

## Capítulo 12

# Metodologías de captura y estudio de las hormigas

*C.E. Sarmiento-M.*

La abundancia y ubicuidad de las hormigas en los ecosistemas terrestres y en especial en los del trópico podrían indicarnos que su captura es una labor relativamente simple y que se puede conocer la mirmecofauna de una región usando un solo método; no obstante, las diferencias en los objetivos de una investigación más las diferencias que muestran los distintos grupos de hormigas en sus hábitos, sean estas especies, géneros o incluso subfamilias, han marcado el desarrollo de toda una gama de métodos para captura y estudio de estos insectos. El texto más actualizado y de obligatoria consulta para el muestreo estandarizado de hormigas es el editado por Agosti *et al.* (2000). Adicionalmente, para el análisis de datos se recomienda revisar otros documentos como Magurran (1988) y Luwdig y Reynolds (1988) que a pesar de haberse publicado hace algún tiempo, poseen una estructura muy clara y analítica en relación con las complejidades que el investigador enfrentará al describir la información de campo. A continuación se presentarán algunas de las técnicas más utilizadas en los estudios mirmecológicos.

## Captura

### Disposición espacial de las unidades de muestreo

Para el análisis de los datos de muestreos estandarizados muchos estadísticos requieren que las poblaciones sigan una distribución espacial aleatoria; sin embargo, dado el carácter social de las hormigas así como la especificidad en su escogencia del sitio para anidación, podría pensarse que el estudio de su abundancia y riqueza requieren metodologías estadísticas especiales (Betelsmeyer *et al.* 2000). No obstante, algunos trabajos sugieren que no hay diferencias en la forma de distribuir espacialmente las unidades de muestreo (Sarmiento 2001). En consecuencia, se recomienda usar transectos lineales simples pues son más eficientes. La distancia entre unidades de muestreo puede considerarse como un elemento importante pero algunos estudios sugieren que la mirmecofauna no varía significativamente dentro de un bosque a distancias de hasta 100 metros. Por esta razón no habría mayor diferencia en ponerlas cada 5 o cada 50 metros (Fisher 1999). Con el ánimo de estandarizar los métodos de trabajo entre investigadores y hacer posibles futuras comparaciones o metanálisis, se propone entonces que se pongan las unidades de muestreo cada 10 metros.

Por otro lado, se ha sugerido que las estimaciones de riqueza se basen en la información provista por el número de individuos (Gotelli y Colwell 2001); sin embargo, el carácter social de las hormigas limita seriamente esta posibilidad por lo que

una alternativa viable es anotar la presencia (1) o ausencia (0) de la especie o morfoespecie por trampa y registrar las abundancias como la suma de la frecuencias de captura dentro de la unidad muestral que en este caso es el transecto (Romero y Jaffe 1989, Lattke 2000, Colwell com. pers.).

### Captura directa

Este es quizás el método más indicado para tener un cubrimiento taxonómico relativamente completo de la riqueza de hormigas en un lugar y para tener una primera aproximación a los hábitos que las distintas especies pueden mostrar, por esto, la captura directa nunca debería descartarse en estudios de reconocimiento faunístico; no obstante sus notorias bondades, este método tiene tres desventajas que deben considerarse para hacer un plan de trabajo bien diseñado: la primera, y de lejos la más importante, es que la captura directa requiere mucho tiempo y en ocasiones éste es un serio limitante en la investigación; la segunda, también relacionada con la anterior, es que algunas especies son extremadamente pequeñas y habitan lugares crípticos o de difícil acceso con lo que es virtualmente imposible capturarlas sin antes invertir una prohibitiva cantidad de tiempo; la tercera es que este método se ve influenciado por la habilidad del colector para buscar y ver las hormigas en su ambiente. En este sentido la repetitibilidad del estudio o la variación de los datos encontrados por los participantes pueden verse afectadas.

Para este método se suelen usar aditamentos que facilitan el acceso al individuo y limitan la posibilidad de ser mordido o aguijoneado. A continuación describiremos algunos de estos materiales y su modo de empleo.

**Hisopos de algodón.** En este caso se mantiene a mano un hisopo de algodón impregnado con alcohol y se coloca rápidamente encima de la hormiga empapándola y paralizándola de manera casi inmediata. La ventaja de este método es que no requiere mucha precisión y una vez capturada la hormiga, se transfiere con unas pinzas al vial respectivo dejando el algodón listo para usar de nuevo; no obstante, la mayor desventaja de este método es que es de difícil aplicación en superficies poco firmes e irregulares como ramas delgadas.

**Pinzas.** Pueden facilitar el acceso a sitios difíciles aunque requieren mayor habilidad que el hisopo de algodón. Un aspecto importante para la apropiada captura es la rigidez de las pinzas; si son muy duras no se deben usar pues fácilmente aplastarán el insecto y lo harán inútil para el trabajo taxonómico. Quizás las mejores son las “Featherweight” pues no maltratan el animal y permiten sujetarlo con propiedad. Se trata de pinzas elaboradas en un metal bastante liviano y suave.

**Pinceles.** Un pincel delgado de punta relativamente aguda y frecuentemente empapado con alcohol es excelente para la captura de ejemplares medianos y pequeños; no requiere excepcionales habilidades de captura y puede llegar a las más variadas superficies; de otro lado, si el alcohol toca la hormiga, la captura está prácticamente asegurada pues además de su acción química, la fuerza cohesiva del líquido detiene el animal. Dado su tamaño, algunas especies de hormigas legionarias (Ecitoninae), ponerinas como la famosa Conga (*Paraponera clavata*) y hormigas Arrieras o Parasol (*Atta*) se encuentran fuera del alcance de este instrumento. Es importante resaltar que en ocasiones el olor a alcohol puede llegar a alarmar los insectos antes que el pincel los toque por lo que se recomienda estar atento a esta posibilidad.

