudio que se lleva a cabo requiere de la identificación individual, los registros se deben considerar en esta técnica, las características físicas del animal, tales como marcas corporales, tamaño y forma de las astas o cuernos, cicatrices y otras deformidades que permitan la identificación del individuo son utilizadas para contar el total de los animales dentro del área. Esta técnica ha sido utilizada para obtener el número total de primates arborícolas y semiterrestres que viven en grupos sociales estables. Asimismo, han sido utilizados para contabilizar leones, canguros, caballos silvestres, y especies solitarias como son los leopardos y cheetas, utilizando para éstos los patrones de puntos en su piel, y para mamíferos marinos utilizando marcas naturales o cicatrices para su identificación.

#### *Observaciones en sitios de refugio, reproducción y anidación*

Esta técnica facilita la observación y registro de número de especies y abundancias, cuando se estudian especies que: 1) son localizadas fácilmente, 2) habitan en sitios que albergan un gran número de individuos, 3) son relativamente permanentes, y 4) en el caso de sitios cerrados, son logísticamente fáciles de estudiar. Cinco métodos de observación en sitios utilizados: 1) Conteo directo, 2) Conteo por disturbio, 3) Conteo de dispersión diurna o nocturna, 4) Conteo en colonias de anidación, reproducción y maternidad y 5) Conteo de emergencia.

#### *Método de detección en silencio en áreas pequeñas*

Es común que el área a estudiar sea muy extensa para la realización de censos, por lo que es recomendable que en estos casos se establezcan subáreas (cuadrantes, parcelas, o transectos) dentro del área total. Existen diversas técnicas de detección

en silencio y son las más frecuentemente utilizadas en los estudios de aves y mamíferos, entre las que podemos describir las siguientes:

### *Transectos*

El registro de observaciones empleando este método, se realiza a lo largo de una línea de muestreo, que aunque con algunas variantes (puntos, lineales, en banda), se basan en tres consideraciones importantes: 1) Todos los animales en el transecto son observados; 2) Los animales son observados en su ubicación inicial, antes de ser perturbados por el observador, y un mismo individuo no es registrado dos veces; 3) Distancias y ángulos de ubicación son medidos con exactitud; y 4) Las detecciones son eventos independientes. Este método en cualquiera de sus variantes puede ser empleado para estudiar poblaciones y comunidades a través de técnicas directas, indirectas y de captura. Entre las variantes se pueden mencionar:

- *Puntos en transecto*. Las observaciones se realizan en un punto definido, a partir del cual se registran los animales y la distancia en la que se observaron, en términos de zonas concéntricas alrededor del punto definido, así como la distancia a partir de la cual no se logran observar los animales. Esta técnica asume que no existe inmigración dentro del área durante el período de observación, con el fin de evitar sobrestimaciones de la densidad. Asimismo, es necesario que el observador permanezca el tiempo suficiente a fin de detectar todos los animales dentro del área.
- *Transectos lineales*. Las observaciones se realizan a lo largo de líneas de longitud que son establecidas dentro del área de muestreo y todos los animales vistos a lo largo de éstas son contados por el observador (Figura 1).
- *Transectos en banda o franja*. Se basa en los mismos supuestos del transecto líneal, y las observaciones se realizan a lo largo de líneas establecidas en el área de muestreo, pero considera límites a cada uno de los lados de la línea de observación, dentro de los cuales solo se registrarán los individuos que son observados, excluyendo aquellos que se observen fuera de la “banda” de distancia establecida previamente, la cual podrá variar de la especie a estudiar, el hábitat y el clima, entre otros factores (Figura 1).
- *Conteo en caminos*. Las observaciones realizadas por este método se basan en las obtenidas en transectos lineales o en banda establecidos en caminos, considerando las distancias a las que los animales son observados. Es importante considerar el sesgo que resulta de este método al no establecer los

transectos al azar, por lo que es únicamente utilizado para algunas especies y bajo condiciones del hábitat que no permiten realizar observaciones al azar.

### *Cuadrantes*

Este método es generalmente adecuado para especies con rangos de dispersión pequeños, o bien para el uso de trampas o métodos indirectos de conteo (Figura 2). Consiste en el establecimiento de un área cuadrada dentro de la cual todos los individuos que se encuentren en ella deberán ser registrados, antes de desplazarse fuera de ellos, para minimizar el sesgo producido al no ser contados, o bien al contarlos dos o más veces. Los límites del cuadrante deben ser claramente establecidos para que los animales sean contados con precisión. Los cuadrantes pueden ser establecidos al azar, o bien a lo largo de un transecto.

### *Técnicas de observación indirecta*

A lo largo del sitio, pueden incluso realizarse conteos indirectos para estimar la abundancia de los individuos, considerando las señales que éstos dejan de su presencia y actividades. Entre las técnicas que son utilizadas para estimar la presencia y/o abundancia de una especie en un sitio de estudio, incluyen tanto aquellas que consideran conteos de los rastros registrados directamente en campo, como las que a partir de métodos y equipo adicional, promueven o facilitan el registro de los organismos. Las observaciones indirectas y algunas técnicas de registro que se emplean son las siguientes:

### *Registro de nidos*

Los registros de nidos pueden facilitar la estimación de las abundancias de los organismos a estudiar, cuando como en el caso de las aves, éstos se encuentran agrupados en colonias. La técnica depende del sitio en el que se encuentra anidando la colonia de organismos, ya sea en un acantilado, a nivel del suelo, árboles, arbustos o madrigueras. Las abundancias pueden ser obtenidas de estimaciones del número de individuos a partir del conteo directo tanto de los individuos o parejas anidando como del número de nidos, o bien obtener índices que permiten correlacionar la abundancia a partir de los conteos del número de nidos observados.

### *Acantilados*

Esta técnica requiere que los conteos se realicen desde un punto de observación opuesto al sitio, desde el cual se deberán registrar las parejas de individuos o el número de nidos ocupados. El conteo pueden dificultarse cuando las especies anidan en grandes densidades, no siendo posible identificar y contar todas las parejas, por lo que es necesaria la identificación de todos los sitios con huevos, polluelos o adultos incubando. Lo anterior requiere de muchas horas de trabajo, por lo que es recomendable realizar los conteos de individuos directamente. Para el caso de especies que son fácilmente observables en el momento de la anidación, es recomendable fotografiar a la colonia y contar directamente de la fotografía el número de nidos.

### *Madrigueras*

Para estimar las abundancias de los organismos, es recomendable contar el número de madrigueras ocupadas en cuadrantes establecidos de manera aleatoria o estratificada, o a lo largo de transectos lineales. Las madrigueras que son utilizadas son fácilmente identificadas por la presencia de pelos (mamíferos), plumas, tierra removida, excretas, restos de la cubierta de los huevos y alimento, y huellas. Una de las limitantes de esta técnica, es que las madrigueras de las aves no pueden distinguirse fácilmente de las de los mamíferos, ni tampoco es fácil la identificación de las especies mediante esta forma. Por el contrario, en el caso de los mamíferos, las huellas, en algunos casos, permiten la identificación de las especies.

### *A nivel del suelo*

El conteo de nidos puede fácilmente ser realizado cuando se trata de especies que anidan en colonias, tales como los pingüinos, gaviotas, y golondrinas de mar, entre otras. Si la colonia es pequeña y fácil de observar, el conteo de nidos puede realizarse directamente. Cuando las colonias son grandes, es recomendable subdividirla en secciones y contar cada una de éstas por separado. El conteo deberá llevarse al cabo considerando la época en la que los adultos pueden ser observados en los nidos, o las horas del día en que la permanencia es más estable, lo que dependerá de las especies y las colonias a estudiar, pero de manera general, se recomienda no realizar el conteo al inicio del día o en la noche.

Los conteos pueden realizarse en cuadrantes, transectos lineales, o ambos, para lo que será necesario estimar el área total de la colonia. Para el caso de los cuadrantes, estos deben ser establecidos al azar, o bien a distancias iguales a lo largo de un transecto, y contar todos los nidos observados en cada uno de éstos. Cuando los conteos se realizan a lo largo de transectos lineales, es necesario registrar la ubicación de éste, la distancia que es recorrida, y registrar todos los nidos observados a una o a diferentes distancias del transecto. El tamaño de la colonia es fácilmente estimado a partir del área total, número total de nidos observados, y área muestreada.

#### *Arboles y arbustos*

Muchas especies de aves, tales como las garzas, las cigüeñas, y espátulas, entre otras, anidan en árboles formando colonias grandes. Para especies que anidan en árboles decíduos, los nidos pueden ser fácilmente contados cuando pierden sus hojas. Los conteos pueden realizarse desde torres o puntos fijos de observaciones, o realizando recorridos aéreos, utilizando binoculares o telescopios, con algunas modificaciones como es el uso de espejos para verificar si los nidos están ocupados.

*Ventajas y Desventajas:* El conteo limitado al período en que las especies se encuentran agrupadas, constituye una ventaja en términos de efectividad del estudio a bajo costo y esfuerzo, ya que en otras épocas del año, la amplia distribución de los individuos en áreas más extensas, complicaría el conteo de los individuos. La desventaja de esta técnica, radica en que es aplicable en individuos en reproducción, para lo que se requiere mantener al mínimo el grado de perturbación. Otra limitante es que para el caso del conteo de madrigueras, se dificulta la identificación de la especie que la ocupa.

#### *Registros en maternidades*

Se realiza en los sitios de percha en el momento en que los adultos emergen. A través de este método puede estimarse el número de hembras lactantes, contando a las crías que no vuelan. La información obtenida puede complementarse con la información obtenida de captura para una mejor estimación del tamaño y composición de la colonia, por ejemplo, la estimación del número de hembras grávidas, hembras postlactantes y lactantes, puede proporcionar el número de hembras en la colonia.

### *Registro de cantos, llamados u otras señales de comunicación*

La identificación de especies y la estimación de sus abundancias a través del registro de señales auditivas es muy útil en el estudio de aves y mamíferos, ya que esta técnica permite el registro de especies raras y/o difíciles de observar, y facilita la ubicación de los organismos dentro del área de estudio. El conteo de cantos o llamados es usado frecuentemente como un índice de la abundancia, ya que en solo provee información indirecta de la presencia y número de individuos.

La técnica se basa en que muchas especies de aves y mamíferos dentro de al menos un grupo taxonómico, muestran variaciones individuales en llamados o cantos, los cuales pueden registrarse y grabarse con un micrófono y realizar espectogramas de sonido utilizando programas de cómputo, los cuales permiten la identificación de las especies, y estimar la cantidad y tipo de vocalizaciones, así como el número de individuos presentes. En el estudio de las especies nocturnas, tales como los murciélagos y algunas especies de aves, constituye una importante herramienta. Para el caso de los murciélagos, los detectores permiten que las señales ultrasónicas emitidas por éstos sean percibidas por el oído humano, las cuales pueden ser grabadas y visualizadas a través de programas de cómputo.

*Ventajas y desventajas:* Esta técnica es apropiada para estimar las abundancias relativas de las especies raras o cuando debido a sus hábitos no pueden ser observados fácilmente. Sin embargo, los datos obtenidos pueden llevarnos a sesgos importantes, ya que las señales producidas pueden ser influidas por los hábitos de las especies y el ambiente. Para el caso de muchas especies, los sonidos emitidos pueden diferir con relación a su comportamiento y a la época de año, o bien ser únicamente emitidos por los machos. Asimismo, la diferenciación de especies y/o individuos, puede verse limitada cuando los sonidos no se distinguen con facilidad, o cuando las señales son muy semejantes entre las especies. Las condiciones ambientales pueden influir en la detección de las señales y la frecuencia en que son emitidas.

### *Registro de excretas*

La observación y conteo de excretas es una técnica indirecta que permite identificar la presencia del animal y estimar su abundancia a través de índices. El muestreo de excretas se puede realizar en cuadrantes, si éstas son abundantes, o a lo largo de transectos lineales, si no lo son. La identificación de las excretas debe ser realizada considerando otras observaciones, tales como huellas, pelos, plumas, o bien por la presencia del animal. Algunas especies presentan excretas particulares, tales como el venado cola blanca y el conejo.

Aunque la cantidad, tamaño, forma y consistencia de las excretas depende de la dieta del animal, el tiempo de permanencia varía de acuerdo al hábitat, a los cambios estacionales, a su composición y contenido de fibra, y a la presencia de insectos coprófagos. Para contrarrestar el efecto de estas variables en el estudio, se recomienda: 1) eliminar las excretas que ya hallan sido contadas, y definir la frecuencia del conteo, considerando la tasa de depósito y de descomposición; 2) marcar las excretas que han sido recientemente depositadas y registradas, para poder excluir en el próximo conteo éstas y las que luzcan menos recientes.

Esta técnica permite comparar las densidades relativas de las excretas en diferentes áreas, que al considerar la tasa de defecación de las especies, ya sea a través de observaciones de campo o estudios de animales en cautiverio, transforma estos datos en número de animales por día en términos de densidad. Asimismo, a partir de los registros de excretas, es posible realizar estudios sobre hábitos alimenticios de las especies, utilización del área y territorialidad.

*Ventajas y desventajas:* Constituye una técnica práctica para registrar la presencia de especies difíciles de observar, o en sitios donde la visibilidad puede variar entre hábitats. La identificación de especies por excretas puede ser difícil, esto puede contrarrestarse estableciendo grupos de especies. Las estimaciones obtenidas pueden ser sesgadas tanto por el efecto del hábitat y por los cambios en la persistencia de las excretas debido a las estaciones climáticas, o por la variación de la tasa de defecación en función con la dieta, y por la edad, condición y sexo del animal.

