

6. MÉTODOS Y TÉCNICAS

6.1 Área de estudio. El trabajo de campo se desarrolló en la Reserva de la Biosfera Sierra de Huautla (RBSH) y sus alrededores. Esta zona se encuentra ubicada al sur del Estado de Morelos, en los municipios de Amacuzac, Puente de Ixtla, Jojutla, Tlaquiltenango y Tepalcingo. Los principales poblados dentro de la reserva son Huautla, Huaxtla, Rancho Viejo, Xantiopan, Axuchitlán, El Limón, Huixastla, Pueblo Viejo, Xochipala, Coaxintlán, El Salto y El Zapote. La RBSH, colinda con el estado de Guerrero al oeste y suroeste, y con Puebla al este y sureste (Figura 1). Tiene una superficie de 59,100 hectáreas y un rango altitudinal que va de los 700 a los 2,200 msnm (Dorado y de la Maza, 1998). Esta zona se encuentra alterada en varios sitios por la apertura de áreas al cultivo, al pastoreo y la extracción de madera (Sánchez y Romero, 1995).

La vegetación dominante es de selva baja caducifolia (SBC; Miranda y Hernández, 1963) más del 90% de la zona está cubierta por este tipo de vegetación en diferentes grados de perturbación. Además hay algunas áreas con selva mediana subcaducifolia, encinares y una manchón pequeño de pinos (Dorado et al., en prensa). La SBC se caracteriza por una marcada estacionalidad climática, en la que la lluvia se concentra en cinco meses del año y esto ocasiona una fenología contrastante que se distingue porque casi todas sus especies pierden las hojas durante la época seca. Los árboles son en general de tamaño corto, de cuatro a 15 m de alto (Pérez et al., 1992). En la RBSH se han registrado más de 900 especies de plantas vasculares, incluidas en más de 400 géneros y 130 familias, siendo las más abundantes

Fabaceae, Poaceae, Asteraceae y Burseraceae. La fauna registrada hasta ahora incluye más de 350 especies de vertebrados y cerca de 1,000 especies de insectos (Dorado et al., en prensa).

De acuerdo con el INEGI (1981), los tipos de suelo dominantes en el área de la reserva son: feozem háplico, regosol éutrico y en los cuerpos montañosos se encuentran litosoles. Estos tres tipos de suelos presentan severas limitantes para la producción agrícola (Dorado y De La Maza, 1998).

El clima en general es Awo"(w) (i')g, que corresponde a un clima cálido subhúmedo, el más seco de los subhúmedos, con régimen de lluvias de verano y canícula; la oscilación de las temperaturas medias mensuales es entre 7° y 14° C y la marcha de la temperatura es tipo Ganges, es decir el mes más caliente del año es anterior a junio (García, 1981).

La precipitación es de aproximadamente 900 mm anuales y se manifiesta durante el verano, entre junio y principios de octubre. Los máximos picos de precipitación se presentan durante julio y septiembre, pudiendo haber una baja o ausencia de precipitación durante el mes de agosto, conocida como canícula.

