

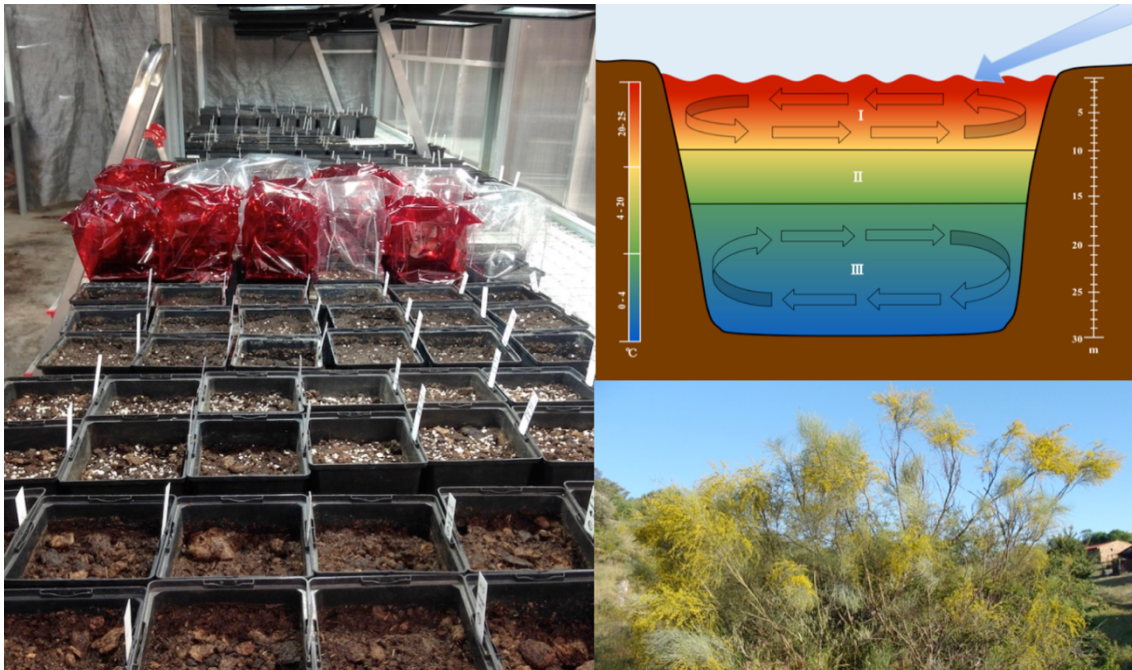
MANUAL DE PRÁCTICAS

ECOLOGÍA DE POBLACIONES Y COMUNIDADES

GRADO EN BIOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA



UNIVERSIDAD
DE GRANADA



COORDINADO POR ELOÍSA RAMOS-RODRÍGUEZ Y
MANUEL JESÚS LÓPEZ-RODRÍGUEZ

MANUAL DE PRÁCTICAS DE ECOLOGÍA DE POBLACIONES Y COMUNIDADES

GRADO EN BIOLOGÍA

Coordinado por

Eloísa Ramos-Rodríguez y Manuel Jesús López Rodríguez

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

MANUAL DE PRÁCTICAS DE ECOLOGÍA DE POBLACIONES Y COMUNIDADES.

GRADO EN BIOLOGÍA

Todos los derechos reservados

© Autores (en orden alfabético):

José María Conde-Porcuna

José Antonio Hódar Correa

Manuel Jesús López-Rodríguez

Juan Manuel Medina Sánchez

Eloísa Ramos-Rodríguez

Rafael Rubio de Casas

Manuel Villar-Argaiz

Imagen de portada: Manuel Jesús López-Rodríguez

***Los científicos que formulan hipótesis deberían construir sobre
ellas grandes edificios que las alberguen***

Jean Piaget

CONTENIDO

EN EL LABORATORIO: MIRA POR TU SEGURIDAD, <i>por Servicio de Salud y Prevención de Riesgos Laborales de la Universidad de Granada</i>	1
PRÁCTICA 1.	
Interacción de factores ecológicos: diseño experimental, análisis y discusión de resultados, <i>por Manuel Jesús López-Rodríguez, José María Conde-Porcuna, Eloísa Ramos-Rodríguez y Rafael Rubio de Casas</i>	3
PRÁCTICA 2.	
Abundancia y distribución espacial de dos plantas leñosas del matorral mediterráneo, <i>por José A. Hódar</i>	29
PRÁCTICA 3.	
Estructura térmica de los ecosistemas acuáticos, <i>por Manuel Villar-Argaiz y Juan Manuel Medina Sánchez</i>	37



EN EL LABORATORIO: MIRA POR TÚ SEGURIDAD

1. AL ENTRAR VISUALIZA LAS VÍAS DE EVACUACIÓN DEL LABORATORIO, EXTINTORES, DUCHAS LAVAOJOS Y OTROS ELEMENTOS DE SEGURIDAD

2. ANTES DE MANIPULAR CUALQUIER PRODUCTO QUÍMICO, LEE DETENIDAMENTE SU ETIQUETA Y FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD. NO USES PRODUCTOS DESCONOCIDOS Y ATIENDE A SUS PELIGROS

Pictogramas de peligro



3. NO COMAS, NO BEBAS, NO FUMES, NO HUELAS, INHALES O PRUEBES PRODUCTOS QUÍMICOS SI NO ESTÁS DEBIDAMENTE INFORMADO. LÁVATE SIEMPRE LAS MANOS AL SALIR



4. NO PIPETEEES NUNCA CON LA BOCA

5. REvisa el material de vidrio en tus prácticas, NO USES EQUIPOS DE FUNCIONAMIENTO DESCONOCIDO

6. ES OBLIGATORIO EL USO DE BATA, CALZADO CERRADO Y GAFAS DE SEGURIDAD. LOS GUANTES TAMBIÉN CUANDO ASÍ SEAN REQUERIDOS EN LA PRÁCTICA

7. NADA DE BROMAS, JUEGOS, EMPUJAR O GRITAR. NO HAGAS EXPERIMENTOS SIN AUTORIZACIÓN DEL PROFESORADO

8. REALIZA SIEMPRE LAS OPERACIONES DE CALENTAMIENTO, A PRESIÓN Y TRASVASES BAJO VITRINA. EVITARÁS ASÍ UNA LESIÓN A TI MISMO O A ALGUIEN PRÓXIMO

9. MANTEN SIEMPRE LIMPIA Y ORDENADA TU ÁREA DE TRABAJO. EVITA OBJETOS INNECESARIOS POR MEDIO: CARPETAS, MOCHILAS, MÓVILES, ETC



10. DEPOSITA EN LOS RECIPIENTES DESTINADOS PARA SU RECOGIDA: RESÍDUOS DE PRODUCTOS QUÍMICOS, VIDRIO EN MAL ESTADO Y JERINGUILLAS Y, EN GENERAL, CUALQUIER RESIDUO.

Contacto: ssprl@ugr.es

Área de Higiene Industrial



**INTERACCIÓN DE FACTORES ECOLÓGICOS:
DISEÑO EXPERIMENTAL, ANÁLISIS ESTADÍSTICOS
Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

MANUEL JESÚS LÓPEZ-RODRÍGUEZ, JOSÉ MARÍA CONDE-PORCUNA, ELOÍSA
RAMOS-RODRÍGUEZ Y RAFAEL RUBIO DE CASAS
Departamento de Ecología, Universidad de Granada

1. INTRODUCCIÓN

Los experimentos son una herramienta esencial en ciencias de la vida en general, y en Ecología en particular, que nos permite comprobar ideas o “sospechas” sobre determinados procesos o interacciones entre organismos, así como el efecto de factores ecológicos sobre éstos. Para poder confirmar observaciones previas que realicemos en la naturaleza y poder determinar, por ejemplo, que un factor ambiental está condicionando el crecimiento de un organismo, debemos poder aislar esa relación entre factor y organismo y cuantificarla siguiendo un protocolo repetible por cualquier otro investigador. Este procedimiento lo tenemos que llevar a cabo de manera que evitemos cualquier factor que pueda afectar a la variable que estamos midiendo (más allá del que nos interesa) y diferenciar el efecto de nuestro factor de un posible efecto aleatorio. Asimismo, debemos ser capaces de presentar los resultados de nuestro estudio a la comunidad científica usando herramientas para determinar el grado de fiabilidad de nuestras conclusiones. Para esto último utilizamos la estadística.

Objetivo

El objetivo de estas prácticas es tomar contacto directo con el método científico (Figura 1) a través del diseño de un experimento para responder una pregunta relacionada con el temario teórico de la asignatura.

Para ello, los estudiantes, en grupos de 3-4 personas, comenzarán planteando hipótesis dentro de la temática propuesta por el profesor, que en nuestro caso será la interacción de factores abióticos y bióticos. Tras esto, diseñarán un experimento encaminado a responder esa pregunta (y a rechazar o no su hipótesis nula), lo llevarán materialmente a cabo y analizarán los resultados estadísticamente, para finalmente realizar una exposición a modo de ponencia científica en la que resuman el experimento realizado, los principales resultados hallados y la discusión de los mismos. Todo esto seguirá el esquema estándar de un artículo científico.

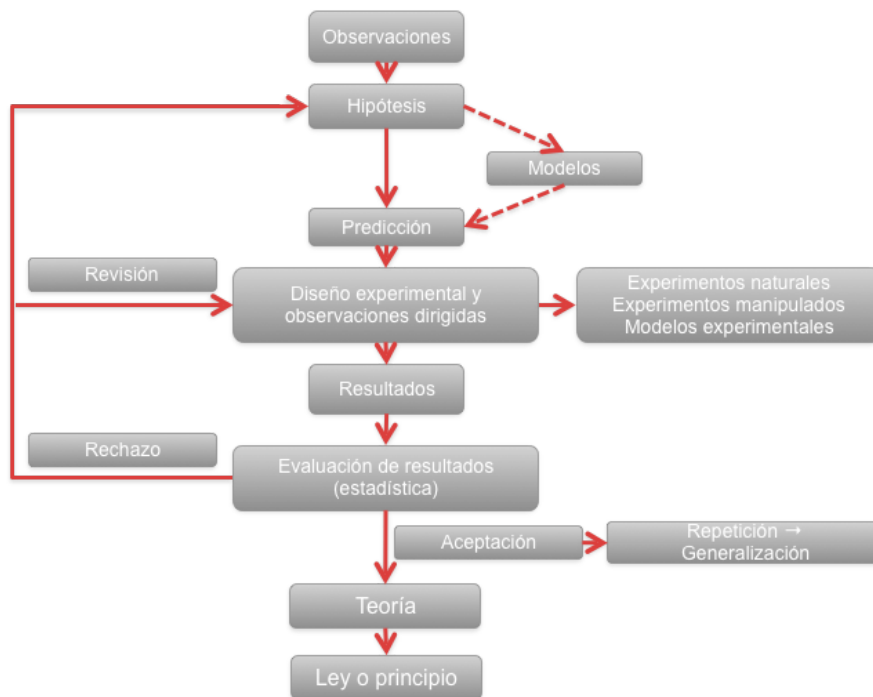


Figura 1. Esquema general del método científico hipotético-deductivo.

Terminología básica

A continuación, vamos a presentar algunas definiciones de términos que se utilizarán a lo largo del presente guion y de todas las prácticas, por lo que el estudiante debe conocerlos y utilizarlos correctamente:

- ⇒ **Experimento:** observación natural o manipulada encaminada a la verificación de una hipótesis.
- ⇒ **Hipótesis:** proposición tentativa que sugiere la explicación de un fenómeno (ecológico) sujeta a verificación.
- ⇒ **Sujeto experimental:** elemento sobre el que queremos determinar el efecto de una variable. Es la unidad de estudio.
- ⇒ **Variable respuesta (variable dependiente):** variable que se mide y que se supone que depende del factor (o los factores) que se controla(n).
- ⇒ **Factor (variable independiente):** variable que se manipula y que se presume que influye sobre la variable.
- ⇒ **Niveles:** variaciones o valores del factor.