#### *Registro de restos y otras señales de alimentación*

Muchas especies pueden dejar impresas marcas características en los residuos de sus alimentos, tales como marcas de dientes en los frutos, hojas u otras partes vegetales. Estas señales pueden ser evidencia de la presencia y distribución de las especies, y pueden también ser medidas al estimar la densidad del alimento y la proporción que es consumida. Para especies con hábitos alimenticios similares, es recomendable considerar los registros en conjunto. Los muestreos pueden realizarse en cuadrantes o transectos lineales. Los registros pueden limitarse a los sitios de alimentación o en donde éstos son almacenados.

*Ventajas y desventajas:* Aunque solo es posible obtener un índice relativo, esta técnica permite obtener mediciones de manera rápida y fácil, las cuales pueden correlacionarse con el número de individuos trapeados. Sin embargo, es necesario determinar las especies de plantas que son utilizadas como alimento por cada especie estudiada y distinguir las marcas impresas de una especie entre

varias. Los resultados pueden ser sesgados al considerar que el consumo de una especie de planta dependerá también de la abundancia de otros alimentos.

### *Registro de huellas*

Las observaciones y conteo de huellas es una técnica útil para detectar la presencia del animal y permite obtener índices de abundancia de las especies. Es importante resaltar que en el caso de los mamíferos cada especie posee una huella distintiva. Asimismo, es posible obtener información sobre la conducta, edad, estatus social, modo de locomoción y hábitos de forrajeo. El conteo de huellas se ve limitado a zonas donde el tipo de suelo conserva a detalle la forma y tiempo de impresión de éstas. Lo anterior no permite el muestreo aleatorio, por lo que se recomienda estandarizar los registros contando el número de individuos que pasan por el área.

Los registros de huellas pueden realizarse tomando fotografías, moldes de yeso o parafina, o impresiones en papel carbón, o de fotografía, colocándolos en estaciones de registro previamente establecidas. Estas pueden ser cubiertas por el tipo de suelo que permita la impresión, o bien cubrir el área con papel carbón o de fotografía. Estas estaciones pueden establecerse en sitios donde se han observado individuos, o bien utilizar cebo con olor que atraiga a los organismos, lo que comúnmente se conoce como estaciones olfativas. Las estaciones puede ser arregladas a lo largo de un transecto lineal, con distancias iguales entre ellas, y estar distribuidas proporcionalmente entre los tipos de hábitats del área de estudio.

Ventajas y desventajas: Este método es útil para especies sigilosas, pero únicamente permite obtener medidas relativas. Aunque la identificación de los individuos de diferentes tamaños puede ser obtenida, es generalmente difícil definir si un grupo de huellas pertenece a uno o a varios individuos. Cuando las huellas de varias especies no pueden ser distinguidas, es recomendable tomar registros combinados de esas especies, lo que constituye un problema al estimar las abundancias de los pequeños mamíferos. Estas estimaciones involucran tanto la distancia recorrida como la densidad de la población, por lo pueden presentar sesgos como resultado de las diferencias en conducta entre diferentes estaciones y hábitats, así como cuando se presentan territorios que pueden permitir o restringir el acceso de los animales a las áreas muestreadas.

### *Estructuras y características del hábitat*

Muchos animales crean estructuras para la protección y alimentación de sus crías que son fácilmente detectables visualmente, tales como nidos de hojas y pastos de ardillas, montículos de tierra creados por tuzas, entre otros. Asimismo, las señales que los animales herbívoros dejan al alimentarse, como son algunos roedores que dejan excretas y residuos de pasto y semillas de los que se alimentan; u otras especies que ramonean los arbustos, aves y mamíferos frugívoros que dispersan los frutos en los sitios de alimentación. Otros tipos de rastros son los que algunas aves como los pájaros carpinteros, o algunos mamíferos como los úrsidos o cérvidos pueden marcar con sus picos, garras o astas en los troncos de los árboles, o aquellos como la urea cristalizada o excretas de aves y quirópteros que depositan en sus sitios de percha.

*Ventajas y desventajas:* estos rastros únicamente permiten detectar la presencia de los animales, lo cual es recomendable cuando éstos son difíciles de observar y cuando los rastros permiten identificar a la especie. Sin embargo, algunas especies dejan rastros similares, lo que no permite la identificación de la especie.

### *Señales olfativas*

Este tipo de señales es común que sean utilizadas por los mamíferos para diferentes funciones sociales y antidepredatorias, a través de secreciones de glándulas especializadas, orina y excretas que transmiten información olfatoria. Muchas especies de mamíferos impregnan estos olores en sus sitios de refugio, letrinas y territorios, sitios que se denominan “espacios activos”, y que permiten al investigador localizar y en muchos casos identificar a la especie.

*Ventajas y desventajas:* es una técnica útil y eficaz para localizar organismos, sin embargo, en muchas ocasiones los olores producidos por algunas especies son imperceptibles para el olfato humano, por lo que es más recomendable observar directamente al animal.

### *Otras técnicas de observación indirecta*

La utilización de cámaras fotográficas y de video constituyen técnicas opcionales que pueden emplearse para la obtención de registros de manera indirecta, o bien combinarse con otras técnicas de observación tanto directa como indirecta, como las descritas anteriormente. Entre las técnicas de observación indirecta, se

recomienda la toma de fotografías de los registros de las huellas, cuando éstos no puedan ser identificados en campo, o bien que se requiera evidencia de ellos, o para el caso en que la estimación de la abundancia de las observaciones indirectas deba realizarse en un tiempo corto, o cuando los rastros se observen en gran número, como es el caso de los nidos.

Entre los tipos de cámaras que han sido frecuentemente utilizados para el estudio de la fauna silvestre, y en especial para las especies de mayor tamaño, de hábitos nocturnos y de difícil observación, son las “cámaras remotas de disparo” (remote-trip cameras) o “trampas cámara”, adecuadas para identificar las especies que habitan en un área particular, para monitorear la abundancia relativa y absoluta de una especie y para estudiar los patrones de actividad. Las trampas cámara son dispositivos automáticos con flash electrónico, con mecanismos de disparo que son activados ante la presencia del animal. Estos mecanismos pueden ser:

- a. Mecánicos. Pueden ser cuerdas, cables de acero, o varillas de bambú que están conectadas al obturador de una cámara, y a los que se les coloca cebos para atraer al animal. Al tocar las cuerdas con cebo o pasar a través de un camino angosto donde los cables o varillas han sido colocados, éstos se disparan, activando los mecanismos para fotografiar al animal.
- b. Placas de disparo. Consisten de dos placas de madera unidas a presión por bisagras, y de una cuerda que mantendrá el circuito en posición abierta. Almohadillas sensibles a la presión, resistentes al agua es una buena opción para el uso de placas. Estos dispositivos son colocados en caminos, o sitios con cebo, sobre los cuales el animal caminará, activando el mecanismo de disparo y toma de la fotografía. Es necesario que al colocar las cámaras, éstas deban ser debidamente camuflageadas con suelo y hojarasca, y protegerlas con plásticos de las inclemencias del tiempo.
- c. Celdas fóticas. Son utilizadas para registrar el paso de los animales a través de rayos de luz. Al ser sensible a cualquier objeto que pase a través de los rayos, es necesario definir con exactitud la distancia y altura a la que se deberá fijar la cámara, con base al tamaño o tamaños de los animales que queremos fotografiar.
- d. Rayos infrarrojos. Sensores de movimiento y sensores infrarrojos activos, los dos primeros requieren que la cámara este adecuadamente fijada, mientras que los últimos al dispararse con el campo de calor no requieren de tal precisión, y algunos eliminan la posibilidad de la activación por una falsa detección de cambio de calor producida por la luz del sol.
- e. Sensores infrarrojos pasivos. No son selectivos y registran cualquier animal homeotermo que pase a través del amplio campo de detección.

*Ventajas y desventajas:* La ubicación de las cámaras no interfieren en los hábitos del animal, se elimina la necesidad de captura y el disturbio humano es mínimo.

Grandes áreas pueden ser muestreadas con pocas personas, y el investigador no necesariamente tiene que realizar revisiones constantes. Las cámaras facilitan en gran medida la detección de especies terrestres crípticas de difícil captura, ya que los senderos de desplazamiento, sitios de alimentación y madrigueras no son fácilmente encontrados por su poca visibilidad. La identificación de los individuos a través de fotografías puede únicamente lograrse si cada uno de éstos posee diferentes patrones de coloración, cicatrices y otras marcas distintivas. Cuando el uso de las trampas cámara se combina con la captura y marcaje de organismos, las fotografías obtenidas pueden proveer importante evidencia que permitirá fortalecer la interpretación de los datos de abundancia, movimiento y actividad.

Entre las desventajas de la técnica, están los altos costos del equipo y películas, el riesgo de que el equipo sea robado en campo, y las altas posibilidades de que los dispositivos de disparo causen un sesgo en el muestreo al no registrar todas las especies con base a las diferencias en tamaño, y cuando el equipo se daña, es muy difícil su reparación en campo. Por otra parte, aunque se pueden obtener alturas de los organismos registrados con base a la que fue fijada la cámara, no es posible obtener datos de pesos y condición reproductiva.

Las videocámaras son otra opción para obtener el registro de animales, y pueden ser activadas por un mecanismo de disparo y monitorear constante o intermitentemente. El equipo y películas son costosos, por lo que recomienda que las tomas sean por intervalos cuando son monitoreadas las visitas de especies en sitios altamente frecuentados, como son las perchas de murciélagos, acantilados donde algunas especies de aves forman colonias para anidar.

### **Técnicas de captura para aves y mamíferos**

Muchos de los métodos empleados para la realización de inventarios y estimaciones de abundancias y densidades de aves y mamíferos requieren que los organismos sean capturados. La captura de los organismos constituye una de las técnicas más adecuadas y en muchas de las veces la única, que permite la obtención de organismos de referencia para colecciones, de datos sobre condiciones reproductivas, de alimentación a través de regurgitaciones o contenidos estomacales, de endo y ectoparásitos, etc. El uso de las técnicas de captura es más adecuado para animales de tamaño pequeño, ya que al ser mayor el tamaño del animal, la captura de éstos se hace más difícil, por lo que para animales de tallas grandes es más recomendable

realizar observaciones directas o indirectas, aunque se han desarrollado diversos dispositivos para su captura cuando a sido necesario.

Para la estimación de la abundancia de la población a estudiar, el emplear esta técnica requiere la mayoría de las veces del marcaje de los organismos, para lo que es necesario tener conocimientos sobre la biología, ecología y conducta de la especie a estudiar, ya que la probabilidad de captura es una de las variables que pueden sesgar las estimaciones.

Para emplear alguna de las técnicas de captura es necesario considerar: 1) el equipo y dispositivos disponibles para la captura; 2) el cebo o atrayente; 3) el arreglo espacial de las trampas; 4) los períodos de captura; y 5) las técnicas de manejo de los animales al capturarlos.

## **Equipo y dispositivos de captura**

### *A. Tipos de trampas*

- *Golpe*. Son del tipo casero, que consisten de un dispositivo que al acercarse el animal al cebo, se dispara y mata al animal. Es útil para los métodos de estimación de abundancias por remoción. Dentro de este tipo de trampas encontramos las “Víctor” para roedores y especies escavadoras.
- *Caja*. Sherman, Allcock, Havahart, Tomahawk. Se utilizan para capturar al animal sin lastimarlo, son rectangulares, con entradas en uno o ambos extremos, o en la parte superior. Dentro de la trampa se encuentra una plataforma que al ser presionada por el peso del animal, activa el dispositivo que cierra las entradas. Pueden construirse con madera, aluminio, alambre o plástico, y utilizar diferentes dispositivos de activación. Los tamaños de las trampas varían de acuerdo a la especie que se desee capturar, pueden ser o no plegables. Este tipo de trampas es frecuentemente utilizado en los métodos de captura-recaptura.
- *Pozo (Pitfall)*. Es el tipo de trampa mejor adecuado para la captura de mamíferos pequeños (< 10 g), tales como las musarañas. Consiste de un contenedor con uno de los extremos abierto, que puede ser cilíndrico o cónico, de plástico, polivinil (PVC), aluminio o metal y de 40 a 50 cm de alto o profundidad y de 20 a 40 cm de diámetro. La trampa es colocada dentro del sustrato, de tal manera que el extremo abierto se encuentre al nivel de la superficie de éste. Los animales son capturados cuando caen al contenedor través del extremo superior abierto, el cual puede contener agua o alcohol, si el sacrificio del animal es necesario. Estas trampas puede ir acompañadas de un dispositivo de conducción, fabricado de malla u otro material.

- *Embudo*. La entrada del extremo más ancho del embudo se encuentra en la parte exterior de la trampa, mientras que la entrada del más angosto se encuentra hacia el interior. Al entrar el animal a la trampa por el extremo ancho, trata de salir desplazándose hacia la parte más angosta, quedando atrapada al entrar por el orificio interno. Algunas trampas poseen cables horizontales que dirigen al animal hacia la parte interna, a fin de evitar que éste escape por la parte externa o más ancha del embudo. Las trampas de embudo diseñadas para la captura de murciélagos, consisten de un tubo o conducto que dirige al animal a una bolsa en la que son almacenados.
- *Cepos*. Son trampas de cuerda (lazos), alambre galvanizado o metal, las cuales varían en tamaño (del 0 al 10) y dispositivos, y pueden tener protección para evitar dañar al animal. Uno de los extremos de la trampa forma un aro o marco, con un dispositivo de activación en el centro, mientras que el otro es asegurado en una base. Son colocadas en caminos o sitios de actividad, y no siempre requieren de la utilización de cebos. El animal es capturado al momento de presionar el dispositivo de activación, el cual cierra automáticamente el marco sujetando alguna parte de su cuerpo. Entre este tipo de dispositivos están: las “Conibear”, las “Víctor” con y sin protección. Estas trampas pueden ser colocadas a nivel de la superficie o bien dentro de madrigueras.
- *Alcantarilla*. Están construidas del metal utilizado para las alcantarillas, o con bien con paredes de metal, con 1.8-2.4 m de longitud y 1.2 de ancho, y una puerta de metal de caída en ambos extremos. El peso y tamaño de esta trampa limita su uso en caminos. Es ampliamente utilizada en la captura de osos que requieren ser reubicados.
- *Arpa*. Esta trampa consiste de una estructura formada por dos filas alternadas de cordeles o hilos de alambre suspendidos verticalmente. Una bolsa es suspendida debajo de esta estructura que permite recoger a los murciélagos que son capturados. Son utilizadas en claros de áreas con gran cobertura, entradas de cuevas o minas. En ocasiones es colocada una segunda trampa para que en caso de que el murciélago pueda evadir la primera, no logre superar la segunda.
- *Línea*. Consiste en una rejilla de cordel o cuerda que se coloca sobre un cuerpo de agua. La línea es puesta en filas paralelas con una pulgada de separación. Este es un método de captura efectivo para usar sobre estanques, lagunas someras o piscinas. No es recomendable su uso en ríos, ya que el ruido ocasionado por la corriente no permite detectar el momento en que murciélagos han descendido y capturados en el agua y pudiendo de esta manera ahogarse. Una vez que los murciélagos han caído al cuerpo de agua son colectados, cuidando que estén completamente secos antes de manipularlos.