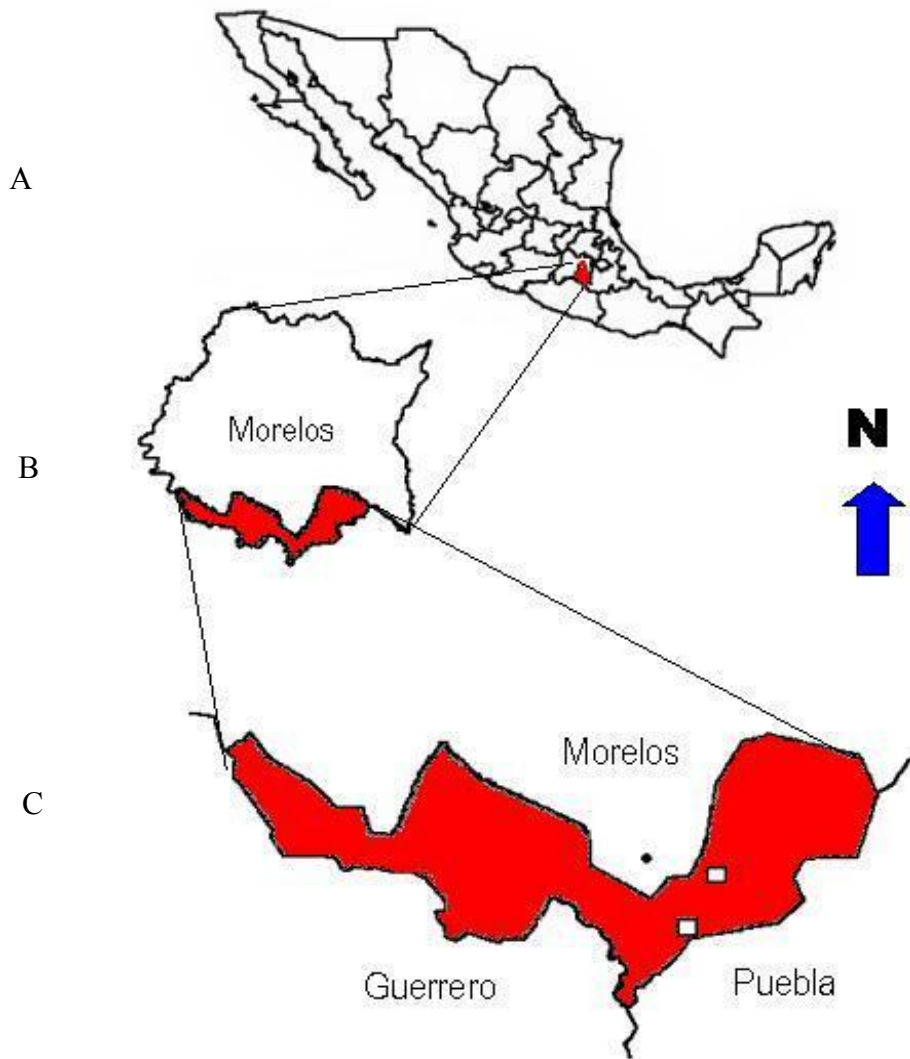
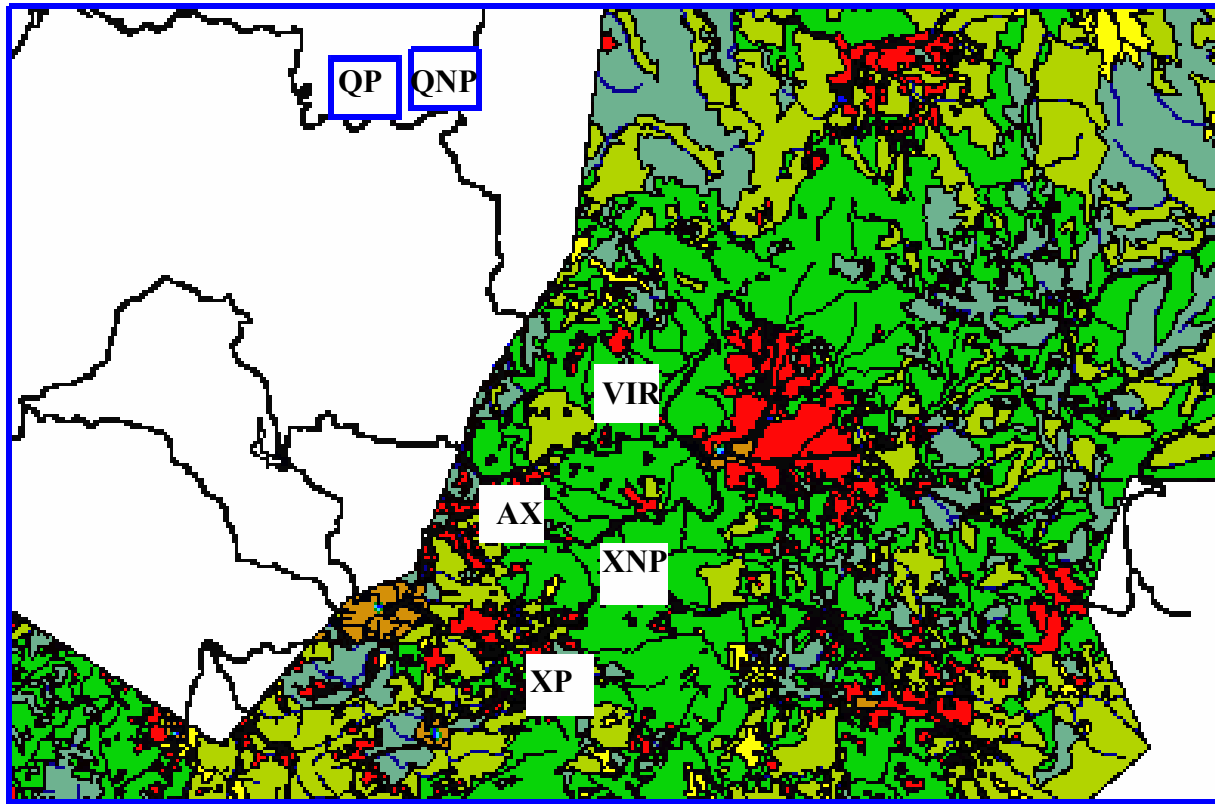
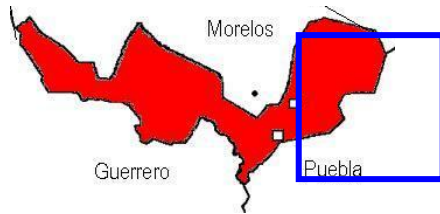