- ⇒ **Tratamientos:** combinaciones de los distintos niveles de los factores, cuando hay varios. Si tan sólo se trabaja con un factor, los niveles del mismo serán los tratamientos.
- ⇒ **Unidad experimental:** división más pequeña del material experimental tal que dos unidades cualesquiera pueden recibir dos tratamientos distintos (no es siempre igual a la unidad de estudio – i.e., al sujeto experimental; por ejemplo, una maceta sería una unidad experimental en la que habría muchos sujetos experimentales -plantas en nuestro caso-).
- ⇒ **Réplica:** unidades experimentales que reciben el mismo tratamiento.
- ⇒ **Hipótesis nula (H_0):** hipótesis en la que se expresa que no hay efecto del factor considerado sobre la variable respuesta medida. Es la que se suele buscar refutar. Por ejemplo, “no hay efecto de la temperatura sobre el crecimiento de las plantas”.
- ⇒ **Hipótesis alternativa (H_1):** hipótesis en la que se recoge el posible efecto del factor sobre la variable respuesta (medida). Siguiendo el ejemplo anterior, “sí hay efecto de la temperatura sobre el crecimiento de las plantas”. (Importante: en la formulación más sencilla de hipótesis no consideramos que la temperatura afecte positivamente o negativamente al crecimiento, sólo que afecta, por lo que, en nuestro caso, no debemos formular hipótesis alternativas del tipo “la temperatura *acelera* el crecimiento de las plantas”. Para hacer esto último tendríamos que realizar análisis estadísticos y consideraciones que se salen del objetivo de estas prácticas).
- ⇒ **Modelo:** expresión verbal y/o matemática de una hipótesis.
- ⇒ **Experimento balanceado (vs. no balanceado):** experimento en el que existen el mismo número de réplicas en todos los tratamientos considerados. También se puede denominar **equilibrado**.
- ⇒ **Control:** unidad experimental (réplica) que no recibe tratamiento alguno, o cuyo tratamiento es el más similar a las condiciones naturales. Proporciona la referencia con la que se compara el resto.

De igual modo vamos a recoger algunos términos estadísticos básicos que se utilizarán asiduamente a lo largo del semestre:

- ⇒ **Valor p :** significación estadística. Es la probabilidad de obtener los resultados observados (o más extremos) si la hipótesis nula es correcta. (Importante: NO es la probabilidad de que la hipótesis nula sea correcta).

Generalmente, en Ecología y otras ciencias afines, se asume un valor umbral de 0,05 por encima del cual se asume que no hay significación estadística. Si la $p > 0,05$ no se puede descartar que los resultados sean producto del azar.

- ⇒ **Intervalo de confianza:** intervalo dentro del cual se encontraría un valor medido si el experimento se repitiera un número infinito de ocasiones, es decir, si se tomarán muestras, se analizarán los datos y se construyeran esos intervalos muchas veces. El porcentaje de ese intervalo nos indica en qué porcentaje ocurriría lo anteriormente mencionado (por ejemplo, un intervalo de confianza del 95% nos dice que, si repitiéramos el experimento y el análisis muchas veces y obtuviéramos un intervalo de confianza cada vez, el 95% de esos intervalos incluiría las mismas medidas poblacionales).

2. METODOLOGÍA

1.1. *Marco conceptual y material disponible*

El marco en el que se englobarán los experimentos será el de interacción de factores abióticos y/o bióticos, tema estudiado en la teoría de la asignatura. Como **sujetos experimentales** se tomarán especies vegetales de entre las siguientes suministradas por el Departamento en semillas: trigo, garbanzo, alpiste, col, guisante y maíz. Por tanto, las medidas a realizar y a utilizar como variables respuesta se tomarán sobre estos sujetos. Asimismo, se proveerá a cada grupo de trabajo de un máximo de 18 macetas medianas de aproximadamente 10 x 10 x 14 cm (ancho x largo x profundidad), turba rubia, perlita y sustrato universal, material que podrán utilizar a discreción. Para la toma de medidas de las **variables respuesta** consideradas por cada grupo habrá disponible cintas métricas y balanzas de precisión. Esto condiciona que las principales variables respuesta a considerar tengan que estar relacionadas con la altura de las plantas y/o su biomasa, si bien se puede utilizar otras que no requieran de material para ser medidas (por ejemplo, el número de individuos, nº de hojas por individuo, etc.).

Los experimentos se desarrollarán en el interior de un invernadero situado en la Facultad de Ciencias, por lo que los principales **factores abióticos** que se podrán controlar serán la luz, nutrientes (mediante la adición o no del fertilizante disponible) y el agua, si bien los estudiantes podrán plantear factores distintos si ellos pueden suministrar el material necesario. Como **factores bióticos**, los principales que se pueden considerar sería la interacción planta-animal (herbivoría, ya que la escala

temporal del experimento restringirá otras interacciones de este tipo) y la interacción entre especies de plantas distintas (facilitación o competencia).

1.2. Escala temporal de los experimentos

La duración de estas prácticas es de alrededor de tres meses, de manera que los experimentos se deberán diseñar de acuerdo a esa escala temporal, intentando que los factores considerados reflejen sus efectos en las variables respuesta en el momento de la toma de datos, es decir, en unas cuatro semanas (Tabla 1).

Tabla 1. Secuencia de actividades que se desarrollarán a lo largo del semestre en las presentes prácticas (para fechas concretas acudir a la información proporcionada por cada profesor/a de teoría).

Semana 1	Asistencia a tutoría obligatoria (evaluable) con profesor/a de prácticas
Semana 2	Exposición de hipótesis y diseño experimental
Semana 3	Sembrar semillas
Semana 4	Regar (medidas voluntarias)
Semana 5	Análisis de datos 1 (regar; medidas voluntarias)
Semana 6	Regar (medidas voluntarias)
Semana 7	Análisis de datos 2
Semana 8	Regar (medidas voluntarias)
Semana 9	Registro de datos (fin del experimento)
Semana 10	Análisis de datos 3
Semana 11	Preparación autónoma de seminarios en grupo
Semana 12	Exposición de seminarios

1.3. Protocolo a seguir

A continuación, se detalla la secuencia lógica de actividades a realizar por los estudiantes para completar las prácticas con éxito. Dentro de estas actividades se han considerado tanto las que forman parte del trabajo autónomo de los alumnos (por ejemplo, búsqueda bibliográfica, planteamiento de hipótesis, etc.) como las actividades oficiales contempladas en el calendario académico (toma de datos, análisis, etc.).

1.4. Formulación de hipótesis

Como se mencionó en apartados anteriores, los estudiantes trabajarán en grupos de 3-4 personas para resolver una pregunta común que se planteen. No obstante, cada miembro del grupo deberá plantear sus propias hipótesis (nula y alternativa) para responder a preguntas concretas dentro del tema general de su seminario. Las hipótesis seguirán la siguiente formulación (sustituir los factores y la variable respuesta por los escogidos por los estudiantes en su experimento en particular):

- ⇒ **Hipótesis nula (H_0):** no hay efecto de la interacción entre el FACTOR 1 y el FACTOR 2 sobre la VARIABLE RESPUESTA.
- ⇒ **Hipótesis alternativa (H_1):** hay efecto de la interacción entre el FACTOR 1 y el FACTOR 2 sobre la VARIABLE RESPUESTA.

Para conseguir una hipótesis por persona se puede, por ejemplo, cambiar las variables respuesta o utilizar sólo parte de los tratamientos del experimento global, siempre y cuando las preguntas (e hipótesis) tengan un sentido biológico. Para conseguir esto último es muy importante que el grupo haga una búsqueda bibliográfica sobre su tema particular y establezca los antecedentes que existen en la literatura científica y qué se quiere avanzar con su estudio, dentro de las limitaciones logísticas de las prácticas. Asimismo, se puede partir de conocimientos u observaciones previas que se tengan de ciertos aspectos u organismos.

En este primer paso se decidirán, por tanto, los organismos objeto de estudio, qué variables se van a utilizar como factores y cuáles como respuesta.

1.5. Definición de tratamientos

En una segunda fase, una vez elegidas las variables independientes y dependientes, se definirán los niveles de cada uno de los factores considerados, estableciendo así los tratamientos que tendrá el experimento.

1.6. Definición de variables respuesta

Posteriormente a la definición de los tratamientos, y antes de comenzar el experimento, se determinará la forma en que se van a medir cada una de las variables respuesta considerada. Si bien parece una nimiedad, en ocasiones no está tan claro cómo medir, por ejemplo, la altura de una planta (¿hasta el ápice de la hoja más alta?, ¿hasta la base del peciolo?, ¿hasta la base del limbo?) o su biomasa (¿cogemos la planta con raíces o sin ellas?, ¿cómo quitamos la tierra de las raíces sin perder biomasa

radicular por accidente). De igual modo, en este momento tendremos que determinar la periodicidad con la que se tomarán datos de nuestros sujetos experimentales. Si bien sólo hay una fecha oficial considerada (Tabla 1), es posible acudir al invernadero cualquier día de lunes a viernes, en horario de 9 a 14h, de forma voluntaria para tomar cuantos datos se crean convenientes. (Importante: al término de estos periodos voluntarios de toma de datos es esencial dejar la puerta del invernadero bien cerrada, pues en caso contrario las condiciones de los experimentos se verían afectadas).

Otro aspecto importante a considerar en este momento es el número de individuos que se colocarán en cada maceta para tener un número suficientemente representativo de ellos en cada una sin que haya un efecto hacinamiento. Este paso será de vital importancia para que no perdamos unidades experimentales enteras por la mortalidad de sus individuos cuando estos son pocos, con las consecuencias que ello tiene en los análisis estadísticos (podríamos pasar de un experimento balanceado a uno no balanceado, lo cual requiere herramientas específicas para su análisis).

1.7. Toma de datos

Ya sea en la semana destinada oficialmente a ello o en las ocasiones voluntarias en las que el grupo tome datos, es imprescindible llevar un control escrito de cualquier incidencia, dato anómalo que se detecte, particularidad que llame la atención, etc., pues esto nos puede servir en el futuro para discutir los resultados obtenidos. Asimismo, debemos tener copias de seguridad de las libretas de campo (por ejemplo, haciéndoles fotografías con el teléfono) y de los archivos donde vayamos copiando los datos, si así lo hacemos. La toma de datos, como casi cualquier fase de un experimento, debería ser totalmente aleatoria, esto es, cada persona implicada en la toma de datos cogerá una maceta al azar de entre todas las disponibles y medirá la variable respuesta correspondiente (es muy importante que no se haga un reparto de los tratamientos entre personas de la forma “Pepito siempre se encarga del tratamiento A y Juanita del B”, puesto que si existieran diferencias entre esos tratamientos nunca podríamos asegurar que es consecuencia del factor y no de los investigadores, e igual razonamiento se aplicaría si no encontrásemos diferencias).

Es muy importante que durante la toma de datos no se alteren los experimentos de los compañeros (cuidado con echar agua por descuido en otras macetas, derribar maceteros, etc.).

1.8. Introducción de los datos en un programa informático

A poder ser de forma regular, o si no al término del experimento, se introducirán los datos en algún programa informático donde los podamos tener organizados (por ejemplo, Microsoft Excel, LibreOffice Calc, etc.). Estos datos serán los que

analizaremos estadísticamente y representaremos gráficamente en las sesiones de “Análisis de datos” (Tabla 1). Para ello, utilizaremos el software R, de licencia abierta, y algunos de sus paquetes de uso más frecuente. Asimismo, se puede usar RStudio, que presenta una interfaz más cómoda y amigable. Las instrucciones para descargar e instalar R se pueden encontrar en el siguiente enlace: <https://cloud.r-project.org/>. Opcionalmente, se puede descargar RStudio desde el siguiente enlace: <https://rstudio.com/products/rstudio/download/>. En YouTube, se pueden encontrar instrucciones detalladas y fáciles en el canal “R Para Todos”, principalmente en las partes 1 y 2: https://www.youtube.com/watch?v=UCPr3W_wR5I y <https://www.youtube.com/watch?v=8Ch83so7VHA>, respectivamente.

