2. Materiales y Métodos

2.1 Descripción del área de estudio

El Parque Ecológico Recreativo "General Lázaro Cárdenas - Flor del Bosque" se localiza al suroeste del municipio de Amozoc, a una distancia aproximada de 10 kilómetros del centro de la Ciudad de Puebla. Sus coordenadas geográficas son 19º 00' 00'' y 19º 01' 50'' de latitud norte y 98º 20' 35'' y 98º 20' 53'' de longitud occidental. Cuenta con una superficie de 664.03 hectáreas (Costes-Quijano *et.al.*, 2006).

De acuerdo con su plan de manejo ambiental, el parque presenta altitudes que van de los 2,225 msnm como cota mínima y 2,400 msnm como cota máxima (Costes-Quijano *et.al.*, 2006). Sin embargo, en algunos de los sitios estudiados se registraron elevaciones de hasta 2463 msnm.

De acuerdo a la clasificación climática de Köeppen con modificación de García, el clima presente en el parque es del tipo Cwb, templado con lluvia en verano, la temperatura media del mes más cálido es de 22° C, la temperatura media anual va de 14 a 16 ° C, disminuyendo a medida que aumenta la altitud. La precipitación promedio anual es de 750 a 950 mm. Se presenta un periodo de sequía de 6 meses, comprendido desde el mes de noviembre hasta el mes de abril correspondiéndole el 10% de la lluvia anual. La humedad relativa oscila entre el 42 por ciento (marzo) y 67 por ciento (septiembre). La evaporación media anual es de 204 mm en los meses del final de la época de estiaje (de marzo a mayo), la evaporación alcanza los valores más altos para luego disminuir una vez que se inician las lluvias, el mes de menor evaporación es diciembre con 126 mm, y el de mayor evaporación abril con 239 mm (Costes-Quijano *et.al.*, 2006).

El parque se encuentra en una zona cruzada por la sierra de Amozoc, una pequeña cadena de cerros que presenta una orientación de noroeste a suroeste (Hernández *et.al.*, 1999). Dentro de la reserva se encuentra la mayor parte del Cerro Grande que forma parte de esta cadena. La presencia de esta formación genera dos zonas con condiciones climáticas ligeramente diferentes: la parte norte de la reserva cuenta con mayor humedad y la parte sur es más seca.

La vegetación natural del parque, originalmente correspondía en su mayor porcentaje a bosque de encino; sin embargo, debido a la constante actividad humana este ecosistema ha perdido una gran cantidad de su terreno, reemplazado en actividades de reforestación por un bosque artificial de eucalipto o por pastizales inducidos (Costes-Quijano *et.al.*, 2006).

Una breve descripción de los ambientes empleados como sitios de estudio se presenta a continuación.

2.1.1Bosque de Encino

Los bosques de *Quercus* o encinares son comunidades vegetales muy características de las zonas montañosas del centro de México. De hecho, junto con los pinares constituyen la mayor parte de la cubierta vegetal de áreas de clima templado.

En el Parque, el bosque de encino cubre una superficie de 255.68 hectáreas, lo que corresponde al 41.71 % de la superficie total. En general, se trata de una comunidad cuya altura oscila entre los 5 y 10 metros, cuyos troncos son delgados y ramificados (Costes-Quijano *et.al.*, 2006).

Los sitios muestreados como encinal (bosque de encino) fueron aquellos que, independientemente de su localización en el parque, presentaban una estructura de vegetación dominada por encinos (*Quercus sp*.). Estos sitios presentan la mayor

complejidad en cuanto a estructura vertical y cantidad de estratos disponibles para las hormigas. Así mismo, podrían considerarse como los sitios menos perturbados en la reserva.

Figura 2.1: Fotografía de una zona de encinal. Se observan los diferentes niveles de la vegetación y la abundante cobertura vegetal que disminuye la incidencia solar a nivel del suelo.

2.1.2 Matorral espinoso

Este tipo de vegetación es una serie un tanto heterogénea de comunidades vegetales, que tienen en común la característica de ser matorrales bajos y densos cuyos componentes, al menos en gran proporción, son plantas espinosas.

De acuerdo con el plan de manejo ambiental de Flor del Bosque (Costes-Quijano *et.al.*, 2006), El ecosistema denominado matorral espinoso es aquel que se presenta a una altitud de 2,000 a 2,200 metros sobre el nivel del mar en una pequeña zona, el cual comprende una extensión de 4.11 hectáreas, lo cual constituye el 0.6% de la superficie total. El tipo de vegetación se caracteriza por la presencia de la uña de gato (*Mimosa*

aculeaticarpa Ortega), así como de árboles medianos como el cazahuate (*Ipomoea arborescens* Sweet). Esta vegetación se caracteriza por ser un matorral espinoso, abierto o denso de 3 a 4 metros de alto, más o menos perennifolio, que se desarrolla sobre suelos someros de laderas de cerros.