Figura 1. Localización geográfica del área de estudio. A) Ubicación en el país; B) En el Estado y C) Límites del polígono que conforma la Reserva.

Los sitios específicos de trampeo están ubicados en la región Este del polígono de la reserva, teniendo a dos de ellos fuera de los límites de la misma, cerca del poblado de Quilamula (Figura 2).



Sitios de estudio.

Coordenadas (UTM)	AX	XP	QP	VIR	XNP	QNP
X	14Q 0499720	14Q 0499847	14Q 0497865	14Q 0501664	14Q 0500915	14Q 0498746
Y	2041006	2038167	2047008	2041934	2039368	2047136

Figura 2. Localización de los sitios de trampeo en la reserva y sus alrededores. Los cuadros en blanco representan la ubicación geográfica de los sitios de estudio y las líneas negras los caminos disponibles. Abajo se colocan las coordenadas en UTM de una de las esquinas de los cuadrantes de trampeo.

El trabajo de laboratorio y gabinete se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Educación Ambiental e Investigación Sierra de Huautla (CEAMISH), ubicado en el campus Chamilpa de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), en Cuernavaca, Morelos y en los laboratorios del Departamento de Química y Biología de la Universidad de las Américas Puebla, en Cholula, Puebla.

Los seis sitios de muestreo en los que se llevó a cabo el estudio (Figura 2) fueron establecidos con anterioridad a este proyecto (el criterio de clasificación se describirá a detalle más adelante). Tres de ellos se caracterizaron como perturbados (estructura arbórea homogénea y con cobertura reducida, selva en fragmentos alternos con áreas desmontadas, sotobosque escaso con presencia de pastos y presencia constante de ganado) y tres se consideraron como no perturbados (estructura arbórea heterogénea y con cobertura cerrada, selva en una matriz continua sin intrusión de áreas desmontadas, sotobosque abundante sin pastos y presencia nula o mínima de ganado).

