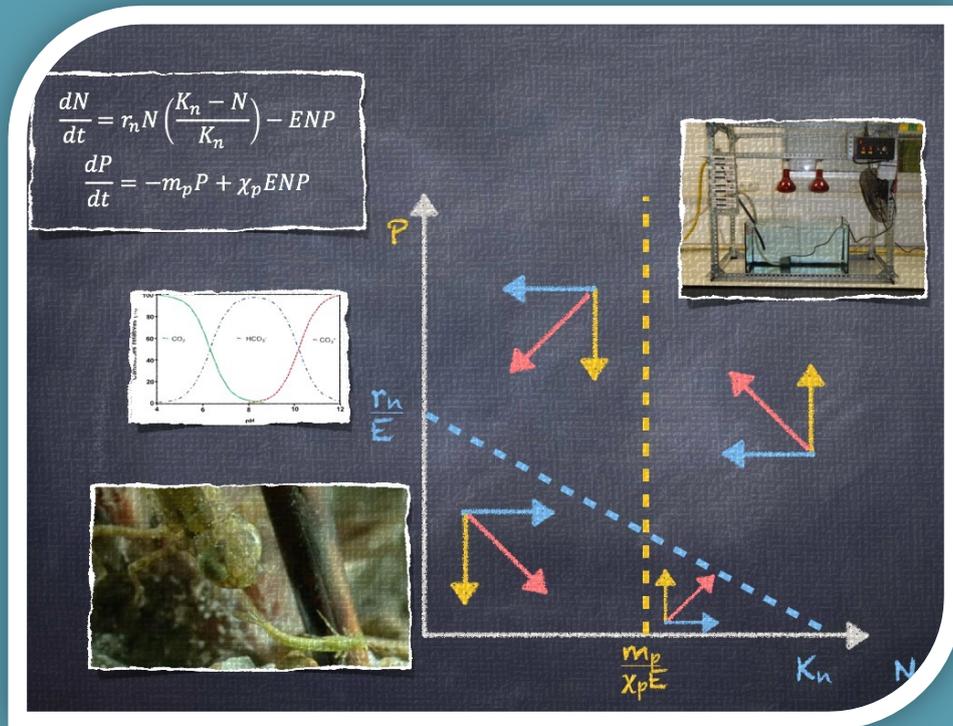


MANUAL DE PRÁCTICAS DE ECOLOGÍA DE ORGANISMOS Y POBLACIONES

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

Coordinado por
Eloísa Ramos-Rodríguez y Manuel Jesús López-Rodríguez



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

Departamento de Ecología

MANUAL DE PRÁCTICAS DE ECOLOGÍA DE ORGANISMOS Y POBLACIONES

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

Coordinado por

Eloísa Ramos-Rodríguez y Manuel Jesús López-Rodríguez

DEPARTAMENTO DE ECOLOGÍA



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

MANUAL DE PRÁCTICAS DE ECOLOGÍA DE ORGANISMOS Y
POBLACIONES.

GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

© Autores (en orden alfabético):

Presentación Carrillo

Jorge Castro

Eulogio Corral Arredondo

Juan Manuel González-Olalla

José Antonio Hódar

Juan Manuel Medina Sánchez

Rafael Morales-Baquero

Carmen Pérez-Martínez

Eloísa Ramos-Rodríguez

Rafael Rubio de Casas

Diego Salazar-Tortosa

Irene Villalta Alonso

Manuel Villar-Argaiz

Imagen de portada: Manuel Jesús López-Rodríguez

***La inteligencia consiste no sólo en el conocimiento, sino también
en la destreza de aplicar los conocimientos en la práctica***

Aristóteles

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
INFORMACIÓN DE SEGURIDAD DE SUSTANCIAS PELIGROSAS, <i>por Eulogio Corral Arredondo</i>	3
PRÁCTICA 1. Abundancia y distribución espacial de dos plantas leñosas del matorral mediterráneo, <i>por José A. Hódar</i>	5
PRÁCTICA 2. Depredación de semillas en ecosistemas mediterráneos, <i>por Jorge Castro, Rafael Rubio de Casas, Irene Villalta Alonso y Diego Salazar-Tortosa</i>	13
PRÁCTICA 3. Variabilidad en las poblaciones naturales, <i>por José A. Hódar</i>	31
PRÁCTICA 4. Estructura térmica de los ecosistemas acuáticos, <i>por Manuel Villar-Argaiz y Juan Manuel Medina Sánchez</i>	39
PRÁCTICA 5. Capacidad de neutralizar ácidos en ecosistemas acuáticos. Determinación del carbono inorgánico, <i>por Rafael Morales-Baquero, Presentación Carrillo y Carmen Pérez-Martínez</i>	49
PRÁCTICA 6. Número y tamaño de las unidades de muestreo, <i>por José A. Hódar y Juan Manuel González-Olalla</i>	61



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

GHS01 Sustancias explosivas (EX)	GHS02 Sustancias inflamables (IN)	GHS03 Sustancias comburentes (OX)	GHS04 Gas bajo presión (GZ)	GHS05 Sustancias corrosivas (CR)
GHS06 Toxicidad aguda categoría 1, 2, 3 (T0)	GHS07 Toxicidad aguda categoría 4 (peligro al inhalar) (HA)	GHS08 Carcégeno, mutágeno (MU)	GHS09 Dañino para el medio ambiente acuático (EN)	



3. NO COMAS, NO BEBAS, NO FUMES, NO HUELAS, INHALES O PRUEBAS 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



INFORMACIÓN DE SEGURIDAD DE SUSTANCIAS PELIGROSAS

EULOGIO CORRAL ARREDONDO

Departamento de Ecología, Universidad de Granada

A continuación, se detalla la información más relevante sobre seguridad en el manejo de las sustancias químicas incluidas en este manual de prácticas según el *Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos*. Para obtener una información completa de cada sustancia, se aconseja consultar las Fichas de Datos de Seguridad (FDS) disponibles en el lugar de realización de las prácticas.

PRÁCTICA 5. Capacidad de neutralizar ácidos en ecosistemas acuáticos. Determinación del carbono inorgánico.

Indicador mixto	
Pictogramas de peligro	 
Indicaciones de peligro	H225 Líquido y vapores muy inflamables H319 Provoca irritación ocular grave
Consejos de prudencia	P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233 Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Ácido sulfúrico 0,02 N
Sustancia no peligrosa

Ácido clorhídrico 0,05 N	
Pictogramas de peligro	
Indicaciones de peligro	H290 Puede ser corrosivo para los metales.