**Aspiradores.** Se consiguen muchas variantes de estos aparatos con varios niveles de complejidad. Los aspiradores de succión con la boca son de fácil manejo y tienen la ventaja de permitir el acceso a lugares recónditos; no obstante, en ocasiones su uso intensivo puede conllevar a problemas clínicos ya que sus filtros de salida no retienen esporas de hongos o microorganismos. Otro problema potencial es que las hormigas pueden liberar ácidos al aire que luego pueden afectar los pulmones (Bestelmeyer *et al.* 2000). Existen bombas manuales de caucho como las usadas para pipetas de vidrio o hay aspiradoras eléctricas que desempeñan una buena labor aunque en este caso la cantidad de material no deseado que se aspira puede ser inconveniente.

Ya en el campo, hay varios aspectos a tener en cuenta para mejorar los resultados; en primer lugar, las hormigas presentan variación horaria en sus actividades de forrajeo por lo que esto debe considerarse durante el diseño del plan de

captura. En segundo lugar, se debe recordar que nuestra presencia es mucho más que notoria para estos pequeños insectos y que cuando nos acercamos a un sitio, nuestras pisadas pueden ser equivalentes a pequeños movimientos sísmicos y por ende es posible que las especies más crípticas, muchas veces las más interesantes, se escondan inmediatamente o permanezcan paralizadas por un tiempo. En consecuencia, es recomendable llegar suavemente al sitio y ubicarse en una posición cómoda que le permita acceder al entorno con facilidad sin mayores desplazamientos. Capturar en el sitio durante más de 10 minutos sin hacer movimientos bruscos facilitará que se esté allí cuando las especies más crípticas reinicien sus labores y “aparezcan”.

A fin de estandarizar la captura directa y hacer posible la comparación de resultados, se recomienda definir como unidad de muestreo un lapso de 10-15 minutos en un espacio constante en cada muestreo; en cada unidad de muestreo se coleccionan todas las hormigas que se encuentren buscando representantes de todas las morfoespecies en todos los microhábitats posibles. Si el trabajo de captura se hace entre varias personas, se sugiere distribuir el esfuerzo de manera uniforme para reducir el sesgo debido a las diferencias individuales. Asignar un número a cada persona y trabajar en el mismo orden de manera rotativa es una buena opción.

Los ejemplares de cada unidad de muestreo se depositan en un frasco de cierre hermético con alcohol etílico (mínimo al 75%). Se recomienda tener dos tipos de etiquetas, una de ellas se puede imprimir previamente al viaje y debe contener datos básicos de localidad (país, departamento, municipio, sitio) dejando espacios para altitud, fecha y colector. Vale anotar que el dato de posición geográfica es quizás una de las formas de referencia más precisa y dados los bajos precios de los geoposicionadores manuales, se recomienda fuertemente su uso. La segunda etiqueta tendrá la información acorde con el tipo de trabajo que se esté haciendo. Si se está haciendo un muestreo estandarizado, es importante registrar las variables que servirán para buscar explicaciones a la riqueza o abundancia encontradas; el tipo de microhábitat (a,b,c,...), tipo de muestreo (m = manual), cobertura, etc. Otros datos metodológicos como número del transecto (1,2,3,...) número de unidad muestral (1,2,3,4,...10) serán vitales.

En ocasiones es posible desarrollar sistemas de codificación para consignar esta información de la segunda etiqueta de manera ágil pero es importante advertir que estos códigos deben ser muy claros y deben estar acompañados de la etiqueta básica. Esto último se recomienda habida cuenta de los no pocos frascos en colecciones y museos con códigos intraducibles de investigadores que ya nadie conoce. La segunda etiqueta de un frasco en un muestreo hipotético puede tener el siguiente código b-d-2-4. Éste significa que la muestra corresponde al microhábitat b, viene de captura directa, en el transecto número 2, y es la cuarta unidad muestral. Esta etiqueta debe escribirse con lápiz de mina blanda o rapidógrafo con tinta china sobre papel dúrex o Canson y se debe depositar dentro del frasco, nunca en el exterior pegada con cinta.

## Cebos

Se trata de pedazos de alimento puestos sobre un cuadrante de papel o un trozo plástico. En este caso, el cebo puede ser una fuente de proteína o de azúcar húmedos. Atún o un hisopo de algodón impregnado con agua azucarada pueden cumplir esta función respectivamente. Se recomienda estandarizar el tamaño del cebo a fin de hacer más comparable la información. Este método se ve fuertemente influenciado por el tipo de cebo. De otra parte, las hormigas que se capturan con más frecuencia son especies generalistas o dominantes. La revisión continúa de estos cebos revelará los cambios en la composición de hormigas que se acercan; Bestelmeyer *et al.* (2000) sugieren dejar las trampas entre 60 y 90 minutos como lapso suficiente para registrar las especies dominantes. Para el uso de estas trampas en árboles, se puede colocar el cebo dentro de un vial pequeño con agujeros de varios tamaños y sujeto a la rama mediante un alambre o cuerda. Brandão y Silvestre (en Bestelmeyer *et al.* 2000) indican que son necesarias 1.800 trampas de cebo para capturar un 90% de la mirmecofauna que visita esta fuente de alimento en el Cerrado brasileño. Para la colección de las hormigas que llegan a la trampa se recomienda usar un aspirador (Bestelmeyer *et al.* 2000)