6.2 Captura de roedores. Para esto, en cada sitio se estableció un cuadrante dividido en siete transectos paralelos de 70 m cada uno y marcando una estación de trampeo cada 10 m. Cada transecto fue separado de los otros por 10 m, de tal forma que tenemos una cuadrícula con 64 estaciones de trampeo, cada una identificada con un sistema de coordenadas que consiste en una letra (A-H), y un número (0-7). Se colocó una trampa tipo Sherman (para animales vivos) en el suelo en cada una de las estaciones de trampeo y además una en un árbol, a 1.5-2 m del suelo, en las líneas 2, 4 y 6, teniendo un total de 88 trampas por cuadrante (Figura 3). Las trampas fueron cebadas con una mezcla de hojuelas de avena, crema de cacahuete y esencia de vainilla o bien con semillas de girasol, de acuerdo con las recomendaciones de Romero-Almaráz (2000).

El periodo de trampeo fue dividido en tres estaciones (lluvias, secas tempranas y secas tardías) tomando como principal factor la gran diferencia en precipitación que hay a lo largo del año.

Todos los trampeos se realizaron evitando los periodos de luna llena.

Las trampas en un cuadrante se activaron por la tarde el día inicial de cada muestreo y se operaron durante tres noches consecutivas, revisándolas diariamente por la mañana (entre las 07:00 y las 10:00 h) recebando cuando fuera necesario. Para cada captura, se registró la fecha, número y ubicación de la trampa. De todos los individuos capturados se tomaron las siguientes medidas morfométricas expresadas en milímetros, así como el peso, expresado en gramos:

- Longitud total (LT). Es la longitud mayor del ejemplar desde la punta del rostro hasta la punta de la cola vertebral (excluyendo los pelos de la punta).
- Longitud de la cola (LC). Comprende desde el extremo posterior del cuerpo hasta la última vértebra caudal.
- Longitud de la pata (se consideró la izquierda; LPI). Es la longitud que va desde el borde del talón hasta la punta de la uña del dedo más largo.
- Longitud de la oreja (se consideró la izquierda; LOI). Medida desde la muesca de la base de la oreja hasta el punto más alejado de la misma.

También se determinó para cada animal capturado el sexo, grupo de edad: cría, juvenil o adulto (con base en las características del pelaje y el estado reproductivo), presencia o ausencia de parásitos, estado reproductivo (considerando como machos activos a aquellos que presentaron los testículos escrotados y en el caso de las hembras cuando estas presentaban vagina inflamada, desarrollo mamario, lactancia y/o presencia de embriones), y de cada uno se obtuvieron también muestras de tejido, pelo y excretas. En el caso de los individuos de *Liomys*

irroratus, se vaciaron además los abazones para formar una colección de los materiales que contienen. Los animales capturados se marcaron mediante el método de ectomización de falanges utilizando la técnica descrita por Martoff (1963; Romero- Almaráz, 2000). En el diseño de los protocolos de captura, manejo y marcaje hemos seguido las recomendaciones de Clyde et al. (1995), procurando también minimizar el estrés de los individuos (de acuerdo al Committee for Acceptable Field Methods in Mammalogy, 1992).

