

6. MATERIALES Y METODOLOGÍA

6.1 Organismos y área de estudio

En la zona de estudio (Flor del Bosque) buscamos 3 sitios de 140X140m de bosque donde se pudieran localizar 3 cuadrantes de 20X20m cada uno, separados entre sí por 10m (Figura4). Para elegir los sitios se partió de las zonas que presentan bosque de *Quercus* y bosque de eucalipto colindantes. En cada sitio se eligieron 3 cuadrantes en el gradiente de perturbación: perturbado (borde), intermedio y conservado (interior). El efecto del borde fue estandarizado utilizando parches de *Eucalyptus-Quercus*. Dentro de cada sitio, el primer cuadrante correspondió al área de borde con eucalipto (0m) el segundo cuadrante fue la zona intermedia (a 30m del borde) y, por último, el tercero correspondió al interior del bosque (a 60m del borde).



Figura 4: representación ideal de los cuadrantes en cada zona de muestreo.

En cada cuadrante elegimos por sorteo 10 árboles de *Quercus* de los cuales se recolectaron tres ramas a una altura máxima de 5 metros y medio. Este muestreo se realizó mensualmente de Febrero a Octubre 2010. Así mismo, tomamos la medida del diámetro del tronco a la altura del pecho (DAP) como un parámetro para estimar la cobertura del individuo. A continuación se detallan las características de los sitios de estudio:

Sitio 1: Este sitio corresponde a una pendiente en cuya cima se encuentra el borde con eucaliptos, situación que representa el ideal buscado dentro de la metodología, ya que

los encinos se encuentran muy cerca de la zona de eucalipto. El cuadrante de borde (0m) corresponde se localiza a una elevación de 2332m con las coordenadas 19°00'57.7" latitud norte y 98°06'20.0" longitud oeste. El cuadrante intermedio, ubicado a 30m del borde, se localiza a una elevación de 2332m con las coordenadas 19°00'57.1" latitud norte y 98°06'19.7" longitud oeste. El cuadrante interior, a 60 m del borde, se localiza a una elevación de 2307m con las coordenadas 19°00'56.7" latitud norte y 98°06'19.5" longitud oeste. Las coordenadas corresponden al punto de la esquina superior izquierda.

Sitio 2: En el sitio 2, los tres cuadrantes se hallaban un poco separados entre sí. El cuadro pequeño localizado en el espacio correspondiente de la figura 5 es el sitio que colinda con el borde de eucalipto; sin embargo, esta área ya se encontraba fragmentada, estando rodeada por claros que creaban bordes de pastizal y matorral; es decir, con menor cobertura arbórea, por lo que se procedió a separar este cuadrante de los otros 2, para asegurar que se localizara a la distancia correcta de borde y no se viera afectado por el borde de pastizal y matorral. El cuadrante de borde (0m) corresponde se localiza a una elevación de 2357m con las coordenadas 19°00'58.3" latitud norte y 98°06'32.9" longitud oeste. El cuadrante intermedio ubicado a 30m del borde se localiza a una elevación de 2303m con las coordenadas 19°00'57.6" latitud norte y 98°06'37.0" longitud oeste. El cuadrante interior, a 60 m del borde, se localiza a una elevación de 2332m con las coordenadas 19°00'57.2" latitud norte y 98°06'38.9" longitud oeste. Las coordenadas corresponden al punto de la esquina superior izquierda.

Sitio 3: En este caso la zona de encinos no comenzaba directamente después de terminar la zona de eucaliptos, sino que se encontraba separada por algunos metros de distancia, en los que se hallaba una zona de matorral y pastizal. El cuadrante de borde (0m) corresponde se localiza a una elevación de 2334m con las coordenadas 19°00'52.8" latitud norte y 98°06'04.2" longitud oeste. El cuadrante intermedio ubicado a 30m del borde se localiza a una elevación de 2330m con las coordenadas 19°00'54.0" latitud norte y 98°06'03.0" longitud oeste. El cuadrante interior, a 60 m del borde, se localiza a una elevación de 2324m con las coordenadas 19°00'54.2" latitud norte y

98°06'01.9" longitud oeste. Las coordenadas corresponden al punto de la esquina superior izquierda



Figura 5: Imagen satelital de los Sitios de muestreo para este estudio en parque estatal “Flor del Bosque” obtenida en Google Earth. Con color de rosa se muestran cada uno de los sitios.

