

¿QUE METODO ES MAS APROPIADO PARA LAS ESTIMACIONES DE DIVERSIDAD DE INVERTEBRADOS EN LA HOJARASCA DE BOSQUES RIPARIOS (CHACO, ARGENTINA)?

María E. GALASSI⁽¹⁾ y Alicia S.G. POI^(1,2)

RESUMEN: El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de los embudos Tullgren-Berlese, los extractores Winkler y las trampas de caída para capturar los invertebrados de la hojarasca de un bosque localizado en la planicie del río Paraná. Se registraron 9 clases y 26 órdenes de invertebrados. Los arácnidos (subclase Acari) fueron más abundantes que los colémbolos e insectos utilizando los métodos de Winkler y Tullgren-Berlese. Con la trampa de caída, Insecta fue el grupo más abundante. Los resultados sugieren una mayor similitud (95,27%) entre los métodos embudos Tullgren-Berlese y extractores Winkler, y una clara diferencia entre estos métodos y la trampa de caída, produciendo diferentes niveles de precisión taxonómica. Cada método fue selectivo para distintas familias de Coleoptera. Las curvas de acumulación de taxa calculadas para cada método no muestran una tendencia asintótica.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the efficiency of Tullgren-Berlese funnel, Winkler extractors, and Pitfall trap to capture invertebrates in forest litter located in the Paraná River floodplain. Nine classes and 26 orders of invertebrates were recorded. Arachnids (subclass Acari) were more abundant than springtails and insects using Winkler and Tullgren-Berlese methods. Using pitfall trap, Insecta was the most abundant group. The results suggest more similarity (95.27%) between the Tullgren-Berlese and Winkler extractor and a clear difference between both methods and the pitfall trap. Each method was selective for different families of Coleoptera. The taxa accumulation curves calculated for each method does not show an asymptotic tendency.

Palabras claves: fauna del suelo, invertebrados, ríos de América del Sur, Argentina.

Key words: soil fauna, invertebrates, South American rivers, Argentina.

INTRODUCCIÓN

El suelo del bosque se caracteriza por su rica fauna de microorganismos e invertebrados, que juegan un papel clave en la descomposición de la materia orgánica, ciclo de nutrientes, aireación y fertilización del suelo (Ribeiro *et al.*, 1992; Harada y Bandeira, 1994).

Hay poca información sobre los bosques riparios, especialmente en los ríos de América del Sur. En la llanura de inundación del Amazonas (Irmeler, 1975; Adis, 1984, 1997), la fauna de invertebrados en el suelo del bosque es abundante y tiene diferentes estrategias de supervivencia. No hay información sobre invertebrados de la hojarasca en la planicie de inundación del Paraná. Esto significa que muchas generalizaciones sobre los humedales ribereños en América del Sur se han hecho sobre la base de los humedales de Europa y América del Norte.

(1) Departamento de Biología, Universidad Nacional del Nordeste, Av. Libertad 5470, (3400) Corrientes, Argentina. E-mail: megalassi@gmail.com

(2) Centro de Ecología Aplicada del Litoral, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Ruta 5, km 2,5, (3400) Corrientes, Argentina.

Diferentes técnicas son de uso frecuente para colectar los invertebrados de la hojarasca. El extractor Winkler ha sido mencionado como un método exitoso para la recolección de invertebrados (Fisher, 1999; Kalif y Moutinho, 2000), los embudos Tullgren-Berlese se utilizan para la extracción de un gran volumen de invertebrados en las muestras de suelo o la hojarasca (Southwood, 1996) y las trampas de caída son los instrumentos preferidos de captura de forma permanente para monitorear los invertebrados en la superficie del suelo y del espacio cercano a la tierra (Adis, 2002).

Un problema importante con las estimaciones de la riqueza de especies es su dependencia del esfuerzo de muestreo, que rara vez se documenta (Magurran, 2004). Un muestreo efectivo debe prestar atención a la distribución de la abundancia de especies, y el mayor esfuerzo se necesitará en situaciones donde la uniformidad es baja.

En este estudio se comparó la eficacia y selectividad de los tres métodos (extracción de Winkler, embudo Tullgren-Berlese y trampa de caída) para estimar la riqueza de los diferentes taxones de invertebrados en la hojarasca del bosque. Se evaluó la abundancia relativa de todos los invertebrados de la hojarasca a nivel de Orden y de las familias de coleópteros. Según Thomaz *et al.* (2008), el número de taxones (S) se prefiere antes que el número de especies cuando la resolución taxonómica varía entre los diferentes grupos.