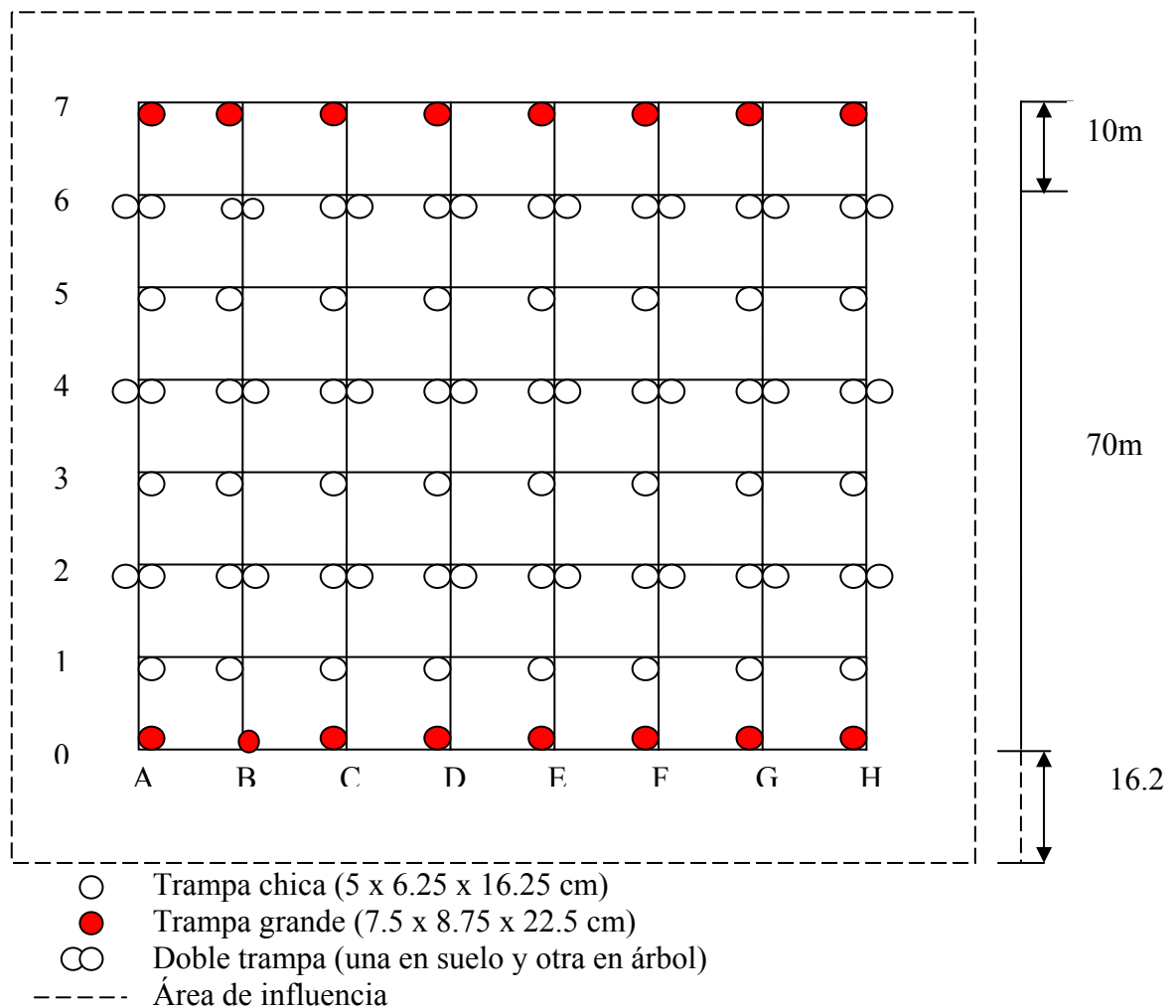


Figura 3. Diagrama de cuadrante y distribución de trampas.

Algunos individuos fueron colectados para la conformación de una colección mastozoológica regional de referencia siguiendo las recomendaciones de Ramírez- Pulido (1989).

Se procuró extraer el máximo de información de cada individuo capturado, aunque no todos los datos fueron utilizados en este estudio, para que puedan servir en investigaciones complementarias.

6.3 OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Selección de los sitios. Como ya mencionamos fue previa al inicio de este estudio y hecha con base en los objetivos del proyecto general del que este trabajo de tesis es parte. Se basó en el mapa de vegetación y uso de suelo de la RBSH generado por el Laboratorio de Sistemas de Información Geográfica (LSIG) del Departamento de Ecología y Conservación de los Recursos Naturales del CEAMISH-UAEM. En este mapa se identificaron sitios que pudieran reunir uno de los criterios generales de perturbación previamente definidos (e.g. que mostraran en el mapa buena cobertura de SBC o mostraran un mosaico de SBC, SBC perturbada y otros tipos de vegetación) y que fuera posible, logísticamente, trabajarlos (e.g. accesibilidad, disposición de los dueños de los predios para poder trabajar en ellos). Una vez elegidos dichos sitios, se hicieron recorridos de campo de las zonas potenciales de trabajo tratando de identificar el resto de los criterios considerados en la definición de perturbación (e.g. características del sotobosque e intensidad de uso por el ganado), y obteniendo las coordenadas de estos sitios con un GPS. Posteriormente el personal del LSIG determinó, (a partir de interpretaciones ortofotográficas escala 1:5000), para áreas de 100 ha tomando como centro las coordenadas geográficas obtenidas en campo, el porcentaje cubierto por SBC no

