

# Proyecto Mundial de Hervivoría

## GUIA DE CAMPO

- 1) **Información general**
- 2) **Herbivoría**
- 3) **Depredación de semillas antes de su dispersión**
- 4) **Eliminación de semillas luego de su dispersión**
- 5) **Abundancia de invertebrados**
- 6) **Selección de individuos para el estudio**
- 7) **Al final del estudio**
- 8) **Guía rápida**
- 9) **¿Preguntas?**

### 1) **Información general**

El objetivo general del Proyecto Mundial de Hervivoría es el de coleccionar datos generalizados en varios sitios alrededor del mundo que representen los diferentes ecosistemas mundiales, de modo a responder preguntas en el campo de la Ecología.

La primera pregunta que se quiere responder es: ¿Existe un gradiente latitudinal en la proporción de área foliar eliminadas por los herbívoros? En otras palabras: ¿Los animales del trópico comen más de las hojas de plantas que los animales que viven en otras latitudes? La mayoría de los ecólogos creen que existe un gradiente latitudinal en herbivoría, al igual que en la estrechez de algunas interacciones entre plantas y animales. Esta teoría se basa en la idea de que el ambiente físico, mayormente favorable de los trópicos combinado con la larga historia ecológica de los ecosistemas tropicales (los cuales no sufrieron glaciaciones cada 10.000 años como en los ecosistemas polares), permiten que las poblaciones de plantas y animales se desarrollen hasta el punto en donde dichas interacciones interespecíficas limitan su propio crecimiento. Por otro lado, en los ecosistemas cercanos a los polos las condiciones físicas y ambientales junto con la historia ecológica interrumpida producen poblaciones de plantas y animales que no se desarrollan en los niveles en que se desarrollan en los trópicos. Por lo tanto se espera que las interacciones entre plantas y animales sea más intensas en los trópicos. Se cree que estas interacciones más fuertes encontradas en los trópicos contribuyen a la gran biodiversidad de los ecosistemas tropicales. Sin embargo, existen también teorías que se oponen a la idea de que las interacciones entre plantas y animales es más intensa en los trópicos. La discusión que más me gusta es la que sostiene que la gran productividad de plantas en ambientes tropicales puede ser igualada con la gran abundancia de herbívoros. Si esto fuera cierto, no debería de haber un gradiente latitudinal en herbivoría. Una de las cosas positivas de este proyecto es que no importa cual sea el resultado que se encuentre, de cualquier manera serán interesantes y tendrán implicaciones en otras áreas de la Ecología.

La segunda área de estudio de este trabajo abarca las causas de los modelos globales de herbivoría. Se estudiarán las relaciones entre:

- **condiciones ambientales**, que determinan la cantidad de recursos que las plantas deben de destinar para crecimiento y defensa
- **las características de las plantas**, especialmente aquellas que influyen su apetencia para los animales.
- **abundancia de herbívoros**, y
- **herbivoría**

También se determinarán los modelos mundiales en cuanto a depredación de semillas (otra forma de herbivoría), para saber si se obtienen patrones similares.

Con estas informaciones se probarán muchas hipótesis de gran escala sobre los factores que determinan la cantidad de herbivoría que sostienen las plantas. Al aumentar el conocimiento de los factores que influyen las interacciones entre plantas y animales se podría predecir con más exactitud lo que ocurriría en éstas interacciones bajo la influencia de los cambios climáticos mundiales.

## 2) Herbivoría

La cosa más importante que se determinará en este proyecto es la proporción de área foliar que los herbívoros comen en un tiempo determinado.

### ¿Cada cuánto se debe estimar la herbivoría?

Se deben de medir la pérdida de hojas cada tres meses a lo largo de un año. Esto nos permitirá cuantificar la pérdida de hojas en diferentes estaciones en un área determinada, lo cual es importante ya que se supone que el grado de cambios estacionales es una diferencia importante entre la pérdida de hojas en los trópicos y en el ártico. Sin embargo, este tipo de muestreo no nos permitirá cuantificar las variaciones en herbivoría entre un año y el siguiente. Aunque se considera que esta información es importante, nosotros no contamos con el tiempo y los recursos necesarios para continuar el estudio a lo largo de muchos años. Sin embargo, se tratará de establecer sitios de muestreo en tantas áreas ya estudiadas como sean posible.

### ¿Cuáles especies se deben de estudiar?

Como no será posible estudiar todas las especies de plantas en cada sitio de estudio, se ha decidido incluir en el proyecto solamente las cuatro plantas más abundantes que cuenten con la mayor cobertura de follaje. Durante la primera visita a cada sitio de estudio se estimarán la cobertura foliar de las especies más abundantes y se nombrarán las cuatro especies a ser estudiadas. Al mismo tiempo se elaborarán mapas de la ubicación de dichas plantas y se pondrán etiquetas a por lo menos 5 individuos de cada especie. Se deben de usar estas plantas para el estudio de herbivoría.