2. RESULTADOS

Sea cual sea el programa elegido para registrar los datos del experimento, todos ellos se importarán a R, en el que los analizaremos y con el que elaboraremos los gráficos oportunos. Teniendo en cuenta que el marco general de las prácticas es la interacción de factores, los datos se analizarán con un **ANOVA (ANalysis Of VAriance) multifactorial** (de dos factores en nuestro caso). No hay que confundir este ANOVA multifactorial con un ANOVA multivariante, este último más complejo y utilizado sólo cuando queremos ver el efecto de uno o varios tratamientos sobre un conjunto de varias variables respuesta. Dado que, probablemente, cada grupo haya medido diversas variables respuesta (por ejemplo, altura y biomasa), se repetirá este análisis estadístico de forma independiente con cada una de ellas.

La introducción de los datos en la hoja de cálculo se hará por **columnas**, recogiendo en la primera de ellas los niveles de uno de los factores considerados, en la segunda los niveles del otro factor (de forma que queden representados todos los tratamientos del experimento como combinación de la columna primera y segunda), y en las sucesivas columnas recogeremos las variables respuesta. Es importante señalar que cada **fila** representa una unidad experimental (una maceta), por lo que el valor que pongamos de una variable respuesta en una fila representará el valor medio de esa variable para los sujetos experimentales de esa unidad experimental (Tabla 2).

Una vez introducidos de este modo, podemos comenzar los análisis. La secuencia de trabajo será 1) **resumen de los datos en gráficos y en tablas** (análisis descriptivo o exploratorio); y 2) **análisis estadístico inferencial**, donde aplicaremos el **ANOVA de dos factores** (también conocido como ANOVA de dos vías), previa comprobación del cumplimiento de sus asunciones.

2.1a. Importación de datos y observación de su estructura

El primer paso para comenzar dicha secuencia es importar los datos a R. Para hacerlo fácilmente, deberemos guardar la hoja de cálculo donde hemos introducido los datos en formato .csv. Antes de importar los datos, debemos decirle a R que trabaje en la carpeta donde vamos a guardarlos. Para ello copiaremos la siguiente secuencia en la línea de comandos¹ (la ruta que aparece aquí es sólo un ejemplo; probablemente tengamos que sustituirla por otra en nuestro ordenador particular):

```
setwd("C:\Documents\EcologiaPoblaciones\Practicas")
```

También se puede hacer con menús desplegables. En RStudio, pinchando en "Session" -> "Set Working Directory" -> "Choose Directory" y en R, pinchando en "Misc" -> "Change Working Directory".

Una vez establecido el directorio de trabajo, donde tendremos nuestros datos y ficheros, importaremos los datos mediante la siguiente línea de comandos (en nuestro ejemplo, el fichero de origen se llama "datos_ejemplo.csv"):

```
datos <- read.csv("datos_ejemplo.csv")
```

Tabla 2. Ejemplo de elaboración de tabla en Microsoft Excel para su posterior análisis mediante un ANOVA de dos factores. Obsérvese que el separador de decimales es el punto. Es importante no utilizar acentos en las palabras, no usar más de una palabra en cada celda y no incluir espacios entre palabras dentro de una misma celda.

	A	B	C	D
1	Riego	Fert	peso	alt
2	0L	Con	1.82	11
3	0L	Con	2.22	12.3
4	0L	Con	2.23	13.7
5	1L	Con	1.9	6.9
6	1L	Con	1.91	11
7	1L	Con	2.37	11
8	2L	Con	2.47	16.4
9	2L	Con	2.65	8.2
10	2L	Con	2.86	9.6
11	0L	Sin	1.54	8.6
12	0L	Sin	1.64	11.5
13	0L	Sin	1.93	7.7
14	1L	Sin	1.83	9.6
15	1L	Sin	2.26	4.8
16	1L	Sin	2.31	10.6
17	2L	Sin	2.4	5.8
18	2L	Sin	2.42	6.7
19	2L	Sin	2.45	6.72

¹ En este guion, las líneas de comando que se deben copiar y pegar en R aparecen en azul. Todo lo que aparece después del símbolo # son aclaraciones que no son reconocidas por R como orden, por lo que se puede copiar en la línea de comandos sin problema, pues no interferirá.

Ahora podemos comenzar comprobando la estructura de los datos, para asegurarnos de que la importación ha sido correcta. Para ello, escribiremos lo siguiente:

```
str(datos)
```

Lo que nos presentará como salida lo siguiente:

```
## 'data.frame': 18 obs. of 4 variables:
## $ Riego: Factor w/ 3 levels "0L","1L","2L": 1 1 1 2 2 2 3 3 3 1 ...
## $ Fert : Factor w/ 2 levels "Con","Sin": 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 ...
## $ peso : num 1.82 2.22 2.23 1.9 1.91 2.37 2.47 2.65 2.86 1.54 ...
## $ alt : num 11 12.3 13.7 6.9 11 11 16.4 8.2 9.6 8.6 ...
```

A partir de esos resultados podemos ver que tenemos dos factores, "Riego" con tres niveles (0L = 0 litros; 1L; 2L) y "Fert" (fertilizante; Con y Sin) y dos variables numéricas, "peso" (peso seco medido en g) y "alt" (altura medida en cm). En caso de que alguna de las variables no tengan la naturaleza esperable (por ejemplo, si un factor o una variable numérica aparecen como caracteres "chr"), se puede corregir con las funciones "as.character", "as.factor" o "as.numeric", según corresponda.

También es buena idea ver qué aspecto tienen los datos para R. Para ello podemos escribir en la línea de comandos "datos" y nos los mostrará:

```
##   Riego Fert peso alt
## 1   0L Con 1.82 11.00
## 2   0L Con 2.22 12.30
## 3   0L Con 2.23 13.70
## 4   1L Con 1.90 6.90
## 5   1L Con 1.91 11.00
## 6   1L Con 2.37 11.00
## 7   2L Con 2.47 16.40
## 8   2L Con 2.65 8.20
## 9   2L Con 2.86 9.60
## 10  0L Sin 1.54 8.60
## 11  0L Sin 1.64 11.50
## 12  0L Sin 1.93 7.70
## 13  1L Sin 1.83 9.60
## 14  1L Sin 2.26 4.80
## 15  1L Sin 2.31 10.60
## 16  2L Sin 2.40 5.80
## 17  2L Sin 2.42 6.70
## 18  2L Sin 2.45 6.72
```

Si tuviéramos una gran cantidad de datos, puede ser útil visualizar las primeras y las últimas filas de los datos. Para ello usaremos los siguientes comandos:

head(datos)

```
##   Riego Fert peso  alt
## 1   0L  Con 1.82 11.0
## 2   0L  Con 2.22 12.3
## 3   0L  Con 2.23 13.7
## 4   1L  Con 1.90  6.9
## 5   1L  Con 1.91 11.0
## 6   1L  Con 2.37 11.0
```

tail(datos)

```
##   Riego Fert peso  alt
## 13   1L  Sin 1.83  9.60
## 14   1L  Sin 2.26  4.80
## 15   1L  Sin 2.31 10.60
## 16   2L  Sin 2.40  5.80
## 17   2L  Sin 2.42  6.70
## 18   2L  Sin 2.45  6.72
```

En RStudio existe una función (“View”) para visualizar los datos en formato de hoja de cálculo, pero no permite editarlos.

View(datos)

2.1b. Análisis descriptivo. Tablas y gráficos resumen

Para el análisis exploratorio de los datos, necesitamos resumir estos en una medida de tendencia central y una de dispersión (media y desviación estándar, SD de sus siglas en inglés) o una medida de tendencia central y de fiabilidad de la misma (media y error estándar de la media).

Para obtener los primeros estadísticos (media y SD) en **tablas**, ejecutamos las siguientes órdenes:

attach(datos)

aggregate(~Riego*Fert, datos, FUN=mean) #para las medias

```
   Riego Fert      peso      alt
1   0L  Con 2.090000 12.333333
2   1L  Con 2.060000  9.633333
3   2L  Con 2.660000 11.400000
4   0L  Sin 1.703333  9.266667
5   1L  Sin 2.133333  8.333333
6   2L  Sin 2.423333  6.406667
```

`aggregate(~Riego*Fert, datos, FUN=sd)` #para las desviaciones estándar

	Riego	Fert	peso	alt
1	0L	Con	0.23388031	1.3503086
2	1L	Con	0.26851443	2.3671361
3	2L	Con	0.19519221	4.3863424
4	0L	Sin	0.20256686	1.9857828
5	1L	Sin	0.26388129	3.1005376
6	2L	Sin	0.02516611	0.5254839

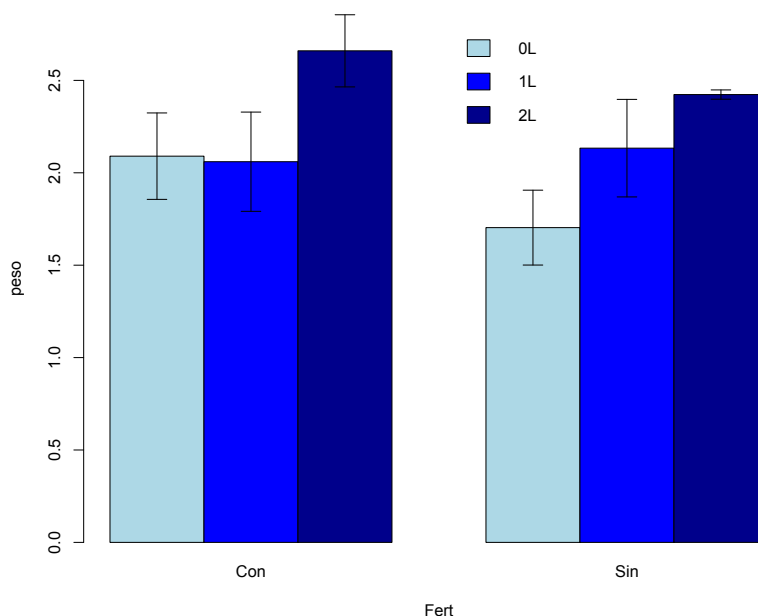
De una manera más visual, podríamos resumir estos mismos datos en **gráficos de barras**, en los cuales, de igual manera, podemos representar la media y la desviación estándar de los grupos (tratamientos) que nos interesen. Para obtener dichos gráficos, es recomendable usar un paquete adicional en R, como puede ser “`sciplot`”. Para instalarlo y cargarlo, usaremos la siguiente secuencia:

`install.packages("sciplot")` #sólo hace falta instalar el paquete la primera vez que se vaya usar. Después, aunque apaguemos el ordenador, basta con cargarlo con el comando “`library`”.

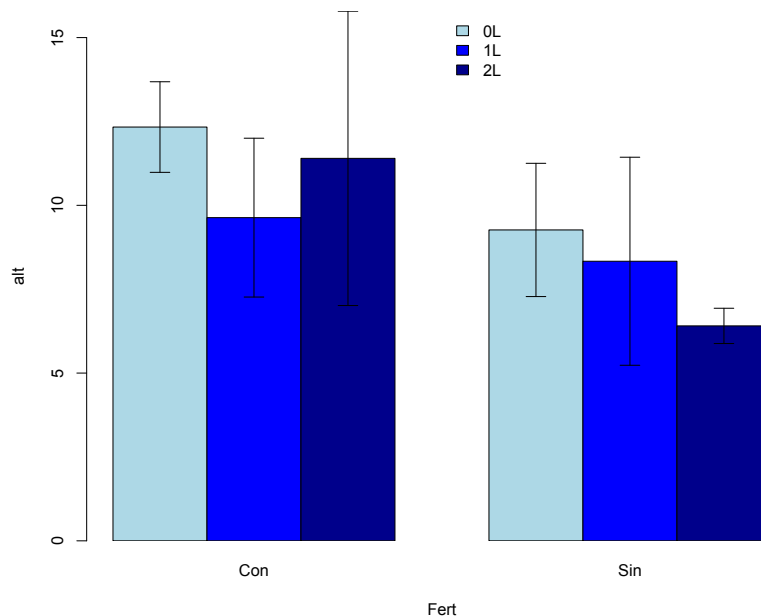
`library(sciplot)`

Para realizar los gráficos de barras, utilizaremos el comando “`bargraph.CI`”, el cual, por defecto, usa el error estándar o típico para representar las barras de error, pero se pueden indicar otros estadísticos. Como en nuestro caso nos interesa representar la desviación típica, usaremos el siguiente comando:

`bargraph.CI(Fert,peso,Riego, col=c("lightblue", "blue","darkblue"), ci.fun= function(x) c(mean(x)-sd(x), mean(x) + sd(x)),legend=TRUE, x.leg=4.5)` #para el peso



```
bargraph.CI(Fert,alt,Riego, col=c("lightblue", "blue","darkblue"), ci.fun= function(x)
c(mean(x)-sd(x), mean(x) + sd(x)),legend=TRUE, x.legend=4.5) #para la altura
```



Todos los estadísticos descriptivos y, sobre todo, los gráficos, además de resumirnos los datos obtenidos, nos servirán para interpretar los resultados obtenidos en el ANOVA que trataremos a continuación. Además, las barras representadas en los gráficos nos pueden servir para inferir diferencias entre los grupos que estamos comparando, dependiendo del estadístico que representemos en ellas (ver ANEXO I para su interpretación).