## Trampas de caída

En general una trampa de caída es un recipiente de superficie interna lisa y casi perpendicular lleno hasta la mitad con una mezcla compuesta de dos terceras partes agua, unas gotas de jabón líquido y una tercera parte de alcohol etílico; la trampa se dispone enterrada a nivel del suelo de manera que las hormigas que la merodeen, caigan y queden atrapadas (Figura 12.1). Los diseños y tamaños pueden variar aunque los vasos plásticos desechables son bastante prácticos y baratos. La profundidad mínima de estos debe ser de 10cm. Los muy pequeños son más difíciles de manejar y algunas especies no caerán mientras que los grandes incluirán animales grandes no deseados en el muestreo. La principal limitante de esta trampa se presenta cuando el terreno es difícil de excavar, como en cantos rocosos o suelos con muchas raíces. El éxito de estas trampas descansa en su adecuado montaje para lo cual se recomienda:

1. Durante la excavación del hoyo, perturbar lo menos posible el área circundante, el suelo extraído se debe colocar en un pequeño montón, el hoyo debe ser suficientemente profundo para que el borde de la trampa esté al nivel de la superficie del suelo y tenga varios puntos de contacto como palitos, rocas o pedazos de hoja que faciliten la llegada de las hormigas. Estos bordes se deben rellenar con la tierra extraída del hoyo.
2. Una vez enterrada la trampa trate de ubicar la hojarasca en una disposición similar a la encontrada inicialmente y coloque una hoja grande que apenas tape el vaso sin tocarlo. Un

palito atravesado que no toque los bordes de la trampa puede servir de soporte para la hoja que queda encima, pues esta puede perder rigidez con las horas y terminar tapando la entrada o convirtiéndose en un puente de escape o de acceso al cebo.

Todas estas precauciones están dirigidas a simular el ambiente original de suerte que las hormigas transiten “normalmente” por allí. Áreas despejadas con suelo compactado a mano, no son muy apetecidas por hormigas que acostumbran patricular entre la hojarasca. Bestelmeyer *et al.* (2000) recomiendan, cuando es posible, dejar las trampas cerradas en el sitio por varios días antes de destaparlas y agregar el líquido preservante, esto con el fin de evitar el “efecto de excavación” el cual incrementa el número de hormigas capturadas debido a la generación del nuevo hábitat.

Al enterrar una trampa vale usar siempre un vaso doble de manera que al rellenar sus bordes todo el material caiga en el vaso interior. Este vaso se retira posteriormente dejando el vaso inferior limpio, bien enterrado y listo para aplicar el líquido de captura sin dejar objetos dentro como hojas o palitos; además, se facilita la posterior separación de muestras pues el líquido estará más limpio.

Se puede colocar cebo en las trampas mediante un alambre delgado ensortijado en un extremo. El alambre se puede sujetar al vaso enterrándolo en la parte interna apenas encima del nivel del líquido. El ensortijado donde va el cebo debe quedar centrado y a la altura del borde superior de la boca del vaso. El tipo de cebo colocado puede determinar el tipo de hormigas capturadas; una fuente de azúcar o una de proteína pueden usarse de manera estándar; en el primer caso se enreda al alambre un hisopo de algodón empapado con agua azucarada, en el segundo se ensartada en el alambre un pedazo de salchicha; aunque pueden usarse otro tipo de carnes, ésta se sugiere dada la facilidad para manejo y para estandarización del tamaño del cebo. Recuerde que el tipo de cebo necesariamente sesgará los resultados.

Se recomienda el uso de señales o marcas notorias como un pedazo de cinta señalizadora o una banderola localizada a un metro de altura encima de la trampa. Se puede gastar mucho tiempo buscando una trampa colocada hace dos días y cuando hablamos de muestreos con más de 100 trampas, puede ser difícil recordar donde está cada una. Además, ocurre que gastamos buen tiempo buscando una trampa que no aparece sin saber si no está porque no es el lugar correcto o por que algún animal se la ha llevado, hecho que no es raro. Estas trampas se suelen dejar en el lugar por 48 horas. No obstante si ocurren lluvias fuertes en el área, puede ser necesario reducir el tiempo, de otro modo se rebosarán y se perderán los insectos.

El traspaso de la muestra del vaso al vial debe hacerse con mucho cuidado y detalle pues muchos “mugrecitos” que



**Figura 12.1** A. Diagrama en vista lateral de una trampa de caída con alambre para el cebo y una hoja cubriéndola parcialmente. B. Diagrama en vista lateral de una trampa Winkler

vemos pueden ser minúsculas hormigas de géneros poco estudiados. También ocurre que las hormigas quedan atrapadas entre las patas de animales mas grandes y solo aparecen cuando hay un lavado juicioso de lo encontrado en la trampa. En el sitio de captura se recomienda hacer un primer traspaso a un frasco suficientemente grande que facilite lavar completamente el vaso. Ya en un lugar mejor habilitado y cómodo, se puede hacer una primera limpieza de la muestra para pasarla a un vial. La muestra de cada trampa se debe depositar en viales individuales con las etiquetas respectivas y alcohol nuevo. Tal como se indicó en la sección de captura directa, se pueden desarrollar codificaciones para acelerar la captura de datos y el trabajo de campo en general. Al usar un vial para cada trampa, se podrá analizar la variación dentro de cada transecto y se hará un registro más fino de las preferencias de cada especie.

## Trampa Winkler

Esta trampa está dirigida principalmente a capturar artrópodos del suelo y en el caso de hormigas, es excelente para grupos hipógeos y muy crípticos que con frecuencia son escasos en capturas directas. Puede decirse que la trampa Winkler es una modificación para campo de un embudo de Berlesse pues opera bajo el mismo principio, colocar una muestra de suelo o de hojarasca dentro de la trampa y obligar a que los insectos caigan al frasco colector gracias a las adversas condiciones de sequía a que la muestra es sometida (Figura 12.1).