### ¿Qué parte de las plantas se debe estudiar?

Se debe de medir la pérdida foliar en los órganos fotosintéticos de las plantas sin considerar su forma botánica. Por ejemplo, se deben de medir filodios y cladodios (peciolos y tallos achatados) como si fueran hojas. Si la especie en estudio tiene hojas compuestas se deben de medir la pérdida de área foliar en cada foliolo.

**Si se utilizan repelentes de insectos o bloqueador solar en el campo, por favor de lavarse las manos antes de comenzar el etiquetado de modo a no dejar repelente o bloqueador solar en las hojas.**

### ¿Cuales hojas se deben de etiquetar?

Las hojas que deben de etiquetarse son las hojas más nuevas, completamente desarrolladas que crecen bajo pleno sol y que no presenten ninguna señal de ataques patógenos o daños por herbívoros. Si se está trabajando en un sitio donde no sea posible alcanzar las hojas que crecen a pleno sol, entonces se deben de etiquetar las hojas de las plantas del sotobosque. Sin embargo, en cuanto sea posible, se prefiere que aún se marquen las hojas en áreas del sotobosque con mayor luz.

### ¿Cuántas hojas se deben de marcar?

Cada vez que se muestree un sitio (cuatro veces durante un año) se deben de etiquetar tres hojas de por lo menos 20 ramas/tallos (generalmente cuatro ramas en cada planta individual) de cada una de las cuatro especies en estudio. Lo que resultará en un total de 60 hojas por cada especie en cada sitio de muestreo.

### ¿Cómo se etiquetan las hojas?

Las plantas en estudio se marcarán con banderillas reflectivas de plástico y en los lugares con alto riesgo de incendios se utilizarán etiquetas de aluminio. Las ramas en estudio se marcarán con twist-ties blancos. Se pueden usar marcadores para colocar números o rayas en los twist-ties de modo a etiquetar las ramas marcadas. Las hojas en estudio no deben de alterarse ni escribirse en ellas. En estas hojas se debe de colocar una marca en el tallo, justo por debajo del peciolo de la hoja en estudio. Cuando se trabaje con una planta leñosa se podrá usar pintura rosada en spray que deja una marca permanente muy visible. Sin embargo cuando las hojas se encuentren en un tallo blando, se debe de usar marcadores sin xileno para el marcado, este tipo de marcadores deterioran menos a los tejidos blandos. Si la especie en estudio cuenta con abundantes hojas muy cercanas unas a otras, de modo a que no sea posible utilizar el marcador en el tallo, se debe de marcar la hoja que se encuentre por debajo de la hoja en estudio atendiendo de no poner tinta en la hoja de interés. Para aquellas hojas con diferentes superficies superior e inferior se deben de controlar el daño ocurrido en la superficie fotosintética superior. Para hojas bifaciales (las que cuelgan verticalmente y que fotosintetizan con ambas superficies foliares) se debe de colocar un pequeño punto en la superficie de la hoja para su control. Las tres hojas de cada rama no necesitan de marcarse, la hoja más cercana al ápice es la número uno, la hoja del medio es la número dos, y la hoja más cercana al tallo/base principal de la planta es la número tres.

### ¿Cuál lado de la hoja se debe estudiar?

Normalmente se estudiará la superficie superior de la hoja. Si la hoja es similar en ambas caras (bifacial) se debe de marcar con un punto la superficie de la hoja en estudio.



Marca cada rama con una sola vuelta de la etiqueta twist-tie. Asegurate que la etiqueta esté lo suficientemente lejos de las hojas marcadas para que no se dañen con el viento.



Indica las hojas de muestreo con un marcador en la rama cerca de la hoja en cuestión.

## **Posibles problemas de etiquetado y como solucionarlos:**

Las hojas de mi planta tienen crecimiento indeterminado (hojas de pastos y cladodios) En este caso se debe de controlar la herbivoría en una región conocida de la “hoja” en vez de controlar el limbo completo. Se deben de marcar con el marcador sin xileno los límites de dicha región.

Mi planta no tiene hojas en esta estación del año. Algunas especies en estudio, especialmente las plantas decíduas y efímeras no contarán con hojas durante todos los periodos de muestreo. Obviamente, no será necesario el muestreo de estas plantas cuando no tengan hojas. Si este es el caso, el trabajo se vuelve muy sencillo.