- *Trampas de corral.* Son estructuras permanentes construidas con malla o cables y postes de madera como sostén. Es importante implementar una barrera o conducto a la entrada del corral, hacia donde los animales serán ahuyentados.
- *Pértigas o agarra-perros.* Consiste de un tubo de aluminio y un cable que corre a lo largo de éste, que en uno de los extremos forma un aro, el cual puede poseer un mecanismo automático de ajuste, que abre o cierra el aro de acuerdo al tamaño del animal. Algunas pértigas son fabricadas con un mecanismo de ajuste que es operado manualmente, a través de tornillos que abren y cierra el aro al manipular el tubo hacia los lados. Este objeto es necesario para sujetar animales vivos capturados mediante distintos tipos de trampas, tales como los cepos.

## **Tipos de redes**

### *Redes de aro o manuales*

Consisten de un marco circular que sostiene una red, con un tubo que permite su manipulación. Para la captura de los organismos, las redes son deslizadas con mucho cuidado detrás del animal cuando se encuentra en los sitios de percha, alimentación, nidos, caminos, cuerpos de agua, o al salir de la madriguera. Al realizarlo de esta manera, evita que el animal detecte la red y salga lastimado con el aro que la sostiene.

### *Las redes de niebla*

Son las más utilizadas para la captura de aves y murciélagos. Este tipo de redes permite la captura en diferentes situaciones, es portátil y fácil de instalar, y es sobre todo uno de los métodos menos costosos. Una de las desventajas de este tipo de red, es que los organismos al momento de ser capturados deben removerse inmediatamente, ya que pueden enredarse, romper la red y salir dañados. Los animales capturados deben removerse individualmente, por lo que estas redes no son adecuadas para sitios donde se espera encontrar un gran número de individuos.

Las redes de niebla consisten de una malla fina de fibra sintética (nylon o poliéster) sostenida por un marco rectangular de varias líneas de nylon. Esta red es colocada en los sitios de captura empleando dos tubos de metal. Las más comunes son las redes japonesas monofilamentosas de 38 mm de abertura de malla.

Cada red tiene usualmente cuatro espacios separados por las líneas del marco y pueden ser de longitudes de 2.1, 5.5, 9.1, 12.8 y 18.3 m y pueden alcanzar alturas de 2.1 a 2.4 m cuando son extendidas. Las redes pueden colocarse de diferentes maneras de acuerdo al hábitat, topografía, especies a capturar, vegetación y condiciones climáticas.

#### *Redes de caída*

Son redes de tamaño y luz de malla variable de acuerdo a la especie a capturar, la cual es arrojada sobre el animal manualmente o por dispositivos automáticos o remotos. Es recomendable utilizar cebos o atrayentes auditivos o visuales, sobre los cuales se colocará la red, o bien conducir a los animales al sitio sobre el cual se encuentra la red. Es frecuente la captura a través de esta técnica desde helicópteros en sitios abiertos.

#### *Redes de disparo*

Son redes conectadas a proyectiles que son lanzados con cargas de pólvora, accionados a control remoto. Los animales pueden ser atraídos con cebo u otro tipo de atrayentes, o bien ser conducidos a un sitio adecuado donde la red será disparada. Asimismo, pueden realizarse las capturas desde helicópteros u otro vehículo aéreo o terrestre.

#### *Redes de conducción*

Las redes pueden ser de algodón o nylon, y el tamaño dependerá de la especie y el área del sitio, hacia donde el animal será conducido. Las redes pueden estar sostenidas únicamente por polos a cada uno de los extremos, o bien estar sostenidas por marcos de metal o madera.

#### *Otros tipos de redes*

Existe un tipo de red que es utilizada para colocarse sobre cuerpos de agua pequeños, tales como estanques. Se colocan cuatro varas en las orillas del estanque, la red es enrollada alrededor de las varas creando las paredes de la trampa y la

porción sobrante de la red se coloca a manera de techo. Es importante dejar un espacio adecuado entre el espejo de agua y el inicio de la red, de manera que el acceso de los murciélagos al cuerpo de agua sea fácil. Cuando los murciélagos entran a beber agua e intentan reanudar el vuelo quedan atrapados en la red.

Muchas de las trampas para aves y mamíferos consisten de un marco de madera y aluminio, el cual sostiene a una red de nylon, algodón o cable de acero u aluminio. El dispositivo de activación puede variar, así como el tamaño y el atrayente utilizado, dependiendo de la especie, sus hábitos y el lugar donde será capturada. Aunque muchos de los modelos de trampas y redes han sido patentados por diversas compañías extranjeras, muchas veces debido a los altos costos de éstas y al trámite aduanal que involucra tiempo y esfuerzo, el investigador debe hacer uso de su ingenio para diseñar sus propios dispositivos de captura, lo que muchas veces puede incrementar el éxito del trabajo.

#### *Uso de drogas, cebos, atrayentes y señuelos*

Para especies de tamaño mediano o grande, con hábitos que dificultan su captura con trampas y redes, tales como las especies de monos que son arborícolas, o los felinos como el jaguar y puma, es recomendable la administración de drogas que duerman o seden al animal. Las dosis dependen de la especie, el peso y la condición reproductiva del animal, y el objetivo del estudio, el cual podrá o no requerir de la liberación del animal. La administración de estas sustancias puede realizarse a través de: dardos o cebos.

La administración de sedantes por dardos deberá ser llevada a cabo por personal con experiencia, ya que éstos deberán ser disparados en las extremidades del animal, evitando lugares como el pecho, abdomen o cabeza, zonas de alto riesgo para el animal.

En el caso del uso de cebos, el alimento que es colocado en trampas o caminos es mezclado con sedantes en dosis para dormir o sacrificar al animal. La administración de estas sustancias debe ser cuidadosa, a fin de evitar que otras especies silvestres o domésticas, y en especial personas, puedan consumirlas. Es recomendable su uso cuando las especies sedadas sean fácilmente localizadas después de haberlas consumido.

Aunque no todas las técnicas de captura requieren de la utilización de cebos, como es el caso de las trampas *Pitfall*, o aquellas que son colocadas en caminos donde es fácil la captura de animales, el éxito de captura de la mayoría de ellas depende del cebo o atrayente que es utilizado. Pueden utilizarse cebos de alimentos que comúnmente consumen los animales, o los alimentos balanceados preparados

comercialmente, los señuelos artificiales o con animales vivos, y sustancias olorosas. El tipo de atrayente varía de acuerdo a la especie, por lo que es recomendable realizar pruebas preliminares para seleccionar el atrayente más efectivo.

### *Cebos*

Los alimentos preparados para ganado o animales domésticos son comúnmente utilizados para mamíferos herbívoros como el venado. Asimismo, las manzanas, peras, alfalfa, heno y maíz han utilizados como cebos para la captura de venado cola blanca. Las gramíneas y las hojas y brotes de árboles constituyen un atrayente efectivo; sin embargo, el esfuerzo y tiempo que se requieren para su obtención, han reducido la frecuencia en su uso. En climas áridos, el agua puede ser utilizada como atrayente.

Los atrayentes empleados comúnmente para atraer carnívoros a las trampas, son el pescado y la carne de animales domésticos en estado de descomposición, ya que al incrementarse la intensidad del olor, funcionan mejor como atrayentes.

Las semillas de maíz, trigo y avena son usadas para atraer aves granívoras; frutas en descomposición para aves y mamíferos frugívoros, y una mezcla de semillas, avena y de alguna sustancia pegajosa como la crema de cacahuete o fruta, para roedores.

### *Atrayentes olfativos*

Para coyotes, se han utilizado orina y secreciones de la glándula anal de coyote, aceite de pescado y glicerina como conservador, así como huevos, carne y aceite de pescado en descomposición. Aunque muchos carnívoros y mamíferos pequeños pueden ser atraídos por la orina, sangre y secreciones glandulares, otras especies pueden ser repelidas por éstos.

### *Señuelos y carnadas*

Se han empleado tanto animales vivos como modelos artificiales como atrayentes para la captura de animales. Para aves rapaces, se han utilizado trampas con aves o roedores como señuelos, encima de las cuales se colocan redes o varios lazos que sujetan los talones de las águilas o halcones cuando se acercan a la trampa. Para patos en épocas de reproducción, se han utilizado señuelos de hembras como atrayentes en trampas de embudo.

Asimismo, se han utilizado diferentes sonidos grabados en audiocasetes para atraer diferentes animales. Esta técnica se ha utilizado para capturar venados en corrales y redes.

#### *Disposición de las trampas en el área de estudio*

El arreglo de las trampas en los sitios de muestreo es un aspecto importante a considerar para la captura de los organismos, el cual dependerá de los objetivos del estudio y los métodos de estimación utilizados. Para realizar inventarios de especies, la ubicación de las trampas a lo largo de un transecto es la manera más fácil a utilizar.

Para obtener estimaciones de la densidad de los organismos, es recomendable colocar las trampas en disposición de retícula o circular. En el arreglo de retícula, el espacio entre ambas líneas de trampa es el mismo (10-15 m). Para el arreglo circular, las trampas son colocadas a la misma distancia en cada una de las líneas que salen del centro. La distancia entre trampas de diferentes líneas se incrementa conforme se alejan del centro del círculo.

#### **Técnicas de marcaje para aves y mamíferos**

Los estudios de aves y mamíferos frecuentemente requieren del marcaje de al menos algunos de los individuos en una población o comunidad. El objetivo del marcaje es facilitar la identificación de los organismos cuando éstos son recapturados u observados a distancia. Para llevar al cabo el marcaje, es importante considerar:

- 1) La distancia en la que son visibles las marcas;
- 2) la importancia de la identificación individual;
- 3) el tamaño, la forma y los hábitos de la especie a estudiar;
- 4) el número de animales que deben ser marcados;
- 5) el período en el cual la marca debe ser funcional;
- 6) el efecto de la marca en la sobrevivencia, conducta y reproducción del animal marcado;
- 7) los objetivos del estudio;
- 8) los resultados que se pueden obtener;
- 9) el presupuesto con que se cuenta;
- 10) ser creativo e ingenioso por sobre de todas las cosas.

Junto con los puntos anteriores, la aplicación apropiada de las marcas es esencial para obtener buenos resultados, ya que si éstas no se aplican correctamente pueden lastimar al animal, influir en su conducta, reproducción o sobrevivencia, o en el mejor de los casos que la marca se pierda y con esto resultados.

Existen tres tipos de marcas: a) Permanentes, b) Semipermanentes, y c) Temporales, las cuales deberán ser siempre seleccionadas considerando los puntos anteriores.

#### *Marcas Permanentes*

Los animales pueden ser marcados permanentemente con planchas candentes o congeladas, tatuajes, o modificación de la forma o longitud de una extremidad a través de escisiones, tales como ectomización de falanges y perforación de orejas o dígitos, utilizadas comúnmente para mamíferos pequeños.

#### *Marcas congeladas*

Consiste de marcas aplicadas con planchas de cobre congeladas con nitrógeno líquido, alcohol y hielo seco, las cuales destruyen los melanocitos y producen la pérdida de color de la piel, pelo o plumas, quedando una marca blanca. Las marcas pueden variar en el sitio de aplicación y patrón de impresión para facilitar la identificación individual. No es recomendable para especies con coloración clara, ya que dificultará la identificación en campo.

#### *Marcas con planchas candentes*

Son utilizadas generalmente para marcar ganado, y no son recomendables para la fauna silvestre por cuestiones de tratamiento ético.

#### *Tatuajes*

Para utilizar esta técnica, es necesario que el tatuaje sea adecuadamente realizado para su correcta y fácil identificación. Es utilizado tanto para aves como para mamíferos, pero más recomendable para los organismos con coloración clara. El sitio y patrón del tatuaje dependerá de la especie a marcar y de la facilidad para identificarla en campo. No es recomendable realizarlo en membranas alares o

uropatagiales de aves y murciélagos, ya que la regeneración de tejidos provoca la pérdida de la marca.

#### *Ectomización y Perforación de orejas y/o dígitos*

Esta técnica ha sido utilizada para marcar una gran variedad de aves y mamíferos, las cuales muchas de las veces se combinan con otras técnicas de marcaje. Sin embargo, la mayoría de estas técnicas están adaptadas para el marcaje de pequeños mamíferos. Se recomienda que se utilice un instrumento limpio y afilado para realizar el corte, e inmediatamente aplicar un antiséptico en la herida para prevenir infecciones.

Los animales pueden ser marcados para su identificación individual al variar el sitio del corte, por lo que la ectomización de falanges es más recomendable al tener más posibilidades de marcaje individual que la perforación de orejas, o en algunos casos pueden combinarse ambas técnicas para aumentar las posibilidades de identificación de cada individuo. La desventaja de esta técnica se debe a que pueden surgir confusiones con las cicatrices naturales de los animales. Sin embargo, constituye una técnica fácil de operar, eficaz y de bajo costo.