Esta trampa se usa de la siguiente manera: rápidamente se pone el suelo y la hojarasca en una bolsa plástica hermética grande para evitar que los animales huyan ante la perturbación. Una vez llena la bolsa o bolsas plásticas con la cantidad necesaria para llenar las bolsitas de la trampa, se pasan pequeños montones por el cernidor agitando fuertemente para que caiga al frasco inferior la mayor cantidad posible de

animales y hojarasca de pequeño tamaño, este frasco debe estar seco. El material cernido se pasa a las bolsitas de la Winkler. Las bolsitas llenas no deben tener más de 5cm de ancho para así estimular la salida de ejemplares. Para la definición de la unidad muestral existen dos posibilidades: En la primera se considera que dado que la profundidad y características del suelo cambian de sitio en sitio, es preferible usar la Winkler con sus bolsitas llenas como unidad de medida. En el segundo caso, se usa un área de terreno estándar (1m<sup>2</sup> es lo mas usado). Esta unidad se puede demarcar con un cuadrante portátil que se puede desarmar fácilmente para así rodear pequeñas plantas (Bestelmeyer *et al.* 2000).

Una vez las bolsitas se han llenado y colocado dentro de la trampa, se debe cerrar herméticamente la Winkler y dejar en un lugar donde nadie la toque. No permita que le llegue la lluvia. Esta debe recibir sólo parcialmente la luz solar directa. El frasco inferior de la Winkler se deja lleno hasta una tercera parte con alcohol etílico al 75%. Pasados dos días y habiendo comprobado que no caen más insectos de la trampa al frasco, traspare los insectos a un frasco más pequeño con alcohol teniendo cuidado de no dejar “mugrecitos” en el frasco colector como se explicó previamente. Algunos autores recomiendan, al cabo de los dos días, remover el contenido de las bolsitas Winkler para garantizar la salida de todas las hormigas (Bestelmeyer *et al.* 2000). Coloque la etiqueta con todos los datos teniendo en cuenta las mismas recomendaciones hechas en la sección de captura directa. En ocasiones puede darse que se requiera más de una Winkler para 1m<sup>2</sup> de muestra por lo que el etiquetado de cada Winkler debe indicar claramente esta situación.

## Agitación de follaje

Con esta técnica se busca muestrear hormigas que se encuentran forrajeando en las ramas y hojas de plantas al al-

cance del investigador. El agitador de follaje consta de un colector y un palo. El colector es un lienzo o plástico blanco resistente sujeto en los extremos por dos palos o varillas delgadas dispuestas en cruz, la tela no debe quedar muy tensa. La vegetación se golpea enérgicamente y varias veces con un palo largo (Southwood 1978). Se recomienda revisar el área previamente al golpeteo a fin de evitar accidentes con un avispero o un animal venenoso. Las hormigas que caen al colector deben recogerse inmediatamente con un aspirador o un pincel.

## Separación y montaje de especímenes

Una vez se ha realizado la captura de especímenes se inicia la etapa crítica de separarlos y ponerlos en alcohol limpio conservando sus respectivos datos. En primer lugar, se recomienda revisar cuidadosamente todos los viales lo antes posible a fin de evitar que las muestras se sequen; también es conveniente procesarlas tan pronto como sea posible pues de lo contrario la descomposición o daño del material será inminente. Si considera que el alcohol es muy viejo (más de 3 días en un frasco abierto expuesto al sol) o que la muestra es muy sucia, cambie el alcohol. Como se planteó anteriormente, la limpieza debe hacerse con suficiente tiempo y cuidando revisar detenidamente todos esos “mugrecitos” que pueden ser diminutas hormigas pertenecientes a taxa poco capturados.

En ocasiones durante la limpieza misma de la muestra aparecen ejemplares interesantes que se quieren separar inmediatamente. En este caso es imperativo acompañar este insecto en su vial de una serie completa de las etiquetas respectivas y anotar esto en la base de datos pues recuerde que su muestreo tendrá como producto básico una matriz especie/muestra en hoja de cálculo y de este archivo se desprenderán todos los análisis posteriores. Las muestras provenientes de trampas de caída y las de las de trampas Winkler, requieren una significativa porción de tiempo en la limpieza. A continuación se presentan dos técnicas para agilizar esta labor; en los otros casos, estos métodos no son tan urgentes.

**Técnica 1.** En un lugar bien iluminado, sumerja parcialmente una cantidad de muestra en un extremo de una bandeja panda de color claro que contenga agua y una gota de jabón; dispérsela gradual y ampliamente hacia el otro extremo con la ayuda de unas pinzas o un pincel mientras localiza y recoge todas las hormigas. Si puede marcar con cuadrícula la superficie de la bandeja, esto ayudará mucho. Recuerde agitar cuidadosamente todas las piedritas y palitos que encuentre para asegurar que ha retirado todas las hormigas. Pase este material a un vial con alcohol limpio y con las correspondientes etiquetas.

## Muestreo de vegetación del dosel

Si bien el dosel es una de las zonas más interesantes para el muestreo de la riqueza biológica de los bosques tropicales, las dificultades logísticas para su acceso la hacen una de las menos conocidas. En el caso de hormigas, se pueden hacer muestreos con trampas Malaise adaptadas para ser izadas, trampas de caída suspendidas de cuerdas, cebos en viales y con aspersión de algún biocida (técnica llamada en inglés fogging (Erwin 1983)); esta última es quizás la técnica más adecuada.