Nuestra hipótesis es que una combinación de métodos será más eficaz para medir la diversidad de invertebrados en la hojarasca del bosque.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El estudio se llevó a cabo en un bosque en galería mixto ubicado en Antequera (Chaco) en las cercanías de la margen derecha del río Paraná (27°27'S; 58°55'W). Las especies dominantes fueron *Nectandra angustifolia* (Schrad) Nees et Mart. -laurel-, *Peltophorum dubium* (Spreng) TanB. -ibirá pita y *Banaraarguta* Briq. -granadillo. Los muestreos se realizaron durante el verano (su), el otoño (fa) y la primavera (sp) de 2005, periodo en el cual el bosque no estuvo conectado al río Paraná.

Procedimiento

Las muestras de suelo se obtuvieron de la capa orgánica (descompuesta y parcialmente descompuesta) del suelo del bosque en galería mixto. Tres métodos se utilizaron para capturar los invertebrados de la hojarasca: 1) un conjunto de cuatro muestras de la hojarasca se recogieron mediante un círculo de 22 cm de diámetro, que delimitó un área de 0,0441 m² (Adis, 2002a) para la extracción de los invertebrados con el embudo Tullgren-Berlese (n = 21); 2) la misma área y el mismo número de muestras se utilizaron para colectar las muestras para el extractor de Winkler (n = 21) y, 3) cinco transectas con trampa de caída para recoger invertebrados particularmente sobre la superficie del suelo y el suelo cada una con 16 trampas.

Las muestras sin fijar fueron llevadas al laboratorio y se colocaron en los embudos Tullgren-Berlese y los extractores Winkler. Para el primero, la hojarasca se colocó en un tamiz de alambre en la parte superior del embudo. Una lámpara eléctrica 25W se colocó encima del material, y un recipiente con alcohol al 70% por debajo del embudo. Los extractores Winkler quedaron suspendidos en un recinto al aire libre expuestos al clima local, sin exposición directa al sol. Están compuestos por un saco de malla dentro de un saco de tela cerrada con un contenedor en la parte inferior que contiene alcohol al 70%. El recuento se hizo con un microscopio estereoscópico y se registró la abundancia relativa (AR,%) y el número de individuos. El tiempo de extracción fue de 72 hs para los embudos de Tullgren-Berlese (Southwood, 1996), y 14 días para los extractores Winkler (Krell *et al.*, 2005).

La trampa de caída consiste de un frasco de vidrio de 18 cm de altura y 6 cm de diámetro, con la boca de sólo 5 cm de diámetro para evitar la huída de los animales, conteniendo 250 ml de una solución acuosa de ácido pícrico, protegidos por botellas plásticas, sellados ambos por medio de un aro de papel aluminio (Barber, 1931; Adis, 2002a). Cada orificio de captura fue protegido por un disco transparente de plástico duro, con su superficie superior revestida con una pintura mate incoloro mezclado con arena para reducir la reflexión. Dieciséis trampas fueron colocadas por transecta, 12 contenían 250 ml de ácido pícrico acuoso, y cada línea de trampas se complementó en el comienzo y el final con 4 trampas de caída, respectivamente, 2 que contiene 96% de etanol y 2 que contiene formaldehído acuoso al 3% (Adis, 2002a). Cada trampa estaba protegida para impedir la entrada de agua de lluvia. Una vez que se extrajeron las trampas, fueron llevados al laboratorio, donde se separó el contenido de cada una con un tamiz. Dos segmentos diferentes se obtienen de este modo para cada muestra (de 2 mm y 0,5 mm), que se conserva en alcohol al 70%. En cada fecha de muestreo y después de 7 días de estar en el campo, las trampas (n = 16) se retiraron completándose un total de 80 trampas.

Los invertebrados fueron identificados a nivel de orden y familias en el caso de los insectos. Se utilizaron las claves regionales de Da Costa Lima (1952, 1953, 1955, 1956), Morrone y Coscarón (1998), Adis (2002b), y Claps *et al.* (2008). Para la determinación de las larvas de Coleoptera se utilizó la clave propuesta por Böving y Craighead (1930). En este estudio, muchos insectos eran larvas, lo que hace difícil la identificación, especialmente en las aguas continentales subtropicales.