perturbada, SBC perturbada, vegetación secundaria y otros tipos de vegetación, áreas agrícolas, cuerpos de agua y zonas urbanizadas. De estas áreas seleccionamos tres pares de sitios que tuvieran el mayor contraste posible en esos porcentajes, procurando que cada par se ubicara en una misma microregión geográfica o microcuenca (e.g. en la misma cañada, en el mismo lado de un la serranía dominante en el lugar). Con esta selección en pares buscamos homogenizar el posible efecto de factores no evaluados, como historia geológica, características edafológicas locales, accesibilidad para el mismo poblado, historia de uso del suelo similar, etc. Los resultados de los sitios seleccionados se muestran a continuación:

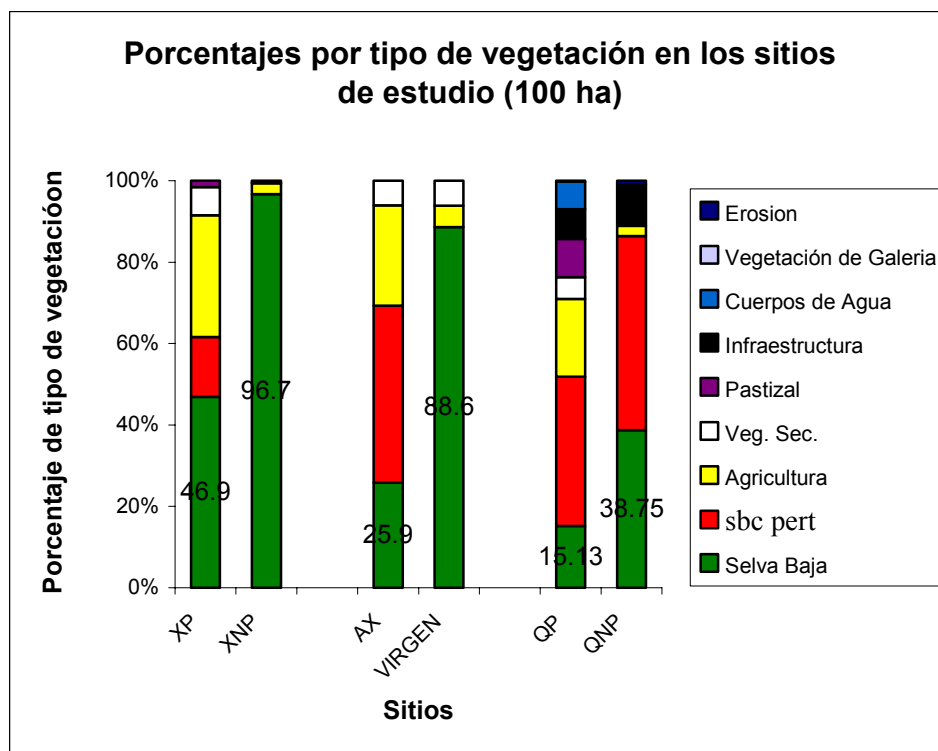


Figura 4. Porcentajes de cobertura para los seis sitios de estudio. Los nombres de los sitios son: Xantiopan perturbado (XP), Xantiopan no perturbado (XNP), Axuchitlán (AX), Virgen (VIR), Quilamula perturbado (QP), y Quilamula no perturbado (QNP).

Como muestra la Figura 4, los sitios XP, AX y QP poseen bajos porcentajes (aproximadamente la mitad o menos) de SBC en buen estado y un mayor porcentaje de agricultura y SBC perturbada en comparación con sus pares que son XNP, VIRGEN y QNP respectivamente. Los sitios correspondientes a la región de Quilamula son los que presentan el menor contraste cuantitativo, pero en proporción son semejantes al resto de los pares. De acuerdo a este criterio los sitios quedaron clasificados de la siguiente forma:

Tabla 2. Clasificación de los sitios de estudio en Perturbados y No perturbados de acuerdo al criterio de interpretación ortofotográfica.