**Técnica 2.** Extracción en agua salada (Lattke 2000). Se tibia agua en un beaker sin que llegue a estar muy caliente o hirviendo, se agrega sal poco a poco hasta el punto en que no sea posible disolver más, transfiera la muestra a un frasco graduado de no más 4cm de diámetro y saque el alcohol; adicione la solución salina, tape e invierta el frasco suavemente varias veces. Los restos de material inorgánico se precipitarán mientras que el material orgánico flotará. Golpee suavemente el frasco para separar materiales y burbujas adheridos a los organismos. Deje el frasco quieto por unos 15 segundos y luego retire rápidamente el material flotante usando una malla rígida. Lave el material con alcohol. Repita este proceso dos o tres veces lavando con alcohol cada vez. Coloque el filtrado en una caja de petri con alcohol y separe las hormigas del resto de material orgánico. Revise el precipitado pues hormigas grandes y pesadas pueden encontrarse allí.

Una vez se han separado todas las muestras en viales con alcohol limpio, se puede iniciar su montaje. En este punto es importante recalcar que la determinación taxonómica de las hormigas es mucho más fácil para el especialista si estas están montadas en alfiler, por esto, debe hacerse el montaje de la manera más profesional y seleccionando la mayor cantidad de “morfoespecies”. En ocasiones, es conveniente tener la asesoría de un taxónomo experimentado para saber cuáles ejemplares montar y cuáles no. Por otro lado, dado el tamaño de la gran mayoría de estos animales, se debe usar montaje en triángulo. Se trata de un triángulo de no más de 10mm de largo por 2mm de diámetro que va insertado por su base a un alfiler de papel duro como *Canson* o *Bond* de grueso calibre, pH neutro; la hormiga va sujeta por su costado derecho contactando solamente la mesopleura, con una pequeñísima cantidad de pegante soluble en agua como el pegante escolar, éste es generalmente de color blanco y tiene como base química un tipo de polivinilo.

Las siguientes recomendaciones acerca de la posición más recomendada para el espécimen se derivan del excelente documento de Lattke (2000). Se saca la hormiga del alcohol y se le extienden las patas hacia abajo sujetándola por un tiempo sobre un papel absorbente para extraer el alcohol; se deja

secar en esta posición un tiempo más y se le gira cuidadosamente la cabeza hacia la izquierda. Se pega al triángulo y se deja secar. Recuerde aplicar muy poco pegante para no untar otras partes del animal. Sostenga el ejemplar hasta que seque. Las patas hacia abajo y la cabeza girada hacia la izquierda facilitarán enormemente la observación de estructuras y la determinación. Inserte el alfiler en la base del triángulo hasta la altura apropiada para manipulación del alfiler y colocación de las etiquetas; haga esto sobre un pedazo de madera que tenga un pequeño agujero, así evitará que el triángulo se doble o deforme. También puede hacer este proceso en triángulos previamente insertados en los alfileres. En este caso se puede usar un montículo de plastilina desde el cual insertar el alfiler y moverlo hasta la posición exacta para que toque la hormiga; la plasticidad de este material permite un secado firme del pegante sin tener que sujetar directamente el material todo el tiempo. Si hay partes rotas como antenas o patas, péguelas a un triángulo adicional en el mismo alfiler donde está el resto del animal.

Las etiquetas, generalmente de 20 por 10 mm, se elaboran en papel grueso libre de ácido. Esta precaución es cada vez más importante en el montaje profesional de insectos pues muchas colecciones están perdiendo valiosos datos o se encuentran invirtiendo una gran cantidad de tiempo y esfuerzo duplicando o recuperando la información, dada la degradación que sufren los papeles usados anteriormente. La mejor tinta a usar es la tinta india o también conocida como tinta china; también son útiles las etiquetas impresas en láser. El alfiler se inserta en el costado derecho de la etiqueta de manera que ésta también sirve de protección para el espécimen.

La información de las etiquetas debe seguir dos principios, claridad y precisión. Consignada con letra legible, la etiqueta debe responder a dos preguntas básicas de la investigación: dónde y cuándo. Los datos geopolíticos de la localidad deben disponerse jerárquicamente (país, departamento o estado, municipio y sitio), luego la altitud, y si es posible, las coordenadas geográficas bajo el sistema internacional Mercator. Vale anotar que si bien las coordenadas suplantán con mayor precisión toda la información geopolítica, es bueno conservar ésta ya que es más familiar para los investigadores y sirve para controlar la veracidad de los datos numéricos. Es muy fácil cometer un error de digitación de un número y la hormiga terminará con datos de captura 100km al norte de donde realmente se encontró. Para los datos de fecha se recomienda usar el sistema francés de referencia: día en números, mes con las tres primeras letras y el año completo (p. ej.: 1 may 1968). Es muy frecuente el uso de mes en números romanos pero este puede prestarse para confusión, máxime cuando se hacen las etiquetas a mano. No son

pocos los ejemplos de etiquetas con datos de fecha dudosos. El colector es otro dato que va al final y puede ir acompañado del número de colección del investigador. Una segunda etiqueta puede adicionarse con datos de las características del hábitat y método de captura. Almacene las hormigas en cajas debidamente elaboradas para tal propósito; éstas deben estar bien cerradas y deben tener una bola de naftalina bien asegurada en su interior.

El material está a punto para su fase más importante, es decir para ser entregado al taxónomo. Se recomienda hacer contacto con el especialista previo al inicio del trabajo de campo. Esta persona puede darle muy buenas ideas sobre la captura y preservación. Recuerde que cuando el taxónomo acepta determinar el material de su trabajo, está prestando una colaboración invaluable y en muchas ocasiones, puede estar interrumpiendo sus propias investigaciones para ayudarle. Coordine previamente y establezca claramente las condiciones de trabajo. De otro lado, si bien el trabajo puede tener una duración limitada, la colección no. Se debe definir previamente una buena colección pública donde dejar los ejemplares y si se pueden dejar duplicados en más de una institución, es mejor. Como se ha mencionado antes, es clave que previa iniciación del estudio se revise la disponibilidad de taxónomos y colecciones que sirvan de referente para el trascendental trabajo de determinación taxonómica.