Análisis estadísticos

Se realizaron análisis de la varianza multivariado (MANOVA) con los datos de abundancia relativa (AR,%), el número de individuos, grupos taxonómicos y técnicas de muestreo. Un análisis de correspondencias (CA) se realizó entre la abundancia relativa de los diferentes taxa y las técnicas empleadas, y el coeficiente de similitud de Bray-Curtis se calculó para los órdenes de invertebrados y familias de coleópteros. Los dos primeros análisis se realizaron con el software Infostat 2,0, y el índice de similitud se calculó con el software BioDiversity Profesional 2. Utilizamos nivel de órdenes para calcular las curvas de acumulación de taxa con EstimateSWin820 (Colwell, 2006).

RESULTADOS

Un total de 50.185 individuos se obtuvieron de la hojarasca, de los cuales 46,48% fueron recolectados por el embudo Tullgren-Berlese, 40,89% con extractores Winkler y 12,62% con trampas de caída. Se registraron 9 clases y 26 órdenes de los cuales 8 clases y 20 órdenes fueron colectados utilizando el extractor Winkler, 8 clases y 21 órdenes con el embudo Tullgren-Berlese y 9 clases y 24 órdenes con la trampa de caída.

Utilizando el método de Winkler los arácnidos (subclase Acari) fueron más abundante que los colémbolos e insectos (Fig. 1a) en todas las estaciones del año, mientras que los oligoquetos, Crustacea, Gasteropoda y Chilopodase encontraron en baja proporción (<1%). Insecta estuvo representada por 10 órdenes, de los cuales Hymenoptera tuvo la mayor abundancia relativa (33,82%), seguido de Coleoptera (24,97%), Diptera, Trichoptera, Psocópteros, Lepidópteros y otros taxones con valores de abundancia relativa menores al 3%. Se registraron 19 familias de Coleoptera, siendo Staphylinidae y Ptilidae las más abundantes, seguidas por Curculionidae y Elateridae, y otras familias tuvieron abundancia relativa menores al 3% (Fig. 2).

Utilizando el embudo Tullgren-Berlese, los arácnidos fueron más abundantes que colémbolos e Insecta (Fig. 1b) en todas las fechas de muestreo. Gasteropoda y otros taxones en conjunto representaron el 5,74% de abundancia relativa. Los insectos fueron representados por 12 órdenes, con Coleoptera (36,68%) siendo el más representativo, seguido de himenópteros (30,21%), Diptera (17,98%) y otros taxones con abundancia relativa menores al 5%. Los coleópteros fueron representados por 21 familias (Fig. 2), siendo Staphylinidae la más dominante, seguido por Ptilidae. La abundancia relativa de Nitidulidae, Pselaphidae, Elateridae, Anobiidae, y otras familias ocurrieron menos del 9% (Fig. 2).

Con la trampa de caída, Insecta fue el grupo más abundante (Fig. 1c); Oligoquetos, Gasteropoda, crustáceos y otros taxones en conjunto representaron 23,74% de la abundancia total. Los insectos fueron representados por 14 órdenes, de las cuales Hymenoptera fue el dominante (47,78%), seguido de Coleoptera (28,88%), Dermaptera (3,56%) y otros taxones que tenía valores de abundancia relativamente menores al 3%. Coleoptera (Fig. 2) presentó 30 familias, siendo Staphylinidae la más abundante, seguida por Scolytidae, Scarabaeidae y Cryptophagidae.