2.2. Análisis inferencial. ANOVA de dos factores

Como dijimos, el análisis que vamos a utilizar para rechazar o aceptar nuestras hipótesis es un **ANOVA de dos factores o dos vías**. Un ANOVA se utiliza para comparar las medias y las varianzas de los grupos (tratamientos) de nuestro experimento y determinar si existen diferencias entre los grupos considerados. Además, el ANOVA de dos vías nos permite determinar si existe interacción entre los factores, esto es, si existe una sinergia positiva o negativa entre ellos. Esta prueba sólo nos dice si existen diferencias o no entre los grupos, pero en caso de existir y de estar comparando tres o más grupos, necesitamos saber entre qué grupos concretos existen las diferencias (por ejemplo, si comparamos A, B y C y un ANOVA nos dice que difieren significativamente, necesitamos saber si las diferencias están entre A y B, entre B y C, entre A y C o entre todos a la vez). Por eso, cuando estamos en esta situación (**tres o más niveles de un**

factor) el ANOVA no acaba con la tabla correspondiente donde podemos encontrar nuestra significación estadística para cada factor analizado, si no que debemos proseguir aplicando **pruebas post-hoc** (también llamadas pruebas de comparaciones por pares o múltiples) que comparan parejas de grupos y nos dan una significación para cada una de ellas. Con esto sí que estaría finalizado el procedimiento estadístico.

Un ANOVA es una prueba estadística paramétrica y como tal requiere que los datos con los que vamos a trabajar cumplan tres **asunciones**:

- ⇒ **Independencia** de los datos.
- ⇒ **Normalidad**, en nuestro caso de los **residuos**, es decir, que la distribución de nuestros datos sigue una campana de Gauss.
- ⇒ Homogeneidad de varianza de los grupos (tratamientos) que se van a comparar (**homocedasticidad**).

La **independencia** la debemos tener en cuenta durante el diseño del experimento, por lo que no la comprobaremos (asumimos que existe). La **normalidad** de los residuos la determinaremos mediante un test de Shapiro-Wilk, y la **homocedasticidad** la valoraremos con el test de Levene. Los procedimientos en R para obtener los residuos y aplicar estas pruebas estadísticas aparecen más abajo. Para que los residuos sean normales, el test que apliquemos debe arrojarnos una $p > 0,05$. Esto nos estará diciendo que no existen diferencias significativas entre la distribución de nuestros datos y una distribución normal hipotética con la misma media y varianza que nuestros datos. De igual modo, para asumir que nuestros datos son homocedásticos, el test de Levene debe darnos una $p > 0,05$. Esto indica que la varianza de los grupos entre los cuales vamos a hacer comparaciones es similar.

Si las tres asunciones se cumplen, procederemos con el ANOVA de dos factores. Si alguna de estas asunciones no se cumpliera, podríamos optar por dos soluciones: transformar los datos brutos (la variable respuesta) mediante alguna fórmula y comprobar si se cumplen así las asunciones o usar test no paramétricos en el caso que no se cumplan las asunciones con las variables transformadas. En la mayoría de los casos utilizaremos la primera opción (ver algunas transformaciones en ANEXO II), por lo que la segunda opción la recogemos sólo en el ANEXO III de esta práctica.

Comprobar asunciones ANOVA. Lo primero que vamos a hacer, siguiendo la secuencia expuesta más arriba, es comprobar la **normalidad de los residuos** de nuestra variable respuesta. En R debemos extraerlos del ANOVA correspondiente. Para ello, utilizaremos la función "aov" del paquete base y copiaremos en R los siguientes comandos (tendremos que repetir estos comandos con cada una de las variables respuesta que tengamos. En el presente ejemplo, tan sólo aparecen las órdenes para la variable respuesta "peso"):

```
anova1 <- aov(peso ~ Riego*Fert, data=datos)
```

A continuación, extraemos los residuos y realizamos el test de Shapiro-Wilk sobre ellos:

```
residuos_anova1 <- residuals(object = anova1)
```

```
shapiro.test(x = residuos_anova1)
```

```
##  
## Shapiro-Wilk normality test  
##  
## data:  residuos_anova1  
## W = 0.96294, p-value = 0.6593
```

A continuación, vamos a evaluar si existe o no **homocedasticidad**. Para ello, utilizaremos la función “leveneTest” del paquete “car”, por lo que el primer paso será instalar y cargar dicho paquete, y después utilizar la función:

```
install.packages("car")
```

```
library(car)
```

```
leveneTest(peso ~ Riego*Fert, data=datos)
```

```
## Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)  
##      Df F value Pr(>F)  
## group 5 0.2401 0.937  
##      12
```

Una vez comprobadas las asunciones, si éstas se cumplen (en nuestro ejemplo, así es), procederemos a visualizar el resultado del ANOVA de dos factores. Si no fuera así, como ya se mencionó, deberíamos transformar nuestra variable respuesta y comprobar las asunciones de normalidad y homocedasticidad utilizando esta nueva variable transformada. Una vez se cumplan, continuaremos el análisis de datos con dicha variable.

ANOVA de dos factores. Para obtener el resultado final que buscamos, el ANOVA de dos factores, utilizaremos la función “summary”:

```
summary(anova1)
```

```
##           Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)  
## Riego      2  1.3081   0.6540  14.208 0.000685 ***  
## Fert       1  0.1513   0.1513   3.286 0.094964 .  
## Riego:Fert  2  0.1651   0.0826   1.793 0.208253  
## Residuals 12  0.5524   0.0460  
## ---  
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

El último paso, como ya se mencionó anteriormente en el guion, será realizar las pruebas post-hoc si son necesarias (recordemos, sólo cuando tenemos un factor de tres niveles o más y en el que el ANOVA nos ha dicho que tiene un efecto significativo, esto es, una $p < 0,05$). La prueba más generalizada es la prueba de diferencias honestamente significativas de Tukey o **Tukey HSD**. Para ello, utilizaremos la función “TukeyHSD” del paquete base. Como en nuestro ejemplo sólo tiene un efecto significativo el factor “Riego” y este tiene tres niveles, procede realizar esta prueba:

TukeyHSD(anova1, which="Riego")

```
TukeyHSD(anova1, which = "Riego")
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = peso ~ Riego * Fert, data = datos)
##
## $Riego
##      diff      lwr      upr      p adj
## 1L-0L 0.200 -0.1304755 0.5304755 0.2773137
## 2L-0L 0.645  0.3145245 0.9754755 0.0005938
## 2L-1L 0.445  0.1145245 0.7754755 0.0095725
```

2.3. Interpretación de los resultados

Aunque parezca engorroso, son pocos los datos en los que nos tenemos que fijar para entender e interpretar nuestros resultados. Ya mencionamos en su apartado correspondiente cómo se interpretaban los resultados de los test de normalidad ($p > 0,05$ nos dice que los residuos sí tienen una distribución normal) y de homocedasticidad ($p > 0,05$ nos indica que sí existe homogeneidad de varianzas). Una vez se cumplían, podíamos pasar al ANOVA de dos factores propiamente dicho. La tabla que obtuvimos al ejecutar la función “aov” puede parecer compleja, pero, salvo casos puntuales, tan sólo tendremos que fijarnos en los parámetros que aparecen señalados a continuación:

##		Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
##	Riego	2	1.3081	0.6540	14.208	0.000685 ***
##	Fert	1	0.1513	0.1513	3.286	0.094964 .
##	Riego:Fert	2	0.1651	0.0826	1.793	0.208253
##	Residuals	12	0.5524	0.0460		
##	---					
##	Signif. codes:					0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Nos fijamos, por tanto, en los valores de significación estadística (p) de cada factor y de la interacción entre ellos (que en la tabla aparece como los nombres de los

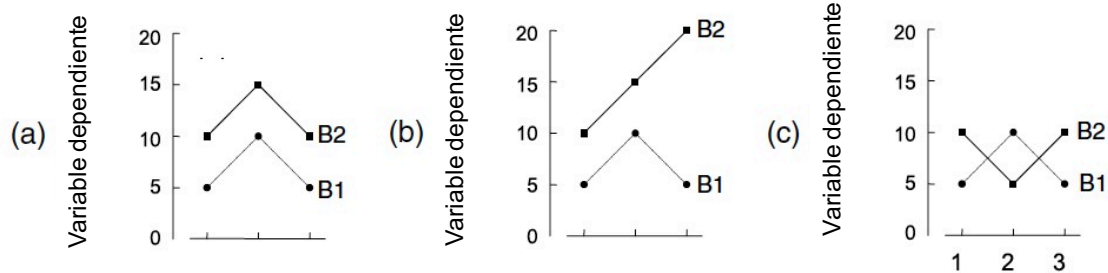
factores separados por dos puntos, esto es, en nuestro ejemplo, “Riego:Fert”). Siempre que este sea menor de 0,05 (lo cual suele venir marcado por uno o varios asteriscos) diremos que el factor afecta a la variable respuesta medida (por tanto, rechazaremos la hipótesis nula de no-efecto para ese factor) y cuando sea mayor, que no lo hace (rechazamos la hipótesis alternativa). La única particularidad reside en la interacción, donde la significación nos dice si existe esa interacción de la que hablábamos en su momento o no. Si detectamos una significación estadística en algún factor con tres o más niveles, acudiremos a la tabla post-hoc (comparaciones múltiples) para ver entre qué niveles se encuentran esas diferencias. En nuestro caso, como sólo el factor “Riego” posee tres niveles, nos fijamos en la siguiente tabla:

```
TukeyHSD(anova1, which = "Riego")
## Tukey multiple comparisons of means
## 95% family-wise confidence level
##
## Fit: aov(formula = peso ~ Riego * Fert, data = datos)
##
## $Riego
##      diff      lwr      upr      p adj
## 1L-0L 0.200 -0.1304755 0.5304755 0.2773137
## 2L-0L 0.645  0.3145245 0.9754755 0.0005938
## 2L-1L 0.445  0.1145245 0.7754755 0.0095725
```

Estos resultados nos muestran significación estadística entre los niveles “2L” y “0L” y entre los niveles “2L” y “1L”.

Si tomamos como ejemplo estas tablas, y teniendo en cuenta que se cumplen las asunciones de independencia, normalidad y homocedasticidad, podríamos concluir que:

- ⇒ Existe efecto del riego por sí solo sobre la biomasa (peso). Como en este caso tenemos tres niveles del factor “Riego”, tenemos que consultar las comparaciones por pares (post-hoc) para darnos cuenta de que las diferencias se encuentran entre el nivel 2 y el 0, y entre el 2 y el 1 ($p < 0,05$).
- ⇒ No existe efecto del fertilizante sobre la biomasa.
- ⇒ No existe efecto interactivo entre los dos factores considerados. Si hubiera habido interacción, para determinar de qué tipo sería esa interacción (pues podría tener diferentes interpretaciones) debemos acudir al gráfico que realizamos al describir los datos (gráfico de las medias y las desviaciones estándar). En la siguiente gráfica (tomada de Quinn & Keough, 2002) se recoge una representación gráfica en la que se puede observar un ejemplo de no interacción (a), uno de interacción moderada (b) y otro de interacción fuerte (c):



3. ELABORACIÓN Y EXPOSICIÓN DEL SEMINARIO

Todo el desarrollo del experimento, el análisis de los resultados y su discusión se expondrán en un seminario final de las prácticas. Este tendrá la estructura mínima típica de un artículo científico que se detalla a continuación, si bien se podrán hacer subapartados dentro de los apartados principales (en negrita):

- ⇒ Portada con título del seminario y miembros del grupo
- ⇒ **Introducción**
- ⇒ **Material y métodos**
- ⇒ **Resultados**
- ⇒ **Discusión**
- ⇒ **Conclusiones**
- ⇒ Referencias citadas en el texto, con formato uniforme

En la **introducción** se recogerán los antecedentes del tema estudiado, las hipótesis, las predicciones y el objetivo del estudio (cómo puede dar respuesta a las hipótesis planteadas). En el **material y métodos** aparecerá toda la información necesaria para que cualquiera pueda repetir el estudio (forma de obtener los datos, aparatos utilizados, análisis estadísticos que se han realizado, etc.). Debe ser una “receta” que pueda seguir cualquiera y con la que se obtengan resultados comparables a los del estudio llevado a cabo por el grupo. En el apartado de **resultados** se presentarán los datos analizados, los gráficos pertinentes, las tablas, etc., pero sólo de forma objetiva, sin entrar en interpretaciones, lo cual sí se realizará en el apartado de **discusión**. En este interpretarán los resultados, se podrá especular sobre por qué se han obtenido los mismos y se pondrán en un contexto biológico. En este apartado no deben aparecer resultados, tablas o gráficos nuevos, pero sí se puede hacer referencia a los ya aparecidos en el apartado anterior. La **conclusión** suele tratarse de un párrafo

o dos donde se recogen los resultados e interpretaciones de los mismos más relevantes, a modo de casi un resumen, sobre todo en aquellos estudios que son especialmente complejos.

4. BIBLIOGRAFÍA

Quinn, G.P. & Keough, M.J. 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press.

Cumming, G., Fidler, F. & Vaux, D.L. 2007. Error bars in experimental biology. *The Journal of Cell Biology*, 177: 7–11.

ANEXO I. INTERPRETACIÓN DE LAS BARRAS DE ERROR

Al representar gráficamente alguna medida de tendencia central, como la media, es conveniente representar también la variabilidad de los datos o la fiabilidad de esa medida, lo cual hacemos mediante las denominadas “barras de error”. Si lo que deseamos es representar la dispersión de los datos, optaremos por añadir al gráfico de las medias la desviación estándar, pues esta tiene las mismas unidades que la media, lo cual facilita su interpretación. Asimismo, podemos utilizar el rango si en lo que estamos interesados es en señalar la distancia entre los valores mínimo y máximo de nuestra muestra. Si, por otro lado, lo que queremos es representar cómo de fiable es la media que hemos calculado, utilizaremos el error estándar de la media. Este se utiliza, también, para calcular el intervalo de confianza, ya descrito en el guion. Tanto la desviación estándar como el rango son barras de error principalmente descriptivas (no muy útiles para detectar diferencias estadísticamente significativas entre grupos), mientras que el error estándar de la media y el intervalo de confianza sí son barras de error inferenciales. Un aspecto importante a tener en cuenta es que estas dos últimas medidas dependen, y están influenciadas por, el tamaño de la muestra, de forma que un tamaño de muestra mayor reduce tanto del error estándar como el intervalo de confianza, aumentando con esto la fiabilidad de la media (Figura I.1, modificada de Cumming et al., 2007).

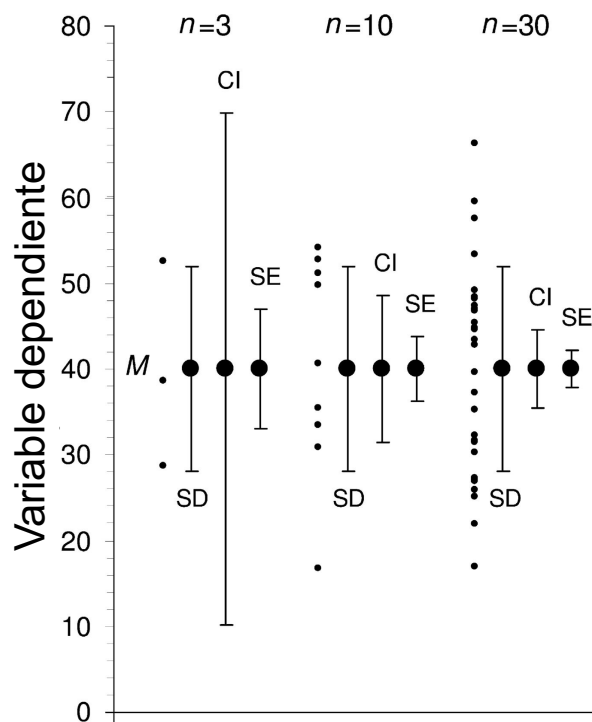


Figura I.1. Barras de error inferencial con varios tamaños de muestra (n) en comparación con la desviación estándar (SD, *standard deviation*). M: media (*mean*); CI: intervalo de confianza (*confidence interval*); SE: error estándar de la media (*standard error*).

El hecho de que el tamaño de muestra afecte a estas barras de error condiciona la interpretación que debemos hacer de ellas para inferir diferencias significativas entre grupos. A continuación, se muestra cómo se interpretarían estas barras de error considerando el número de datos con el que contamos, y la estima de la significación estadística (p) a partir de ellas (Figuras I.2 y I.3, modificadas de Cumming et al., 2007).

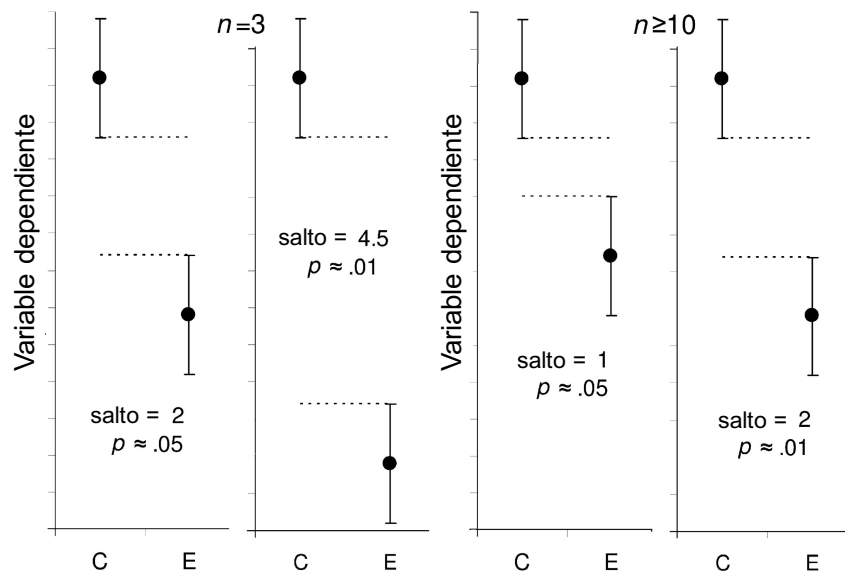


Figura I.2. Estima de la significación estadística (p) para distintos tamaños de muestra (n) a partir de las distancias (“salto”) entre barras de error que representan el error estándar de la media.

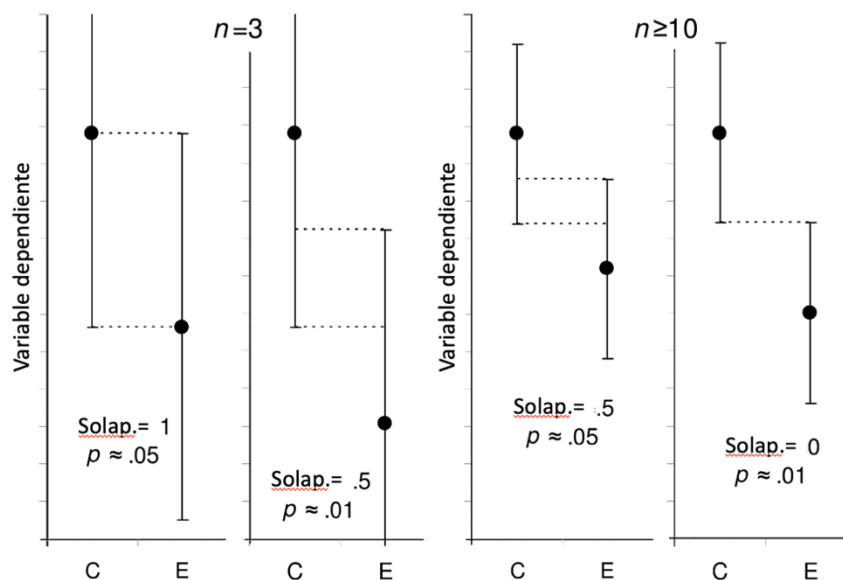


Figura I.3. Estima de la significación estadística (p) para distintos tamaños de muestra (n) a partir del solapamiento entre barras de error que representan el intervalo de confianza al 95%.

ANEXO II. TRANSFORMACIONES COMUNES DE VARIABLES RESPUESTA:

Algunas de las transformaciones más utilizadas son las siguientes:

- ⇒ *Transformación logarítmica.* Muy usada en datos ecológicos, sobre todo cuando hay efectos multiplicativos o los valores tiene distribuciones muy asimétricas:

$$X' = \log(X) \text{ ó } X' = \log(X+1) \text{ si los datos contienen el valor } 0$$

- ⇒ *Transformación raíz cuadrada.* Usada cuando la varianza es proporcional a la media y por consiguiente los datos no son homocedásticos:

$$X' = \sqrt{X} \text{ ó } X' = \sqrt{X + 0,5} \text{ si los datos contienen el valor } 0$$

- ⇒ *Transformación arcoseno.* Muy usada para porcentajes o proporciones, si muchos de sus valores se acercan al 0% o al 100%:

$$X' = \arcsen(\sqrt{p}) \quad [p = \text{proporción (rango 0-1)}]$$

- ⇒ *Transformación recíproca.* Usada para tasas, cuando muestran relación entre SD y el cuadrado de la media:

$$X' = 1/X \text{ ó } X' = 1/(X + 1) \text{ si los datos contienen el valor } 0$$

Si fuera necesario, esto lo podemos hacer directamente en la hoja de cálculo (Excel, por ejemplo), o bien en R, generando una nueva columna en nuestros datos. Para esto último, utilizaremos los siguientes comandos (en el presente manual tan sólo se recogen dos transformaciones diferentes como ejemplo, la logarítmica y la raíz cuadrada):

```
datos$log_peso=log(peso) #transformación logarítmica
```

```
datos$log1_peso=log(peso+1) #transformación logarítmica cuando en la variable respuesta hay ceros
```

```
datos$raiz_peso=sqrt(peso) #transformación raíz cuadrada
```

Para visualizar las nuevas variables generadas en el paso anterior, utilizaremos la siguiente orden:

```
datos$log_peso
```

```
datos$log1_peso
```

`datos$raiz_peso`

Para ver todos los datos en forma de tabla, escribiremos (en RStudio usaremos la ya mencionada función “View”):

`datos`

Una vez se ha hecho este procedimiento (si fuera necesario), **se comprobarán las asunciones y se realizará el ANOVA utilizando la nueva variable** [por ejemplo, “log_peso”, en lugar de “peso”], que aparecerá como una nueva columna en nuestro conjunto de datos. Para confirmarlo, podemos presionar sobre “Visualizar conjunto de datos” en la pantalla principal de R Commander.

ANEXO III. ALTERNATIVA NO PARAMÉTRICA AL ANOVA DE DOS FACTORES

Como recogemos en el guion de la práctica, cuando no se cumple la asunción de normalidad y/o de homocedasticidad debemos transformar los datos. Cuando ni siquiera la transformación de los datos hace que estos cumplan alguna de dichas asunciones, podemos utilizar una alternativa no paramétrica (la extensión de Scheirer-Ray-Hare para la prueba de Kruskal-Wallis).

En general, los test no paramétricos se denominan “de distribución libre”, pues no es necesario que nuestros datos sigan ningún tipo de distribución específica (como la normal, por ejemplo), si bien es cierto que algunos de estos tests tienen otro tipo de asunciones. Para nuestro objetivo, no profundizaremos en estos aspectos y asumiremos que podemos utilizarlos con los datos con los que contamos. Estos test no trabajan con los datos reales, sino con rangos. El rango de un dato es el número ordinal que adquiere al ordenar todo el conjunto de datos de menor a mayor. Si lo tuviéramos que hacer manualmente, deberíamos comenzar ordenando nuestros datos de menor a mayor. Al primero le asignaríamos el rango 1, al segundo el 2, y así sucesivamente hasta el último. Si dos datos brutos fueran iguales le asignaríamos a cada uno de ellos el valor medio del rango de los datos que son similares. En cualquier caso, R lo hace automáticamente cuando usamos la función “scheirerRayHare” del paquete “rcompanion”. Para usar dicha función, primero instalaremos y cargaremos el paquete:

```
install.packages("rcompanion")
```

```
library(rcompanion)
```

A continuación, ejecutamos la función (en este ejemplo, para la variable peso):

```
scheirerRayHare(peso~Riego*Fert, data=datos)
```

```
##
## DV: peso
## Observations: 18
## D: 1
## MS total: 28.5

##           Df Sum Sq      H p.value
## Riego      2 351.00 12.3158 0.00212
## Fert       1  16.06  0.5634 0.45291
## Riego:Fert  2  14.78  0.5185 0.77162
## Residuals 12 102.67
```

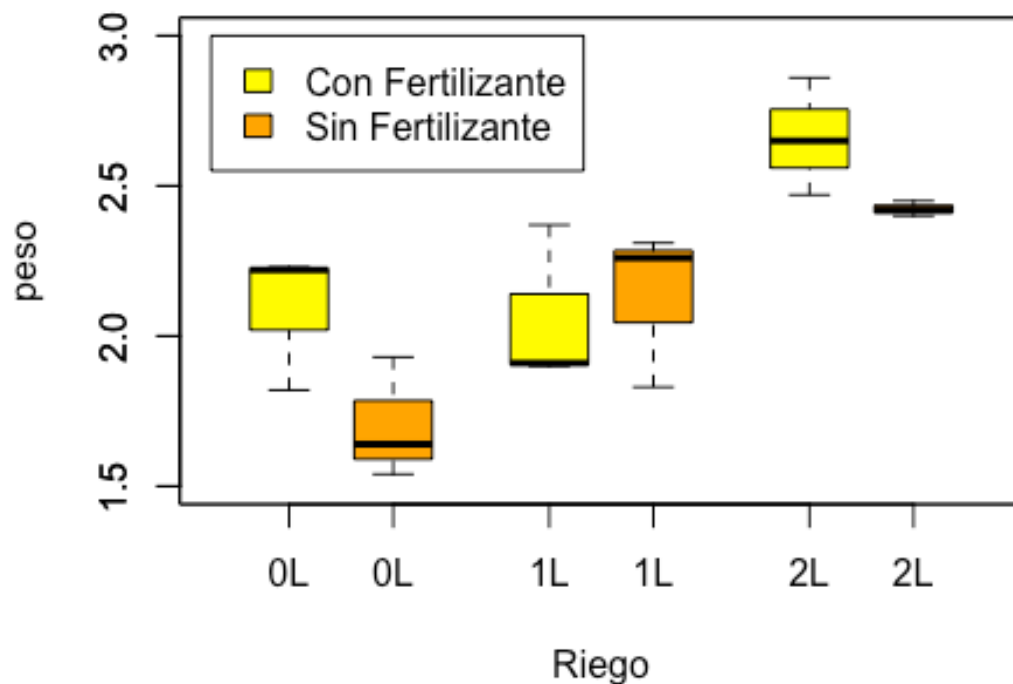
Para interpretar estos resultados, podemos hacer representaciones como explicamos en el guion, pero al tratarse de test no paramétricos, es más conveniente utilizar otro tipo de gráficos que utilizan la mediana, los percentiles 25% y 75% (como medida de dispersión), y el mínimo y el máximo. Estos gráficos se denominan *box-plots*, diagramas de cajas o diagramas de cajas y bigotes. En R se pueden realizar de muchas maneras. El paquete “ggplot2” puede ser una herramienta interesante, pero

nosotros utilizaremos la función “boxplot” del paquete base de R. Para ello, usaremos las siguientes órdenes:

```
boxplot(peso~Riego, subset=Fert=="Con", col="yellow", boxwex = 0.3, at = 1:3 - 0.2, xlim=c(0.5,3.5), ylim=c(1.5,3.0)) #cajas para los datos del nivel CON fertilizante
```

```
boxplot(peso~Riego, subset=Fert=="Sin",add=T, col="orange", boxwex = 0.3, at = 1:3 + 0.2) #cajas para los datos del nivel SIN fertilizante
```