Todas las hojas de esta especie están a punto de senescer (caer). Si todas las hojas son viejas y cerca de acabar su periodo de vida, no te molestes en marcar las hojas durante ésta estación. Esta regla se establece para evitar confusión entre pérdida de hojas de manera traumática (herbivoría y pisoteo) con las pérdidas de hojas de manera programada (envejecimiento y senescencia). Esta distinción es importante ya que en el primer caso, las plantas pierden todos los nutrientes previamente invertidos en las plantas, mientras que en el segundo caso, las plantas re-absorben una proporción significativa de estos nutrientes importantes.

Algunas de las hojas estan dañadas antes de que empiece con el estudio. En cuanto sea posible debes de marcar hojas relativamente sanas y nuevas. Sin embargo algunas veces no se podrán evitar marcar hojas mas viejas y dañadas. En este caso se debe de tomar una fotografía de la hoja que muestre su condición de “antes” del marcado usando la metodología que se describe a continuación, de manera a poder medir el grado del daño inicial.

No puedo marcar tantas hojas en un solo día. Si este fuera el caso, calcula cuantas hojas puedes marcar en un día de trabajo y solamente marca esas. Pero por favor marca 3 hojas de cuatro ramas de cada especie en estudio.





### **¿Cuánto tiempo debo de dejar pasar hasta que tenga que medir el área de hoja perdida?**

En cada estación se debe de volver al sitio de estudio exactamente 14 días después del marcado inicial. Muchas veces esto será difícil de cumplir, como por ejemplo cuando las condiciones del tiempo imposibiliten el trabajo de campo. En este caso, se debe de usar criterio propio para decidir cuando regresar al lugar de muestreo. En general de 12 a 16 días después del marcado inicial está bien, solo se debe de registrar claramente el periodo de tiempo entre muestreos. Si las condiciones del tiempo son malas por un periodo de tiempo largo (si los lapsos de muestreo son mayores de 18 días), se debe de volver a marcar las hojas y tratar de nuevo cuando las condiciones temporales mejoren.

### **¿Qué se debe medir en el día 14?**

Se debe de visitar todas las hojas que hayan sido marcadas previamente. Se anota si las hojas han sido dañadas o no, o si se han perdido completamente. Si las hojas fueran dañadas parcialmente, se debe de obtener una foto digital de la hoja, de modo a que se pueda determinar que proporción de la misma se ha perdido. En este caso, se debe tomar una fotografía del número de la planta en cuestión, una foto del número de la rama, una foto de los dedos representando el número de hoja con la que se está trabajando y finalmente

la foto de la hoja en cuestión. De este modo se podrán identificar a cada hoja en los archivos fotográficos. No te preocupes en ordenar los números de dichos archivos.

			
1) Saca una fotografía de la etiqueta de la planta mostrando la especie y el número de planta.	2) Saca una fotografía de la etiqueta de la rama que muestre su número.	3) Usa los dedos para indicar el número de hoja que se trate.	4) Luego toma una fotografía de la hoja.

Las imágenes deben de guardarse en archivos que lleven claramente el mes del muestreo y si se han obtenido al principio o al final de dicho periodo (ejemplo: archivo/nombre\_del\_sitio\_de\_muestreo/Octubre/principio, y Archivo/nombre\_del\_sitio\_de\_muestreo/Octubre/día 14)

Habrà un sitio web en donde se recibirán las imágenes tan pronto como sean posibles. Más detalles al respecto cuando el sitio web esté en operación. Si es que hubiera un retraso de más de un par de días antes de enviar las imágenes al sitio web (por ejemplo si es que se espera hasta el fin del estudio para enviar las fotos de todas las estaciones), se pide que primeramente se graben estas imágenes en un CD de modo a tener una copia extra en caso de emergencia.

### ¿Qué clase de daños cuentan como “perdida de hoja”?

Se deben de registrar todo tipo de daños que impedirán a la hoja fotosintetizar con la parte dañada, incluyendo: pérdida del limbo, parásitos y ataques de patógenos. Si no estás seguro del tipo de daño, saca una fotografía.

### ¿Cómo saco las fotografías?

Primero, sacar una foto de la planta, rama e identificación de hojas (ver más arriba). Luego sacar una fotografía de la hoja en estudio. Colocar la cámara en la posición “macro” que generalmente se representa con una flor. Si se está trabajando bajo sombra (sotobosque) probablemente se necesite prender el flash, en este caso asegurarse que las hojas brillantes salgan bien cuando se utilice el flash. Favor de tomar las fotografías en frente del fondo cuadriculado que se les provera de modo a poder determinar la porción de hoja restante. Sostener la hoja y el fondo cuadriculado lo más planos posible (perpendicularmente a la cámara) mientras se saca la foto y asegurarse de que la hoja se encuentre plana sobre el fondo cuadriculado. Asegurarse que la foto contenga por lo menos un cuadrado entero dentro de la fotografía para usarlo como escala.