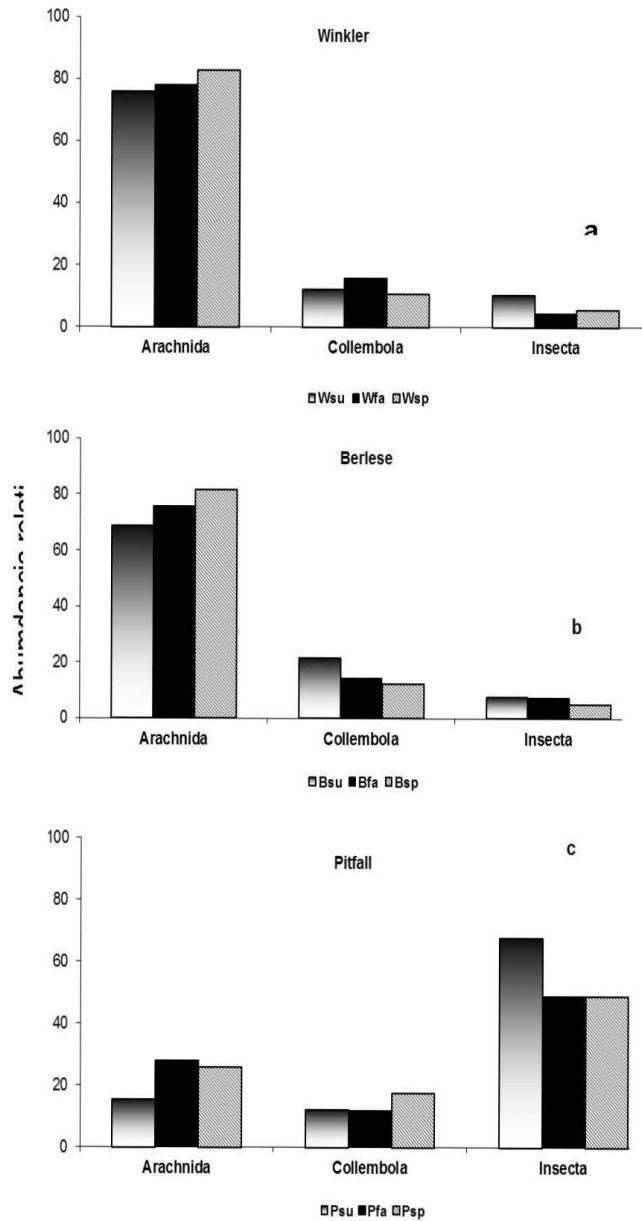


Fig. 1: Abundancia relativa (%) de los grupos más abundantes de invertebrados para cada uno de los métodos utilizados en cada estación (su: verano, fa: otoño ysp: primavera).

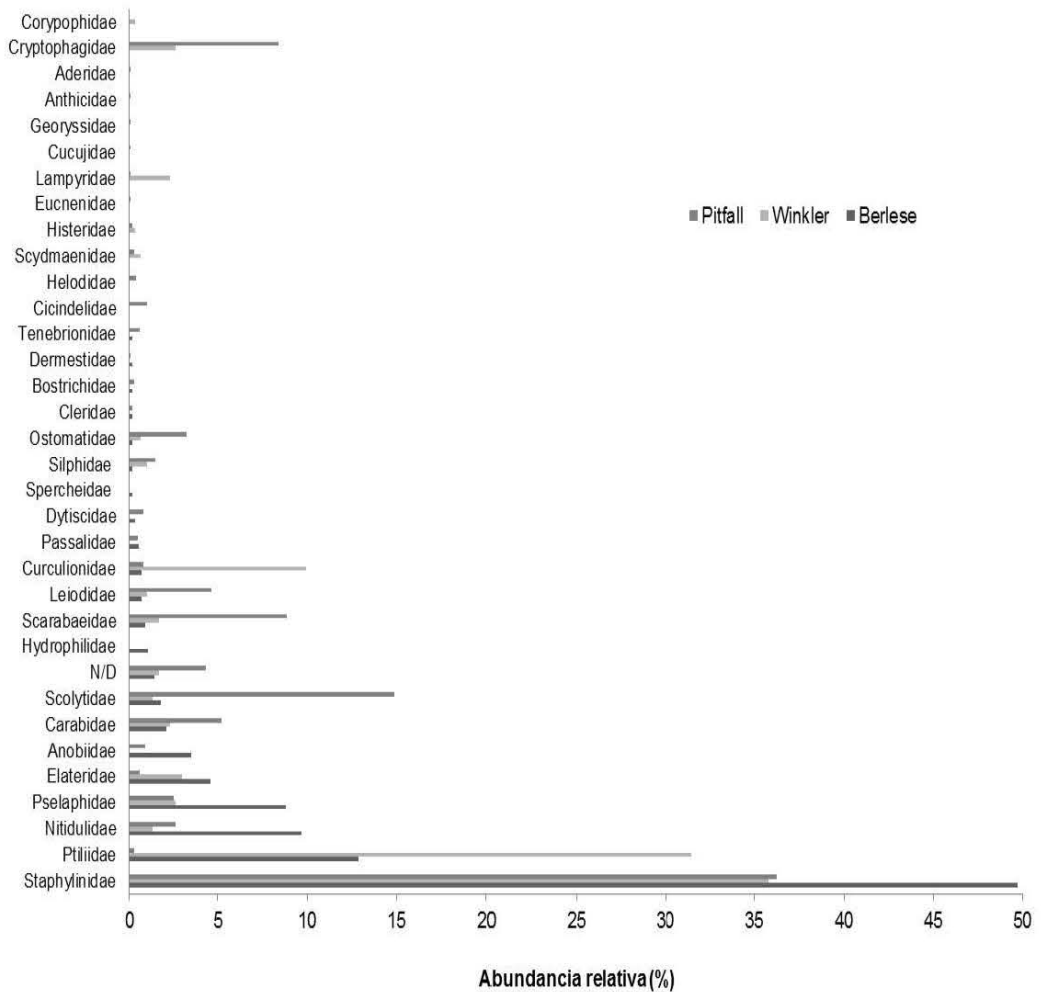


Fig. 2: Abundancia relativa (%) de las familias de coleópteroscolectadas con cada uno de los métodos utilizados.