#### *Marcas Semipermanentes.*

Consisten de dispositivos que son fijados al animal para su identificación. Estos dispositivos de acuerdo a la forma, lugar y tipo de fijación, se pueden clasificar en: collares, etiquetas, luces beta, anillos y bandas.

#### *Collares*

Son adecuados para organismos que poseen cuello más delgado que la cabeza, lo que impide la pérdida de la marca. Este debe ser flexible, con la superficie interna lisa para evitar que el animal sea lastimado, y debe fijarse adecuadamente al cuello del animal. Los collares deben ajustarse al cuello del animal, ya que los collares muy apretados o poco ajustados pueden causar heridas al animal. No es recomendable para juveniles. Pueden ser de piel con cubierta de aluminio, en forma de cuentas de metal o plástico, o bien combinaciones de diferentes tipos de plástico. Para la identificación de diferentes individuos, pueden utilizarse diferentes colores, o bien colocar etiquetas con claves para cada individuo, o combinar esta técnica con radiotelemetría.

### *Etiquetas*

Varían en tamaño, forma, y materiales utilizados para su construcción. Pueden ser colocadas en collares, pero comúnmente se aplican directamente al cuerpo del animal, frecuentemente a las orejas, con pinzas diseñadas especialmente para esto. Pueden utilizarse diferentes colores, códigos, formas, y materiales de acuerdo a las especies a marcar. Es recomendable colocar a la vez más de una etiqueta, con el fin de asegurar la identificación del animal en caso de que una de éstas se pierda.

### *Luces beta*

Consiste de una cápsula de vidrio con cubierta de fósforo que contiene una cantidad pequeña de tritio gaseoso. Cuando las radiaciones beta del tritio reaccionan con el fósforo, éste produce luz visible. El uso de estas marcas es recomendable para organismos grandes, ya que las luces beta pequeñas (0.05 cm para organismos de 10 g) no producen la cantidad de luz requerida para la observación. La ventaja de estas marcas es el período de vida de hasta 15 años, requiriendo de collares especiales para su fijación.

### *Bandas*

Son marcas de aluminio o plástico, con diferentes colores, y en las que se pueden registrar datos de edad, identificación, lugar de marcaje, entre otros. El lugar de fijación varía de acuerdo a la especie a marcar, para las aves generalmente se colocan alrededor de las extremidades traseras con pinzas diseñadas para esto. Para el caso de mamíferos pueden ser colocadas en las extremidades posteriores, dígitos, o en las alas para los murciélagos.

### *Anillos*

Son utilizados comúnmente para el marcaje de algunas aves y murciélagos. Pueden ser de aluminio o plástico y de diferentes colores y materiales. En aves y algunos mamíferos pequeños son colocados en las extremidades posteriores, mientras que en murciélagos son colocados en las alas. Pueden utilizarse varios anillos a la vez, o combinarse con bandas u otro tipo de marcas.

### *Marcas Temporales*

Se incluyen aquellas que tienen una duración de menos de un año, como son productos químicos que gradualmente reducen su coloración o desaparecen, o dispositivos que poco después de ser ajustados al animal, los destruye o pierde.

#### Tintes, Pinturas y Polvos

Los tintes y las pinturas son utilizados para detectar o identificar al animal. Estos pueden ser aplicados con rociadores, dardos o pistolas de pintura. La posición y el color de la pintura o tinte puede variar para facilitar la identificación de individuos. Estas sustancias son aplicadas en el plumaje de las aves, y en embriones antes de eclosionar, en el pelaje y diferentes partes del cuerpo de mamíferos. Otra técnica es utilizar polvos fluorescentes que se aplican en el pelo del animal, sin embargo, sólo es aplicable para períodos cortos, y no es muy recomendable, ya que el polvo puede ser consumido al lamerse los animales, y puede ser carcinógeno o puede incluso interferir en la espermatogénesis, por las altas cantidades de zinc que contiene. Asimismo, para marcar crías recién nacidas que carecen de pelo o para estudios en los sitios de percha, pueden utilizarse pinturas fluorescentes no tóxicas por períodos cortos (días) o bandas de aluminio de color y numeradas. Es recomendable utilizar colores como rosa, naranja y amarillo.

### *Bandas reflexivas y marcas lumínicas*

Las cintas adhesivas de colores y las bandas reflexivas pueden ser aplicadas directamente sobre alguna parte del cuerpo, o a las bandas metálicas o de plástico para la identificación individual de los animales, el sexo o a las especies durante el desplazamiento en los sitios de alimentación, refugio y/o reproducción. Las cintas reflexivas permiten la visibilidad de las marcas con luces artificiales, con cámaras de video, o con intensificadores de imagen (binoculares de visión nocturna). Están disponibles en una gran variedad de colores, pero algunos colores son fácilmente confundidos a algunos metros de distancia. Los colores rojo, amarillo y blanco son los más fácil de distinguir con una lámpara de batería o con binoculares desde hasta 100 m.

Las marcas quimioluminiscentes son de las de menor costo. Pueden ser preparadas utilizando cialume, el cual consiste de un componente de fósforo gris-amarillento y un reactor con base de peróxido, los cuales se mezclan y producen

luz brillante. Los productos químicos pueden almacenarse en pequeños tubos flexibles y el peróxido en una cápsula dentro del tubo. Para utilizar las marcas, se agita el tubo y la reacción se inicia produciendo luz. Las marcas se fijan a la espalda del animal, para esto es preferible eliminar el pelo y pegarla directamente a la piel. La marca puede ser visible a una distancia de hasta 200 m, y mucho más largas distancias utilizando binoculares. Las marcas luminosas son útiles para delinear los hábitats de forrajeo y los rangos, los patrones de cacería, y las rutas de dispersión. Son ampliamente utilizadas en los estudios sobre ecolocación, y territorialidad para registrar las frecuencias de especies conocidas.

#### *Dispositivos de fijación al cuerpo*

Para la identificación temporal de animales, pueden utilizarse gallardetes y discos de colores colocados en diversas partes del cuerpo. En algunos mamíferos, los gallardetes de plástico de diferentes colores pueden ser adheridos a la oreja del animal con una etiqueta de metal. En las aves estos dispositivos pueden ser colocados en las extremidades posteriores, espalda, alas, dígitos y membranas digitales.

#### *Tatuajes en alas y perforaciones*

En muchas ocasiones el tatuaje o la perforación de marcas en alas de murciélagos se pierde al regenerarse la piel, por lo que solo se recomienda en estudios a corto plazo, o en la combinación con otras técnicas de marcaje.

### **Problemas relacionados con el marcaje**

Muchas de las técnicas descritas requieren que los organismos sean capturados, lo que involucra la inversión de esfuerzo humano y riesgo de ser lastimados, tanto los animales como los investigadores. Para minimizar lo anterior, es recomendable utilizar dispositivos de marcaje automático o a distancia. Las marcas naturales son útiles para la identificación de los individuos, principalmente cuando la captura y la colocación de marcas es difícil. Los individuos pueden ser identificados por las marcas o patrones de coloración del pelaje, cicatrices, cuernos, entre otras.

Si el marcaje es indispensable para lograr los objetivos del estudio, es necesario que el investigador considere los efectos que la recaptura pueda tener sobre el

animal, así como la permanencia de las marcas durante el período necesario, lo cual asegurará la obtención de los datos esperados, así como la inversión de mayor esfuerzo, tiempo y daño al animal.

## Referencias

- Aranda J. M. 1981. Rastros de los mamíferos silvestres de México. INIREB. Xalapa, Veracruz, México.
- Aranda J. M. 1992. Identificación e interpretación de rastros de mamíferos silvestres: curso intensivo. Instituto de Ecología A.C. Xalapa, México.
- Aranda J. M. y March I. 1987. Guía de los mamíferos silvestres de Chiapas. INIREB. Xalapa, Veracruz, México.
- Arita H. T. y Aranda J. M. 1987. Técnicas para el estudio y clasificación de los pelos. INIREB. Cuadernos de divulgación No. 32. Xalapa, Veracruz, México.
- Begon M. 1989. Ecología animal: modelos de cuantificación de poblaciones. Trillas. México.
- Bibby C. J., Burgess N.D. y Hill D. A. 1992. Bird census techniques. Academic Press. London, Inglaterra.
- Dashmann R. F. 1964. Wildlife biology. Methods for studying wildlife. John Wiley and Sons. London, Inglaterra.
- Davis D. E. y Winstead R. L. 1987. Estimación de tamaños de poblaciones de vida silvestre. In: Rodríguez-Tarrés, R. (Ed.). Manual de técnicas de gestión de vida silvestre. Versión en español. The Wildlife Society. EUA. Pp. 233-258.
- Day G. I., Schemnitz S. D. y Taber R. D. 1987. Captura y marcación de animales silvestres. In: Rodríguez-Tarrés, R. (Ed.). Manual de técnicas de gestión de vida silvestre. Versión en español. The Wildlife Society. EUA. Pp. 63-94.
- Downing R. L. 1987. Estadísticas vitales de poblaciones animales. In: Rodríguez-Tarrés, R. (Ed.). Manual de técnicas de gestión de vida silvestre. Versión en español. The Wildlife Society. EUA. Pp. 259-281.
- Eisenberg J. y Thorington R. 1973. A preliminary analysis of a neotropical mammal fauna. *Biotropica*, 5(3):150-161.
- Flores J. S. 1984. Algunas formas de caza y pesca usadas en Mesoamérica. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. Cuadernos de Divulgación, 16:1-41.
- Gannon W. L. y Foster M.S. 1996. Recording mammals calls. In: Wilson D.E. (Ed.) Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 311-326.
- Greenwood J. J. D. 1996. Basic techniques. In: Sutherland W. J. (Ed.). Ecological census techniques. A handbook. Cambridge University Press. Cambridge, Gran Bretaña. Pp. 11-110.
- Gibbons D. W., Hill, D.A. y Sutherland W. J. 1996. Birds. In: Sutherland W. J. (Ed.). Ecological census techniques. A handbook. Cambridge University Press. Cambridge, Gran Bretaña. Pp. 227-259.

- Glanz W. 1982. The terrestrial mammal fauna of Barro Colorado Island: censuses and long term changes. In: Leigh E. E. y Windsor D. (Eds.). *The ecology and tropical forest*. Smithsonian Institution Press, Washington DC, EUA. Pp. 455-468.
- Jones C., McShea W. J., Conroy, M. J. y Kunz T. H. 1996. Capturing mammals. In: Wilson D.E. (Ed.) *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals* Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 115-155.
- Kunz T. H., Thomas D. W., Richards G. C., Tidemann C. R., Pierson E. D. y Racey P.A. 1996. Observational techniques for bats. In: Wilson D.E. (Eds.) *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals* Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 105-104.
- Mandujano S. 1994. Conceptos generales del método de conteo de animales en transectos. *Ciencia*, 45:203-211.
- Mandujano S. y Gallina S. 1995. Comparison of deer censusing methods in tropical dry forest. *Wildlife Society Bulletin*, 23:180-186.
- Monsby H. S. 1987. Observaciones y registros. In: Rodríguez-Tarrés, R. (Ed.). *Manual de técnicas de gestión de vida silvestre. Versión en español*. The Wildlife Society. Pp. 45-56.
- Papavero N. y Vanzolini P. 1985. *Manual de recolección y preparación de animales*. UNAM. México.
- Rasanayagam R. y Foster M. S. 1996. Conducting a survey to assess Mammalian diversity. In: Wilson D.E. (Ed.) *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals* Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 71-79.
- Rasanayagan R. y Kunz T.H. 1996. Methods for marking mammals. In: Wilson D.E., (Ed.) *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals* Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 299-310.
- Rasanayagan R., Kunz T. H., Southwell C., Jarma P. y A.P. Smith. 1996. Observational techniques for non volant mammals. In: Wilson D.E., (Ed.) *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals* Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 81-104.
- Sanchez O. 1996. Una nueva técnica para capturar mamíferos pequeños sobre árboles, evitando daños forestales. *Vertebrata Mexicana*, 1: 17-23.
- Sutherland W.J. 1996. Mammals. In: Sutherland W. J. (Ed.). *Ecological census techniques. A handbook*. Cambridge University Press. Cambridge, Gran Bretaña. Pp. 260-280.
- Sutherland W.J. 1996. Why census? In: Sutherland W. J. (Ed.). *Ecological census techniques. A handbook*. Cambridge University Press. Cambridge, Gran Bretaña. Pp. 1-10.
- Voss R. y Emmons L. 1996. Mammalian diversity in neotropical lowland rainforests: a preliminary assessment. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 230:1-115.
- Wemmer C., Kunz T. H., Lundie-Jenkins G. y McShea W. J. 1996. Mammalian sign. In: Wilson D.E. (Ed.) *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals* Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 157-176.
- Wemmer C. 1996. Techniques for estimating abundance and species richness. In: Wilson D.E. (Ed.) *Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods of Mammals* Smithsonian Institution Press. London, Inglaterra. Pp. 177-234.

White G. C., Anderson D. R., Burnham K. P. y Otis D. L. 1982. Capture-recapture and removal methods for sampling closed populations. Los Alamos. New Mexico, EUA.

# 10

## FLORA Y VEGETACIÓN

José Salvador Flores y Javier Álvarez-Sánchez

### Introducción

La palabra flora, se deriva del latín flora, aludiendo a la diosa de las flores. En términos generales significa conjunto de plantas de un país cualquiera y, por extensión, de una porción de mar, de un lago, de un río etc., o de un depósito de agua como por ejemplo de las rosetas foliares de las bromeliáceas, agaváceas o commelináceas, de los intestinos del hombre o de los animales (flora intestinal), etc. También puede interpretarse como “la obra que trata de las plantas, las enumera, las describe o indica donde se crían, cuando florecen, si escasean o abundan, etc. Cuando no se describen las plantas es más correcto emplear otro término como catálogo, enumeración, lista o listado (Font Quer, 1965).