Fenolftaleína 1% en solución etanólica	
Pictogramas de peligro	
Indicaciones de peligro	H225 Líquido y vapores muy inflamables H319 Provoca irritación ocular grave H341 Se sospecha que provoca defectos genéticos. H350 Puede provocar cáncer. H361f Se sospecha que perjudica a la fertilidad.
Consejos de prudencia	P201 Pedir instrucciones especiales antes del uso. P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233 Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P280 Llevar guantes/prendas de protección. P308+P313 En caso de exposición manifiesta o presunta: consultar a un médico.

FUENTES:

Unión Europea. *Reglamento (CE) nº 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, y por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) nº 1907/2006.* Diario Oficial de la Unión Europea núm. 353, de 31 de diciembre de 2008.

Naciones Unidas (2015). *Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos.* Nueva York y Ginebra. Rev. 6.

Ministerio de Justicia (2018). ¿Qué es el Servicio de Información Toxicológica (SIT)? *Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses.* URL: <http://www.mjusticia.gob.es/cs/Satellite/Portal/es/ministerio/organismos-ministerio-justicia/instituto-nacional/servicio-informacion1>

Fichas de datos de seguridad de las casas comerciales *Carl Roth, PanReac AppliChem, Scharlau y Merck Millipore.*

1

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 África 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.

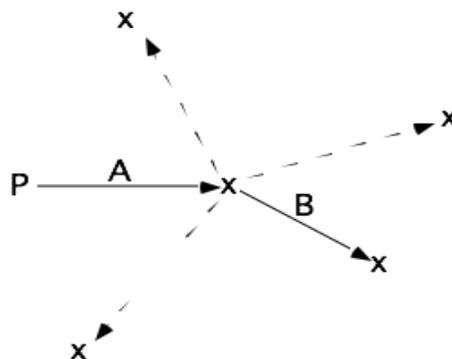


Figura 1. Método del vecino más próximo.

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:

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

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

En la primera parte 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						
∑A _i :		∑B _i :		-----	∑SS:	

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.

Le Houérou, H.N. 1989. Classification écoclimatique des zones arides du Nord de l'Afrique. *Ecologia Mediterranea*, XV (3-4): 95-144.

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.

2

DEPREDACIÓN DE SEMILLAS EN ECOSISTEMAS MEDITERRÁNEOS

JORGE CASTRO, RAFAEL RUBIO DE CASAS, IRENE VILLALTA ALONSO Y DIEGO SALAZAR-TORTOSA

Departamento de Ecología, Universidad de Granada

1. INTRODUCCIÓN

La semilla es el embrión en estado de vida latente y resulta de la transformación del óvulo fecundado. Es, por tanto, el resultado de la reproducción sexual en los espermatófitos (plantas con semillas) y constituye el comienzo del nuevo individuo. En este sentido, una semilla es equivalente al huevo de un ave o a la cría de un mamífero. Desde el punto de vista poblacional es una estructura de enorme trascendencia, pues permite el inicio del ciclo de vida y tiene el potencial de incrementar el tamaño poblacional. La semilla juega, además, un papel crucial en la vida de las plantas, que son organismos sésiles: puede ser dispersada por un amplio conjunto de vectores, sean abióticos (viento, agua) o bióticos (animales), lo que permite la colonización de nuevas áreas y la expansión de la especie. En la mayoría de los casos (y en particular en las angiospermas) la semilla se dispersa asociada al total o a parte del fruto que la contiene. Desde un punto de vista morfológico y anatómico, lo que se dispersa (o lo que se depreda) en estos casos no es la semilla, sino el fruto. No obstante, desde un punto de vista ecológico, este aspecto no tiene mayor trascendencia y en este guion usaremos el término “semilla” para referirnos indistintamente al fruto o a la semilla estrictamente hablando.

Una de las características esenciales de la semilla es la posesión, salvo contadas excepciones, de un tejido nutritivo destinado a nutrir al embrión durante el proceso de germinación y a la nueva plántula durante los primeros estadios del establecimiento. Estas reservas nutritivas son ricas en proteínas, grasas y sales minerales, y su concentración es particularmente alta, hasta el punto de que las semillas son el tejido más nutritivo de la planta. En consecuencia, las semillas constituyen un tejido particularmente atractivo para los depredadores y el estadio de semilla es una de las etapas más vulnerables en el proceso de incorporación de nuevos individuos a la población. El consumo de semillas por depredadores es una interacción que se denomina específicamente granivoría, y en muchos casos supone la muerte del individuo. De este modo, el consumo de una semilla puede ser equivalente al consumo de una paloma por parte de una rapaz: en ambos casos se acaba con la vida de la presa. La depredación de semillas es una interacción ecológica capaz de afectar a la composición de las comunidades vegetales y representa la causa principal de pérdidas reproductivas para muchas plantas.

La depredación de semillas puede ser pre-dispersiva, cuando ésta se ejerce sobre la planta madre, o post-dispersiva, cuando la semilla ya no se encuentra unida a la planta madre. La depredación pre-dispersiva es llevada a cabo fundamentalmente por larvas de insectos especialistas como, por ejemplo, escarabajos y lepidópteros, pero también puede ser llevada a cabo por vertebrados como aves o mamíferos. Por ejemplo, en nuestro entorno es común el piquituerto, un ave especializada en consumir semillas de pino antes de que sean dispersadas, el picogordo, que rompe el hueso de frutos como el tejo, almez o cerezo, o las ardillas, mamíferos que también consumen semillas antes de que éstas sean dispersadas. Los depredadores post-dispersivos, por su parte, son normalmente generalistas e incluyen fundamentalmente a mamíferos (roedores, ungulados), insectos (especialmente hormigas y escarabajos) y aves (Fenner y Thompson 2005). Tanto la depredación pre-dispersiva como la post-dispersiva pueden alcanzar valores muy altos, cercanos incluso al 100% en algunos años. Por ejemplo, para los bosques naturales de pino silvestre de Sierra Nevada y Sierra de Baza se determinó que la depredación pre-dispersiva alcanzaba hasta el 51% (llevada a cabo por piquituertos y otros paseriformes como lúganos y carboneros), y posteriormente las dispersadas sufrían una depredación que alcanzó casi el 100% en algunos casos. Como resultado, menos de un 1% de las semillas lograban salvarse tras depredación pre- y post-dispersiva en años de alta intensidad de depredación (Castro et al. 1999).