El análisis de la varianza multivariado (MANOVA) mostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes métodos utilizados ($p = 0,0437$) y los grupos taxonómicos identificados ($p < 0,0001$) con respecto a sus valores de abundancia relativa y el número de individuos colectados con cada uno de los métodos.

El análisis de correspondencia entre la abundancia relativa de invertebrados y los métodos empleados se presenta en la Fig. 3. El primer eje del biplot indica (con una inercia de 60,61%) que los valores de abundancia relativa están relacionados con los métodos utilizados para capturar los invertebrados.

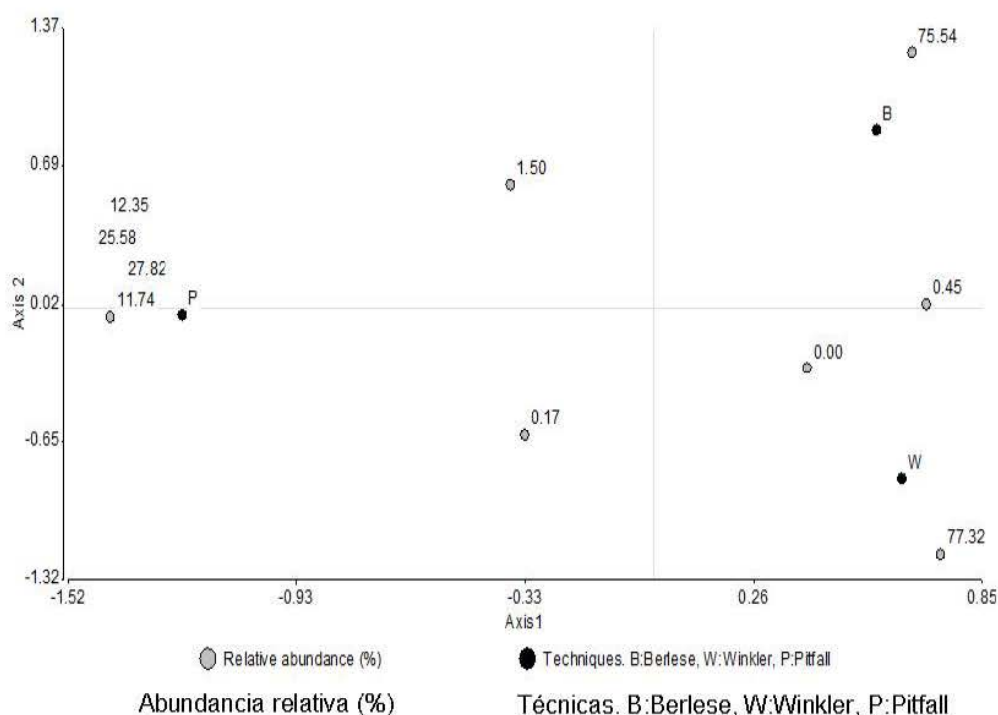


Fig. 3: Biplot obtenido con el análisis de correspondencia usando la abundancia relativa de todos los taxade cada uno de los métodos utilizados. B: Berlese, W: Winkler y P: Pitfall.

La similitud (índice de Bray-Curtis) entre el embudo Tullgren-Berlese y la extracción Winkler fue 95,27%. La trampa de caída fue separado de los otros métodos con 49,55% de similitud (Fig. 4a). Cuando el mismo índice fue aplicado a las familias de coleópteros se encontró una similitud del 63,04% entre el embudo Tullgren-Berlese y extracción Winkler. Entre los resultados de estas dos técnicas y los obtenidos con la trampa de caída había una similitud de 49,24% (Fig. 4b).

Las curvas de acumulación calculados para cada método no muestran una tendencia asintótica (Fig. 5). Las líneas de tendencia para cada técnica siguen una función logarítmica, y los valores de R^2 (coeficientes de determinación, R^2 Berlese = 0,9938, 0,9893 y R^2 Winkler = R^2 Pitfall = 0,9992) muy cercanos a 1 indican muy bien la función de ajuste a los datos de cada método.