### Posibles problemas para establecer herbivoría y como solucionarlos:

La planta perdió la hoja en estudio pero no se ha ingerido. Se debe de anotar el hecho como pérdida de hoja. Este estudio quiere establecer el costo de la herbivoría a la planta en términos de pérdida foliar, no basándose en los beneficios de los herbívoros (hojas ingeridas). De modo que todas las pérdidas de hojas se deben de anotar aunque los animales hayan dañado a la planta sin comerse a las hojas. Puede ocurrir que algunas hojas alcancen su cenescencia natural durante el periodo de muestreo, las cuales pueden anotarse erróneamente como “hojas perdidas”. Sin embargo, como durante cada estación se están marcando y

etiquetando las hojas más recientes, controlandolas luego de 2 semanas del marcado inicial, el error de muestreo debido a la cenescencia natural de las hojas debería de ser mínimo.

Estoy segura que habrán más problemas en los que no he pensado todavía. Si se tiene alguna pregunta por favor de enviarme un correo electrónico ([amoles@bio.mq.edu.au](mailto:amoles@bio.mq.edu.au)). Controlaré mi email regularmente durante el proyecto.

### **¿Qué datos debo de enviar?**

Se deben de enviar las notas de campo (por correo postal) y las imágenes de las hojas (por correo postal si envías CDs o bien electrónicamente). Si fuera posible, favor de fotocopiar las notas de campo y copiar las imágenes en CDs antes de ponerlas en el correo en caso de que se pierdan. Las instrucciones para envío electrónico de imágenes se encuentran al final de este documento.

## **Herbivoría durante el desarrollo de las hojas**

Una gran proporción de herbivoría ocurre cuando las hojas están todavía en expansión. En esta parte del proyecto se estimará la pérdida de área foliar durante el desarrollo de la hoja al tomar imágenes de las hojas que hayan completado su desarrollo recientemente.

Probablemente se tenga que realizar este muestreo una sola vez durante las cuatro estaciones del año, en la estación donde la mayoría de las hojas hayan terminado su crecimiento (durante la primavera en la mayoría de los sitios). Si las hojas en estudio producen constantemente hojas nuevas, se tendrán que tomar fotografías en todas las estaciones del año. Para determinar si una especie cuenta con hojas adecuadas, fijarse en las secuencias de las hojas que cuenten con algunas hojas todavía en crecimiento.

### **¿Se toma una fotografía de qué?**

Primero, se toma una fotografía de la etiqueta de la planta que muestre la especie (para que no haya confusión). Observar la secuencia de la primera hoja que haya terminado su desarrollo, así como también si es que es de tamaño normal. Generalmente esta hoja es de color más oscuro que las hojas inmaduras y un poco más dura. Observar detenidamente al peciolo para ver si hay alguna pérdida en la secuencia de hojas. Si la primera hoja de la secuencia está completamente madura y está parcialmente dañada, tomar una fotografía de ella. Si la hoja que se encuentra entre la última hoja en crecimiento y la primera hoja completamente madura se ha perdido, toma una fotografía de tus dedos en la forma de un "0" (cero), o anota en el libro de campo. Si la primera hoja completamente madura está intacta, toma una foto de tus dedos mostrando el número 1, o anota en el libro de campo. Toma fotografías de al menos 20 hojas provenientes de un mínimo de 5 plantas individuales.

## **3) Depredación de semillas antes de su dispersión (pre dispersión)**

### **¿Cuáles especies debo de incluir?**

En cada estación del año, controla las cinco plantas en estudio en cada sitio de muestreo para ver si algunas de ellas están dando frutos. Si las plantas se encuentran en frutos y si hay más de 50 semillas expuestas alrededor de por lo menos 5 plantas, se deben de evaluar la pre-dispersión y depredación de semillas para esa especie. Para ello, se debe de coleccionar 50 semillas recientemente maduras de por lo menos cinco plantas. Se piden semillas recientemente maduras porque personalmente creo que las semillas depredadas pasan más tiempo en la planta madre que las semillas sanas. Si esto fuera cierto (no hay datos al respecto) y se coleccionaran semillas que hayan estado en la planta por mucho tiempo, se sobre estimaría la pre-dispersión y

depredación de semillas. En cuanto a especies de muchas semillas, se deben de coleccionar semillas de un mínimo de 20 frutos (de por lo menos 5 individuos). Si no hubieran especies en frutos en una estación del año determinada, no se deben de coleccionar ningún dato.

### **¿Qué parte de la fruta debo de estudiar?**

La unidad de estudio es en realidad la semilla (endosperma + embrión + tegumento) no la diaspóra entera (por ejemplo, la semilla de la manzana, no la manzana entera). La única excepción son las especies cuyos tejidos frutales están firmemente fundidos al tegumento de la semilla (por ejemplo los aquénios de las Asteraceas). Si se duda que parte del fruto es que cosa (entendible completamente), favor de preguntar a Angela Moles o a tu coordinador local.