6.2 Cría de herbívoros

Oportunísimamente colectamos orugas que se encontraran sobre las ramas de *Quercus*. Este muestreo comenzó en Octubre 2009 y finalizó en Octubre 2010. Dado que la identificación de individuos resulta más complicada en estos estadios de desarrollo, criamos las larvas y orugas en un ambiente controlado hasta que su desarrollo terminó y se pudo utilizar al adulto para la identificación. El cultivo se llevó a cabo introduciendo la rama en cuestión dentro de una bolsa o frasco con un poco de papel o algodón húmedo, el cual mantuvo a la rama relativamente fresca para que el organismo continuara su desarrollo, emergiera como adulto y finalmente pudiera ser identificado con ayuda de guías de identificación.

6.3 Trampas de tronco

Colectamos invertebrados utilizando trampas de tronco de cinco árboles seleccionados al azar en cada uno de los cuadrantes de los tres sitios muestreados. Las trampas de tronco consistieron en una red triangular que terminaba en un frasco con glicol que atraía y permitía la entrada de los organismos pero no su salida. Estas trampas las colocamos mensualmente de Marzo a Octubre 2010 manteniéndose en campo durante 4 días, después de lo cual se retiraron, y los insectos colectados en el frasco con glicol se llevaron al laboratorio para su posterior separación e identificación.

6.4 Identificación de especies

Se separaron los invertebrados en morfoespecies distintas (tanto los individuos encontrados en las trampas de tronco como en la colecta de orugas), y en los casos en que fue posible, se procedió con la identificación hasta nivel de familia (en base a Borror y White 1970, Borror *et al.* 1992, Powel y Opler, 2000, Marshal, 2000)

6.5 Cuantificación de la herbivoría.

Con las tres ramas colectadas para cada árbol, tomamos 25 hojas, las numeramos y aleatoriamente elegimos 15 hojas para su análisis. Para medir herbivoría interna contamos las minas y agallas encontradas en sobre las hojas seleccionadas de cada una de las tres ramas tomadas de cada árbol. Para medir herbivoría externa, nos basamos en el porcentaje de herbivoría, medido como la comparación del área faltante en cada hoja analizada. Para esto, primero escaneamos cada hoja elegida, creando una imagen digital de cada hoja tal como fue colectada. Después, realizamos una reconstrucción digital utilizando el software Paint (versión 6.1, Microsoft ®), creando una segunda imagen estimando la superficie de la hoja previo a la defoliación, es decir, la hoja “completa”. Luego, medimos el área de las hojas en ambas imágenes utilizamos el programa “Medición de objetos” (Versión 4.2) creado por Ramón Ordiales Plaza de EEZA-CSIC (Estación Experimental de Zonas Áridas). Así, obtuvimos el porcentaje de herbivoría al restar la superficie de las hojas incompletas de la imagen de la reconstrucción. Para los análisis estadísticos utilizamos el valor promedio para cada árbol a partir de las 3 ramas colectadas en él.

6.6 Análisis estadísticos

Realizamos un análisis de medidas repetidas tomando como factores la distancia, el sitio y el mes, siendo el área foliar la variable de respuesta, y utilizando modelo de varianza-covarianza no estructurado [UCLA 2010], seleccionado en base al valor de AIC y de LogLik más bajo, con el programa R (versión 2.10.1, R foundation for statistical computing). Este análisis de medidas repetidas se hizo con la finalidad de comprobar que las diferencias que se encontraran en los niveles de herbivoría se pudieran atribuir a los factores considerados y no a diferencias en cuanto al área foliar.

Para el análisis de la herbivoría y el efecto de borde, realizamos un análisis de medidas repetidas, tomando como factores la distancia, el sitio y el mes, usando un modelo con estructura auto-regresiva seleccionado en base al valor de AIC y de LogLik más bajo [UCLA 2010]. Se probaron cuatro modelos de varianza-covarianza: estructura autoregresiva, sin estructura, simetría compuesta, y auto regresivo con varianza heterogénea.

Se realizó un análisis de medidas repetidas con modelo autoregresivo para la comparación de los niveles de herbivoría de dos especies de encinos (*Q. castanea* y *Q. obtusata*) encontrados los sitios 2 y 3 del muestreo. Este análisis se hizo con la finalidad de observar si hay preferencias por una especie de encino sobre la otra.

Sobre el conteo de minas y agallas efectuamos un análisis utilizando un modelo generalizado linear mixto usando una distribución de Poisson, dado que este tipo de distribución es el más adecuado para este tipo de datos [Crawley 2007], usando la función glm del paquete estadístico R (versión 2.10.1, R foundation for statistical computing), tomando como factores la distancia, el sitio y el mes. La variable de respuesta fue el número de minas o agallas encontradas en las 45 hojas seleccionadas de las tres ramas de cada árbol.

Para analizar las trampas de tronco utilizamos un modelo generalizado linear mixto con una distribución Poisson, tomando como factores el sitio, la distancia y el tiempo. La variable de respuesta es el número de insectos para cada trampa de tronco en cada mes.