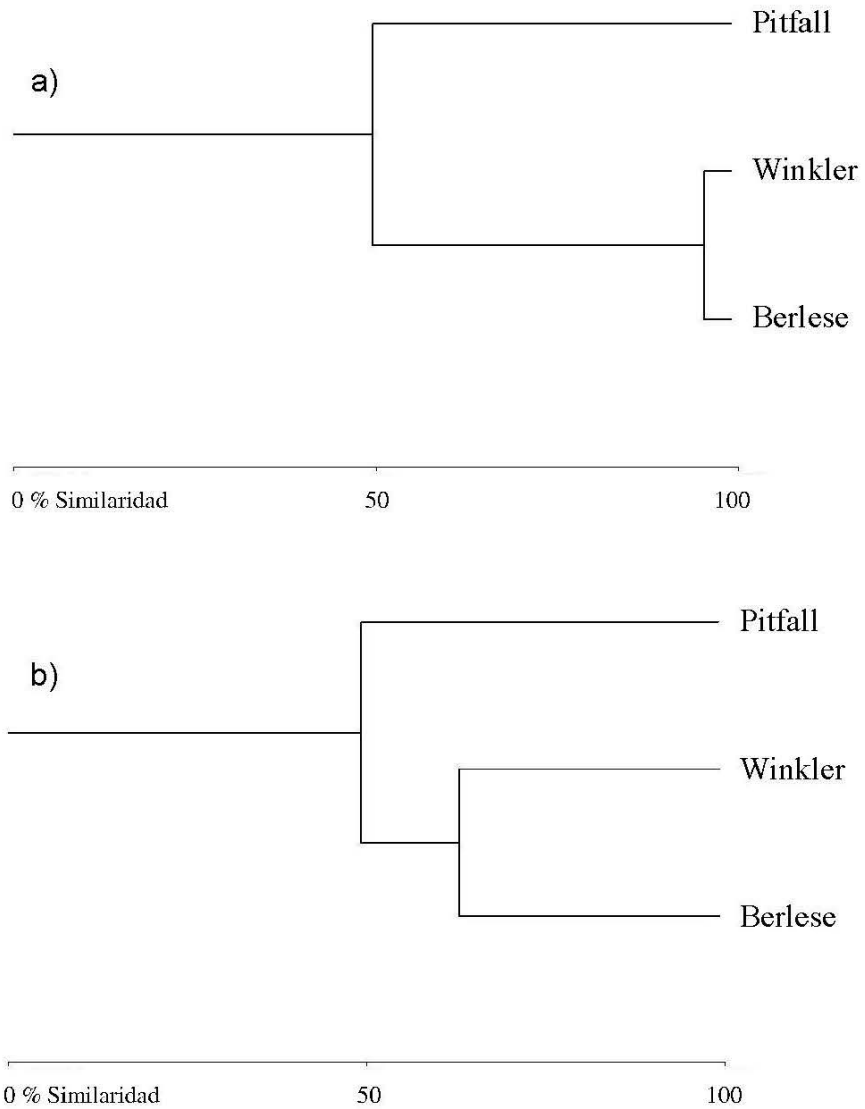


Fig. 4: Dendrograma de similitud (coeficiente de Bray-Curtis) entre los tres métodos empleados, a) utilizando la abundancia relativa de todos los taxa recogidos, b) utilizando la abundancia relativa de las familias de coleópteros.

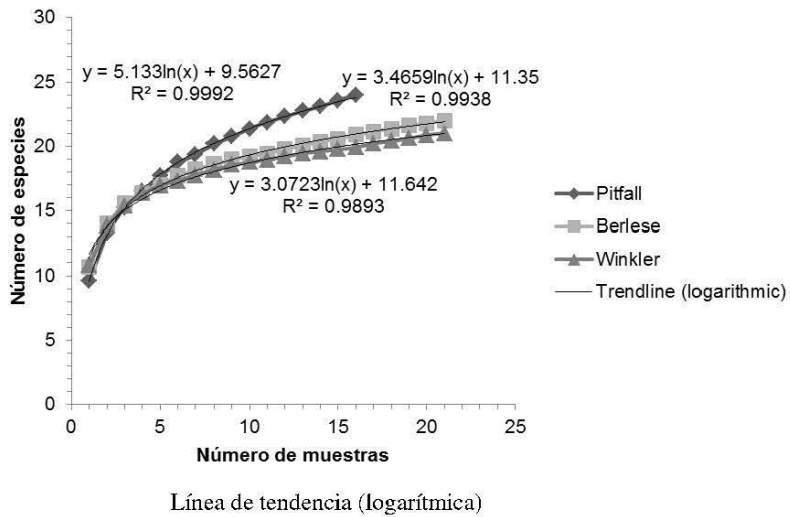


Fig. 5: Dendrograma de similitud (coeficiente de Bray-Curtis) entre los tres métodos empleados, a) utilizando la abundancia relativa de todos los taxa recogidos, b) utilizando la abundancia relativa de las familias de coleópteros.