Sin embargo, para definir los sitios de "matorral" en el presente estudio se empleo una definición más flexible que pudiera incluir espacios clasificados oficialmente de otra manera en el plan de manejo. Se consideraron como comunidades de matorral aquellos sitios con vegetación abierta que incluían únicamente los estratos herbáceo y arbustivo y sin dominancia en particular de alguna especie arbórea. Plantas comunes en estos sitios incluían a la uña de gato (*M. aculeaticharpa*), magueyes (*Agave sp.*) y nopales (*Opuntia sp.*). Algunos de los sitios considerados como matorral son considerados áreas para reforestación o de terrazas y maguey en la clasificación oficial del parque.

Figura 2.2: Fotografía de un sitio de matorral. Se observa la vegetación arbustiva dispersa.

2.1.3 Pastizal con Eucalipto

Parte de la vegetación presente en la zona de estudio es introducida, ya que se observa arbolado correspondiente a plantaciones de eucaliptos sembrados hace más de 45 años. Dichos eucaliptos corresponden a las especies *Eucalyptus camaldulensis* y *Eucalyptus globulus.* La zona muestreada corresponde a un pastizal con eucaliptos. Las zonas que podrían ser consideradas como bosque de eucaliptos no fueron tomadas en cuenta pues se encuentran en lo que podríamos denominar "zona de amortiguamiento" de la reserva, en donde se conserva la vegetación pero se realizan algunas actividades de aprovechamiento por lo que hay algún impacto predecible de las actividades humanas.

Figura 2.3: Fotografías de sitios de pastizal con eucalipto. Arriba: Vista desde lejos. Abajo: Imagen que muestra de cerca la estructura de la vegetación. Nótese como la forma de los árboles y la escasa vegetación arbustiva permiten el paso de los rayos solares, de modo que en la fotografía superior es posible ver el suelo bajo los eucaliptos.

De acuerdo con el plan de manejo del parque, la zona considerada pastizal con eucaliptos ocupa un área de 3.33 hectáreas. Los sitios de pastizal con eucaliptos que seleccionamos son comunidades claramente dominadas por estos árboles y en las cuales el estrato arbustivo es escaso y está representado principalmente por uña de gato (*M. aculeaticarpa*). Dada la forma de crecimiento de los eucaliptos y la ausencia de arbustos, la incidencia solar sobre el nivel del suelo es considerable durante la mayor parte del día.

2.1.4 Matorral con eucalipto

Tres transectos fueron colocados en un área considerada como matorral con eucalipto. Este tipo de vegetación tiene oficialmente una superficie de 22.91 hectáreas en el parque, aunque es muy probable que la definición oficial y la empleada para este estudio sean diferentes y las áreas no sean las mismas.

La zona muestreada presenta eucaliptos como el principal componente de su vegetación arbórea, y diversos tipos de arbustos siendo notable la presencia de la uña de gato (*M. aculeathicarpa*). Por su localización podría considerarse como una zona de transición entre el bosque de encinos y el pastizal con eucaliptos.

2.1.5 Transectos adicionales

Se colocaron dos transectos únicos, uno en una zona árida y erosionada, y otro en la zona de borde entre el bosque de encino y uno de los caminos que cruzan la reserva. Aunque estos transectos no se tomaron en cuenta para las comparaciones entre los distintos tipos de ambientes, son incluidos aquí por su aporte al listado de especies. La zona erosionada se caracterizó por carecer de los niveles arbóreo y herbáceo de vegetación (en contraste con las zonas de matorral en el parque que si tienen este último). Ahí sólo se

encontraron algunos arbustos dispersos. En la zona de borde se observó una comunidad vegetal semejante a la del bosque de encino pero sin árboles y con mayor cantidad de arbustos, estando estos mucho menos dispersos que en las zonas consideradas como de matorral. La cercanía con el bosque de encinos y el mayor régimen de sombra a nivel del suelo en esta región justifica que este transecto fuera considerara aparte de los de la zona de matorral.

2.2 Trabajo de campo

2.2.1 Descripción general del método

El método de muestreo fue mediante trampas de caída (o "pitfall") dispuestas en transectos de diez trampas cada uno con aproximadamente veinte metros de distancia entre trampas consecutivas. Existen trabajos que sugieren que no hay diferencias en la forma de distribuir espacialmente las unidades de muestreo al trabajar con hormigas. Para la colecta de estos insectos se recomienda emplear transectos lineares simples pues su eficiencia es mayor. De manera similar, hay estudios que indican que la mirmecofauna no varía significativamente dentro de un bosque en una distancia de hasta 100 metros (Sarmiento, 2003). Por ello, no habría gran diferencia entre colocar las trampas en intervalos de 5, 50 u 80 metros (Campos, 2001). Se eligió una distancia de 20 metros pues esta facilita el trabajo de campo y es suficiente para considerar cada trampa como una unidad experimental independiente.