Las diferencias en depredación entre especies de plantas coexistentes en un mismo hábitat pueden tener consecuencias importantes en términos de estructuración de las comunidades vegetales, especialmente cuando éstas conducen a diferencias en el reclutamiento de propágulos entre especies con distintas capacidades competitivas. Muchas de estas diferencias interespecíficas están causadas por rasgos intrínsecos de las semillas como, por ejemplo, el tamaño, la presencia de estructuras físicas protectoras (p. ej., la cáscara de una nuez), la proporción pericarpo/endocarpo, la presencia de sustancias químicas de defensa, el tipo de depredador, etc. (Serrano y Delgado 2006). Entre todos ellos, un factor fácil de estudiar y que estructura el gremio de depredadores es el tamaño de las semillas. Semillas muy grandes serán más difíciles de consumir por organismos pequeños (salvo que se puedan consumir mordiendo su superficie o ser transportadas de forma cooperativa). Del mismo modo, semillas muy pequeñas pueden ser un recurso irrelevante para animales de gran tamaño, ya sea por la escasa cantidad de alimento que aportan o por la dificultad para localizarlas o manejarlas. Por ejemplo, un jabalí es un eficiente depredador post-dispersivo de bellotas, pero es improbable que consuma semillas de cistáceas, que apenas llegan al milímetro de diámetro. El tamaño de la semilla determina por tanto en gran medida el rango de depredadores a los que va a estar expuesta.

Otros factores que resultan determinantes para la tasa de depredación son los relacionados con la selección de hábitat y microhábitat por parte de los depredadores. Las características del hábitat pueden afectar al patrón de forrajeo de muy diversas maneras. Por ejemplo, es común que los roedores ejerzan mayor tasa de depredación en sitios donde se encuentran protegidos ante sus propios depredadores como, por ejemplo, bajo la cubierta de matorrales o ramaje que dificulta el acceso de rapaces y carnívoros, mientras que por el contrario ungulados como el jabalí consumen menos semillas cuando éstas están al amparo de estructuras físicas que dificultan el movimiento del animal. Muchas especies de hormigas ven fuertemente reducida su

actividad en zonas con escasa insolación y, por lo tanto, menor temperatura del suelo, de modo que en un área con sombra prolongada la depredación que ejercen estos organismos puede ser menor. En definitiva, estos factores pueden modular la tasa de depredación a una escala espacial muy fina, y su efecto depende mucho del tipo de depredador al que nos refiramos.

En esta práctica se determinará la tasa de depredación post-dispersiva de semillas en un ecosistema mediterráneo, así como los principales grupos de organismos que la llevan a cabo. Para ello se considerará la tasa de remoción de semillas en puntos de aporte establecidos experimentalmente.

Objetivo

Los objetivos de esta práctica son:

1. Establecer cuáles son los agentes depredadores de semillas.
2. Determinar cómo afecta el tamaño de la semilla a la selección de semillas por distintos grupos de organismos.
3. Analizar cómo afecta la proximidad de hormigueros a la depredación de semillas.
4. Estudiar cómo afecta la proximidad de refugios (ramaje, arbustos; en definitiva, el microhábitat) a la depredación de semillas.
5. Determinar cuál es la tasa de remoción de semillas en un matorral mediterráneo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los ecosistemas mediterráneos presentan una gran variación en el peso de las semillas de las especies que componen sus comunidades, con rangos que oscilan desde varios gramos en el caso de árboles del género *Quercus* (bellotas), hasta escasos miligramos para muchas especies de hierbas y matorrales. Diversos estudios han demostrado una alta tasa de depredación post-dispersiva en el matorral mediterráneo que es ejercida por pequeños mamíferos (principalmente ratones), aves e insectos (principalmente hormigas). En esta práctica vamos a determinar las tasas de depredación de tres especies con peso de semilla contrastado tratando de diferenciar el efecto ejercido por los diferentes grupos de depredadores. Consideraremos, además, algunas particularidades del hábitat y microhábitat como la densidad o distancia a hormigueros de hormigas granívoras o la distancia a matorrales que puedan ejercer de cubierta protectora para roedores.

La práctica se llevará a cabo en el Cortijo del Conejo, una finca pública gestionada por la Consejería de Medio Ambiente. Se encuentra en el altiplano de Guadix, en la zona de Hernán Valle, a unos 1000 m de altitud s.n.m. Consiste en una dehesa de encinas (*Quercus ilex* ssp. *ballota*) poco densa (3-4 árboles por hectárea) con matorral abierto,

donde predominan la retama (*Retama sphaerocarpa*), arbustos de porte bajo como la artemisa (*Artemisa barrerlii*), tomillos (*Thymus* spp.) y esparto (*Stipa tenacissima*). Los principales depredadores de semillas en la zona de estudio son, como suele ser el caso en ecosistemas mediterráneos, roedores, aves y hormigas. Entre los roedores cabe citar como principal depredador al ratón de campo (*Apodemus sylvaticus*). Este animal puede consumir un amplio abanico de semillas, con sustanciales variaciones en su tamaño como las producidas por gramíneas hasta bellotas. Entre las aves existe una amplia comunidad en la zona de especies granívoras o que incluyen una proporción de grano relevante en su dieta. La mayoría son paseriformes como los trigueros, verderones, verdecillos, pinzones, etc., pero también las hay de otros órdenes como las perdices (*Alectoris rufa*). Es de destacar que en la zona existen varias especies de aves que pueden consumir semillas de gran tamaño como bellotas, tales como la paloma torcaz, que puede ejercer tanto depredación pre-dispersiva como post-dispersiva. Otro grupo de aves relevante en este aspecto es el de los córvidos, en especial en lo relacionado con el consumo de bellotas. Varias especies de córvidos presentes en la zona, como la corneja o la urraca, tienen el hábito de esconder frutos y semillas (como bellotas) para su posterior consumo a lo largo del invierno. Esto implica la dispersión de la semilla hacia un punto alejado de la planta madre. En caso de que la semilla no sea finalmente consumida (por ejemplo, por olvido del punto de escondite por parte del animal que la esconde) se puede producir el reclutamiento de una plántula, de modo que la interacción se traduce en un mutualismo en el que tanto la planta como el ave se benefician. La remoción por estas aves presenta, además, el problema de que no suele dejar huella, ya que cogen la semilla entera, sin dañarla ni dejar rastros. En estos casos no podemos conocer si la remoción implica o no una depredación, e incluso un beneficio para la planta, y no podremos determinarlo en esta práctica. Finalmente, en el área de estudio existen varias especies de hormigas depredadoras de semillas. El género *Messor*, común en esta zona, incluye especies de gran tamaño que se encuentran entre las hormigas más granívoras, pudiendo transportar semillas de hasta 20 mg. Dada la limitada área de forrajeo de estos animales en comparación con los vertebrados, así como la facilidad para detectar sus colonias (hormigueros), podremos utilizar la presencia de hormigueros como un factor para analizar las tasas de depredación.