Si va a enviar el material por correo, empáquelo siempre pensando como si ese precioso envío fuera a ser pateado y lanzado de lado a lado por los aires. Entierre los alfileres muy bien en la espuma de base de la caja para evitar que los animales se muevan, o lo peor, salten por toda la caja; déje los especímenes a distancias mayores a las que permitan contacto entre ellos por si empiezan a girar en el alfiler. Otra buena opción es sujetar el espécimen con alfileres adicionales enterrados en los costados. Cierre bien la caja y coloque una etiqueta con las direcciones del remitente y del destinatario. Coloque esta caja dentro de otra más grande rellena por todos los costados con pedazos de icopor o algún material que sirva de amortiguador. Coloque adentro copia de la carta con el listado de material que va mandar adicionalmente y ciérrela muy bien; sabrá que la cantidad de material amortiguador es la apropiada porque tendrá que hacer un poco de presión para cerrar la caja debido al “exceso” de éste. Coloque la etiqueta con las direcciones del destinatario y del remitente además de las etiquetas que identifican que se trata de especímenes DELICADOS, secos y muertos para estudio científico y sin valor comercial. Prefiera pagar un poco más en el servicio de correo para garantizar que el material sea tratado de mejor manera.

## Manejo y análisis de la información

En general los datos se deben organizar en hojas de cálculo con tablas de especies por transecto. Es recomendable usar el mismo listado de especies en cada tabla, actualizando esta lista por cada muestreo. Un mismo lista-

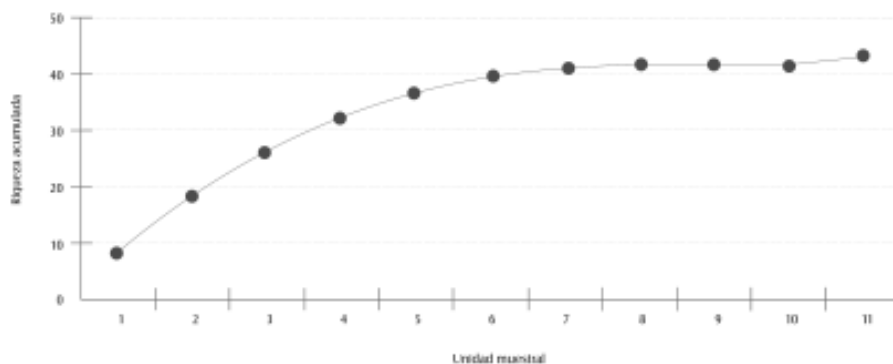
do facilita transportar información de una hoja a otra para otros análisis. Además se dejan columnas y filas para totalizaciones parciales. Éstas son muy útiles para análisis parciales y controles (Tabla 12.1).

## Tipos de análisis que se pueden hacer

### Curva de acumulación de especies

Es quizás una de las herramientas más importantes para apreciar la representatividad de la muestra. Se trata de un plano cartesiano en el que se va registrando el número acumulado de especies (riqueza acumulada) que hay para la zona. Esto es, si en la primera unidad muestral se capturaron 10 especies de hormigas, entonces en el plano cartesiano el punto que indica la riqueza acumulada para ese muestreo

tendrá las coordenadas (1, 10); ahora, si en la segunda unidad muestral se capturan 10 especies pero dentro de ellas hay 8 que no se habían capturado antes; entonces la cifra acumulada de riqueza para la zona es de 18 y las coordenadas del segundo punto serán 2, 18 (Figura 12.2). Este proceso se repite con cada nueva unidad muestral. Vale reiterar aquí que dado el carácter social de estos insectos, la unidad de muestreo para los datos de abundancia es el transecto. De cada trampa de caída o de cada unidad de captura manual solo se puede registrar presencia de cada especie.



**Figura 12.2** Curva de acumulación de especies a partir de un muestreo estructurado

Estas curvas de acumulación arrojan una forma característica de la que podemos decir dos cosas. En primer lugar, es manejable desde el punto de vista matemático, con lo que puede haber fórmulas que se ajustan muy bien a este patrón. En segundo lugar, el comportamiento de la curva es predictivo en el sentido que permite tener una aproximación al número de especies que puede haber en una región, dado que la porción final de la curva es asintótica.

La curva de acumulación expresa entonces en qué punto se encuentra el muestreo con relación al número total de especies que hay en una región y permite conocer el número de muestreos que se necesitan para obtener una muestra representativa de la riqueza biológica del lugar. Si la gráfica de este muestreo presenta una curva de acumulación cuya pendiente es todavía muy alta, entonces estamos muy lejos de coleccionar una muestra completa de las hormigas del lugar; si en cambio, la curva se hace muy plana en su parte final, el muestreo es bastante bueno y estamos cerca de tener un inventario completo. Otro buen referente del nivel de muestreo realizado se encuentra en publicaciones de inventarios de lugares similares.