En cada uno de los ambientes principales (matorral, encinal y pastizal con eucalipto) se colocaron seis transectos. Adicionalmente, se colocaron tres transectos en la zona descrita como matorral con eucalipto. Finalmente, dos transectos únicos fueron colocados

en una zona árida-erosionada y en el borde externo del bosque de encino. Los sitios para la colocación de los transectos fueron elegidos por representar claramente cada uno de los tipos de vegetación y presentar cierta accesibilidad, excluyéndose sitios con pendientes excesivas, o demasiado alejados de los diferentes caminos que recorren la reserva. Un mapa de la localización de los diferentes transectos se incluye en la sección de anexos (Anexo III).

Las fechas para la colocación de los transectos se muestran en la tabla 2.1:

	encinal	**matorral**	**past c/euc**	**mat+euc**	**árido**	**borde**
12 de julio de 2007	T:1,2,3	T:1,2,3	T:1,2,3	-	-	-
20 y 23 de octubre de 2007	T:4,5,6	T:4	T:4	T:1,2	T:1	T:1
26 de febrero y 11 de marzo de 2008	-	T:5,6	T:5,6	T:3	-	-

Tabla 2.1: Fechas de colocación de los transectos. A cada transecto se le asigno un número para identificarlo. Mat+euc=matorral con eucalipto. Past c/euc=pastizal con eucaliptos.

Los transectos colocados en octubre de 2007 en la zona de Matorral con Eucalipto y los de las zonas de borde y árida originalmente se incluirían dentro de los grupos de eucalipto y matorral respectivamente. Sin embargo, se observó que las nuevas zonas eran marcadamente diferentes de las tomadas en cuenta como estos tipos de ambiente anteriormente; por lo que se consideraron aparte y se realizaron transectos adicionales para completar el esfuerzo de muestreo en el pastizal con eucalipto y el matorral e igualarlo con el realizado en el encinal. Adicionalmente, se realizó un transecto más en la zona de matorral con eucalipto para verificar si las tendencias observables en los sitios de pastizal con eucalipto se presentaban de igual manera en lugares con un perfil de vegetación diferente pero que también incluían eucaliptos. Los transectos realizados en julio de 2007

se consideran como de temporada de lluvias. Los demás transectos se realizaron con la intención de muestrear en época de secas. Se decidió muestrear a finales de octubre aun cuando en este mes aun había algo de precipitación porque a partir de noviembre (cuando la época de secas comienza oficialmente) comienzan los descensos marcados en la temperatura y las hormigas, siendo termofílicas, disminuyen su actividad. Los transectos siguientes se hicieron hasta febrero para evitar la temporada de mayor frío. La posibilidad de que hubiera diferencias en un mismo tipo de ambiente en las diferentes fechas de muestreo es abordada más adelante.

2.2.2 Procedimiento de colocación de las trampas pitfall

El uso de trampas pitfall es probablemente el método más comúnmente usado para la captura de invertebrados terrestres pues es una forma barata y fácil de capturar grandes cantidades de organismos con mínimo esfuerzo (Ausden, 1996). Cuando no se emplean cebos en las trampas, estas capturan a los organismos activos sobre el suelo sin favorecer a los que tienen alguna preferencia alimenticia en particular. Andersen (1991) encontró que la eficiencia del muestreo con trampas pitfall es muy similar a la obtenida por el método de colecta directa en parcelas de suelo, el cual se considera muy confiable pero consume demasiado tiempo. Una desventaja del método es que la estructura del suelo, la velocidad de locomoción de las hormigas y la capacidad de algunas especies de evitar o escapar de las trampas pueden dar resultados engañosos. Asimismo, algunas especies de hormigas depredadoras que se mantienen en un sitio para esperar a sus presas no están bien representadas en estas muestras (Bestelmeyer *et.al.*, 2000).

La información producida por las trampas pitfall incluye riqueza, composición, y frecuencia de captura de las diferentes especies. Los datos obtenidos se basan en la

presencia de hormigas activas sobre la superficie del suelo en el área de estudio y por lo tanto están en función de la densidad de nidos y de la actividad de los organismos. (Ausden, 1996; Bestelmeyer et. al., 2000).

El muestreo de hormigas mediante trampas pitfall se hace colocando recipientes abiertos enterrados en el suelo de modo que estos forman una especie de pozo en el cual los animales activos en las proximidades caen involuntariamente. El recipiente se llena hasta una tercera parte de su capacidad con un líquido que mata a los animales que caen en la trampa. Después de colocadas las trampas permanecen por cierto tiempo en el sitio antes de ser recogidas de modo que se obtienen muestras que incluyen a los organismos activos a diferentes horas del día (Ausden, 1996). Para esta investigación hubo un periodo de 48 horas entre la colocación y el levantamiento de las trampas.

El líquido empleado en este estudio fue etilenglicol en forma de anticongelante automotriz en la concentración normalmente usada para los automóviles. Una ventaja de emplear esta sustancia es su lenta velocidad de evaporación que permite dejar las trampas colocadas por periodos relativamente largos (Ausden, 1996).