Para el estudio de la depredación post-dispersiva se pueden utilizar diversos métodos. Uno de los más utilizados, por versatilidad y precio, consiste en colocar cierto número de semillas en puntos de muestreo (puntos de aporte) y registrar la tasa de remoción (pérdida de semillas) periódicamente. Hay que tener en cuenta que la remoción de una semilla no implica necesariamente su consumo, pues puede ser transportada a otro sitio para su almacenamiento y no ser finalmente consumida, perderse por el camino, etc., pudiendo originar, por tanto, una dispersión. De este modo, y con objeto de ser cautelosos, suele hablarse de tasa de remoción, y no necesariamente depredación. La remoción de semillas puede producirse, como hemos comentado, por diversos grupos de organismos. La actividad de algunos de estos grupos puede diferenciarse utilizando estructuras que evitan el acceso de unos, pero no de otros. En esta práctica trataremos de usar estructuras que permitan cuantificar la depredación por insectos y por aves. Uno de los tratamientos de aporte estará accesible para todos los depredadores, de modo que la actividad de los roedores podrá inferirse parcialmente a partir de la comparación entre distintos tipos de estructuras protectoras.

Especies de plantas utilizadas:

Utilizaremos diversas semillas de plantas presentes en la zona de trabajo que han sido escogidas en función de su tamaño para determinar fácilmente el efecto del peso sobre el grupo de depredadores: una gramínea (como trigo o alpiste), bellotas y semillas de pino.

Factores en el diseño experimental:

- Tipo de depredador, mediante exclusiones de tela metálica: con malla (sólo insectos), acceso a todos, y sólo aves (con poste y comederos encima).
- Tipo de microhábitat: áreas despejadas versus áreas próximas a arbustos, ramaje, etc., con potencialidad para servir de refugio a roedores.
- Abundancia/cercanía de hormigueros.

Diseño experimental:

Se establecerán grupos de unos 4 alumnos. Cada grupo establecerá 2-3 puntos de muestreo en microhábitat protegido por estructuras físicas (por ejemplo, alrededor del ramaje que rodea a los troncos de encinas adultas, cerca de matorrales como *Retama sphaerocarpa*, etc.) y 2-3 puntos de muestreo en zonas despejadas, alejadas al menos 20 m del microhábitat anterior. Para cada punto de muestreo se dispondrán tres placas de Petri (tres niveles del tratamiento “tipo de depredador”) que corresponden a la accesibilidad de las semillas por parte de los depredadores: placas de Petri protegidas con tela metálica de 1 cm de luz de malla (accesibles sólo para hormigas), placas de Petri sin protección (semillas accesibles para todos los depredadores) y placas de Petri clavadas en un poste de madera de unos 75 cm de altura (accesibles sólo para aves). Las placas de Petri se dispondrán tratando de disimularlas entre el sustrato. En cada una de ellas se colocarán semillas de las tres especies de estudio: 5 de gramínea, 3 de pino, y 1 bellota de encina. Adicionalmente, se anotará la densidad de hormigueros activos de hormigas granívoras en un radio de 10 m alrededor de cada punto de muestreo. El diseño experimental se establecerá el primer día de la práctica y los datos se tomarán en una segunda visita al cabo de una semana. Finalmente, los datos se analizarán y se interpretarán en el aula de informática.

3. RESULTADOS

Tabla 1. Número de semillas que quedan al cabo de una semana, separadas por tratamientos y especies, para cada uno de los grupos de trabajo. Tened en cuenta que la numeración de los puntos de muestreo es consecutiva: 1-4; 5-8; 9-12; 13-16; 17-20; 21-24; 25-28; 29-32. Indicad vuestros puntos, siguiendo este esquema, en la columna “Punto real”.

Semilla = gramínea (n inicial = 5)

Punto (ej.)	Punto real	Microhábitat	Depred. todos	Depred. hormigas	Depred. aves	Nº hormigueros
1		Matorral				
1		Abierto				
2		Matorral				
2		Abierto				
3		Matorral				
3		Abierto				
4		Matorral				
4		Abierto				

Semilla = pino (n inicial = 3)

Punto (ej.)	Punto real	Microhábitat	Depred. todos	Depred. hormigas	Depred. aves	Nº hormigueros
1		Matorral				
1		Abierto				
2		Matorral				
2		Abierto				
3		Matorral				
3		Abierto				
4		Matorral				
4		Abierto				

Semilla = bellota (n inicial = 1)

Punto (ej.)	Punto real	Microhábitat	Depred. todos	Depred. hormigas	Depred. aves	Nº hormigueros
1		Matorral				
1		Abierto				
2		Matorral				
2		Abierto				
3		Matorral				
3		Abierto				
4		Matorral				
4		Abierto				

Resumen general de datos:

- Depredación por hormigas=
- Depredación por roedores=
- Depredación por todos los agentes=
- Relación depredación vs. densidad de hormigueros=

Metodología para el análisis gráfico de los datos de campo:

Una vez obtenidos los datos en el campo, procederemos a explorarlos para inferir los patrones más llamativos. Vamos procesar los resultados del campo y a su exploración gráfica. Aunque para poder extraer conclusiones definitivas habría que proceder a un análisis estadístico detallado, una exploración gráfica puede proporcionar mucha información. Además de ser un paso imprescindible para entender los datos, puede en muchos casos ser lo bastante informativa como para orientar la toma definitiva de soluciones.