DISCUSIÓN

Los resultados sugieren una mayor similitud entre los embudos Tullgren-Berlese y extractores Winkler, y una clara diferencia entre estos métodos y la trampa de caída. Debido al alto costo que implica la duplicación de muestras con estos dos métodos, los resultados sugieren que se podría omitir uno de los dos métodos. La mayor diversidad de clases y órdenes, y en el caso de los coleópteros, la mayor diversidad de familias, se encontró con la trampa de caída.

Según Fisher (1999), Klaif y Moutinho (2000), Krell *et al.* (2005) y Orsolon-Souza *et al.* (2011), los extractores Winkler son el método más eficiente para la captura de hormigas. En nuestro estudio la mayor abundancia relativa de Hymenoptera se encontró con las trampas de caída y los extractores Winkler.

Según Krell *et al.* (2005) la mayoría de los animales del suelo y la hojarasca son pequeños y numerosos, más fáciles de ver a simple vista, la extracción cuantitativa de los invertebrados del suelo requiere métodos especiales. La mayoría de ellos dependen de los requisitos previos que no siempre están disponibles en el sitio de estudio, tales como aparatos costosos y difíciles de manejar o suministro de electricidad. Los extractores Winkler son simples de usar, fáciles de transportar y no requieren de una infraestructura compleja.

Las curvas de acumulación de especies no se aproximan a la asíntota con ninguno de los métodos empleados si bien se observa una tendencia hacia la misma. Esto refuerza lo expuesto por Adis y Schubart (1984) en relación a la necesidad de combinar técnicas para la obtención de inventarios lo suficientemente completos respecto a la diversidad de

un área determinada. En concordancia con estos autores, para obtener datos sobre biodiversidad, fenología y función de los invertebrados terrestres en los ecosistemas Neotropicales, la combinación de varios métodos de colecta es conveniente, aún para efectuar comparaciones entre cortos períodos. La utilización de cada uno de los métodos en forma individual sesga la realidad al no capturar la mayor parte de los organismos presentes en la hojarasca. Esto se debe a que cada uno de los métodos es selectivo, por sí solo, en función del tamaño y actividad de los invertebrados presentes y por lo tanto no es factible recolectar la diversidad de organismos que habitan la hojarasca de un ecosistema como la planicie de inundación. Coleoptera es un buen ejemplo debido a la selectividad encontrada con diversos métodos (por ejemplo Lampyridae y Ptiliidae para extractor Winkler, Ostomatidae y Scolytidae con trampas de caída y Anobiidae y Staphylinidae con embudo Tullgren-Berlese). De acuerdo con Jiménez-Valverde y Hortal (2003) al no existir criterios objetivos que permitan decidir cuándo se considera un inventario lo suficientemente completo, y considerando que en la mayoría de los casos las curvas tienden a la asíntota, los investigadores suelen establecer límites arbitrarios para determinar si los muestreos han sido lo suficientemente exhaustivos. Tal vez los estudios futuros se beneficiarían de la incorporación de otro método de muestreo con el fin de registrar la mayor diversidad posible en un área determinada.

AGRADECIMIENTOS

Damos las gracias a Joachim Adis (en su memoria) por las sugerencias sobre este tema y enviando valiosa la bibliografía. Agradecemos a Juan José Neiff por su ayuda en el trabajo de campo y la lectura crítica del manuscrito. Agradecemos a los técnico de campo del Centro de Ecología Aplicada del Litoral (CECOAL). La investigación fue apoyada por el PIP 2011-2013 y PICT 2077/2008 (CONICET, Argentina).

BIBLIOGRAFÍA

- ADIS, J., 1984. Seasonal igapó'-forests or Central Amazonian black-water Rivers and their terrestrial arthropod fauna. *The Amazon. Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin*, Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht. Boston, II: 245-268.
- ADIS, J., 1997. Terrestrial invertebrates: Survival Strategies, Group Spectrum, Dominance and Activity Patterns. *The Central Amazon Floodplain*. Springer, 126: 299-317.
- ADIS, J., 2002a. Recommended sampling techniques. *Amazonian Arachnida and Myriapoda*, 555-576.
- ADIS, J., 2002b. *Amazonian Arachnida and Myriapoda. Identification keys to all classes, orders, families, some genera, and lists of known terrestrial species*. Pensoft Publishers, Sofia, 590 p.
- ADIS, J. y H.O.R. SCHUBART, 1984. Ecological research on arthropods in Central Amazonian forest ecosystems with recommendations for study procedures. In: *Trends in ecological research for the 1980s: NATO Conference Series*. Cooley JH, Golley FB (Eds.), Series I: Ecology. Vol. 7. Plenum Press, New York, USA. pp. 111-144.
- BARBER, H., 1931. Traps for cave inhabiting insects. *J. Elisha Mitchell Science Society*, 46:259-266.