### **¿Cómo sé si una semilla fué depredada o no?**

En general es obvio cuando una semilla fué depredada: cuentan con un marcado agujero de salida, o la fruta presenta un residuo parecido a un polvo fino (excremento de insectos) en el lugar donde estaban las semillas, o a la semilla le falta un buen pedazo. En estos casos se deben de anotar a las semillas como depredadas. Si las semillas parecieran intactas, se las deben de llevar al laboratorio y partirlas en la mitad con una hoja de afeitar (con cuidado de no cortarse los dedos). Para algunas especies se deberá usar lupas o microscópios para ello. Los casos difíciles de determinar serían cuando las semillas presentan pequeños mordiscos en los bordes. En este caso, se debe de usar criterio propio al determinar si fué depredada o no. Si la proporción de semilla que falta es muy pequeña y el daño que presenta no incluye al embrión (si parecerá que el embrión puede germinar), entonces se debe de anotar a la semilla como intacta, si ocurriera el caso contrario, se deben de anotar a las semillas como parcialmente depredadas.

### **¿Cómo se anotan los datos si las semillas de frutas con semillas múltiples fueron destruidas totalmente?**

Si todas las semillas fueran destruidas completamente por un depredador (por ejemplo cuando no puedan ser contadas), entonces se debe de anotar el número de semillas depredadas como la media del número de semillas establecidas para esa especie en particular.

### **¿Qué resultados debo de enviar?**

Se deben de enviar el número total de semillas depredadas, parcialmente depredadas e intactas de cada una de las cuatro especies de plantas que dan frutos en cada estación. En este proyecto no se estudiará la pre dispersión y depredación de semillas en donde se elimina a la fruta entera de la planta.

## **4) Eliminación de semillas luego de su dispersión (post dispersión)**

### **¿Qué especies se debe de incluir?**

En cada estación del año se debe de controlar si las cuatro especies en cada sitio de muestreo están produciendo semillas. Si hay por lo menos 50 semillas disponibles recientemente maduras con diásporas intactas que se sean adecuadas para el estudio (ver más abajo) se debe de registrar la depredación de semillas luego de su dispersión. Si no hubieran especies adecuadas en una estación determinada del año, se deben de evaluar la eliminación de las semillas “modelo” (ver más abajo).

### **¿Que parte de la fruta se debe estudiar?**

En este estudio se trata de imitar la exposición natural a depredadores que aparecen luego de la dispersión de semillas. Por lo tanto la unidad de estudio es la parte que queda disponible para los depredadores que se presentan luego de la dispersión principal. En frutos carnosos (los que generalmente se dispersan por vertebrados) se debe de remover la pulpa de la fruta y se debe dejar expuesta lo que haya dentro de la unidad leñosa (una o más semillas) para los depredadores. Las semillas que permanecen dentro de la fruta intacta luego de su dispersión principal deben de colocarse dentro de la fruta aunque esto signifique que se deba trabajar con varias semillas. Las semillas que normalmente se desprenden de la fruta antes de su dispersión (la mayoría de los frijoles) deben de sacarse de la fruta antes de exponerlas a los depredadores que aparecen luego de la dispersión de semillas.

**Diasporas adecuadas para el estudio:** De modo a imitar las condiciones naturales de la mejor manera, se ha decidido colocar a las semillas directamente en el suelo. Esto implica que las diasporas utilizadas para la prueba de depredación post dispersión tengan un tamaño mínimo conveniente para el experimento. El tamaño de las semillas dependerá de la textura del suelo y del contraste entre el color del suelo y de la semilla en cuestión. Como regla general, si las semillas depositadas en el suelo son difíciles de observar inmediatamente después de haberlas depositado en el suelo, éstas no deben utilizarse para evaluar la depredación post dispersión. El otro factor que puede influenciar en la selección de semillas para los experimentos de depredación post dispersión es la eficacia de las adaptaciones de deseminación aéreas que presentan algunas semillas. En general, si no se puede determinar con exactitud si una diaspóra fue transportada por el viento o por depredadores de semillas, éstas no deben incluirse en el estudio de depredación post dispersión. Con este criterio de trabajo es muy probable que se obtengan una representación muy baja de las Asteraceae en esta fase del proyecto.

### **¿Cuándo se deben de coleccionar las semillas?**

Preferentemente en el mismo día en que se realiza la prueba experimental cuando aún se encuentren en el sitio de trabajo. No se deben de guardar las semillas por más de dos días antes de realizar el experimento. Si se encuentran semillas de alguna especie que no haya estado en frutos durante el tiempo que yo visité el sitio, por favor, colecciona unas 20 semillas/frutas extras y envíamelas por correo.