Cuando es empleada la palabra florístico o florística no siempre se refiere a la flora y si hablamos de un estudio florístico, la referencia es a una parte de la fitogeografía dedicada a los inventarios y a las entidades sistemáticas de un país, dando el área de cada una de ellas e indicaciones relativas a su hábitat, abundancia o escasez, época de floración (fenología), forma de vida y distribución espacial. Para ampliar la temática se recomienda consultar a Cain (1951), Cain y de Oliveira-Castro (1959), Cruz-Pérez (1964), Emmel (1975), Miranda (1978), Daubenmire (1979), Matteucci y Colma (1982), MacNaughton y Wolf (1984), López et al. (1985), Crawley (1986), Krebs (1989, 1993), Flores (1993), Flores y Espejel (1994), Begon et al. (1996) y Flores y Tun (1997).

Para conocer la flora de un lugar, necesariamente hay que estudiarla y en los métodos que se usan para lograr este objetivo, la toma de la muestra es fundamental; saberla realizar garantiza los resultados. A la forma de tomarla o la manera de obtención de la muestra es a lo que se le llama “técnica de muestreo”.

El muestreo puede ser para la toma de una muestra de vegetación acuática tal como la de un pozo, lago o mar, un río, un cenote o el límite de un cuerpo de agua, como la periferia de lagos y ríos. Este es un parámetro a considerar, pero pueden haber otros factores que deban tomarse en cuenta para lograr obtener una buena muestra, tales como son los recursos humanos y materiales con los que se cuenta y desde luego, el objetivo mismo del estudio. Así, si se dijera que “la muestra de agua del cenote X” la queremos a determinada profundidad, llevaría a pensar en la “técnica a emplear” o como se va a tomar, la cual sin lugar a dudas sería diferente a que se realizarla en la superficie.

En este trabajo se trata de dar las instrucciones para la toma de muestras para desarrollar un estudio de vegetación. En este sentido, se debe conocer con claridad el objeto de estudio y la descripción de las técnicas de muestreo apropiadas.

Con los estudios florísticos se pretende conocer el conjunto de plantas de un área específica (flora), la cual incluye poblaciones o incluso comunidades, por lo que deberán estar claros conceptos tales como fisonomía y estructura de la vegetación, así como las propiedades emergentes de una comunidad. Para lograr lo anterior se recomienda consultar las siguientes referencias: Rosales *et al.*, (1973), Flores y Rosales (1978), Rzedowski (1978), Daubenmire (1979), Moreno (1984), Sosa et al. (1985) y Krebs (1993).

### **Previo al muestreo**

Una vez definidos los objetivos del estudio, se deberá establecer la metodología que se empleará para darles cumplimiento, lo cual llevará a confirmar o negar la hipótesis planteada respecto a la investigación.

Primero hay que establecer el sitio que se va a muestrear, ya sea un bosque, una selva, una sabana, un seibadal (vegetación submarina), un terreno abandonado, vegetación riparia (en la orilla de río), una laguna, una ríada (laguna costera o ciénaga), etc. Para los tipos de vegetación en México se pueden consultar los trabajos de Miranda y Hernández X. (1963), Rzedowski (1978), Miranda (1978) y Flores y Espejel (1994). Es conveniente haber hecho recorridos y conocer el lugar de estudio, lo cual será muy importante para determinar que tipo de muestreo se empleará.

Teniendo claridad en la temática, en la hipótesis y en los objetivos, se define la metodología a emplear. Es conveniente ensayarla por si hay necesidad de hacer modificaciones.

En importante tener claro que datos se tomarán a los diferentes componentes florísticos. Los datos más necesarios se señalan en las fichas o etiquetas; una se

refiere a los estudios florísticos y la otra a los estudios etnobotánicos, es decir, con respecto al uso y manejo de las plantas de las comunidades. En dichas fichas quedan anotadas las características más importantes de las plantas. Los datos anotados en las fichas, deben estar respaldados y acompañados con muestras de las plantas estudiadas; dichas muestras le dan validez al estudio y deben ser depositadas en los herbarios (Flores y Tun Garrido, 1997).

El material y equipo convencional para realizar los muestreos incluye: libreta de campo, estacas, zapapicos, etiquetas colgantes, geoposicionador, machetes, bolsas de plástico, brújula, geoposicionador (GPS), sogas, cinta métrica larga y corta, alcohol, papel periódico, higrómetros, tijera de podar, formol, prensa de madera, termómetro, botas, glicerina, lupa, etiquetas de campo, botiquín, microscopio estereoscópico, cámara de vídeo, correa para amarrar, suero antiviperino, computadora con el software adecuado (si es posible), cámara fotográfica, lápiz graso.

Para el estudio de la flora en selvas se requiere como información de campo (Richards *et al.*, 1940 y Richards, 1957, modificado) la localización del sitio a estudiar, establecer el tamaño y naturaleza del área y datos físicos que caractericen el área.

*Localización del lugar a estudiar y preparación de las muestras.* Los datos más importantes a tomar son: nombre y localización del sitio, de ser posible con geoposicionador; nombre dado a la comunidad vegetal (especies dominantes o características); nombre popular o nativo de las plantas; orientación del lugar; identificación del material botánico y preparación de las muestras para herbario.

*Tamaño y naturaleza del área.* Se sugiere que no sea menor a 0.5 ha. Opcionalmente se puede considerar ampliarla siempre y cuando se cuente con los recursos necesarios para ello.

Datos físicos. Los datos mínimos son: altitud sobre el nivel del mar, exposición o la luz, si es un cerro, volcán, ladera, aguada, cenote ó rejollada, pendiente. Destacan por su importancia en la caracterización el obtener datos precisos del clima del área, del suelo y subsuelo, sobre el estado sucesional presente y otros factores importantes, como si existen evidencias de manejo agrícola previo. Todos estos datos son importantes para obtener la fisionomía.

### *Clima*

Es importante obtener los siguientes datos de las estaciones meteorológicas más cercanas, haciendo notar la distancia que hay entre la zona de estudio y dichas estaciones y si existe además algún factor fisiográfico que pueda provocar alguna diferencia de las condiciones climáticas entre los dos puntos; es recomendable

hacer climogramas. Los datos a tomar y graficar son: Temperatura media de los meses más caliente y más frío; máxima, mínima y absolutas registradas así como las temperaturas medias mensuales. Otro dato importante a considerar es la precipitación media de cada mes; duración del período o períodos secos, promedio de días consecutivos sin precipitación; vientos dominantes y vientos periódicos de importancia, su dirección y cualquier dato relacionado con esto, registrado en la misma localidad o en sus cercanías, tales como afectaciones por huracanes. Para lo relacionado con la toma y manejo de los datos climáticos es conveniente consultar a García (1973).

#### *Suelo y subsuelo*

Los datos del suelo son importantes en los estudios florísticos, los que deben tomarse son: Tipo o tipos de roca; estructura del suelo; describir la capa de humus; hojarasca superficial, naturaleza y profundidad; perfil del suelo, con medición de los horizontes distinguibles, así como color, textura (arena, arcilla, etc.) y profundidad de raíces. Si es posible hacer análisis físicos y químicos, debe registrarse claramente a la profundidad a que fueron tomadas las muestras. Los datos más importantes son: pH, capacidad de Intercambio cationico, densidad, materia orgánica, nitrógeno y potasio.

#### *Otros factores importantes*

Al igual que el clima y el suelo, en las caracterizaciones florísticas es importante establecer si el área ha sido cultivada alguna vez. Obtener datos acerca de dicho cultivo (permanente, de temporal o nómada; periodos de siembra y métodos) así como fechas de abandono son útiles para entender el estado actual de la vegetación. Es importante tomar cualquier dato sobre el uso y manejo que haya tenido la vegetación.

De la misma manera, algunos factores pueden ayudar a entender el estado actual de la vegetación. Incluimos aquí a todos aquellos eventos en que directamente la mano del hombre, de sus actividades o de organismos silvestres (principalmente fauna) han tenido que ver con el compartimiento florístico, como por ejemplo: tumba de árboles; actividades de pastoreo; presencia o ausencia de termitas y efectos en la vegetación; herbivoría y ramoneo de animales silvestres (insectos y otros organismos) y quemas, accidentales o inducidas y sus efectos en la flora, uso de insecticidas y herbicidas.

## **Sucesión**

Es el recambio de especies en el tiempo y el espacio, y como respuesta a factores de disturbio unas especies van siendo sustituidos por otras y marcan la estabilidad aparente o inestabilidad del bosque; observaciones del cambio de abundancia de especies dan inferencias al respecto. Este proceso es importante conocerlo en los estudios florísticos y el muestreo para cada etapa seral debe ser el apropiado.

Casi en su totalidad, las sucesiones secundarias resultan de las actividades del hombre y, en consecuencia, son las más comunes y fáciles de observar. Estas pueden estudiarse en suelos baldíos, a orillas de carreteras y en cultivos abandonados.

Las comunidades sucesionales de vegetación que siguen a la desaparición de la vegetación permanente en un área, varían de acuerdo con el clima, el suelo y el estado y causas de la destrucción de la vegetación original. Los suelos quemados o sometidos a tala, por lo general son colonizados inmediatamente por hierbas y gramíneas. Las etapas siguientes, de no intervenir el hombre, están en gran medida determinadas por el clima del área. Asimismo, en los campos agrícolas abandonados, la repoblación se inicia con una etapa de plantas anuales, pasando luego por etapas dominadas por malas hierbas perennes hasta que se establece la vegetación permanente. En el trópico y en México estos estudios son de gran interés debido a que cada día se destruye las selvas y bosques.

El estudio de sucesiones secundarias en campos agrícolas es de interés para el agrónomo y para el biólogo, ya que las etapas o especies dominantes en un momento dado indican condiciones del suelo, grado de fertilidad, tratamientos previos y número de años bajo cultivo o abandonados.

Como práctica de campo se puede estudiar la repoblación de terrenos desnudados. Las parcelas de estudio pueden ser desnudadas de diferentes maneras (quema, remoción, etc.). Éstas deben ser permanentes, bien delimitadas y protegidas, de manera que la sucesión vegetal pueda observarse y estudiarse por varios ciclos después de aplicado el tratamiento.

## **Composición florística**

La fidelidad de los nombres establecidos por comparación puede variar considerablemente. Así: a) puede ser que la especie no haya sido colectada por el observador y la identificación se ha basado únicamente en el nombre común, el nombre científico se obtuvo de listas de sinonimias en las que el nombre científico se le ha dado a una especie colectada a gran distancia de la zona que se trate; b) la especie pudo haber sido colectada en la misma localidad pero no en el mismo

sitio de muestreo; c) la especie fue colectada en el mismo sitio de muestreo. Es obvio que el valor de la comparación del ejemplar colectado con el de la sinonimia aumenta la fidelidad.

Con el material colectado e identificado debe elaborarse una lista de todas las especies, ya sea que se conozcan o no sus nombres; cada estrato debe ser enlistado por separado. Cuando haya ciertas especies que el investigador no pueda identificar, debe hacerlo notar así. Algunos autores recomiendan para estudios “detallados”, la realización de diagramas de vegetación en una franja de unos 5 x 20 m.

## **Vegetación**

### *Estructura y composición*

La vegetación debe ser caracterizada por su fisionomía, cuyo estudio a la vez es indispensable para la comprensión de su naturaleza y distribución. Es la estructura y composición de una comunidad vegetal lo que debemos conocer y registrar en las muestras como una base segura de datos florísticos. Se debe distinguir la estructura tanto en el sentido vertical (estratificación) como en el horizontal (espaciación). Los puntos a registrar son los siguientes:

- a) Doseles abiertos o cerrados: si son abiertos, la amplitud aproximada de los espacios o el porcentaje aproximado de áreas sombreadas o no sombreadas; es útil tener también datos de las especies dominantes en los parches donde se observe alguna etapa seral.
- b) Espaciamiento uniforme o irregular de los árboles: distancias entre troncos; diámetro de los troncos de las especies aparentemente maduras.
- c) Descripción general de la estratificación: cuántos estratos se pueden distinguir claramente. Enumérelos.

Se pueden usar los siguientes estratos:

- a) Estrato de árboles emergentes-discontinuo;
- b) Estrato de árboles dominantes (un estrato continuo sólo puede ser formado por un estrato de árboles bajos);
- c) estrato o estratos subordinados;
- d) estrato arbustivo;
- e) estrato rasante,
- f) hierbas grandes, helechos y arbustos pequeños; e”) helechos pequeños, selaginelas y hierbas;

- g) estrato rasante (musgos). Todos o algunos de estos estratos pueden no estar presentes en alguna asociación pero nunca el estrato dominante (en bosques cerrados).

Existen varias recomendaciones pertinentes. Realizar una descripción separada de cada estrato bien definido, con el rango de altura de su follaje sobre el terreno. Cuando no existan estratos distintos, es conveniente llevar a cabo una descripción general de la estructura en el sentido vertical con los rangos de altura de los componentes. Anotar si se observan asociaciones, es decir, agregaciones locales de individuos de especies observados en cualquier estrato. Anotar si hay lianas y la altura a la que ascienden; epífitas: presencia y frecuencia, distribución en altura y distancia a la que descienden.

#### *Descripción de la vegetación*

La vegetación puede caracterizarse de acuerdo a su fisonomía o por las especies que la componen (florística) (Rzedowski, 1978). Los métodos fisonómicos o estructurales pueden hacerse sin identificación de especies y con frecuencia se consideran más importantes en estudios a pequeña escala que pueden ser representativos de grandes extensiones (Matteucci y Colma, 1982). Por el contrario, los métodos basados en la florística son muy útiles cuando se utilizan en estudios globales o en áreas pequeñas, o en estudios detallados de naturaleza botánica; los fitosociólogos europeos generalmente los utilizan en estudios de grandes extensiones (Matteucci y Colma, 1982).