No. de Par	Perturbado	No perturbado
1	AX	VIR
2	XP	XNP
3	QP	QNP

Finalmente estimamos la diversidad y densidad de plantas de ≥ 1 cm de DAP en 10 transectos de 50 x 2 m por sitio, siguiendo la metodología de Gentry (1982). Esta información se utilizó para reforzar la caracterización de los sitios.

Herbáceas. Para obtener esta información, se colectaron todas las herbáceas presentes en 10 cuadrantes de 1m² por sitio una vez durante cada estación climática. Todas las plantas colectadas se separaron en morfoespecies y de cada uno se montaron ejemplares herborizados para permitir su posterior identificación taxonómica. Del total de plantas colectadas en cada cuadrante por morfoespecie obtuvimos el peso total en fresco y se guardaron en bolsas. Posteriormente se secaron en un horno por 48 horas a 60° C para eliminar el agua que pudieran

contener y obtener su peso total en seco. De esta manera se tiene la biomasa total en fresco y en seco para cada morfoespecie por cada cuadrante. Sin embargo, para propósito de este trabajo se presentarán sólo los datos de biomasa total en seco de cada morfoespecie por sitio y temporada.

Es importante señalar que la dieta de las especies de roedores que encontramos no ha sido determinada con exactitud, información que se obtendrá para las dos especies más abundantes como resultado de dos tesis de licenciatura en progreso. Sólo se sabe que son de hábitos herbívoros principalmente, que incluyen un poco de insectos en su dieta y en el caso de *Liomys irroratus*, que también incluye una proporción importante de semillas (Sánchez y Romero, 1995; Mendoza, 1997; Villa y Cervantes, 2003). Por ello consideramos que obtener información sobre la disponibilidad total de herbáceas por sitio y temporada puede ser un buen indicador grueso de la calidad de hábitat (e.g. disponibilidad de alimento) que cada sitio ofrece para las especies de roedores presentes en ellos.

Diversidad. En todos los cálculos de diversidad se consideró el índice de Simpson, calculándose de la siguiente manera:

$$D = 1 / \sum p_i^2$$

Donde D es el índice de Simpson y p_i es la proporción relativa de cada una de las especies que conforman la comunidad.

Condición Corporal. El término condición corporal no está bien definido en la literatura. Principalmente, se considera que un individuo presenta una mejor condición que otro cuando, a igualdad de tamaño, sus reservas grasas son mayores, lo que le permitiría hacer frente a condiciones medioambientales adversas con un mayor éxito (Schulte-Hostede et al., 2001).

Por ello, el peso podría ser un buen indicador de la condición corporal, siempre que se pudiera descontar el efecto asociado al tamaño corporal, pues es lógico esperar que, dentro de una misma especie, los animales más grandes tengan un mayor peso. La bibliografía más reciente (García–Berthou, 2001; Blackwell, 2002) procede mediante métodos multivariantes para reducir la dimensión de los datos morfométricos que describen el tamaño corporal a un único componente integrado para después ajustar el peso a este valor.

Como en nuestro caso la mayor parte de los individuos capturados no pudo ser asignada *in situ* a ninguna clase de edad; ésta fue determinada *a posteriori* utilizando un análisis discriminante.

Una vez identificados los adultos del total de individuos por especie capturados en cada sitio durante cada temporada, obtuvimos un valor multivariante de tamaño para cada animal adulto, mediante un análisis de componentes principales (PCA). Finalmente evaluamos para cada especie las diferencias en condición corporal (peso ajustado al valor multivariante de tamaño), relacionadas con los efectos de la estacionalidad y la perturbación sobre la misma, mediante un análisis de la covarianza.