**Semillas modelo:** En este proyecto también se coleccionarán datos referentes a la proporción de semillas “modelo” eliminadas por depredadores que aparecen luego de la dispersión de semillas. Esta información se coleccionará en cada estación del año y en cada sitio de muestreo. Esto nos permitirá 1) saber si la diferencia de semillas en cada sitio influyen los resultados obtenidos y para 2) evaluar la depredación ocurrida en cada estación del año, aún cuando las especies en estudio no estén produciendo semillas en alguna estación determinada del año. La semilla modelo es de una especie de la cebada. Se eligió esta especie ya que la cebada 1) es relativamente fácil de encontrar en diferentes países. 2) no tiene defensas físicas particulares y porque 3) proviene de la familia Poaceae que se distribuye ampliamente. Por lo tanto éstas semillas tienen menor probabilidades de presentar defensas químicas que los herbívoros locales no hayan encontrado con anterioridad, a diferencia si se trabajara con semillas de alguna otra familia de menor distribución geográfica.

**Depósito de semillas:** En cuanto sea posible deben de colocarse las semillas en depresiones naturales del terreno, ya que se ha probado que la alteración del suelo aumenta la actividad de invertebrados en el área. Si no hubieran depresiones naturales en el terreno adecuadas para el estudio, se debe tratar de crear una depresión con la menor alteración de suelo posible. Esta depresión debe ser solo lo suficientemente profunda como para evitar que las semillas vuelen del lugar. Si es que hay una capa continua de hojas

marchitas o material vegetal, se debe de limpiar una pequeña área antes de depositar a las semillas en el suelo tratando de minimizar su alteración.

Colocar las semillas cada cinco metros a lo largo de una o más transectas en el sitio de muestreo. Por ejemplo: caminar 10 metros sobre una transecta y luego buscar una depreción adecuada en el suelo.

Asegurarse que los transectos queden en el mismo tipo de vegetación de donde provienen las semillas. Si fuera necesario, se deben de hacer varias transectas paralelas a lo largo del área de estudio.

**ESTABLECER LAS TRANSECTAS EN EL MISMO TIPO DE VEGETACION EN EL QUE SE ENCUENTRAN LAS PLANTAS ETIQUETADAS. SI FUERA POSIBLE, COLOCAR LAS SEMILLAS UN POCO ALEJADAS DE LA PLANTA EN ESTUDIO DE MODO A NO PISAR LAS SEMILLAS CUANDO SE MIDAN LAS HOJAS. SI ESTO NO FUESE POSIBLE, COLOCAR LAS SEMILLAS EN LA MISMA AREA QUE LA PLANTA ETIQUETADA PERO COLOCARLAS DESPUES DE ACABAR CON EL ETIQUETADO Y COLECTARLAS AL EMPEZAR EL TRABAJO EN EL DIA 14.**

**Selección de especies:** Las diasporas deben de colocarse al azar a lo largo de las transectas. Para ello, lo que hago es etiquetar las cintas reflectivas primero, luego las mezclo bien en una bolsa para después sacarlas al azar en cada sitio.

**El depósito de semillas:** Se deben colocar las semillas de cada especie en 10 sitios a lo largo de las transectas. Estas semillas deben de colocarse en el mismo día en que se etiquetan las hojas para el estudio de herbivoría. En cada sitio de depósito de semillas se debe colocar un escarbadientes en el centro de la depreción del terreno y colocar cinco diasporas de UNA ESPECIE dentro de unos 5 cm. del escarbadientes. Si las semillas son muy grandes como para caber en esta área se las pueden colocar más alejadas, asegurándose de que estén lo más cerca posible. Colocar las semillas directamente en el suelo de modo a imitar las condiciones naturales de la mejor manera posible. Colocar un pedazo de las cintas reflectivas a un metro de distancia, no tan cerca de las semillas de modo a no atraer o asustar a los depredadores, y no más lejos para que se pueda encontrar el sitio nuevamente.



*El perfecto depósito de semillas. Las semillas se encuentran todas cerca del escarbadientes y el suelo no está alterado.*

### **¿Cuándo se debe evaluar la eliminación de semillas?**

Si el sitio de muestreo en el que se está trabajando queda cerca de donde se han depositado las semillas en el día anterior, sería genial si se recorren las transectas al día siguiente de haber colocado las semillas en el suelo. Si este fuera el caso se debe de contar las diasporas presentes en cada sitio 24 horas (+/- 2 horas) luego de haber sido depositadas en el suelo sin perturbar a las semillas o reemplazar a las que faltasen. El conteo de las semillas luego de las 24 horas si bien es un buen dato que coleccionar no es esencial para el proyecto. Sin embargo es totalmente necesario obtener los datos del número de semillas restantes luego de 2 semanas luego de haberse colocado en el suelo.