#### *Medidas basadas en la fisonomía*

La fisonomía se refiere a la apariencia externa de la vegetación en cuanto a altura, color, exuberancia, forma y tamaño de las hojas (golpe de vista de la vegetación). Estos atributos tienden a ser el resultado de la combinación de caracteres funcionales y estructurales. Los primeros juegan un papel adaptativo para la sobrevivencia, como el hábito perennifolio o deciduo. Los segundos se refieren al arreglo vertical u horizontal de las plantas, como por ejemplo el espaciamiento entre individuos. Los caracteres fisonómicos son difíciles de aislar, ya que por ejemplo el tamaño de las hojas puede ser una adaptación funcional a ciertas condiciones climáticas, o producto de la edad del individuo, o bien un resultado del sombreado cuando la planta está en el sotobosque. Existen tres grandes grupos de medidas basadas en la fisonomía:

## Formas de vida

Existen al menos dos clasificaciones distintas, una que llamaremos general y la de Raunkiaer.

*Clasificación general.* Las formas biológicas o de crecimiento se refiere a la forma general de la planta, su tamaño y la forma en que está distribuido en general el tejido leñoso. Las formas más reconocidas son: Árboles (T); arbustos, arbustos escandentes (A); hierba (erectas, bejucos o enredaderas, trepadoras, rastreras) (11); vegetales muscinales (M); plantas epífitas (E); lianas (l) y palmas (P) (las letras y números son formas de representarlas, éstas pueden variar).

*Clasificación de Raunkiaer.* Se basa esencialmente en dos características fisonómicas de la vegetación, la posición de las partes regeneradoras de las plantas y el tamaño de las hojas. El sistema se ha utilizado para comparar las formas de vida características de diferentes regiones del mundo y también para demostrar cambios progresivos en la vegetación tanto con respecto a la altura como a la latitud. Las formas de vida de Raunkiaer (1934, en Crawley 1986) son:

- **Fanerófitos (P):** Con yemas muy altas y expuestas a los cambios del clima según la altura del suelo que alcancen, se pueden dividir en: Megafanerófitos (Pg) más de 25 m; Mesofanerófitos (Pm) de 10-25 m; microfanerófitos (Pp) de 2-10 m; minofanerófitos (Pn) de 0.5-2.00 m; fanerófitos trepadores (Ps).
- **Camefitos (Ch):** Plantas herbáceas o leñosas bajas, con las yemas cercanas al suelo.
- **Hemicriptófitos (H):** Plantas de rápido crecimiento en épocas favorables al final de las cuales la parte aérea muere hasta el nivel del suelo y ahí se localizan las yemas vegetativas.
- **Geófitos (G):** Las yemas vegetativas en este tipo de plantas se encuentran bajo el nivel del suelo.
- **Terófitos (Th):** Plantas anuales cuyas semillas germinan sólo en épocas favorables para el crecimiento vegetativo y reproductivo.
- **Epífitos (E):** Especies vegetales que crecen sobre otras plantas.
- **Plantas de tallos suculentos (S):** Este tipo de plantas se incluye a veces en los fanerófitos o en los cameófitos.
- **Hidrófitos (HH):** Plantas acuáticas, consideradas por muchos autores como geófitos, sin embargo algunas de estas especies son más similares a hemicriptófitos o terófitos.

Raunkiaer aplicó este sistema a la vegetación de diferentes regiones del mundo y encontró que en las regiones tropicales cálidas húmedas hay una predominancia de fanerófitos; en las zonas secas de terófitos y en las templadas húmedas de hemicriptófitos. A este rango de formas de vida los denominó espectro biológico. Además, Raunkiaer determinó la forma de vida de 1000 especies escogidas al azar y sugirió que este espectro normal se tomara como patrón de comparación.

#### *Formas y valores para designar el patrón de Raunkiaer.*

Este patrón normal se compone de los siguientes valores:

P...46 Ch...9 H...26 G...6 y Th...13. El índice de discrepancia de este patrón normal indica las áreas climáticas fanerofíticas, hemicriptofíticas, camefíticas y terofíticas que se pueden encontrar en las diferentes áreas.

#### *Tamaño de las hojas*

Raunkiaer utiliza, en combinación con su sistema de formas de vida, una clasificación del tamaño de las hojas con una división en las 6 categorías siguientes: 1) Leptófilo de 25 mm<sup>2</sup>, 2) Nenófilo 225 mm<sup>2</sup>, 3) Micrófilo 2,025 mm<sup>2</sup>, 4) Mesófilo 18,222 mm<sup>2</sup>, 5) Macrófilo 164,025 mm<sup>2</sup>, 6) Megáfilo más de 5 mm<sup>2</sup>. Antes de asignar las hojas a estas categorías de tamaño se dividen en caduca o perennes, simples o compuestas; tanto estas divisiones como las de tamaño se expresan en valores porcentuales.

#### *Periodicidad*

Se refiere a las fases de crecimiento de la vegetación o de cada una de las especies, lo cual es más obvio en climas con un componente estacional. Se puede registrar el carácter perennifolio o decíduo, las fases vegetativas o de floración. Un ejemplo de este caso es el de la Península de Yucatán en donde debido a la estación seca (Noviembre-Abril) la vegetación pierde las hojas.

Actualmente se utiliza mucho la construcción de diagramas fenológicos. La fenología (Begon *et al.*, 1996) se refiere a los cambios que sufren estructuras de la planta a lo largo de su ciclo de vida hasta perderse por muerte natural, como lo son el caso de las hojas, flores y frutos. Una forma de hacerlo, es asignando por árbol, y a su vez un promedio por especie, del porcentaje de hojas, flores y frutos que están en estado joven, maduro o senil. Estas observaciones se hacen periódicamente.

amente, y se construye un fenograma colocando en el eje de las abscisas el tiempo (ó la época del año), y en el de las ordenadas el porcentaje respectivo.

### *Estratificación*

Es la disposición vertical en que se encuentran las plantas (Begon *et al.*, 1996). Su representación visual nos permitirá elaborar un diagrama que se conoce como perfil de la vegetación o diagramas de perfil (Matteucci y Colma, 1982). Para ello se representa un rectángulo del bosque dibujando a escala las plantas que se encuentran dentro de él. De ésta forma, se toman los parámetros más importantes de todos los árboles que se observan dentro del rectángulo: diámetro del tronco, altura del árbol (con un clisímetro), altura del fuste hasta la primera ramificación, límite inferior de la copa y diámetro de la copa. Es una representación a escala.

Otro tipo de perfil de la vegetación es el propuesto por Montoya-Maquín *et al.* (1971). En este caso se le asignan símbolos a cada categoría fisonómica estructural. El perfil de la vegetación es representado por éstos símbolos en una gráfica, en la cual la altura se grafica en el eje de las ordenadas. Las categorías y símbolos empleados en los Danserogramas pueden consultarse en Matteucci y Colma (1982).

Una variante son los diagramas estructurales, que son gráficas de barras que reflejan la estratificación de las comunidades. En el eje de las ordenadas se grafica la altura de las especies y en el eje de las x la respectiva cobertura (en porcentaje); las distintas categorías se identifican con letras (Matteucci y Colma 1982).

Los rangos de tamaños más usados son: 1= plantas hasta 0.1 m; (2) = plantas de 0.1 hasta 0.5 m; (3) = plantas de 0.5 hasta 2.0 m; (4) = plantas de 2.0 hasta 4.0 m; (5) = plantas de 4.0 hasta 7.0 m; (6) = plantas de 7.0 hasta 10.0 m y (7) = plantas de más de 10 m.

Es importante comentar que muchas veces en un estudio estructural se toma como criterio una medida mínima de DAP (Diámetro a la Altura del Pecho) del tronco de los árboles usualmente de 10 cm. Para el DAP lo que se hace es medir la circunferencia (el perímetro) y en tablas especiales se hace la conversión.

## **Medidas basadas en la florística**

### *Métodos destructivos*

Como su nombre lo dice, en éste caso se destruye a las plantas que se encuentran dentro de la unidad muestreada. La medida más común que se puede obtener es el

peso fresco (g) el cual puede variar con la humedad, por lo que es mejor determinar el peso seco después de secar la muestra en un horno por al menos 48 hs a 40 oC. No es deseable si se requieren muestras adicionales (por ejemplo en el caso de plantas anuales), si el área es de interés biológico o si cualquiera de las especies es rara o está en peligro de extinción. Las medidas más comunes son peso fresco (varía con la humedad) y peso seco.

### *Métodos no destructivos*

Incluye cinco métodos: de densidad, de cobertura, de frecuencia, área basal y de distancia.

1. El de densidad se refiere al número de individuos por unidad de área.
2. El de cobertura se refiere a la superficie (en m<sup>2</sup>) que cubre del suelo la copa de la planta. En general se mide un diámetro mayor y un diámetro menor en sentido perpendicular; el radio promedio se usa para calcular la superficie. La cobertura total de la especie será la suma de las coberturas de los individuos. La cobertura total de los individuos de una especie puede ser interrumpida (i) o continua (c). Se utilizan las siguientes categorías (en porcentaje de proyección de la copa en el estrato respectivo):  $i_1 = 0-20\%$ ;  $i_2 = 21-40\%$  e  $i_3 = 41-60\%$ . Cuando la cobertura es continua, se utilizan dos categorías (en porcentaje de proyección de la copa en el estrato respectivo):  $C_4 = 61-80\%$  y  $C_5 = 81-100\%$ .
3. El de frecuencia se refiere a si un individuo de una especie aparece en una unidad muestral; así, la medida se refiere a en cuántas de las unidades muestrales apareció al menos un individuo de la especie en cuestión, dividido entre el número de unidades muestrales totales. Es importante tomar la decisión si se considerará que el individuo pueda o no tener su raíz dentro de la unidad muestral:

$$f = \sum N_i / \sum nt$$

Donde:

f = Frecuencia

$\sum nt$  = Sumatoria del total de cuadrados muestreados.

$\sum n_i$  = Sumatoria del total de cuadrados que presenta la muestra.

Se puede medir a través de:

- i. Gradilla. Es un marco de madera en la que se colocan alambres que se deslizan verticalmente desde la parte superior hacia el piso. Se usa en vegetación herbácea.
- ii. Bastidor. Es un cuadro de madera o aluminio, generalmente de 1m x 1m. Se divide en cuadros de 10 cm x 10 cm con hilo nylon; se usa más para medidas en bancos de plántulas.
- iii. El uso de cuadros como unidades muestrales.
  4. El de área basal se refiere al área del tronco de la planta, o a la suma de las áreas de los tallos si es que la planta tiene varios. En general en el campo es más fácil medir el perímetro del tronco, por lo que el dato hay que transformarlo después a área.
  5. El de distancia. Propuestos por Clark y Evans (1954, en Krebs 1989). Existen las siguientes modalidades:
    - i. El vecino más cercano. En el área de estudio, se elige un individuo al azar, y se toman los datos de interés con su “vecino” que se encuentre más cerca.
    - ii. El individuo más cercano. La diferencia en éste caso es que se debe seleccionar un punto al azar, y se mide el individuo que este más cerca a éste punto.
    - iii. Pares al azar. Se coloca una cuerda en el campo, cuya longitud dependerá de la estructura de la comunidad, y se van muestreando alternadamente los individuos más cercanos a cada lado de la cuerda. En el siguiente apartado se describe con detalle este método.
    - iv. Cuadrantes. En el campo se pone con dos cuerdas un sistema de cuadrantes y en cada uno de los cuatro cuadrantes se selecciona al individuo que se encuentre más cerca del origen. En el siguiente apartado se describe con detalle este método.

### **Métodos de muestreo**

Ya sea que las medidas sean destructivas o no, se requiere de una unidad de muestreo, usualmente un cuadro. Cómo distribuirlos depende de la naturaleza del problema, la morfología de la especie, su patrón y el tiempo disponible para realizar el trabajo. Los cuadros pueden distribuirse por los siguientes métodos:

Representativo(*subjetivo o selectivo*). Se arreglan los cuadros subjetivamente en áreas representativas. En este caso es importante tener en mente consideraciones prácticas como por ejemplo el acceso al sitio.

Al azar. Los muestreos sean cuadros o transectos, se hacen al azar ya sea que se siga una orientación o no.

Regular o sistemático. Se sigue un esquema en el que se toman parámetros de medidas ya sea siguiendo una línea, o unidades muestrales seleccionadas de una manera sistemática.

Restringido al azar. *Es una combinación entre los métodos al azar y sistemático. El área se divide y en cada subdivisión se muestrea al azar. Demanda más tiempo porque hay que marcar el área.*

Transecto. El transecto o las secciones longitudinales de vegetación, consiste de una faja ininterrumpida de vegetación para tomar muestras y estudiar la composición florística donde existe mucha variabilidad en la vegetación como resultado de diferencias ambientales. El ancho del transecto se determina en base al tipo de vegetación; cuando ésta es predominantemente herbácea las secciones longitudinales pueden ser de 1 dm de ancho, mientras que en vegetación boscosa pueden ser hasta de 20 m de ancho.

Este método de análisis de vegetación es conveniente para realizar mapas de vegetación porque señalan claramente las transiciones entre comunidades o diferencias en la flora como resultado de diferencias en humedad, temperatura, altitud o de suelos.

Una modificación a este método consiste en dividir el transecto en parcelas a intervalos predeterminados, convirtiéndose en uno de cuadrículas. Los datos y los análisis en este método y su modificación se manejan en forma similar al método de las cuadrículas.

Estratificado. Se divide al campo de estudio en partes homogéneas y en cada uno se muestrea de acuerdo a su área. Por ejemplo, un mosaico de pastizal y matorral se divide en dos, y se muestrea cada uno por separado. Así, puede decirse que el reconocimiento de distintas comunidades es una forma de muestreo estratificado.