A pesar de que no vamos a realizar un análisis estadístico en profundidad, sí vamos a emplear una serie de estadísticos para visualizar los datos de forma sintética:

Media aritmética de la población (μ): se asume que es el valor más representativo de la población. Se calcula como la suma de los valores de todas las observaciones dividida entre el número de observaciones (n).

Desviación típica (σ): mide el grado de dispersión de los datos, lo que varían los valores dentro de la población. Equivale a la raíz cuadrada de la varianza (σ^2).

Error típico (SE): es una estimación de la variación entre los datos, debida a las diferencias entre cada una de las muestras tanto por causas intrínsecas como por errores en la medición o manipulación. Una media poblacional será tanto más representativa cuantas más muestras se hayan medido, por lo que el SE disminuye con el número de muestras "n". Se calcula ponderando la desviación típica por el número de medidas dividiendo aquella por la raíz cuadrada del número de muestras.

Intervalo de confianza (CI): define el rango dentro del que varían los valores más frecuentes de la población. Se suele usar el del 95%, que para muestras grandes y que sigan una distribución normal equivale a $1,96 \times SE$.

Coefficiente de determinación (R^2): mide la capacidad explicativa de un modelo estadístico, lo fiables que son las predicciones basadas en ese modelo. Su valor oscila entre 0 y 1. La capacidad predictiva del modelo es mejor cuanto mayor sea R^2 , siendo totalmente fiable si $R^2 = 1$. En esta práctica, lo vamos a usar para estimar la precisión de un "modelo lineal", un modelo que asume que la variable independiente (y) es una función lineal de la independiente (x):

$$y = a + bx$$

Instrucciones de manejo de Excel:

En la hoja “datos_brutos” tenemos todos los datos. Cada grupo tiene 4 estacas (2 en abierto y 2 en matorral), y cada estaca tiene tres datos de cada especie (uno por nivel de tratamiento de depredación). Los datos incluidos son % de remoción y número de hormigueros.

Es importante remarcar que hay que apuntar el dato en la combinación de microhábitat*tratamiento*especie, independientemente de si la estaca 1 es de matorral o de zona abierta. La clave es la combinación de los factores y, por supuesto, el grupo.

Los datos de hormiguero corresponden necesariamente con gramíneas, así que es mejor que ese dato se rellene en una celda que se corresponda a ese tipo de semillas.

Gráfica 1:

El objetivo de esta primera figura es visualizar la diferencia en las tasas de remoción (como aproximación a la depredación total) entre los diferentes tipos de semillas. Esto nos permitirá tener una intuición sobre si las semillas de distintos tipos sufren diferentes tasas de depredación.

La aproximación gráfica que usaremos es una gráfica de barras. En este tipo de gráficos, la media poblacional mu determina la altura de las barras. En torno a esta media se representa la dispersión de los datos mediante unos “bigotes” o barras de error. Para representar la dispersión se pueden usar cualquiera de los tres estadísticos mencionados más arriba (SD; SE; CI). Lo más habitual es utilizar el CI porque permite determinar visualmente si hay diferencias significativas o no entre los grupos. Si las medias (i.e., la altura de las barras) de dos grupos son distintas y los intervalos de confianza no se solapan, podemos asumir que los valores de ambos grupos son significativamente diferentes. El procedimiento es el siguiente:

1. Ordenar los datos brutos por “Tipo_Semilla” en la hoja de procesamiento. Se selecciona la opción de ordenar y se orden por la columna “Tipo_Semilla”. Esos datos se copian en la hoja que vamos a emplear para generar la Gráfica 1.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Grupo	Estaca	Microhábitat	Tipo_Semilla	Depredación	%Remoción	Hormigueros			
2	1	1	Matorral	Bellota	Aves	0	xxx			
3	1	1	Matorral	Gramínea	Aves	100	xxx			
4	1	1	Matorral	Pino	Aves	66,6	xxx			
5	1	1	Matorral	Bellota	Insectos	0	xxx			
6	1	1	Matorral	Gramínea	Insectos	100	6			
7	1	1	Matorral	Pino	Insectos	100	xxx			
8	1	1	Matorral	Bellota	Todos	0	xxx			
9	1	1	Matorral	Gramínea	Todos	100	vvv			

Figura 1. Localización del menú para ordenar datos en Excel.

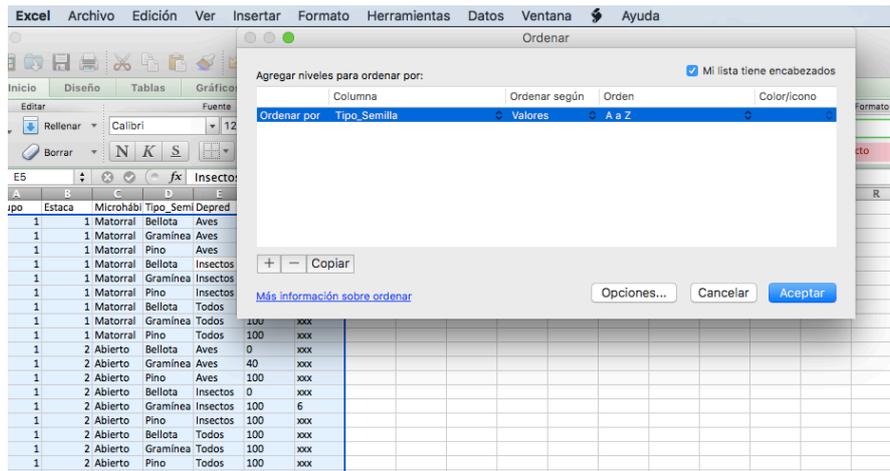


Figura 2. Menú para ordenar los datos según el tipo de semilla. Nótese que la casilla de “Mi lista tiene encabezados” está marcada.

2. Calcular los promedios de remoción por tipo de semilla. Comando: PROMEDIO(X), siendo X el conjunto de datos a promediar. En este caso, los valores del tipo de semilla correspondiente. Los promedios de los tres tipos se ponen uno debajo de otro, junto con el nombre de la especie en la celda adyacente.