Se emplearon recipientes de plástico de color blanco y forma aproximadamente cilíndrica con las paredes ligeramente inclinadas hacia el interior. Las dimensiones de estos recipientes fueron de 12cm de diámetro y 8cm de profundidad. Se ha demostrado que el diámetro de las trampas influye en la eficiencia del muestreo, trampas con diámetros demasiado pequeños presentan un sesgo hacia especies más pequeñas (Betselmeyer *et.al.*, 2000). Las trampas empleadas tienen un tamaño suficiente para evitar este sesgo e incluso podrían haberse usado unas de menor tamaño.

Para colocar las trampas se excavó un pequeño agujero en el suelo empleando un pico manual, se introdujo la trampa y se acomodó la tierra alrededor de modo que la superficie

del suelo fuera continua alrededor de la trampa. Se colocó un plato de unicel suspendido con dos clavos de hierro a aproximadamente 10 cm por encima de cada trampa, de modo que los animales pudieran pasar fácilmente por debajo del plato pero este impidiera la caída de lluvia, hojarasca u otros materiales en la trampa. Posteriormente se reacomodó el suelo y la hojarasca alrededor de la trampa tratando de ubicarlos en una disposición similar a la encontrada inicialmente. Para marcar el lugar donde se encontraba la trampa, se colocó un listón de color rojo amarrado en una rama u otra estructura visible cercana.

Figura 2.4: Trampas pitfall. A la izquierda, la trampa colocada en el suelo; a la derecha, una vez que es recogida.

Las trampas fueran recogidas una vez transcurridas las 48 horas y sus contenidos fueron pasados a frascos de PET para su transporte al laboratorio, teniendo cuidado de enjuagar para evitar que los organismos se quedaran pegados en sus paredes.

Adicionalmente al muestreo con trampas pitfall se colocaron algunas trampas arbóreas con miel como carnada con el propósito de mejorar el inventario de especies en los diferentes ambientes. Básicamente, consisten en un frasco pequeño de plástico en el cual se han perforado agujeros a los lados y en el que se introduce una pequeña cantidad de

miel y se amarra a la rama de algún árbol o arbusto. Estas trampas fueron colocadas el 20 o el 23 de octubre, poniéndose 3 o 4 de ellas al inicio de la mayoría de los transectos.

2.3 Trabajo de laboratorio

Figura 2.5: Material para la limpieza, identificación y montaje de las hormigas. Se observan de izquierda a derecha: goma arábiga, alfileres entomológicos, pinzas entomológicas, viales de vidrio, frascos de PET con viales con hormigas en su interior, microscopio estereoscópico y piseta con alcohol al 70%.

El procesamiento y análisis del material en el laboratorio se realizó mediante los siguientes pasos:

- Limpieza y separación de las hormigas de otros organismos: Las muestras se cuelan con un tamiz muy fino para eliminar el anticongelante. Por ser una sustancia tóxica el anticongelante usado se almacena para su eliminación apropiada. Los organismos y restos de suelo y otros materiales que quedan en el tamiz son analizados cuidadosamente empleando un microscopio estereoscópico. Las hormigas encontradas se pasan a pequeños viales de vidrio con etanol al 70%. Los viales deben estar adecuadamente etiquetados con la descripción del tiempo y lugar

en que fueron colectados los organismos. Los demás artrópodos colectados pueden ser guardados para posterior análisis como se hizo en el presente estudio.

- Separación a nivel de morfoespecies, conteo y montaje: Los ejemplares colectados se sacan de los viales y se observan al microscopio con el objetivo de separar las distintas morfoespecies. Se toman en cuenta las características diagnósticas para la identificación de hormigas. Para cada morfoespecie se cuenta el número de individuos y se montan algunos de ellos en alfileres entomológicos. Por lo general, no es necesario montar más de 6 organismos pudiéndose emplear menos si estos son escasos en esa trampa o se trata de una especie muy común. El montaje de los ejemplares se hizo sobre triángulos entomológicos soportados en alfileres del número 3, el triángulo se dobla con la punta dirigida hacia abajo, el tamaño del doblez es en función del tamaño de la hormiga. Esta se pega por la región pleural derecha del mesosoma empleando goma arábiga y se acomodan sus patas y antenas de modo que sea posible observar fácilmente las distintas partes del cuerpo. Es posible montar hasta tres hormigas de la misma morfoespecie en el mismo alfiler. En los casos en que en la misma trampa se presentan subcastas es conveniente montar las diferentes formas (major, minor, etc.) en el mismo alfiler. La información sobre la trampa a la que corresponden los organismos, las cantidades de organismos colectados y montados, así como un código para diferenciar a las diferentes morfoespecies en cada trampa debe registrarse. Al alfiler se le pone una etiqueta provisional que lo relaciona con la información antes mencionada.