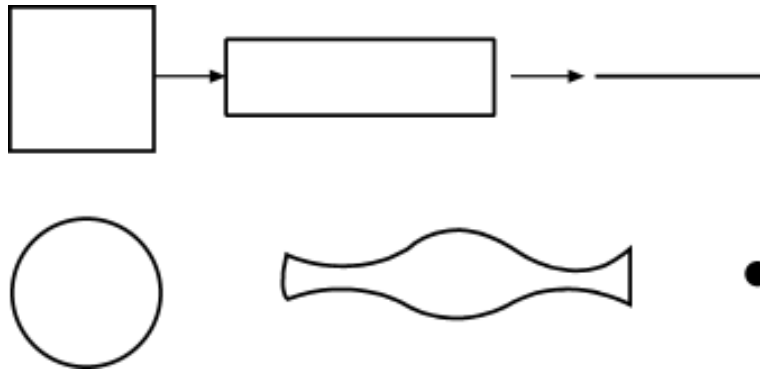
Número y tamaño de los cuadros. Entre los problemas más comunes que pueden presentarse con cualquier método de muestreo se encuentran:

- a. El número de cuadros que deben utilizarse. Una forma de decidir puede ser atendiendo dos recomendaciones: 1) Entre más cuadros sean, es mejor; y 2) Gráficar la varianza o la media acumulada de cada una de las variables medidas, con respecto al número de cuadros. El comportamiento de las curvas indicará si el número de cuadros es adecuado o se requiere incrementar.

- b. Tamaño del cuadro. En general se utiliza de 10 x 10 m para árboles, de 5 x 5 m para arbustos y de 1 x 1 m para herbáceas y plántulas.
- c. Forma del cuadro. Por tradición, son cuadrados, aunque en la práctica el término podría aplicarse para cualquier unidad de muestreo, sea circular o hexagonal, por ejemplo (Fig. 1).

Con respecto al tamaño y a la forma del cuadro, lo importante es que den la más alta precisión estadística para un área dada, y que ecológicamente ayuden a responder de la mejor manera la pregunta planteada (Krebs, 1989).

Figura 1



Unidades muestrales: cuadro y rectángulos, círculo (Patrones de referencia en muestreos).

- d. Área mínima. Se determina en función de la composición o de la frecuencia de especies. Según el método basado en la composición de especies, se elabora una gráfica poniendo como variable independiente (“x”) el área acumulada, y como variable dependiente (“y”) el número acumulado de especies. El área mínima a muestrear es la proyección sobre el eje de la parte de la curva donde ésta se estabiliza. En el método basado en la frecuencia de especies, el número de especies con más de 90% de frecuencia en cada tamaño de cuadro es referido como el número de constantes. Éste se grafica contra el tamaño del cuadro (como en el método anterior); el área mínima es aquella en la cual se presenta el número total de constantes.

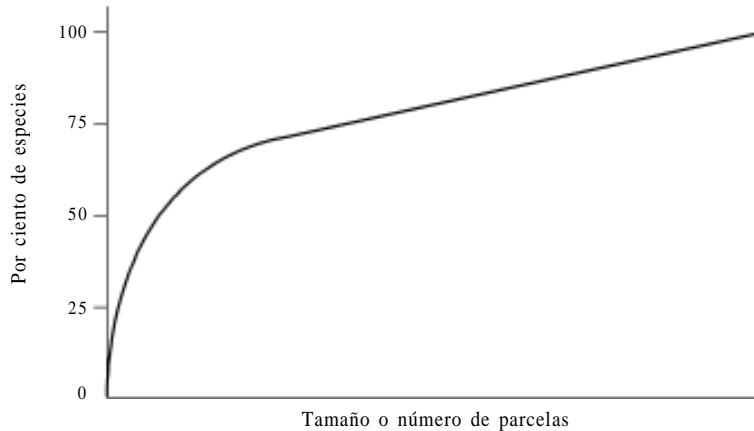
Muy raras veces la comunidad vegetal es homogénea, por lo tanto, es necesario tomar muestras de tamaño y número adecuados para incluir toda la variación florística, cuantitativa y cualitativa de la comunidad. Esto es, en el sentido de la vegetación siempre se confronta el problema de determinar qué tamaño y número de parcelas (cuadros) son necesarias para obtener una muestra representativa.

Sobre este particular se ha escrito mucho, sin embargo, el método que más se emplea para afrontar este problema es el de la relación especies-área, mejor conocida como la curva especies-área.

Se ha demostrado que el número de especies de una fracción de un rodal o comunidad está relación casi directamente con el tamaño de la misma. En consecuencia, al aumentar la superficie de muestreo aumenta el número de especies, de tal manera que la curva que relaciona esos valores se eleva rápidamente al principio, para luego hacerlo muy imperceptiblemente en forma casi horizontal, según se demuestra en la Fig. 2. Esta relación se ha utilizado para determinar el tamaño y número de las parcelas que proveerán muestras adecuadas.

Para determinar el tamaño apropiado de las cuadrículas. Cuando una serie de cuadrículas van a constituir una muestra, se recurre a un sistema de división de parcelas de cualquier tamaño para la obtención progresiva de datos sobre especies nuevas (Fig. 3). Sin embargo, para estimar el número mínimo de cuadrículas necesarias para obtener muestras adecuadas, se mantiene el tamaño de la parcela constante y se aumenta progresivamente el número de las mismas.

Figura 2

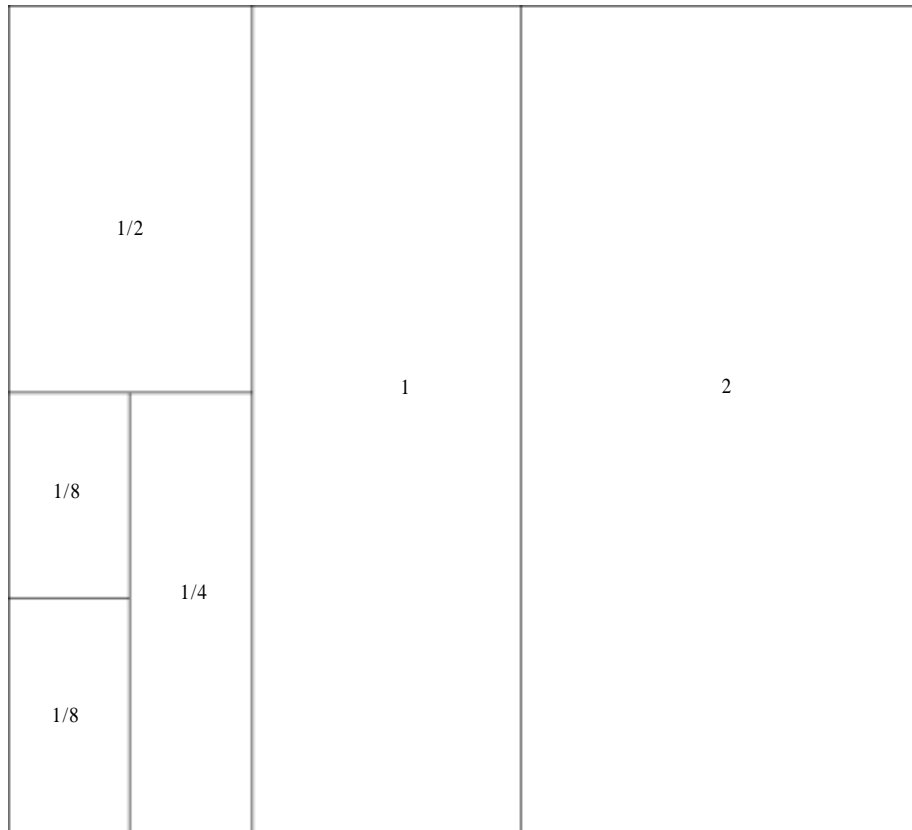


Representación gráfica de la relación especies-área realizada para determinar el número mínimo de cuadrículas necesarias para obtener una muestra representativa (Adaptado de Braun-Blanquet, 1950).

Por lo anterior, se prepara un listado de las especies registradas, determinando las especies nuevas que van apareciendo en los incrementos de área o número de parcelas y añadiéndolas a la lista original, pero manteniendo los datos separa-

dos. Con estos datos se dibuja la curva especies-área, llevando a los ejes de coordenadas el número de especies nuevas obtenidas en función del área sobre la que se tomó la muestra o del número de cuadrículas, según sea el caso (Figs. 4 y 5).

**Figura 3**



Sistema de división de parcelas de cualquier tamaño para la obtención progresiva de datos para determinar el tamaño más conveniente de cuadrícula mediante la relación especies-área (adaptado de Oosting, 1951).

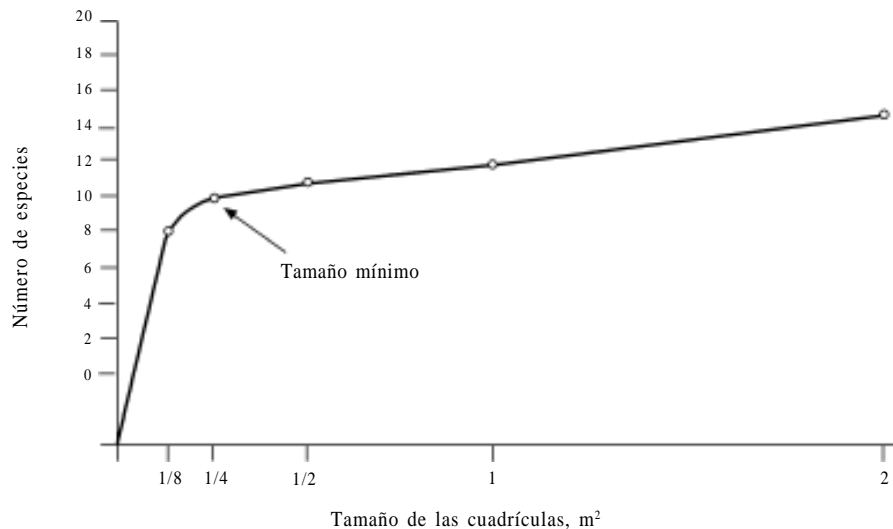
Para determinar el tamaño y número de cuadrículas, con base en la curva especies-área, se han sugerido los siguientes criterios o métodos:

Por inspección de la curva. El tamaño y número adecuado es el correspondiente al punto donde la curva se endereza notablemente, según se señala en la Fig. 4. La muestra se considera adecuada cuando un aumento de 10 por ciento en el área de muestra resulta en un aumento de 10 por ciento de las especies con respecto al número total de especies presentes.

Método mecánico. Coloque un triángulo recto de tal forma que uno de sus lados pase por el punto "O" y por el punto correspondiente al 10 por ciento del área y el 10 por ciento de las especies. Luego se corre hacia arriba a lo largo de una regla junto al otro cateto, hasta que el lado inferior sea tangente a la curva. El punto de tangencia representa la región en que se mantiene la relación del 10 por ciento. Si se desea mayor exactitud se puede colocar el punto en el 5 por ciento de aumento en las especies para un aumento de 10 por ciento en el área de la muestra (Fig. 5).

La combinación de estos métodos resulta útil para interpretar las curvas especies-área y seleccionar el tamaño y número más apropiado de cuadrículas para obtener muestras confiables.

Figura 4



Curva especies-área para determinar el tamaño mínimo de las cuadrículas.

### Métodos sin área

En el estudio analítico de la vegetación hay ocasiones en que no se puede aplicar el método de la cuadrícula para tomar muestras. Esto ha dado lugar al desarrollo de métodos que emplean distancia, en lugar de área, que también se conocen como métodos sin área (Matteucci y Colma, 1982). Entre estos métodos los más usados son: el de pares al azar y el de cuadrantes. En estos métodos se trata de evaluar el espacio o área ocupada por una planta en vez de su abundancia. El área

que ocupa un individuo se denomina área promedio y resulta ser el recíproco de la densidad.

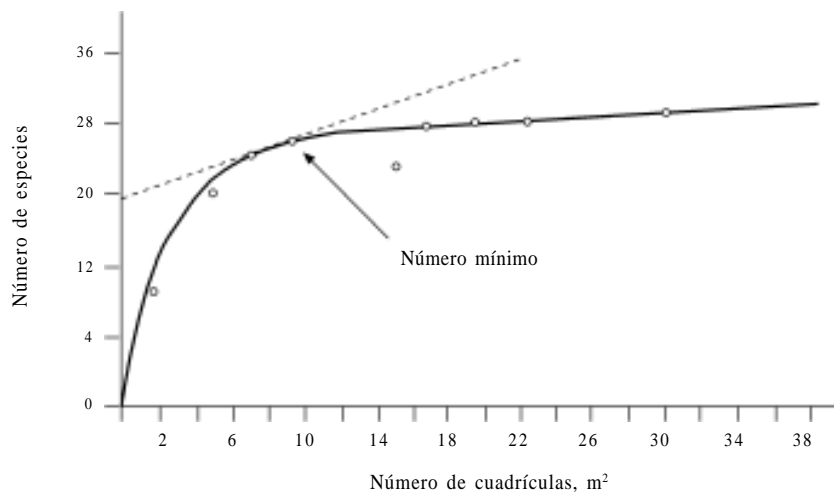
### Método de pares al azar

Este método se utiliza en vegetación boscosa y consiste en determinar una línea (recta o en zig-zag) en el área de estudio. Luego a lo largo de la línea se localizan una serie de puntos de muestreo a intervalos fijos, pero que garanticen que en cada punto se midan árboles diferentes. Una variante a este sistema es determinar los puntos de muestreo al azar.

En el primer punto de la línea se escoge el árbol más cercano al mismo (Arbol A), se identifica su especie y se determina su diámetro o circunferencia a la altura del pecho para calcular su área basal. El segundo árbol del par (Arbol B) será el más cercano al Arbol A, que se encuentre en el sector 180° opuesto al árbol A del otro lado de la cuerda (Fig. 6). Una vez determinado el segundo árbol del par, se identifica, se determina su área basal y se registra la distancia entre los árboles A y B. El mismo procedimiento se repite en los demás puntos de muestreo, que deben ser alrededor de 50.