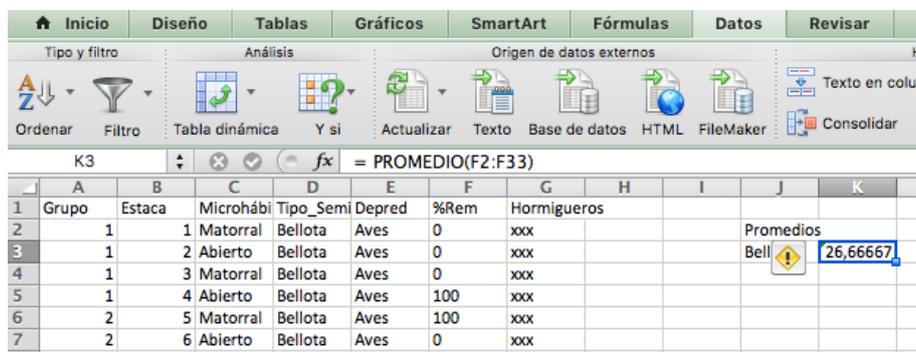


Figura 3. Cálculo de la media de remoción por tipo de semilla. En el ejemplo se muestra un caso para bellotas.

3. Calcular el intervalo de confianza, el error típico y la desviación típica de cada especie. Para eso vamos a aprovechar que Excel calcula la desviación típica automáticamente mediante el comando “DESVEST”. Recordamos que

$$SE = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

Que en Excel equivale a:

$$SE = \text{DESVEST}(X)/\text{RCUAD}(\text{CONTAR}(X))$$

Donde es X el conjunto de observaciones a considerar. Los valores de error típico e intervalo de confianza se añaden al lado de los promedios.

	I	J	K	L	M	N
			Promedios SE		CI	
		Bellota	14,89362	3,6918129	7,235953	
		Gramíneas	88,7234	2,98794207	5,856366	
		Pino	86,16277	3,28435452	6,437335	

Figura 4. Ejemplo de tabla con los datos necesarios para representar la Gráfica 1.

4. Para crear el gráfico de barras se seleccionan los tres promedios junto con los correspondientes nombres de las especies. Se pincha en “Gráficos/Columnas/Columnas agrupadas”. Esto generará un gráfico con tres columnas, uno para cada especie. Los títulos de los ejes y el título principal se pueden añadir pinchando sobre la figura, luego seleccionando el menú que se despliega llamado “Diseño del gráfico”, ahí están las opciones “Título del gráfico” y “Título de los ejes”.

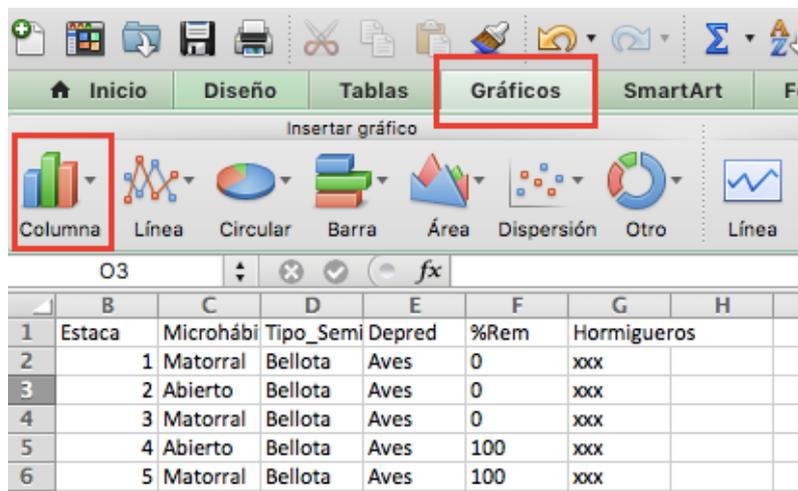


Figura 5. Localización del menú para la representación de gráficos de barras con Excel.

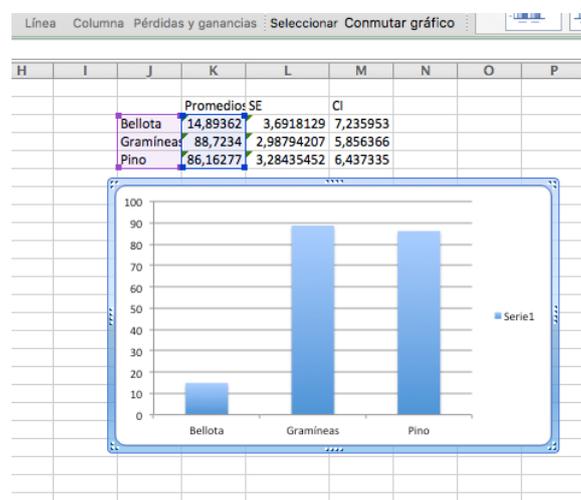


Figura 6. Gráfico de barras con las tasas de depredación de cada tipo de semilla.

5. Añadimos las barras de error usando el intervalo de confianza previamente calculado. Se pincha sobre el gráfico para desplegar el menú “Diseño del gráfico” y ahí se selecciona “Barras de error”, luego “Opciones de la barra de error...”, “Cuantía de error – Personalizado”, “Especificar valor” y en el cuadro de diálogo seleccionamos para el valor de error positivo y negativo los tres datos de intervalo de confianza.

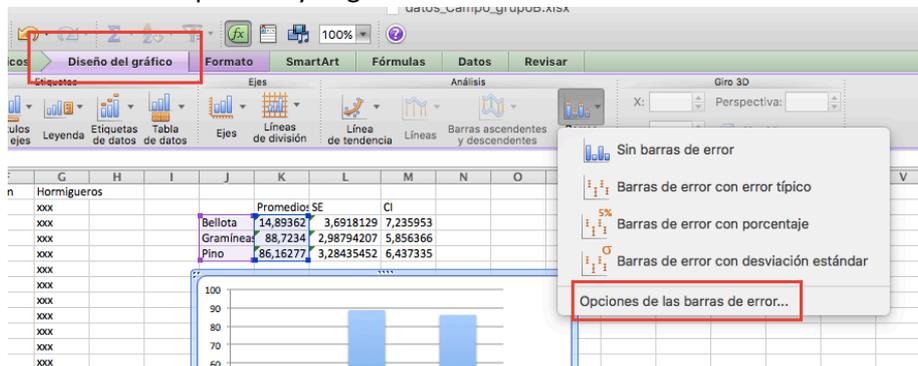


Figura 7. Localización de las barras de error personalizadas en Excel.