- Identificación: Una vez que se tienen los organismos montados es posible proceder a la identificación. Para este propósito se usó la clave de Mackay y MacKay (1989) para los géneros de hormigas de México. Luego, se agruparon los

organismos del mismo género para comparar aquellos que procedían de diferentes trampas y así agruparlos en morfoespecies validas para todo el muestreo. La identificación al nivel de especie se realizó con aquellos organismos para los que se disponían de claves de identificación. Una vez que se tiene toda la información para los individuos montados es posible poner etiquetas permanentes con toda la información de su colecta e identificación.

Para una descripción más detallada del proceso de creación de una colección de hormigas véase Lattke, (2000) o Quiroz-Robledo, (1999).

Las colecciones de referencia de cada uno de los sitios estudiados quedaron depositados en las colecciones entomológica del Instituto de Ecología A.C. de Xalapa, Veracruz (IEXA; registro SEMARNAT: VER.IN.0480198) y de la UDLAP.

Figura 2.6: Apariencia de la porción en alfileres entomológicos de la colección de hormigas generada en el presente estudio.

2.4 Análisis de resultados

2.4.1 Transformación de los datos

Para el método de muestreo con trampas pitfall y en general para el muestreo de hormigas se presenta cierto sesgo derivado del comportamiento social si se consideraran las abundancias de los individuos capturados. Las hormigas suelen agregarse espacialmente como resultado del comportamiento cooperativo pero la magnitud de este fenómeno varía entre las especies. Las hormigas con hábitos de forrajeo solitarios son capturadas en números que reflejan más cercanamente la suposición de que todos los organismos tienen la misma probabilidad de ser capturados. El caso contrario lo tenemos cuando porciones de las colonias son capturadas. Esto se presenta en las hormigas que forrajean en grupos, dejan senderos marcados con feromonas seguidos por muchas de ellas o ejecutan desplazamientos masivos de los nidos. Incluso el hecho de que la trampa sea colocada cerca la entrada de algún nido afecta fuertemente los resultados de abundancia (Andersen, 1991, Betselmeyer, 2000).

Para evitar el efecto de este sesgo en el análisis de resultados se han hecho varias propuestas. En la mayoría de los casos se emplean datos de presencia-ausencia y frecuencia de captura, lo cual elimina por completo el sesgo (Longino, 2000). Sin embargo, el emplear únicamente esta información deja de lado consideraciones sobre la importancia ecológica que las especies numéricamente dominantes pueden tener. Otro enfoque ha sido realizar transformaciones matemáticas de los datos de abundancia. Se ha propuesto obtener la raíz cuadrada de la abundancia (por ejemplo en: Wang y Stranzanac, 2001) o una forma de logaritmo natural (Andersen, 1991; Hoffman y Andersen, 2003). Otro método consiste en incluir los valores de abundancia en rangos especialmente definidos y asignarle a cada

rango un valor, formando un puntaje de abundancia. Estos métodos efectivamente reducen la importancia que se da en los análisis a valores muy grandes de abundancia sin eliminar este parámetro por completo; sus resultados se derivan tanto de la abundancia de cada especie como de su frecuencia de captura. Aunque no hay demasiada diferencia entre los resultados de los diferentes métodos, en este trabajo se empleo el de los puntajes basados en rangos pues fue definido específicamente para el estudio de las hormigas a nivel de comunidades. Siguiendo a Andersen (2003), se emplearon las categorías presentadas en la tabla 2.2.

Abundancia (# de hormigas/trampa)	**Puntaje de abundancia**
1	1
2-5	2
6-20	3
21-50	4
51-100	5
101-1000	6
Más de 1000	7

Tabla 2.2: Correspondencia entre abundancia de hormigas y puntajes de abundancia.

Más adelante se especifica en cuales de los análisis realizados se emplearon las abundancias, sus puntajes o las frecuencias de captura.

2.4.2 Descripción de las comunidades encontradas

Una vez identificadas las diferentes especies se empleó la clasificación taxonómica vigente (Bolton, 2003) para determinar las tribus y subfamilias a las que pertenecieron los organismos capturados.

Empleando la clasificación para los géneros del mundo de Brown (1971, 2000) se obtuvieron las distribuciones (o afinidades biogeográficas) para los géneros encontrados.

Para la zoogeografía de las hormigas se reconocen 8 regiones, cada una con su fauna particular. Estas son: Paleártica, Neártica, Neotropical, Afrotropical, Oriental, Indo-australiana, Austral-asiática y de Malagasy (Bolton, 1994). Esta clasificación difiere ligeramente de la tradicionalmente usada por la biogeografía. Al encontrarse en las cercanías del eje neovolcánico transversal que divide a las regiones neártica y neotropical, el área de estudio comprende una zona de confluencia para organismos distribuidos en ambas provincias por lo que se considero pertinente registrar la distribución biogeográfica de los géneros encontrados.