Con los datos obtenidos se pueden calcular varias características de la vegetación aplicando las siguientes fórmulas:

Figura 5



Curva especies-área para determinar el número mínimo de cuadrículas.

Densidad relativa (abundancia) (A):

$$A = \frac{N}{T} \times 100$$

Donde:

N = Número de individuos de cada especie.

T = Total de individuos.

Frecuencia absoluta (F):

$$F = \frac{Po}{Npo} \times 100$$

Donde:

Po = Número de puntos de ocurrencia de la especie.

Npo = Número total de puntos.

Frecuencia relativa (Fr):

$$Fr = \frac{F}{\Sigma F} \times 100$$

Donde:

F = Frecuencia absoluta.

$\Sigma F$  = Sumatoria de las frecuencias de todas las especies.

Dominancia relativa (Dr):

$$Dr = \frac{Ae}{At} \times 100$$

Donde:

Ae = Área basal de cada especie.

At = Área basal del total de especies.

Distancia promedio (d):

$$d = \frac{D(0.8)}{\Sigma Dt}$$

Donde:

$\Sigma D$  = Sumatoria de todas las distancias.

(0.8) = Factor de corrección para poder obtener la raíz cuadrada de la distancia promedio.

Este factor se omite en el método de los cuadrantes.

Dt = Número total de distancias.

Area Promedio/Individuo (Ap):

$$Ap = (0.8 \infty d)^2$$

Donde:

d = Distancia promedio.

(0.8) = Factor de corrección.

Densidad (Número de Individuos por Ha) (DHa):

$$DHa = \frac{43,560 \times 2.5}{(0.8 \times d)^2}$$

Donde:

d = Distancia promedio.

(0.8) = Factor de corrección.

Índice de importancia (IP):

$$IP = A + Fr + Dr$$

Donde:  
 A = Densidad relativa.  
 Fr = Frecuencia relativa.  
 Dr = Dominancia relativa.

### **Método de los cuadrantes**

El método de los cuadrantes es una modificación más eficiente del método de pares al azar, que se utiliza en el estudio y análisis de vegetación boscosa. Consiste en seleccionar una serie de puntos de muestreo en el área de estudio, utilizando un procedimiento adecuado, que puede ser al azar o fijando los mismos en una línea a un intervalo fijo, pero que garantice que en cada punto se midan árboles diferentes. El área alrededor de cada punto se divide en cuatro cuadrantes orientados siguiendo los puntos cardinales. Dentro de cada cuadrante, el árbol más cerca del punto de muestreo se identifica botánicamente, se determina su área basal y se registra la distancia hasta el punto central de muestreo (Fig. 7). Los datos de los cuatro árboles de cada punto de muestreo se registran en formularios preparados al efecto. El mismo procedimiento se repite en los demás puntos, hasta completar por lo menos 40.

### **Método de la intercepción lineal**

Una variante al transecto es el método del transecto lineal o de la intercepción lineal; algunos autores la refieren como Línea de Canfield. Este se emplea frecuentemente para determinar la cobertura y otras características cuantitativas en vegetación baja y compacta, como en pastizales y chaparrales. Este método consiste en trazar en el área de estudio una serie de líneas paralelas rectas a intervalos constantes. Luego con una cinta métrica colocada sobre cada línea se determina la longitud que cubre cada una de las especies que se encuentran directamente debajo de la cinta. La longitud total de todas las líneas se toma como 100 por ciento para calcular la cobertura de cada especie. Además de la cobertura se puede calcular la abundancia numérica y la frecuencia de las especies en el área de estudio, así como el área despoblada.

Para calcular la Cobertura y la Frecuencia se aplican las siguientes fórmulas:

Cobertura (C):

$$C = \frac{L}{L_t} \times 100$$

Donde:

L = Longitud interceptada por especie.

L<sub>t</sub> = Longitud total de las líneas.

Frecuencia (F):

$$F = \frac{N_i}{N_t} \times 100$$

Donde:

N<sub>i</sub> = Número de veces que la especie es interceptada.

N<sub>t</sub> = Total de especies interceptadas.

Con los datos de este método se pueden preparar vistas laterales mostrando la vegetación en o a los lados de la línea, señalando su posición, cobertura, área basal y área despoblada, según se muestra en la figura 8.

#### *El coeficiente de comunidad*

En muchas ocasiones es necesario establecer comparaciones entre varios rodales o comunidades. Con este fin se han utilizado índices o coeficientes de vegetación, los cuales expresan matemáticamente las similitudes entre comunidades o rodales y las especies que las componen. Entre esas expresiones matemáticas la más conocida es el coeficiente de comunidad.

Para calcular dicho coeficiente se acostumbra preparar un listado de las especies presentes en los rodales o comunidades que se desean comparar y se distribuyen en una tabla de tres columnas. En la primera columna se señalan las especies del rodal o comunidad A, en la segunda las especies comunes a ambos rodales o comunidades (A y B) y en la tercera del rodal o comunidad B. Una forma sencilla de calcular el coeficiente de comunidad, es expresando en porcentaje el número de especies comunes a ambos rodales o comunidades con respecto al número total de especies. Sin embargo, desde el punto de vista analítico-comparativo, resulta más conveniente comparar las comunidades con base a sus características cuantitativas como frecuencia absoluta, frecuencia relativa, dominancia, etc. En este caso la similitud entre dos rodales o comunidades se establece no considerando su composición florística, sino mas bien por la relación de porcentajes comunes con los porcentajes totales de las características cuantitativas de la vegetación. Conforme al arreglo antes mencionado e incorporando la comparación que considera los parámetros de vegetación, Gleason y Cook (1927) sugiere la siguiente fórmula para calcular el coeficiente de comunidad:

$$CC = \frac{c}{a+b+c} \times 100$$

Figura 6

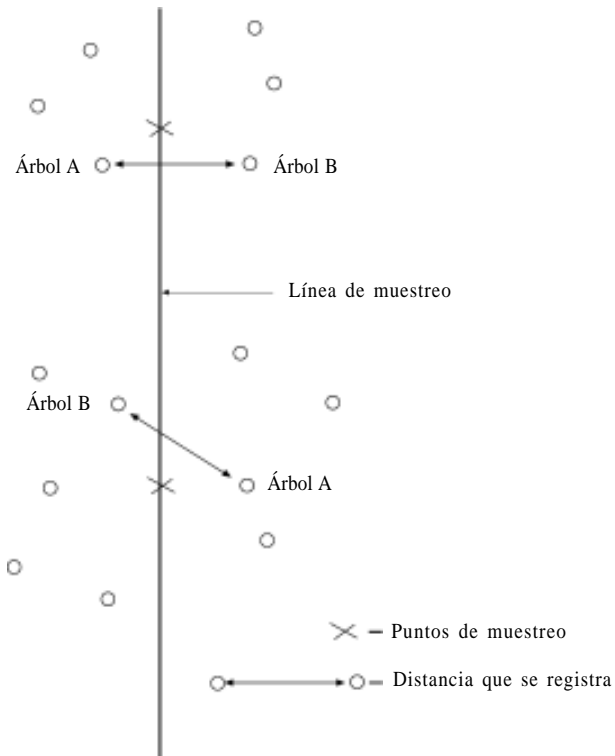


Diagrama mostrando la forma de muestreo con el método de pares al azar

Donde  $c$ , es la mitad del total de los valores en la segunda columna, y  $a$  y  $b$  son las sumas respectivas de los valores en la primera y tercera columna.

Oosting (1951) propuso otra manera de calcular el coeficiente de comunidad, mediante la siguiente fórmula:

$$CC = \frac{2w}{A+B} \times 100$$

En esta fórmula,  $w$  es la suma del par de valores porcentuales más bajos de las características cuantitativas bajo consideración de las especies comunes a ambas comunidades. Este valor se multiplica por dos para representar la medida en que las dos comunidades participan o contribuyen a la característica;

Figura 7

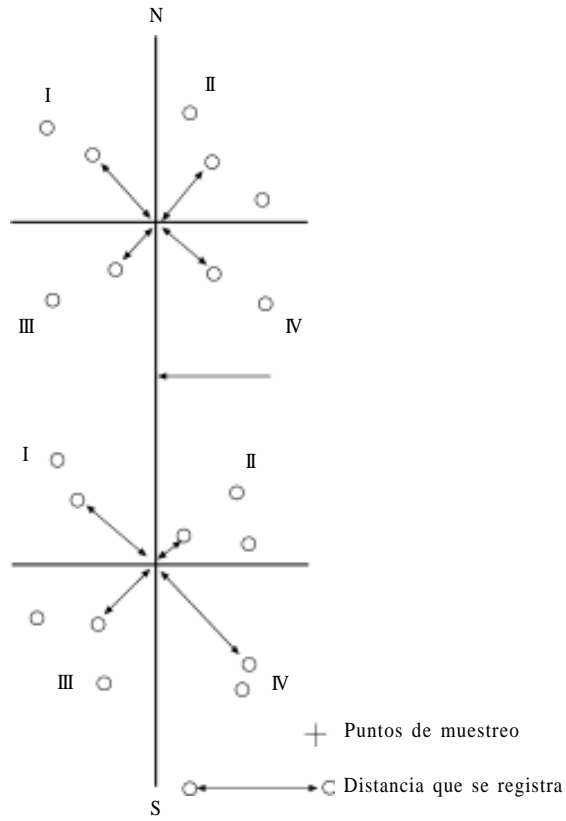


Diagrama mostrando la forma de muestreo con el Método de los Cuadrantes

A y B representan la suma de todos los valores porcentuales de las especies presentes en las dos comunidades.

Al aplicar estas fórmulas mientras más alto es el valor obtenido, mayor es el grado de similitud entre los rodales o comunidades. Por lo tanto, el coeficiente de comunidad provee una base para establecer diferencias o similitudes entre dos o más comunidades.

## Referencias

- Braun-Blanquet J. 1950. Sociología vegetal. ACME AGENCY. Buenos Aires, Argentina.
- Begon M., Harper J. L. y Townsend C. R. 1996. Ecology: Individuals, Populations, Communities. Blackwell Science, EUA.
- Cain A. S. 1951. Fundamentos de fitogeografía. ACME AGENS. Buenos Aires, Argentina.
- Cain S. A. y de Oliveira-Castro G. M. 1959. Manual of vegetation analysis. Harper and Brothers Pub., New York, EUA.
- Crawley M. 1986. Plant Ecology. Blackwell Scientific Pub., EUA.
- Cruz-Peréz L. M. 1964. Manual de Laboratorio de Ecología Vegetal. Universidad de El Salvador. El Salvador, San Salvador. S.S. El Saly., C.A.
- Daubenmire R. F. 1979. Ecología Vegetal. Tratado de autoecología de plantas. Limusa. México, D.F. México.
- Emmel T. C. 1975. Ecología y biología de las poblaciones. Interciencia Mc. Graw-Hill, México.
- Flores J. S. 1993. La Vegetación Insular de la Península de Yucatán. Fasc. No. 2. Etnoflora Yucatanense. FMVZ-UADY. Yucatán, México.
- Flores J. S. y Rosales V. M. 1978. Curso fundamental de ecología. Proyectos OMEGA, S. S. El Salvador, C.A.
- Flores J. S. y Espejel I. 1994. La Vegetación de la Península de Yucatán. Fasc. No. 4. Etnoflora Yucatanense. FMVZ-UADY. Yucatán, México.
- Flores J. S. y Tun Garrido J. 1997. Manual para Herbario. Etnoflora Yucatanense. FMVZ-UADY. Yucatán, México.
- Font Quer P. 1965. Diccionario de Botánica. LIMUSA, México.
- García E. 1973. Modificación al sistema de clasificación climática de Kooppen (para adaptarlo a la República Mexicana). México, Instituto de Geografía, UNAM.
- Gleason H. A. y Cook M. L. 1927. Plan ecology of Puerto Rico. Scientific surv. Of Puerto Rico and the Virgin Islands. Vol. 7, New York Acad. Sci., 96 pp.
- Krebs Ch. J. 1989. Ecological Methodology. Harper & Row Publishers, Inc. EUA.
- Krebs Ch. J. 1993. Ecología estudios de la distribución y la abundancia. Harla, México.
- López J. F., Cruz A. G., Rocha R. A., Navarrete S. A., Flores M. G., Kato E., Sánchez C. S., Abarca A. L. G., Bedía S. C. M. y Winfield A. I. 1985. Manual de ecología. Trillas, México.
- Matteucci S. y Colma A. 1982. Metodología para el estudio de la vegetación. OEA. Washington, DC. EUA.
- MacNaughton S. J. y Wolf L. L. 1984. Ecología general. Omega, España.
- Miranda M. y Hernández Xolocotzy E. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. Bol. Soc. Bot. México, 28:29-179.
- Miranda F. 1978. Vegetación de la Península de Yucatán. Rasgos fisiográficos. Colegio de posgraduados, Chapingo, México.
- Montoya-Maquín J. M., García J. B. e Icaza J. G. 1971. Método para la zonificación ecológica del frijol en Centro América. XVII Reunión Anual, PCCMCA, ROCAP.

- Moreno N. P. 1984. Glosario botánico ilustrado. CECSA, México.
- Oosting H. J. 1951. Ecología vegetal. Aguilar, Madrid.
- Richards P.W., Tansley A.G. y Walt A.S. 1940. The recording of structure, life form and flora of tropical forest communities as a basis for their classification. *J. Ecol.*, 28:224-239.
- Richards P. W. 1957. *The Tropical Rain Forest*. University Press, Cambridge, Gran Bretaña.
- Rosales V., Flores J. S. y Vilanova R. 1973. Guía para estudios de vegetación y suelos. Edit. Universitaria, Universidad de El Salvador, C.A.