### **¿Cómo se evalúan la eliminación de semillas?**

En cada sitio, caminar a lo largo de las transectas contando el número de semillas restantes dentro de 30 cm. del escarbadientes. Anotar las diasporas que faltan como “eliminadas”. Si las diasporas restantes fueron dañadas hasta el punto en donde la germinación se considere improbable (por ejemplo: si una proporción grande de las reservas se perdió, o si el embrión se encuentra seriamente dañado) se deben anotar a estas semillas como “dañadas”. Las diasporas que estén intactas se deben de anotar como “restantes”.

**NOTA:** Este método cuantifica la “eliminación” de semillas post dispersión, no la “depredación” de semillas post dispersión. Las técnicas que permiten seguir el destino de las semillas como por ejemplo el seguimiento por radio, requieren un trabajo muy intensivo de mucho costo como para utilizarse en un estudio de esta escala.

## **5) Abundancia de invertebrados**

Una de las cosas que se quiere determinar es cuántos herbívoros hay en cada sitio de muestreo. Lamentablemente no se podrán coleccionar datos de vertebrados ya que son difíciles de obtener, sin embargo se utilizarán datos existentes para cada sitio. Los invertebrados sin embargo pueden cuantificarse usando insecticidas de uso común.

### **¿Cuántas muestras se deben tomar?**

Se deben de muestrear tres ramas de las cuatro especies más abundantes cuatro veces al año (una vez en cada estación climática). El muestreo se debe de realizar por la mañana.

### **¿A cuánto follaje debo de rociar el insecticida?**

De manera a unificar el método a lo largo de las diferentes formas de crecimiento se ha decidido rociar insecticida en un área de follaje de 20 cm x 20 cm (400cm<sup>2</sup>). Para saber el número de hojas a rociar por cada especie, se debe dividir 400 entre el área promedio de la hoja de la especie en cuestión (en centímetros). El resultado es el número de hojas que debe de contarse para el rociado, comenzando desde el ápice de la planta, incluyendo las ramas laterales. Si la planta en cuestión tiene hojas muy pequeñas, se puede calcular el número de hojas a rociar a partir del número de hojas por cada 5 cm. de tallo de modo a facilitar el cálculo. En el caso de los pastos, rociar una área apropiada del limbo de la hoja (no cubrir las hojas con insecticida hasta la base de la misma). Para las especies de tallo achatados, utilizar el ancho promedio del tallo de esa especie y calcular a partir de ello la longitud de tallo necesario para obtener el tamaño de muestra necesario.

### **¿De qué manera se muestrean los invertebrados?**

Mezclar 30 ml. del insecticida concentrado en 5 litros de agua y colocar la mezcla en un rociador. Colocar cubiertas de polietileno bajo las ramas a ser tratadas con el insecticida tratando de no mover mucho a la planta para evitar que los invertebrados voladores abandonen la planta. Aplicar el insecticida sobre el follaje a ser tratado hasta dejarlo completamente mojado. Dejar que el insecticida gotee por unos cuantos minutos, luego sacudir el área tratada sobre la capa de polietileno para separar a los invertebrados adheridos a la planta. Por cada rama tratada, etiquetar un frasco de 70 ml. con el nombre del sitio de muestreo, fecha y especie de la planta. Luego utilizando un pincel “barrer” los invertebrados dentro del frasco. Agregar etanol al 100% de modo a guardar la muestra en por lo menos una concentración del 70% de mezcla.

### **¿Qué se hace con las muestras?**

Al final del estudio, empacar los frascos y entregarlos al coordinador del proyecto para que me los envíe por correo postal. Luego, las muestras se clasificarán en categorías generales (herbívoros, depredadores, omnívoros) y se cuantificarán el número y masa de los individuos. Guardar los frascos con muestras parados de modo a evitar pérdida de etanol.

### **6) Selección de individuos para el estudio**

La mayoría de los individuos en estudio se etiquetarán al inicio del proyecto. Sin embargo se deben reemplazar a los individuos que mueran durante el transcurso del año (a menos que estos individuos mueran de manera natural como parte de su ciclo vital). Se puede elegir cualquier individuo para el nuevo etiquetado en cuanto se encuentre a más de dos docenas de distancia de otra planta de la misma especie y que aparente sana y “normal” para su especie.

### **7) Al final del estudio**

En la última visita retirar todas las etiquetas twist-ties, cintas reflectivas, etiquetas, alambres, etc. de los sitios de muestreo. Este estudio no se repetirá en el futuro y además no quiero ser la responsable de abandonar objetos no biodegradables en todo el mundo.