2.4.3 Curvas de acumulación de especies y estimadores de eficiencia de muestreo

Para estimar la eficiencia de muestreo en cada uno de los ambientes se empleo el programa EstimateS 8.0. A partir de los datos de presencia-ausencia para el conjunto de las trampas en cada tipo de ambiente se obtuvo una curva de acumulación de especies con las especies observadas y varios estimadores de la riqueza total esperada. No hay un consenso en cuanto a cuáles estimadores son los más adecuados. Por ejemplo King y Porter (2005) encontraron que la eficacia de los estimadores varía dependiendo del sitio y metodología de estudio cuando se muestrean hormigas. De entre los estimadores disponibles para la riqueza se emplearon el Bootstrap y Jacknife de segundo orden. Ambos son estimadores no paramétricos y fueron escogidos por ser aquellos que dan las estimación más moderada y la más alta respectivamente. Así, se obtuvo un intervalo en el que la riqueza real probablemente se encuentre incluida.

El estimador Bootstrap se calcula del modo siguiente (Smith y van Belle, 1984 citados por Krebs, 1989):

1. Empleando un programa de computadora se toma una muestra de tamaño n de los datos originales por el método de muestreo con remplazamiento (los individuos son devueltos al pool antes de volver a muestrear); esta forma de muestrear es propiamente el método Bootstrap.

2. Se calcula el valor estimado de la riqueza para las especies a partir de la ecuación:

$$B = S + \Sigma(1 - p_i)^n$$

Donde:

B= estimación de la riqueza por Bootstrap.

S= Número observado de especies en los datos originales

p_i= Proporción de las muestras obtenidas por medio del Bootstrap que tiene a la especie i (se obtiene el cálculo para cada especie)

n= tamaño de la muestra

3. Se repiten los pasos uno y dos entre 50 y 200 veces en la computadora. Para los datos analizados se emplearon 50 rondas de repetición.

El estimador Jacknife de segundo orden se calcula de la siguiente forma:

$$S_{jack2} = S + \left[\frac{Q_1(2m-3)}{m} - \frac{Q_2(m-2)^2}{m(m-1)}\right]$$

Donde:

S_{jack2}= Estimación Jacknife de segundo orden para la riqueza

Q_1= Número de especies que sólo ocurren en una muestra

Q_2= Número de especies que sólo ocurren en dos muestras

m= número de muestras

Este estimador se basa en la ocurrencia de especies raras o poco frecuentes. Al muestrear solo el estrato epigeo con las trampas pitfall, las especies de otros estratos podrían aparecer en algunas trampas pero solo de manera escasa por lo que serian reportadas como especies raras. Por ello, lo más probable es que sus estimaciones sobrepasen el número real de especies para el estrato analizado pero se acerquen al número total de especies en todos los estratos.

2.4.4 Comparación entre la composición de los ensambles presentes en los diferentes tipos de vegetación (ambientes)

Para comparar la composición de especies entre los diferentes sitios se utilizó el método de Escalamiento Multi-Dimensional No Métrico o NMDS y el análisis de similitudes o ANOSIM, ambos calculados mediante el programa estadístico PAST. El NMDS se basa en resumir en dos o tres dimensiones la configuración espacial de las entidades comparadas en un espacio matemático multidimensional. El término "No métrico" implica que las distancias no se obtienen realizando operaciones matemáticas entre medidas de valor numérico, sino que se basan en el orden de cercanía entre las entidades. Por ello, este método resulta ideal para comparar muestras a partir de una matriz calculada con índices ecológicos de similitud o distancia tradicionales que son valores ordinales. Los índices empleados fueron el de Jaccard que realiza comparaciones a partir de datos de presencia o ausencia y el de Bray-Curtis que usa abundancias. Se emplearon los puntajes de abundancia pare calcular este índice. La comparación realizada se basó en los transectos individuales para observar si se formaban grupos entre ellos.

El índice de Jaccard se calcula con la siguiente fórmula (Krebs, 1989):

$$S_j = \frac{a}{a + b + c}$$

Donde:

S_j= índice de similitud de Jaccard

a= número de especies compartidas por ambos sitios

b= número de especies presentes únicamente en el primer sitio

c= número de especies presentes únicamente en el segundo sitio.

La similitud entre muestras empleando la medida de distancia de Bray-Curtis se calcula por medio de la siguiente fórmula (Krebs, 1989):

$$S_B = 1 - \left[\frac{\Sigma\left|X_{ij} - X_{ik}\right|}{\Sigma\left(X_{ij} + X_{ik}\right)}\right]$$

Donde:

S_B= similitud por método de Bray-Curtis

X_{ij} y X_{ik} = Número de individuos de la especie i en la muestra j y en la muestra k.

Estos índices de similitud fueron seleccionados por ser de los más utilizados en este tipo de estudios. En una comparación matemática con otros índices de similitud basados en abundancia empleados para la comparación de comunidades, el índice de Bray-Curtis resultó el más confiable (Bloom, 1981). Adicionalmente, es necesario emplear este índice para el análisis SIMPER mencionado más adelante.