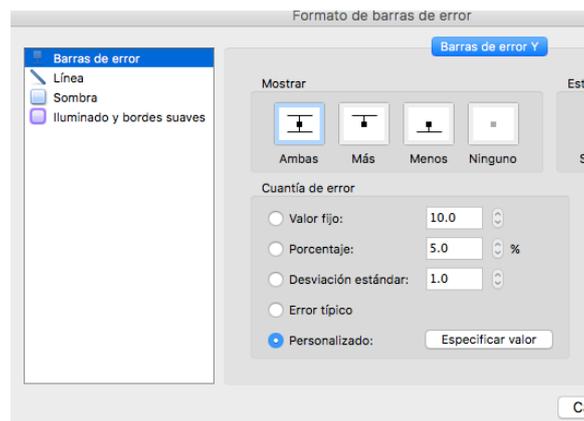


Figura 8. Diálogo de barras de error. Seleccionar la opción “Personalizado” y luego “Especificar valor”.

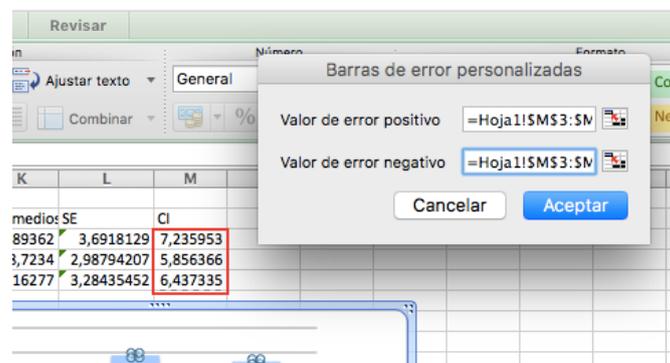


Figura 9. Selección de los valores para las barras de error. En este caso se seleccionan los valores de CI tanto para los valores de error positivo como negativo (i.e., se asume que el error es simétrico).

Gráfica 2:

De nuevo utilizaremos una gráfica de barras para explorar las diferencias debidas al efecto del microhábitat, tanto a nivel global como entre tipos de semillas.

1. Igual que antes se ordenan los datos brutos en la hoja de procesamiento (de la Gráfica 2). En este caso se ordenan por "Tipo_Semilla", luego se añade otro filtro para ordenar por "Microhábitat" y luego otro para "Depred". El resultado se copia en la hoja de la Gráfica 2.

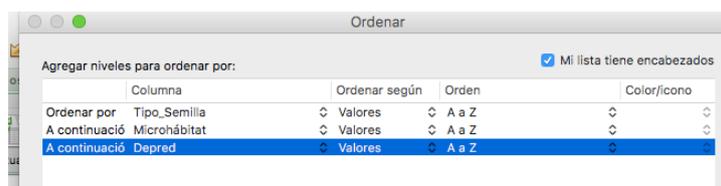


Figura 10- Ordenación de datos según los tres criterios a considerar.

Bellota	Aves	0	xxx
Bellota	Aves	0	xxx
Bellota	Aves	0	xxx
Bellota	Aves	0	xxx
Bellota	Aves	100	xxx
Bellota	Aves	100	xxx
Bellota	Aves	0	xxx
Bellota	Aves	0	xxx
Bellota	Aves	0	xxx

Hoja1 Gráfica 1 **Gráfica 2** +

Listo

Figura 11. Es importante copiar y pegar los datos en una hoja de cálculo nueva para cada gráfica.

2. Por separado para cada tipo de semilla, se calculan los promedios de remoción y el error estándar correspondiente para las siguientes combinaciones de datos:
 - a. Abierto – Aves
 - b. Abierto – Insectos
 - c. Abierto – Todos
 - d. Matorral – Aves
 - e. Matorral – Insectos
 - f. Matorral – Todos
3. Por cada especie debe haber una tabla con 3 filas (por 3 especies) y dos columnas (por dos microhábitats) con los promedios de remoción, junto con otra separada con los errores estándar y los CI.

			Promedio	SE	CI
Bellotas	Abierto	Aves	20	11	21
		Insectos	0	0	0
		Todos	12,5	9	17
	Matorral	Aves	25,2	5	10
		Insectos	0	0	0
		Todos	17,4	1	2
Gramíneas	Abierto	Aves	71	4	8
		Insectos	100	7	14
		Todos	90	4	8
	Matorral	Aves	17	7	14
		Insectos	37	8	16
		Todos	68	8	16
Pino	Abierto	Aves	23	6	12
		Insectos	2	1	1
		Todos	34	5	10
	Matorral	Aves	80	1	2
		Insectos	0	0	0
		Todos	34	9	18

Figura 12. Ejemplo de tabla con los datos resumidos por tipo de semilla, microhábitat y predador.

4. Se seleccionan los promedios junto con los nombres de especies y microhábitat y se crea un gráfico de barras como antes.
5. Las barras de error se añaden como en el caso anterior, con la diferencia de que se deben añadir los errores de cada nivel de depredación por separado. Se selecciona Aves, y se cogen los errores de aves para abierto y matorral. Así para los otros dos niveles.
6. Los títulos se pueden poner como en el caso anterior.