### Estimación de la riqueza

Con base en la curva de acumulación de especies se puede hacer una predicción cualitativa de la riqueza biótica. No obstante, al adicionar a este muestreo el número de individuos o la frecuencia de captura de las especies (abundancia), es posible tener una predicción matemática mucho más refinada. Tal es el caso del estimador Chao2 que utiliza particularmente el número de especies con abundancia 1 y con abundancia 2 (Colwell y Coddington 1994). El algoritmo es como sigue:

$$S_2 = S_{\text{obs}} + (L^2/2M)$$

$S_{\text{obs}}$	= especies observadas
$L$	= Especies con abundancia 1
$M$	= Especies con abundancia 2

Robert Colwell diseñó un paquete estadístico llamado EstimateS que calcula la riqueza de un lugar a partir del muestreo estructurado. Se puede acceder gratis a este paquete siempre y cuando en su uso se hagan los respectivos reconocimientos, en la dirección de internet: <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>. (vale anotar que pronto habrá una versión ampliada de este programa)

Hay un muy buen artículo revisional clásico de Colwell y Coddington (1994) en donde se explican los diferentes índices de estimación de diversidad que se han inventado, sus requerimientos y características. Vale la pena remitirse a esta referencia para conocer con claridad las condiciones del trabajo. También se recomienda el trabajo de Gotelli y Colwell (2001).

### Índices de diversidad.

Sobre el particular existe en la actualidad una gran disparidad de criterios; pues luego de la proliferación de índices y algoritmos, algunos autores proponen simplemente volver a la comparación de los datos de riqueza y abundancia. Otros investigadores avalan índices de diversidad como los números de Hill. Libros como el de Ludwig y Reynolds (1988) y Magurran (1988) son excelentes guías para iniciarse en este complejo tema.

### Proporciones por niveles tróficos o por hábitos.

En este caso se puede cuantificar el número y proporción de especies por cada nivel trófico o por tipos de hábitos. Esta es una herramienta útil para describir características del lugar de acuerdo con la oferta de recursos para las hormigas. Se debe ser muy cuidadoso para la asignación de una especie a cada categoría acudiendo a la literatura, al conocimiento de los especialistas y a los datos de campo. Estos criterios pueden ajustarse según las condiciones del trabajo y la disponibilidad de información. Lo más importante es tener claros los elementos de juicio para la definición de cada uno y para la asignación de una especie a una categoría. Abajo se listan algunas categorías sugeridas:

- Estrato de forrajeo: hipogeo, epigeo, arbóreo
- Tolerancia a la perturbación: propias de pastizales, propias de rastrojos de 2m propias de bosques secundarios, propias de bosques maduros
- Nivel trófico: descomponedoras, carnívoras, herbívoras, omnívoras

En algunos casos una especie se puede asignar a más de una categoría. Entonces lo más conveniente es que para el análisis cuantitativo, el valor de esta especie se divida en el número de categorías donde aparece: por ejemplo, una hormiga se encuentra tanto bajo la hojarasca como en el estrato arbóreo y por tanto se asignaría a las dos categorías del estrato de forrajeo, entonces lo que se hace es dividir su valor (1) por dos, de manera que el registro será 0.5 para la categoría “hipógeo” y 0.5 para “arbóreo”

### Comparaciones temporales y espaciales.

Es necesario hacer comparaciones estadísticas entre los muestreos ya sea en términos temporales o espaciales. Es muy importante considerar el tipo de datos que se obtienen, puesto que esto determina la prueba estadística apropiada. No se debe tener temor por emplear pruebas no paramétricas, ya que éstas son bastante buenas y a veces mejores que las paramétricas en algunos casos. Si no hay mucha experiencia

sobre el análisis estadístico, libros como el de Fowler y Cohen (1982) o el de Magurran (1988), son excelentes introducciones aplicadas directamente a los casos de la biología de campo. Infortunadamente las bioestadísticas más difundidas se ajustan más a problemas clínicos o de laboratorio y no a las particularidades del trabajo de campo. Hay libros mucho más completos como la estadística de Zar (1999).

Dado que se emplean varios métodos para la captura de hormigas, se aconseja al comienzo hacer cada una de las estimaciones mencionadas anteriormente por separado. Esto permite analizar con mayor precisión lo que ocurre con los insectos.

Para iniciar el análisis se recomiendan los siguientes pasos:

1. Construcción de una tabla de datos para cada criterio de análisis por cada grupo de trabajo, como se indica en la Tabla 12.1
2. Realización y comparación de curvas de acumulación de especies por cada método de muestreo
3. Comparación la riqueza y diversidad obtenidas por cada método de muestreo
4. Realización de curva de acumulación de especies juntando la información de todos los métodos de captura
5. Comparación de riqueza y diversidad juntando los datos de todos los métodos de captura
6. Señalamiento de los hábitos de las especies en la tabla de acuerdo con los criterios definidos
7. Con datos acumulados de salidas anteriores, se realizan comparaciones a fin de determinar cambios en la dinámica de los lugares

## Equipo

A continuación se presenta un listado de material de campo sugerido.

- Libreta de campo
- Rapidógrafos No. 0.3 y/ó 0.2 y tinta china
- Lápiz (mina blanda B)-tajalápiz-borrador
- Pinzas de punta plana y lisa
- Reloj cronómetro
- Navaja
- Recipientes o cajas plásticas resistentes y herméticas
- Cámara fotográfica con lente macro
- Papel Canson o Dúrex blanco para etiquetas (libre de ácido)
- 500m de cuerda plástica de vivo color (amarillo, naranja o rojo)
- Cinta de enmascarar
- Marcador de tinta indeleble
- Alfileres entomológicos
- Cebos
- Naftalina para los recipientes de transporte
- Pinceles delgados de pelo fino



- Alcohol etanol 75%
- Trampas Winkler
- Bolsas, frascos o viales con cierre hermético
- Vasos plásticos para trampas de caída
- Pala de jardinería
- Alambre maleable
- Botella hermética para agua
- Jabón líquido o shampoo
- Algodón
- Salchicha y azúcar

## Agradecimientos

El autor agradece a John Lattke, Robert Colwell y Ángela Amarillo por sus sugerencias y colaboraciones. Este documento se preparó con el apoyo económico de la Fundación Nacional de Ciencia de los Estados Unidos, NSF, proyecto DEB No 9972024 a nombre de M. Sharkey (Universidad de Kentucky) B. Brown (Museo de Historia Natural de Los Angeles).