```
legend(0.5, 3, c("Con Fertilizante", "Sin Fertilizante"), fill = c("yellow", "orange")) #leyenda
```



Ahora ya, a partir de los datos obtenidos en el análisis no paramétrico de dos factores y de los representados en este gráfico, podemos discutir los resultados de nuestro experimento.

ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE DOS PLANTAS LEÑOSAS DEL MATORRAL MEDITERRÁNEO

JOSÉ ANTONIO HÓDAR

Departamento de Ecología, Universidad de Granada

1. INTRODUCCIÓN

Las zonas áridas mediterráneas han sido tradicionalmente consideradas como áreas marginales, consecuencia de la degradación de otros ecosistemas más ricos y diversos. A pesar del interés de las zonas áridas y del peligro que representa la desertización, el conocimiento de este tipo de ambientes en la península ibérica es muy reducido, especialmente en lo relativo a la diversidad biológica que albergan y a la dinámica de sus comunidades ecológicas.

El sureste peninsular incluye las zonas de mayor aridez de Europa, comprendiendo hábitats similares a los existentes en el Norte de Africa y Oriente próximo. Entre ellas destacan las hoyas de Guadix y Baza, depresiones situadas en el Nordeste de la provincia de Granada, formadas por depósitos sedimentarios de arcillas, gravas y margas yesíferas. Esta zona presenta un modelado característico de ramblas. El clima es mediterráneo continental y marcadamente estacional, con escasa precipitación (300-400 mm). Los inviernos son fríos y la temperatura desciende con frecuencia por debajo de los 0° C, mientras que los veranos son calurosos. La evapotranspiración potencial es el triple de la cantidad de precipitación, lo que indica la existencia de un fuerte estrés hídrico. Esta zona puede clasificarse como de clima árido medio, según la categorización establecida por Le Houérou (1989).

En una zona con unas características abióticas tan poco favorables para el desarrollo de la vida vegetal (heladas en invierno, calor y sequía en verano, y suelos de mala calidad) cabría esperar que la escasez de los recursos necesarios para el desarrollo de los vegetales, sobre todo el agua, provocaran una fuerte competencia entre las especies leñosas que viven en la zona. En esta práctica vamos a estudiar esta posibilidad usando un método de muestreo que aplicaremos a las dos especies más abundantes en la comunidad vegetal de la zona de estudio. La vegetación en la zona es un retamar-tomillar, siendo las especies dominantes la retama (*Retama sphaerocarpa*) y la artemisia o tomillo negro (*Artemisia barrelieri*). Como acompañantes en mayor o menor densidad aparecen también esparto (*Stipa tenacissima*), bolina (*Genista umbellata*), romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus* sp.) y, más

ocasionalmente, alcaparra (*Capparis spinosa*), esparraguera blanca (*Asparagus albus*), cambrón (*Rhamnus lycioides*) y torvizco (*Daphne gnidium*).

Objetivos

Los objetivos de esta práctica son:

1. Reconocer las especies de plantas leñosas más abundantes y utilizar técnicas de muestreo para cuantificar su distribución espacial y abundancia.
2. A partir de los datos de abundancia y distribución espacial de estas especies, determinar qué relaciones intra e interespecíficas mantienen entre sí.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Determinación de la densidad y distribución espacial de la retama y la artemisa. Evaluación de la competencia intraespecífica

Estudiaremos la densidad y la distribución espacial de la retama y la artemisa. Para ello emplearemos la técnica conocida como método del vecino más próximo. Consiste en generar una tabla de distancias entre puntos al azar y un ejemplar de la especie de estudio (llamaremos "A" a esta distancia), y otra con distancias entre este mismo ejemplar y el conoespecífico más próximo (llamaremos "B" a esta distancia, ver diagrama). Para generar los puntos al azar, usamos una lista de números aleatorios, que expresan distancias en metros:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
5,9	7,5	9,2	9,4	6,8	7,0	7,5	5,5	9,2	7,4	8,4	9,0	6,4	9,4	7,4	6,4	6,0	7,7	5,5	8,5

Con esta lista iremos generando los puntos aleatorios (P), sea siguiendo un itinerario rectilíneo o escogiendo al azar una nueva dirección tras cada punto. Desde cada punto aleatorio, con ayuda de una cinta métrica, medimos la distancia (A) a la retama o artemisa más cercana y, a continuación, a la retama o artemisa más cercana a ésta (B) (Figura 1). Todos estos datos se registrarán en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

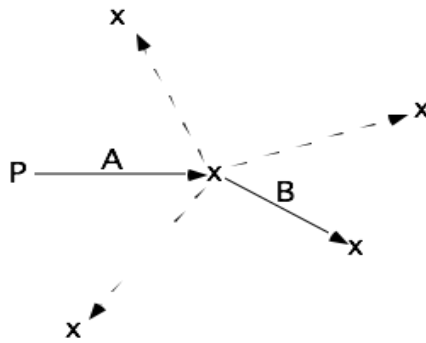


Figura 1. Método del vecino más próximo.

A partir de estos datos, podemos estimar la densidad de cada especie según la fórmula:

$$D = \frac{n^2}{2,828 \cdot \sum A_i \cdot \sum B_i}$$

y para analizar la distribución espacial, calculamos un estadístico basado en la curva normal:

$$z = \left[\sum \left[\frac{A_i^2}{\frac{A_i^2 + B_i^2}{2}} \right] - \frac{n}{2} \right] \cdot \sqrt{\frac{12}{n}}$$

2.2. Relación entre la retama y la artemisa: ¿competencia o facilitación?

Primero, analizamos la distribución de los individuos de cada especie respecto a sus conespecíficos. Sin embargo, las dos especies comparten el mismo hábitat y podríamos preguntarnos hasta qué punto la relación que existe entre individuos de diferente especie es igual que la que existe entre los de la misma. *A priori*, aunque cualquier planta (sea de la misma o de diferente especie) que se encuentre en las inmediaciones de una planta concreta puede actuar como competidor, ya que consumirá recursos como agua, luz, espacio, nutrientes, etc., el solapamiento en el uso de estos recursos puede ser menor entre individuos de especies diferentes. Es más, podría ocurrir que una de las especies proporcionara recursos que aprovechara la otra, con lo que la tendencia sería a la agregación y no a la segregación. Para ello vamos a utilizar como especie foco la retama y como especie compañera la artemisa.

Buscaremos veinte individuos de retama con diferentes tamaños, y contaremos el número de artemisas que encontremos en un radio de 1 m a partir del centro de la retama (esto es, 3,14 m²). Una vez calculada la densidad de artemisas ($D = \frac{\sum n_{art}}{3,14 \cdot 10}$) en el entorno inmediato de las retamas, la compararemos con la densidad que la artemisa alcanzó donde no hay retamas.

3. RESULTADOS

3.1. Determinación de la densidad y distribución espacial de la retama y la artemisa. Evaluación de la competencia intraespecífica

Tabla 1. Distancias y cálculos para la retama.

	Retama					
	A	A ²	B	B ²	(A ² +B ²)/2	A ² /[(A ² +B ²)/2]
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
ΣA _i :		ΣB _i :		-----	ΣSS:	

Tabla 2. Distancias y cálculos para la artemisa.

	Artemisa					
	A	A ²	B	B ²	(A ² +B ²)/2	A ² /[(A ² +B ²)/2]
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
∑A _i :		∑B _i :		-----	∑SS:	

Para estimar la densidad de cada especie, como n = 10 en ambos casos:

$$\text{Retama} = 100/[2,828 \cdot (\sum A_i)_{\text{ret}} \cdot (\sum B_i)_{\text{ret}}] = \text{_____} \text{ plantas/m}^2$$

$$\text{Artemisa} = 100/[2,828 \cdot (\sum A_i)_{\text{art}} \cdot (\sum B_i)_{\text{art}}] = \text{_____} \text{ plantas/m}^2$$

Respecto a la distribución espacial, como n =10 también:

$$\text{Retama} = (\sum SS_{\text{ret}} - 5) \cdot 1,095 =$$

$$\text{Artemisa} = (\sum SS_{\text{art}} - 5) \cdot 1,095 =$$

Si la cifra obtenida es mayor que +1,96, la distribución será significativamente más regular de lo esperado por el azar, y por lo tanto sugerirá la existencia de competencia intraespecífica. Si la cifra obtenida es menor que -1,96, la distribución

será significativamente más agrupada de lo esperado por el azar, y por lo tanto sugerirá la existencia de una atracción entre los individuos. Finalmente, si la cifra se encuentra entre +1,96 y -1,96, la distribución no será significativamente diferente de la que encontraríamos por azar y sugiere, por tanto, que ni hay competencia ni hay atracción entre los individuos de la misma especie.

3.2. Relación entre la retama y la artemisa: ¿competencia o facilitación?

Tabla 3. Densidad de artemisas en el entorno inmediato de retamas de diferente tamaño.

Nº observación	Retama < 1 m	Retama > 1 m
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
$\Sigma=$		
D=		

Una menor densidad de artemisas cerca de la retama indicaría competencia, ya que la presencia de la retama reduce el número de artemisas que podría haber en el área estudiada en relación a la encontrada en su ausencia. Por contra, una mayor densidad de artemisas cerca de la retama indicaría una asociación positiva entre las dos especies, esto es, una facilitación.

3. ¿Cuáles son los mecanismos que favorecen una mayor densidad de artemisas debajo de las retamas?

5. BIBLIOGRAFÍA

Greenwood, J.J.D. & Robinson, R.A. 2006. General census methods. Pp. 87-185 en Sutherland, W.J. (ed.), *Ecological census techniques. A handbook*. Cambridge University Press.

Pugnaire, F.I. Armas, C. y Tirado, R. 2001. Balance de las interacciones entre plantas en ambientes mediterráneos. Pp. 213-235 en Zamora, R. y Pugnaire, F.I. (eds.), *Ecosistemas mediterráneos, análisis funcional*. Textos universitarios nº 32, CSIC-AEET.

ESTRUCTURA TÉRMICA DE LOS ECOSISTEMAS ACUÁTICOS

MANUEL VILLAR-ARGAIZ Y JUAN MANUEL MEDINA SÁNCHEZ
Departamento de Ecología, Universidad de Granada

1. INTRODUCCIÓN

La radiación solar es un factor ecológico primordial en los ecosistemas. En los sistemas acuáticos, la radiación afecta de forma simultánea a los procesos físicos, químicos y biológicos tales como la estratificación térmica o la distribución vertical de nutrientes y organismos autótrofos y heterótrofos.

La absorción de radiación de onda larga, como la radiación infrarroja, que tiene lugar, fundamentalmente, en las capas superficiales de una masa de agua (elevado coeficiente de extinción, k), explica el flujo de calor hacia el interior de los ecosistemas acuáticos. El transporte de calor hacia el interior de la columna de agua ocurre a través de un proceso de difusión turbulenta que es una función de factores físicos relacionados con la meteorología local, como el viento.

De esta forma la radiación solar (principalmente en el infrarrojo) que incide sobre un cuerpo de agua, con mayor intensidad en primavera y verano, se absorbe calentando las capas de agua superficiales, lo que origina una capa de agua más caliente superficial, o epilimnion, que queda por encima de otra capa más fría y homogénea, o hipolimnion, situada por debajo de ella. Entre ambas se encuentra el metalimnion, o zona de transición, donde la temperatura desciende bruscamente aproximadamente un grado centígrado por cada metro, lo que se conoce como termoclina. Cuando los agentes que generan la turbulencia en las capas superficiales no pueden superar la resistencia ofrecida por el gradiente de densidad de la termoclina, el flujo de calor hacia el interior del lago cesa y la termoclina se estabiliza.