Aunque el NMDS muestra una configuración espacial que da una idea de las relaciones de similitud entre los diferentes transectos, también se realizó un análisis de

similitud (ANOSIM) para obtener un valor de prueba estadístico que definiera si las diferencias entre los grupos de transectos fueron significativas. El ANOSIM se basa en los mismos principios de ordenamiento en base a una matriz de similitud que el NMDS por lo que resulta conveniente emplear estas técnicas en conjunto. Los índices de Jaccard y Bray-Curtis fueron también usados para esta prueba. Para calcular el ANOSIM, se definen grupos de muestras de las cuales se desea saber si se agrupan entre sí. Se asume que las distancias deben ser mayores entre los elementos de grupos diferentes que entre los que se encuentran dentro de un mismo grupo (Clarke, 1993). La fórmula del ANOSIM es la siguiente:

$$R = \frac{r_{inter} - r_{intra}}{\frac{1}{4}[N(N-1)]}$$

Donde:

r_{inter}= el rango en promedio de todas las similitudes entre muestras de grupos diferentes

r_{intra}= el rango en promedio de todas las similitudes entre muestras del mismo grupo

$\frac{1}{4}[N(N-1)]$ = factor de corrección para el número de combinaciones posibles en el que N es el número total de muestras comparadas.

Para comprobar la significancia de los datos obtenidos se emplea un método de permutaciones en el que se van cambiando las muestras de un grupo a otro de manera aleatoria. El programa PAST realiza 10,000 permutaciones con este propósito.

Los transectos de matorral con eucalipto fueron incluidos en el NMDS para observar su similitud con los demás transectos pero fueron excluidos de otras pruebas estadísticas por tener un esfuerzo de muestreo menor.

Se empleo el método de SIMPER (porcentajes de similitud) para determinar la contribución porcentual de las especies individuales a la disimilitud entre hábitats calculada por el índice de Bray-Curtis. Esto se realizó por medio del programa PAST y los puntajes de abundancia de cada especie.

También se realizó una comparación por medio de NMDS y ANOSIM para probar la hipótesis de que hay diferencia en la composición entre muestras tomadas en un mismo tipo de ambiente en diferentes temporadas. Para ello, los transectos de cada tipo de hábitat fueron agrupados como aquellos que fueron tomados en el julio de 2007 (época de lluvias) y los que fueron tomados después (considerados como época de secas).

2.4.5 Análisis de diversidad

Para compara la diversidad entre los diferentes ambientes se obtuvieron curvas de rarefacción para la diversidad estimada por el índice de Shannon (H'), la dominancia de Berger-Parker (d) y la riqueza de especies (S). Lo anterior se realizó mediante el empleo el programa EcoSim versión 7.0 que calcula estos valores y sus intervalos de confianza mediante un muestreo al azar por el método Monte Carlo (Gotelli,y Entsminger, 2007). La razón para realizar esta comparación es que la estimación de los parámetros de diversidad varía con respecto al número de individuos muestreados (Gotelli y Collwell, 2001). Las curvas de rarefacción nos permiten estimar los parámetros de diversidad correspondientes a cantidades de individuos inferiores a las colectadas. Así, es posible comparar los

parámetros de diversidad para los diferentes ambientes empleando los valores correspondientes a cantidades equitativas de individuos colectados.

La riqueza de una comunidad se define como el número de especies en ella. La dominancia se refiere al grado en que la mayoría de los individuos en la comunidad pertenecen a una o unas pocas especies. Técnicamente, se puede definir como lo contrario a la equidad que es el grado en que el número total de individuos está repartido equitativamente entre las diferentes especies de la comunidad. Juntos los criterios de riqueza y equidad se emplean para definir la diversidad biológica y calcular sus estimadores.

El índice de Shannon se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$H' = -\Sigma p_i ln p_i$$

Donde:

H'= índice de diversidad de Shannon

p_i= proporción de la muestra representada por la especie i.

La dominancia de Berger-Parker se obtiene por medio de la siguiente fórmula:

$$d = N_{max}/N$$

Donde:

d= Dominancia de Berger-Parker

N_{max}= el número de individuos en la especie más abundante

N= total de individuos muestreados.

Para realizar estos cálculos se empleo la suma de las frecuencias de captura de todas las especies en cada trampa en vez del número de individuos colectados. Esta medida puede tomarse como un indicador indirecto del número de nidos en la zona donde se muestreó y evita los sesgos de usar directamente las abundancias de las hormigas.

Considerando que la índice de Berger-Parker solo emplea la abundancia de la especie dominante, se realizó una curva de rango-especie para comparar las abundancias relativas de todas las especies en cada sitio y observar lo pronunciado del patrón de dominancia. En este caso, se emplearon los puntajes de abundancia transformados en porcentajes; es decir, el porcentaje del total de los puntajes correspondiente a cada especie.