### **8) Guía rápida**

En el primer día de campo cada persona debe de:

- Etiquetar o marcar las hojas para el estudio de herbivoría (3 hojas en cada una de las 4 ramas de las 5 plantas en estudio)
- Colectar semillas si se encuentran presentes y evaluar la depredación de semillas pre dispersión.
- Preparar las pruebas de eliminación de semillas post dispersión (por lo menos de las semillas modelos)
- Sacar fotos de hojas recientemente maduras si es que hubieran algunas.

En las siguientes recorridas de los sitios establecidos se debe de:

- Contar la proporción de semillas restantes de las pruebas de depredación de semillas
- Evaluar la herbivoría en las hojas intactas o completamente eliminadas que forman parte del estudio, y tomar fotografías de las hojas parcialmente dañadas.
- Rociar insecticida para el conteo de invertebrados.

### **9) ¿Preguntas?**

SI TIENES ALGUNA DUDA SOBRE CUALQUIER COSA, POR FAVOR PREGUNTA.

Si se trata de alguna pregunta fácil, lo puedes discutir con el coordinador local del proyecto. Recuerda que es totalmente indispensable que el muestreo se realice consistentemente a lo largo de todos los sitios ubicados alrededor del mundo. Prefiero que se pregunten cosas referentes a situaciones difíciles antes que se decida personalmente. Controlaré mi correo electrónico frecuentemente durante mis viajes a diferentes países y trataré de contestar los emails rápidamente. Durante este tiempo yo debería de tener acceso a internet semanalmente. Mi email es: [amoles@bio.mq.edu.au](mailto:amoles@bio.mq.edu.au)

## COMO ENVIAR LAS FOTOGRAFIAS

Si la conexión a internet es ineficiente, quema un par de copias en un CD, envíame uno por correo junto con los insectos al final del estudio y guarda el otro.

- 1) Si no se cuenta con el programa FTP, bajar AceFTP gratis de: <http://software.visicommedia.com/en/products/aceftpfreware/>. Para los que usan Macintosh: todavía no he encontrado un lugar de donde se pueda bajar gratuitamente este programa. Si alguien tiene alguna sugerencia haganmelo saber.

El resto de las instrucciones es para las personas que usan AceFTP, sin embargo se puede traducir a tu programa preferido sin muchas complicaciones. Las palabras claves van en **negritas**.

- 2) Establecer un nuevo perfil de conexión. En AceFTP se hace clic en la opción ARCHIVO, luego CONECTAR, y hacer clic en PERFIL NUEVO.

Llamar al sitio nuevo con un nombre práctico como: “Depósito de fotografías de herbivoría”

El **servidor** al que te tienes que conectar se llama: ITSCS02.OCS.MQ.EDU.AU (*hay un cero delante del 2, no la letra “o”*).

El **nombre del usuario** es: .worldherbivory.users.els.mq (*no te olvides de colocar el punto adelante*)

La contraseña es: herbivore

En el programa AceFTP, haz clic en el botón para conectarte al sitio y luego otro clic en el botón PRÓXIMO.

- 3) AceFTP no te preguntará cual archivo vas a utilizar.

El **archivo local** se refiere al archivo en el cual has colocado las fotografías de herbivoría. Este archivo lo puedes buscar en AceFTP al hacer clic en el icono de archivo a la derecha del botón que dice “archivo local”.

El **archivo remoto** es: /data2/els/bio/worldherbivory

- 4) Ahora te puedes conectar. En AceFTP se puede ingresar a este perfil al hacer clic en ARCHIVO, CONECTAR, y luego otro clic en la flecha de la derecha traerá la lista de sitios remotos incluyendo al sitio “Depósito de fotografías de Herbivoría” (o el nombre que se usó en el paso 2)
- 5) Para transferir las fotografías, seleccionar de los archivos locales el archivo relevante (en AceFTP se muestran en la ventana de la izquierda).

NOTA: Favor de nombrar a los archivos con el nombre correspondiente al sitio de muestreo y región de donde provienen. Incluir el mes cuando se tomaron las imágenes dentro del nombre del archivo indicando cuales fotografías son del inicio del trabajo y cuales corresponden al día 14.

Ahora, haz clic en la flecha del centro de la pantalla para transferir el archivo completo a la base de datos central. Favor de incluir el archivo en el envío de lo contrario sería confuso recibir 500 fotografías de cada sitio que no estén contenidas en archivo individuales.

- 6) La transferencia de las fotografías puede llevar mucho tiempo. Esto es normal. se pueden ver los archivos enviados en los archivos remotos. Sin embargo no se los podrán cambiar o borrar.

Esto es todo. Te puedes desconectar.

GRACIAS.