- BÖVING, A.G. y F.C. CRAIGHEAD, 1930. An illustrated synopsis of the principal larval forms of the order Coleoptera. *Entomologica Americana, A Journal of Entomology*, XI: 351 p.
- CLAPS, L.E., G. DEBANDI y S. ROIG-JUÑENT, 2008. Biodiversidad de artrópodos argentinos. Volumen 2. Editorial *Sociedad Entomológica Argentina*, 615p.
- COLWELL, R.K., 2006. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 8. Persistent URL <purl.oclc.org/estimates>
- DA COSTA LIMA, A., 1952. *Insectos do Brasil. Coleópteros*. Escola Nacional de Agronomia. Serie didáctica 9, Tomo 7, 372 p.
- DA COSTA LIMA, A., 1953. *Insectos do Brasil. Coleópteros*. Escola Nacional de Agronomia. Serie didáctica 10, Tomo 8, 293 p.
- Da Costa Lima, 1955. *Insectos do Brasil. Coleópteros*. Escola Nacional de Agronomia. Serie didáctica 11, Tomo 9, 251 p.
- DA COSTA LIMA, A. 1956. *Insectos do Brasil. Coleópteros*. Escola Nacional de Agronomia. Serie didáctica 12, Tomo 10, 343 p.
- FISHER, B.L., 1999. Improving inventory efficiency: a case study of leaf-litter ant diversity in Madagascar. *Ecol. Appl.*, 9:714-731.
- HARADA, A.Y. y A.G. BANDEIRA, 1994. Estratificação e densidade de invertebrados em solos arenosos sob floresta primária e plantios arbóreos na Amazonia Central durante a estação seca. *Acta Amazonica* 24:103-118.
- IRMLER, U., 1975. Ecological studies on the aquatic soil invertebrates in the forests of Central Amazonia. *Amazoniana*, 5:37-409.
- JIMÉNEZ-VALVERDE, A. y J. HORTAN, 2003. Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos. *Revista Ibérica de Aracnología*, 8:151-161.
- KALIF, K.A.B. y P. MOUTINHO, 2000. Comparison of three ant-sampling methods in a tropical forest in eastern Amazonia. *Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi Nova Sér. Zool.*, 16:75-81.
- KRELL, F.T.; A.Y.C. CHUNGA; E. DEBOISE; P. EGGLETON; A. GIUSTI y K. INWARDA, 2005. Quantitative extraction of macro-invertebrates from temperate and tropical leaf litter and soil: efficiency and time-dependent taxonomic biases of the Winkler extraction. *Pedobiologia*, 49:175-186.
- MAGURRAN, A.E., 2004. *Measuring biological diversity*. Ediciones Blackwell Publishing.
- MORRONE, J.J. y S. COSCARÓN, 1998. Biodiversidad de artrópodos argentinos. Una perspectiva biotaxonomica. Editorial *Sociedad Entomológica Argentina*, 599 p.
- ORSOLON-SOUZA, G.; C.E.L. ESBÉRARD; A.J. MAYHÉ-NUNES; A.B. VARGAS; S. VEIGA-FERREIRA y E. FOLLY-RAMOS, 2011. Comparison between Winkler's extractor and pitfall traps to estimate leaf litter ant richness (Formicidae) at a rainforest site in southeast Brazil. *Braz J Biol.*, 71 (4): 873-880.
- RIBEIRO, S.P.; D.J. DOMINGOS; R.C. FRANCA y T.A. GONTIJO, 1992. Densidade e composicao da fauna de invertebrados de solo de cerrado no estado de Minas Gerais. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 21:203-214.
- SOUTHWOOD, T.E.R., 1996. *Ecological Methods*. Chapman Hall, Gran Bretaña.
- THOMAZ, S.M.; E.D. DIBBLE; L.R. EVANGELISTA; J. HIGUTI y L.M. BINI, 2008. Influence of aquatic macrophyte habitat complexity on invertebrate abundance and richness in tropical lagoons. *Freshwater Biol.*, 53: 358-367.