Densidad. Los resultados de estos análisis se darán tomando en cuenta el NMIV, por ser este un índice que compensa los valores tomando en cuenta que en un muestreo en particular cabe la posibilidad de que no sean capturados todos los individuos que están presentes en el área (Krebs, 1966). Sin embargo, la densidad también fue calculada por otro método (observación directa) frecuentemente utilizado en los estudios poblacionales con roedores para hacer comparables nuestros datos con otras investigaciones:

1. Observación directa. Es el número total de individuos capturados en un cuadrante por periodo de trapeo (excluyendo a los que cayeron dos veces en ese mismo periodo). Los resultados son extrapolados para expresarlos en individuos/ hectárea.
2. Método de enumeración de Krebs (1966). Aquí se calcula en Número Mínimo de Individuos Vivos (NMIV ó MNKA por sus siglas en inglés) en un periodo de muestreo. Para ello en cada muestreo se marcó a todos los individuos capturados, calculando después para cada salida el NMIV mediante la suma del número de individuos capturados en dicha salida (T_n) más los individuos que fueron previamente marcados y recapturados en el muestreo siguiente (T_{n+1}) pero que no fueron capturados en T_n .

Dado que la densidad está definida como el número de organismos por unidad de área, es necesario conocer el área efectiva de trapeo que ocupa un cuadrante. Para esto debemos tomar en cuenta que las trampas del borde pueden capturar ratones que se encuentren fuera de la cuadrícula, espacio que nombraremos como **área de influencia**. Para el cálculo de esta área seguimos a Vázquez et al. (2000) y la obtuvimos promediando las distancia entre capturas de la especie más abundante, considerando sólo a los adultos capturados por lo menos en tres ocasiones y que hayan caído en al menos dos trampas diferentes, siguiendo recomendaciones de Hayne (1950). No hicimos distinción de sexo o época del año.

Una vez obtenida el área de influencia (que en este caso fue una franja de 16 m alrededor de la cuadrícula) hay que adicionarla al área que ocupa la cuadrícula (4900 m²). El resultado de esta operación es un área efectiva de trapeo de 10,404 m². Los resultados de densidad se muestran en individuos /hectárea.

Biomasa. Fue considerada la biomasa total de los individuos capturados en cada cuadrante por periodo de trampeo. Para esto se sumó el peso de cada individuo capturado sin importar su edad o sexo. Los resultados se extrapolaron para expresarlos en gramos/ hectárea.

Proporción de sexos. Es el número de hembras con respecto a un macho. Se consideraron sólo a los individuos adultos.

Proporción de individuos en condición reproductiva. Es el número de individuos sexualmente activos en cada periodo de muestreo entre el número de adultos en ese mismo periodo.

Estructura de edades. Para la determinación de las edades se tomaron como individuos adultos a todos aquellos que se encontraban sexualmente activos. Para la determinación de juveniles se empleó el tamaño y aspectos visibles como tipo de pelaje y peso. Para todos los organismos que no pudieron ser asignados *in situ* a alguna categoría de edad se utilizó un análisis discriminante.

Los análisis fueron realizados mediante los programas Biodiversity professional versión beta (determinación de diversidad), JMP 4.0 (ANOVA y MANOVA) y SPSS 10.0, (condición corporal).

En estos análisis se consideraron tres factores: perturbación, estacionalidad y la interacción perturbación- estacionalidad, tomando en cuenta como significativa una $P \leq 0.05$ y se probó que las distribuciones fueran normales, sometiendo a los residuales a la prueba de Shapiro Wilk .

Para evaluar las diferencias en biomasa y densidad empleamos un análisis multivariante de la varianza (MANOVA) de medidas repetidas con efecto de bloque. Esto nos permitió eliminar las variaciones debidas a otros factores que nosotros no estamos evaluando: si por alguna razón un par de sitios difiere en tipo de suelo, historia de uso, humedad, etc. de los otros, el efecto de bloque elimina esa variación, de tal forma que la variación restante la podemos atribuir al efecto de la perturbación o a la estacionalidad. El ANOVA se empleó para evaluar diferencias en diversidad y también se utilizó el procedimiento de medidas repetidas así como el efecto de bloque.