2.4.6 Comparación entre abundancias por trampa

Durante el trabajo de laboratorio se notó que en la mayoría de las trampas correspondientes a los sitios de pastizal con eucalipto aparentemente se encontraban menos hormigas. Para probar la hipótesis de que la cantidad de hormigas colectadas por trampa fue diferente en los distintos sitios, se empleo una prueba de Kruskal-Wallis calculada por medio del programa estadístico PAST. Esta prueba no paramétrica se emplea para comparar muestras en que no se asume una distribución de frecuencias normal y es capaz de considerar muestras con tamaños diferentes. Una prueba de U de Mann-Whitney se empleo para precisar entre qué grupos existían las diferencias. De confirmarse diferencias en la abundancia de hormigas capturadas esto podría sugerir que alguno de los ambientes constituye un ambiente más hostil para estos organismos o que los hábitos de forrajeo y/o la densidad de nidos son marcadamente diferentes entre las hormigas de los distintos ambientes.

2.4.7 Análisis de Grupos Funcionales

Se realizó un análisis de la composición de los ensambles en cada hábitat basándose en el enfoque de grupos funcionales. Las especies fueron clasificadas en base al listado para las hormigas del mundo de Brown (2000). Se compararon las composiciones porcentuales de los distintos ambientes en base a la suma de los puntajes de abundancia para cada grupo funcional. Se calculó en índice de Silvestre para obtener una medida de la similitud funcional entre los ambientes por medio de la siguiente formula (Silvestre, Brandao y Rosa da Silva, 2003):

$$Sf = \frac{2 \text{ x } Gc \text{ x } Nc}{Ga \text{ x } Na + Gb \text{ x } Nb}$$

Sf = similitud funcional

Ga y Gb= número de grupos funcionales en la localidad a y la localidad b

Gc = número de grupos funcionales compartidos por ambas localidades

Na y Nb = Número de especies registradas en la localidad a y la localidad b

Nc = número de especies compartidas por ambas localidades.

Se excluyó de este cálculo el ambiente de matorral con eucalipto pues su fórmula se basa en el número de especies y este ambiente tuvo un esfuerzo de muestreo menor que los demás.

Los grupos funcionales considerados son los mismos que fueron determinados por Andersen (2000) y se definen de la siguiente manera:

- **Dolicoderinas Dominantes**: agrupa taxones competitivamente dominantes que predominan en ambientes con estrés y perturbación bajos. Para las hormigas, dichos ambientes son aquellos abiertos y cálidos, y estos son comúnmente

dominados numérica y funcionalmente por dolicoderinas agresivas. Sin embargo, las dolicoderinas no están universalmente distribuidas y comúnmente están ausentes de hábitats incluso moderadamente estresantes.

- **Camponotinas Subordinadas**: las hormigas Camponotinas (incluidas en la subfamilia Formicinae), especialmente especies del género *Camponotus*, son frecuentemente diversas y abundantes en comunidades ricas en hormigas. La mayoría presentan un comportamiento de sumisión ante las dolicoderinas dominantes y muchas están ecológicamente segregadas de ellas debido a su forrajeo nocturno y tamaño corporal grande.

- **Especialistas climáticas**: Estos taxa tienen distribuciones marcadamente centradas en zonas áridas (especialistas de clima cálido), los trópicos húmedos (especialistas de clima tropical), o regiones frías-templadas (especialistas de clima frío). Tanto las especialistas de clima frío como las de clima tropical son características de hábitat en que la abundancia de las dolicoderinas dominantes es baja o están ausentes. Fuera de sus tolerancias al hábitat, son hormigas usualmente poco especializadas. Las especialistas de clima cálido, por otra parte, son características de sitios en que las dolicoderinas dominantes son abundantes, y poseen un rango de especializaciones morfológicas, fisiológicas y de comportamiento que reducen su interacción con otras hormigas.

- **Especies crípticas**: incluye especies pequeñas y diminutas, principalmente mirmicinas y ponerinas que nidifican y forrajean entre el suelo, la hojarasca y troncos en descomposición. Son más diversas y abundantes en hábitats forestales y son un componente mayor de las hormigas de la hojarasca en los bosques lluviosos.

- **Oportunistas**: son especies no especializadas, pobremente competitivas y "ruderales". Su distribución parece estar fuertemente influenciada por la competencia con otras hormigas. Comúnmente tienen distribuciones muy amplias pero predominan sólo en sitios en los que el estrés y la perturbación limitan severamente la diversidad y productividad de otras hormigas.

- **Myrmicinas Generalistas**: incluye especies de los géneros *Crematogaster*, *Monomorium* y *Pheidole.* Son miembros ubicuos de las comunidades de hormigas a través de las regiones cálidas del mundo y usualmente están entre las hormigas más abundantes. Habitualmente hay tensión competitiva entre ellas y las dolicoderinas dominantes.

- **Depredadoras especializadas**: este grupo comprende a especies de tamaño mediano a grande que son depredadores especializadas de otros artrópodos. Excepto por la depredación directa, suelen tener pocas interacciones con otras hormigas debido a sus dietas restringidas y densidades de población típicamente bajas.