## Literatura citada

- Agosti, D., J. Majer, L. Alonso y T. Schultz, eds. 2000. *Ants, Standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian. Washington.
- Colwell, R. y J. Coddington. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 345:101-118.
- Bestelmeyer, B., D. Agosti, L. Alonso, C. Brandão, W. Brown, J. Delabie y R. Silvestre. 2000. Field techniques for the study of ground-dwelling ants, pp.122-144 en: D. Agosti, J. Majer, L. Alonso y T. Schultz, eds., *Ants, standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian. Washington.
- Erwin, T. 1983. Beetles and other arthropods of tropical rain forest canopies at Manaus, Brazil, sampled by insecticidal fogging, pp.59-79 en: S. Sutton, C. Whitmore y A. Chadwick, eds., *Ecology and management of tropical rain forest*. Blackwell. Oxford.
- Fowler, J. y L. Cohen. 1982. *Statistics for ornithologist*. British Trust for Ornithology. London.
- Fisher, B. 1999. Improving inventory efficiency: a case study of leaf-litter ant biodiversity in Madagascar. *Ecological Applications* 9(2):714-731.
- Gotelli, N. y R. Colwell. 2001. Quantifying biodiversity: Procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* 4(4):379-391.
- Heyer, W., Donnelly, M., McDiarmid, R., Hayek, y L., M. Foster. 1984. *Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution Press. Washington.
- Lattke, J. 2000. Specimen processing, pp.155-171 en: D. Agosti, J. Majer, L. Alonso y T. Schultz, eds., *Ants, standard methods for measuring and monitoring biodiversity*. Smithsonian. Washington.
- Luwding, J. y J. Reynolds. 1988. *Statistical ecology: A primer on methods and computing*. John Wiley y Sons.
- Magurran, A. 1988. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton University Press. New Jersey. USA.
- Romero, H y K. Jaffe. 1989. A comparison of methods for sampling ants (Hymenoptera, Formicidae) in savannas. *Biotropica* 21(4):348-352.
- Sarmiento, C. 2001. Comparación de tres clases de transecto para captura de hormigas (Hymenoptera: Formicidae) en dos formaciones vegetales. *Caldasia* 22(2):317-326.
- Southwood, T. 1978. *Ecological methods: with particular reference to the study of insect populations*. Chapman and Hall. London.
- Zar, J. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall.



Tabla 12.1 Hoja modelo para analizar datos de una salida de campo

LISTADO DE ESPECIES COLECCIONADAS EN LA SEGUNDA SALIDA (ENE 2002)														
	ESPECIE	CAPTURA MANUAL					TRAMPA DE CAÍDA					TOTAL		
		Transecto					Transecto							
		A	B	C	D	E	TOTAL	A	B	C	D	E	TOTAL	M + C
	<b>DOLICHODERINAE</b>													
1	<i>Dorymyrmex</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	<i>Linepithema</i> sp. 1	0	2	0	1	2	5	0	2	0	3	5	10	15
3	<i>Linepithema</i> sp. 2	0	0	0	1	0	1	4	0	6	0	0	10	11
	<b>ECITONINAE</b>													
4	<i>Labidus</i> praedator	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2
5	<i>Neivamyrmex</i> iridiscens	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	3
6	<i>Neivamyrmex</i> spinolai	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1
7	<i>Nomamyrmex</i> esenbecki	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	2
	<b>FORMICINAE</b>													
8	<i>Brachymyrmex</i> sp 1	0	1	0	2	0	3	1	0	0	0	0	1	4
9	<i>Brachymyrmex</i> sp 2	2	0	0	1	0	3	2	0	1	1	1	5	8
10	<i>Brachymyrmex</i> sp 3	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	3
11	<i>Camponotus</i> substitutus	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	3
12	<i>Camponotus</i> sp 1	0	2	2	1	0	5	0	5	0	0	0	5	10
13	<i>Camponotus</i> sp 2	0	5	7	4	5	21	0	0	0	1	0	1	22
14	<i>Camponotus</i> sp 3	0	0	3	0	2	5	0	0	0	0	0	0	5
15	<i>Camponotus</i> sp 4	0	2	0	0	0	2	0	1	0	0	0	1	3
16	<i>Camponotus</i> sp 5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	<i>Paratrechina</i> sp 1	0	0	1	1	1	3	0	0	1	0	0	1	4
	<b>MYRMICINAE</b>													
18	<i>Crematogaster</i> sp 1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	7	9	9
19	<i>Crematogaster</i> sp 2	0	1	0	1	3	5	0	0	0	0	0	0	5
20	<i>Crematogaster</i> sp 3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	3
21	<i>Cyphomyrmex</i> rimosus	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	4
22	<i>Leptothorax</i> sp	0	2	0	0	0	2	0	0	0	1	0	1	3
	<b>TOTAL</b>	<b>5</b>	<b>17</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>62</b>	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>20</b>	<b>6</b>	<b>13</b>	<b>66</b>	<b>128</b>

En cada celda se registra la abundancia (frecuencia de captura en hormigas) por especie. Es importante dejar columnas y filas para totalizaciones por método o por grupo taxonómico

Nótese que hay algunas especies con valores de cero (*Dorymyrmex* sp.). Esto se debe a que se capturaron en salidas anteriores pero no en esta.