En otoño, la radiación solar incidente disminuye, lo que contribuye al enfriamiento de las capas de agua superficiales que incrementan su densidad y, como consecuencia, se hunden hasta alcanzar una capa de similar temperatura y, por tanto, de densidad. Este fenómeno traslada la termoclina en profundidad hasta que fenómenos meteorológicos (p. ej., tormentas) proporcionan la suficiente energía eólica para romper la resistencia térmica de una termoclina debilitada y provocar la mezcla del agua propiciando así la homogenización de la temperatura en el perfil vertical.

La clasificación de los sistemas acuáticos en relación a su estructura térmica que aparece en los epígrafes siguientes depende del número de episodios de mezcla anuales.

1.1. Sistemas monomícticos

Cuando a lo largo del invierno el agua no se enfría lo suficiente para llegar a congelarse, la columna de agua se mantiene mezclada y a una temperatura homogénea. Este tipo de lagos, denominados monomícticos, sufren una única estratificación en verano. Representan a la gran mayoría de los lagos naturales y embalses de nuestro país, así como a un gran número de lagos septentrionales (p. ej., lago Tahoe en California, EEUU).



Figura 1. El lago de Sanabria en el noroeste de la provincia de Zamora constituye el lago glaciar más grande de la Península Ibérica (368,5 hectáreas).

1.2. Sistemas dimícticos

Por el contrario, cuando el enfriamiento del agua es muy intenso, el agua puede alcanzar los 4°C, punto de máxima densidad. En estas circunstancias y en ausencia de viento, el agua superficial se puede congelar (el hielo a 0°C es menos denso que el agua a 4°C) y la columna de agua se estratifica de forma inversa, con temperaturas más bajas, próximas a 0°C, en las capas superficiales y más altas, próximas a 4°C, a medida que descendemos en profundidad. La llegada de la primavera con días más largos y temperaturas más elevadas provoca el deshielo y la mezcla de la columna de agua. Esta situación describe un lago dimíctico con dos periodos de mezcla a lo largo del año (primavera y otoño). Ejemplos de lagos de este tipo serían algunos lagos profundos de los Pirineos (p. ej., lago Redó) o el lago Castle en el norte de California.



Figura 2. Ejemplo de lago dimíctico en el Parque Nacional de Aigüestortes y Lago de San Mauricio. Foto: Wikipedia.

1.3. Sistemas polimícticos y meromícticos

Dependiendo del número de episodios de mezcla, se podrían dar otras situaciones. De un lado, los lagos polimícticos sometidos a numerosos episodios de mezcla a lo largo del año, más frecuentes cuando los lagos son relativamente someros y están expuestos a vientos frecuentes e intensos, tales como muchas lagunas del sur de la península ibérica o el lago Clear en California. En el extremo contrario se encuentran los lagos meromícticos, aquellos en donde nunca o rara vez ocurre una mezcla completa de la columna de agua. La ausencia de mezcla en estos sistemas podría deberse a la gran profundidad de estos sistemas (p. ej., lago Tanganika en África) o bien a la elevada concentración de sales en el fondo del lago (p. ej., lagunas kársticas en Cuenca) que generan una estratificación permanente con una capa denominada haloclina que presenta un gradiente de salinidad muy acusado y que diferencia una capa más salada, o monimolimnion, en el fondo del sistema. El Mar Negro, el lago más extenso del mundo, es un gran sistema meromíctico donde el agua dulce aportada por ríos se sitúa sobre el monimolimnion (situado por debajo de 150-200 m), carente de oxígeno y toda forma de vida aerobia.



Figura 3. Ejemplo de laguna meromítica en la Cañada del Hoyo (Cuenca) situada sobre dolina kárstica. Foto: César Martínez.

1.4. Estructura térmica del océano.

Los océanos, particularmente a latitudes templadas, pueden sufrir procesos de estratificación estacionales semejantes al de los lagos, con el desarrollo de termoclinas estacionales superficiales. La capa superior de agua que interacciona directamente con la atmósfera se extiende hasta los 75 - 200 m, dependiendo de la capacidad del viento para mezclar la columna de agua. La mayor parte de la producción primaria, producción de material detrítico y descomposición tienen lugar en estas aguas superficiales.

Sin embargo, existe un gradiente en profundidad (a varios centenares de metros) más conspicuo que origina una termoclina permanente relacionada con la circulación oceánica profunda. Debido a que la densidad del agua se encuentra determinada por la temperatura y por la salinidad, las corrientes marinas superficiales que alcanzan regiones localizadas a latitudes elevadas, experimentan altas tasas de evaporación, se enfrían, se incrementa su salinidad y densidad y, en consecuencia, se hunden, generando la circulación profunda de las cuencas oceánicas. En la termoclina que separa la capa de mezcla superficial de la capa profunda, la temperatura del agua cae bruscamente hasta los 5°C y de ahí progresivamente hasta valores cercanos a 2°C a grandes profundidades.

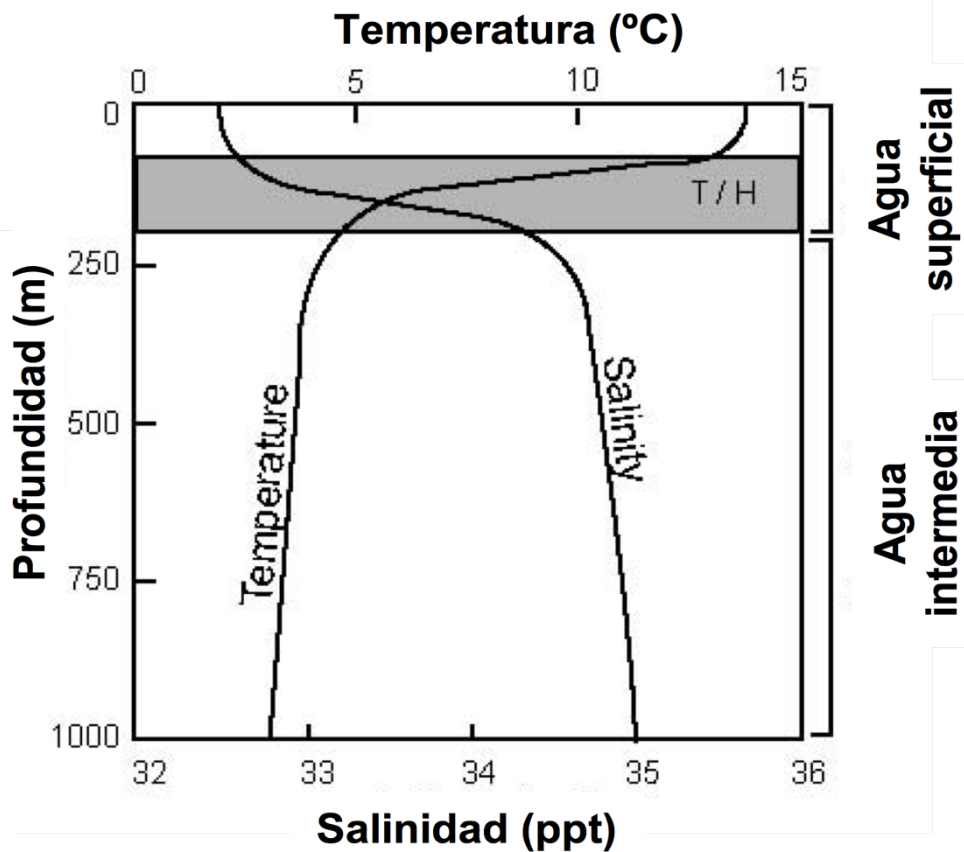


Figura 4. Esquema de la estratificación térmica en océanos. En la termoclina, la temperatura desciende bruscamente, mientras que en la haloclina la salinidad aumenta por debajo de la capa superficial. Figura modificada de Chapin et al. 2002.

1.5. Consecuencias de la estratificación

La estratificación térmica es, sin duda, uno de los procesos físicos más relevantes que sufren los cuerpos de agua y que influyen de forma decisiva sobre las propiedades químicas y biológicas de los cuerpos de agua. La diferencia de densidad entre el hipolimnion y el epilimnion puede llegar a ser suficiente para que la termoclina actúe literalmente como una barrera física para los nutrientes y gases disueltos. Cuando los organismos del epilimnion mueren y sedimentan, son degradados en el hipolimnion, pudiendo llegar a consumirse gran parte del oxígeno de esta zona y provocar episodios de anoxia. En definitiva, la estratificación de un ecosistema acuático genera que el agua superficial tienda a hacerse clara debido a la escasez progresiva de nutrientes, mientras que el agua profunda sufre una disminución de oxígeno y un aumento creciente de nutrientes como consecuencia de los procesos de descomposición de la materia orgánica muerta. La anoxia, a su vez, determinará el estado de óxido-reducción del medio y, por tanto, la naturaleza oxidada o reducida de los compuestos químicos relacionados con el nitrógeno o fósforo.

Objetivos

Los objetivos de esta práctica son:

1. Simular la estratificación térmica estival de un sistema acuático monomítico a pequeña escala en acuarios a lo largo de un periodo anual completo.
2. Comprobar cómo varía estacionalmente la temperatura en un sistema acuático que sufre un único periodo de mezcla anual.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Material necesario

- ⇒ acuario
- ⇒ agua
- ⇒ hielo
- ⇒ fuente de calor infrarrojo (lámparas de 250 W)
- ⇒ termómetros
- ⇒ reglas
- ⇒ colorante (tinta)
- ⇒ ventilador
- ⇒ cronómetro

Procedimiento

Con el objetivo de registrar el proceso de estratificación, se anotará en la Tabla 1 de esta práctica la temperatura del agua a intervalos de 5 minutos a lo largo de todo el tiempo de simulación de las cuatro estaciones.

1. Primavera. Rellena el acuario con agua del grifo y anota la temperatura inicial (t_0) del agua a cada una de las profundidades.

2. Verano. A continuación, añade unas gotas de colorante en varios puntos del acuario y enciende las lámparas de infrarrojos para favorecer el calentamiento del agua desde la superficie. Registra la temperatura en los intervalos de tiempo 5, 10, 15, 20 y 25 minutos. Enciende el ventilador a baja intensidad durante un par de minutos para permitir la difusión turbulenta de la energía calorífica concentrada en la capa superficial. ¿Cómo varía la temperatura en profundidad? ¿a qué se puede deber el descenso observado? ¿Cómo es el patrón de color observado? Discutirlo en relación con la estratificación térmica. Asimismo, el patrón vertical observado es

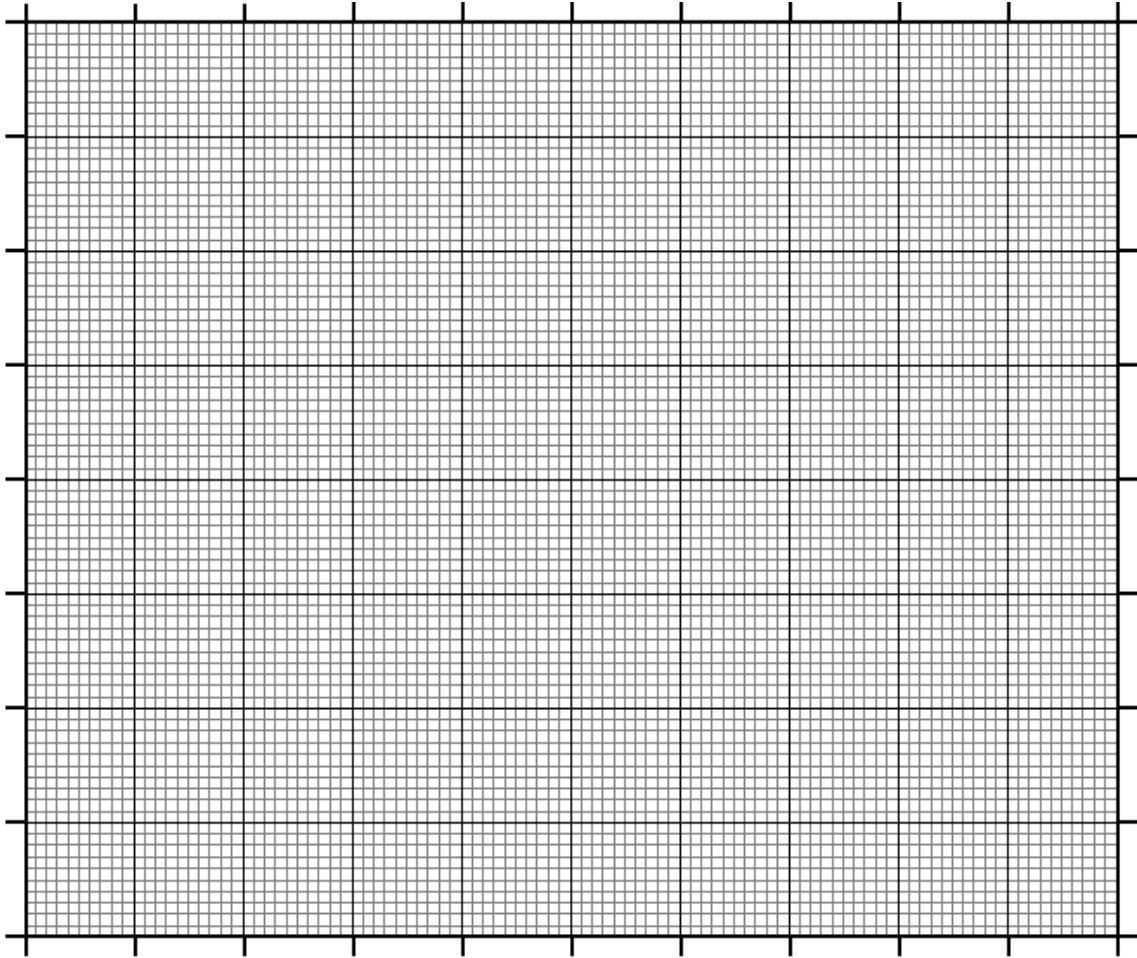
una simulación a pequeña escala de la Oscilación Sur–El Niño–La Niña (ENSO), mientras que el patrón superficial (vista desde arriba) simula los grandes giros oceánicos en superficie, aspectos que se estudian en la asignatura Ecología de Sistemas (ver ANEXO I).

3. Otoño-invierno. Por último, apaga las luces y deja el ventilador encendido. Después de unos minutos, cubre aproximadamente $\frac{3}{4}$ de la superficie con hielo. Observa como el agua enfriada desciende por su mayor densidad provocando el hundimiento de la termoclina. Cuando la termoclina alcance aproximadamente la mitad del acuario, reproduce un viento intenso simulando las tormentas otoñales. Registra de nuevo las temperaturas a intervalos de 5 minutos y visualiza el patrón de color en la columna de agua. ¿Qué le ocurre a la estratificación vertical?

3. RESULTADOS

Representa en el papel milimetrado que se facilita en el manual, la evolución temporal del perfil vertical de temperatura a partir de los datos que has registrado.

Prof.	t ₀	t ₅	t ₁₀	t ₁₅	t ₂₀	t ₂₅	t ₃₀	t ₃₅	t ₄₀	t ₄₅	t ₅₀
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											



4. CUESTIONES

1. En la representación gráfica que has realizado en el papel milimetrado, identifica las capas epilimnion, metalimnion e hipolimnion en la columna de agua, así como la termoclina.
2. ¿Qué factores producen la estratificación térmica en los lagos?

3. ¿Qué consecuencias tiene la estratificación térmica en un lago eutrófico?

4. Responde verdadero (V) o falso (F).

- La polimixis es frecuente en lagos muy profundos.
- En el océano hay una termoclina permanente.
- En un lago dimíctico se forma hielo superficial.
- El monimolimnion lo encontramos en un lago monomíctico.

5. BIBLIOGRAFÍA

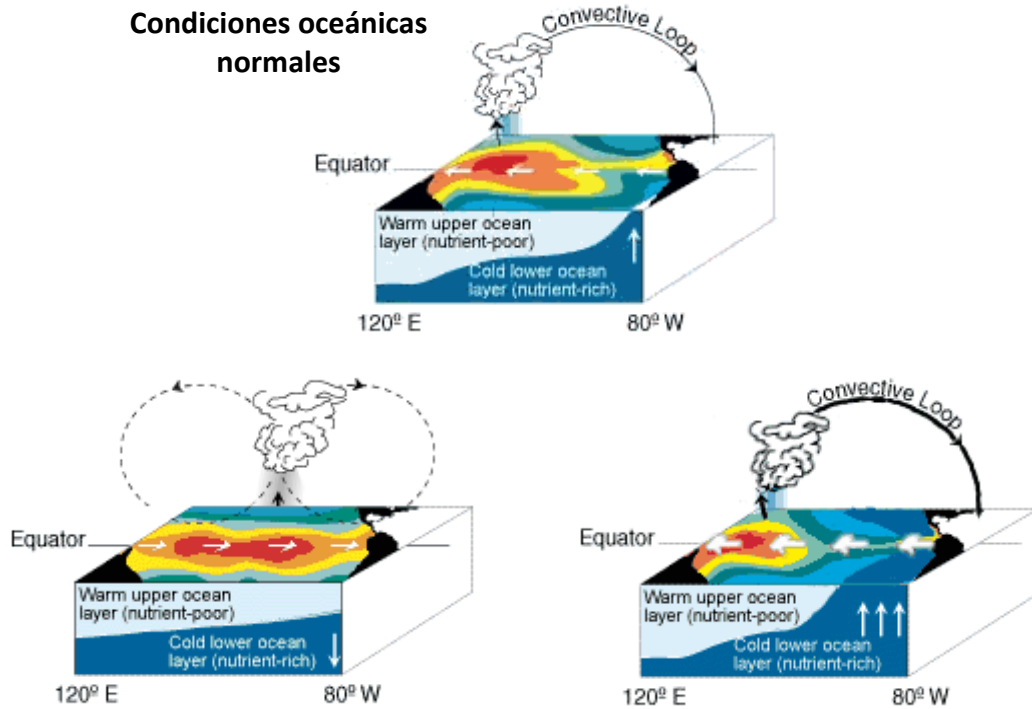
Rodríguez, J. 2013. Ecología. Pirámide.

Horne, A.J. & Goldman C.R. 1994. Limnology. McGraw-Hill.

Wetzel, R.G. 2001. Limnology. Lake and river ecosystems. Academic Press.

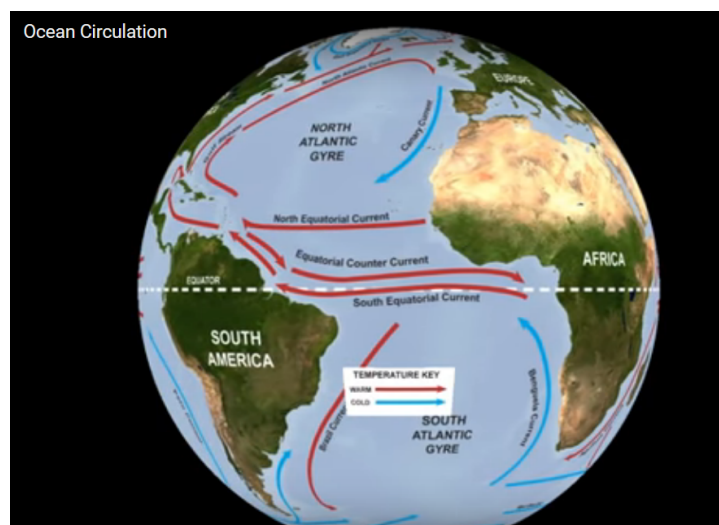
ANEXO I (se estudiará en profundidad en la asignatura de Ecología de Sistemas)

Condiciones oceánicas normales



<http://www.earthlyissues.com/ninilanina.htm>

Circulación oceánica en superficie



<http://www.earthlyissues.com/oceans.htm>