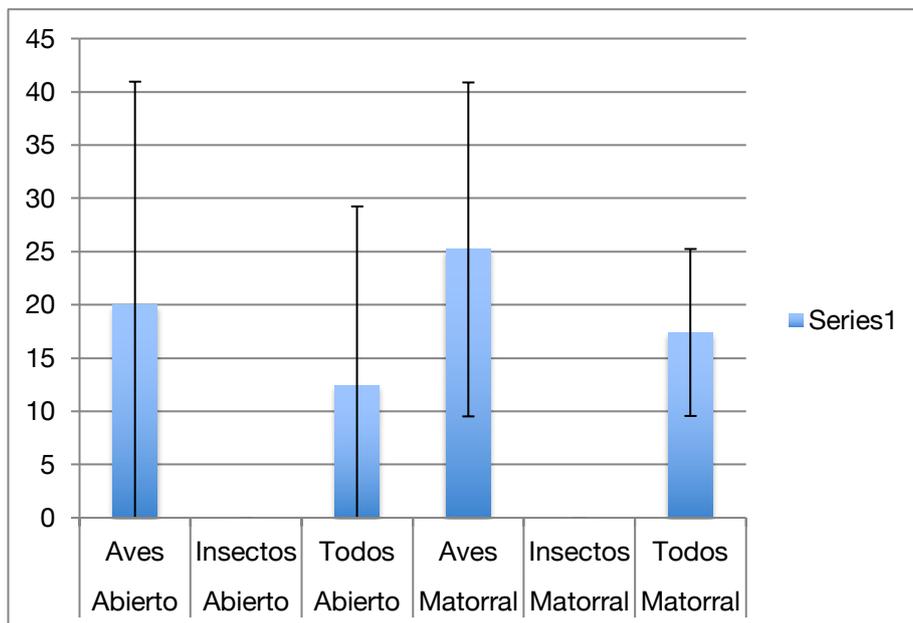


Figura 13. Ejemplo de gráfica de barras por tipo de semilla, microhábitat y predador. En este caso se trata de datos de bellotas. Obsérvese la dispersión extrema para algunos microambientes y tipo de predador (Abierto-Aves y Abierto-Todos) que imposibilita extraer conclusiones para esos contextos. En cambio, parece seguro asumir que no hay depredación de bellotas por insectos.

Gráfica 3:

Esta última figura supone una aproximación al efecto de las hormigas como predadores de semillas. Para esto vamos a usar un tipo de representación gráfica diferente, un “diagrama de dispersión”. En este tipo de gráficas, los valores de una variable (y) se representan según los valores de otra (x) con la que puede tener una relación. En este caso, vamos a representar la tasa de remoción (y) según el número de hormigueros (x), asumiendo que puede haber una relación lineal entre ambas variables. Nos permite establecer de manera preliminar si la presencia de hormigas se traduce en una mayor tasa de remoción.

1. En la hoja de procesamiento de la Gráfica 3 se seleccionan solo los datos de gramíneas. Para ello en el menú de “Datos” se selecciona el “Filtro”, luego pincháis sobre especie y seleccionáis gramínea. Se copian los datos a la hoja correspondiente a la Gráfica 3.

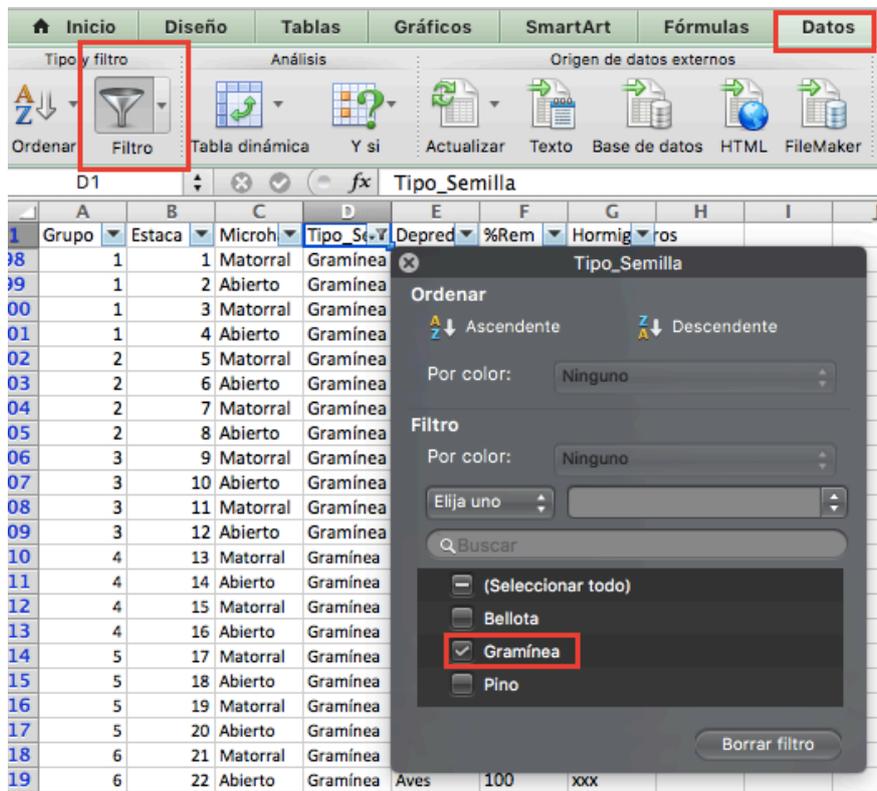


Figura 14. Filtrado de datos para seleccionar solo los valores de gramíneas.

2. Calculamos el promedio de remoción para cada punto de muestreo, independientemente que sea ave, todos... Para ello creamos una nueva columna llamada “Promedios Rem”. En la segunda celda aplicamos PROMEDIO(), seleccionado los tres primeros datos de la columna con los datos de remoción (%Rem). A continuación, aplicamos a todas las celdas automáticamente seleccionando la celda con el promedio y los dos contiguas (una por arriba y otra por abajo), entonces se deja pulsado con el ratón sobre la esquina inferior derecha de la celda y se arrastra el final de los datos.

Grupo	Estaca	Microhábitat	Tipo_Semilla	Depred	%Rem	Hormigueros	Promedios Rem
1	1	Matorral	Gramínea	Aves	100	xxx	
1	1	Matorral	Gramínea	Insectos	100	6	=PROMEDIO(F2:F4)
1	1	Matorral	Gramínea	Todos	100	xxx	

Figura 15. Cálculo de los promedios de remoción por punto de muestreo.

3. Se vuelve filtrar esta vez con hormiguero y se deselectan aquellas filas con “xxx”. Ahora tenemos los datos de densidad de hormigueros y sus correspondientes promedios de remoción.

E	F	G	H	I	J	K	L
ed	%Rem	Hormigueo	Promedio	em			
tos	100	6					
tos	100	6					
tos	100	4					
tos	100	5					
tos	100	9					
tos	100	15					
tos	100	10					
tos	0	12					
tos	100	8					
tos	20	3					
tos	100	4					
tos	40	5					
tos	100	9					
tos	100	10					
tos	100	10					
tos	100	10					
tos	100	15					
tos	100	11					
tos	100	13					
tos	100	14					
tos	100	13					
tos	100	7					

Figura 16. Filtrado de los datos para seleccionar solo las celdas que se corresponden con el número de hormigueros. Se dejan fuera las celdas que tienen “xxx”.

4. Se seleccionan esas dos columnas (Hormiguero y Promedio Rem) y en “Gráficos” indicamos “Dispersión/Dispersión con marcas”.

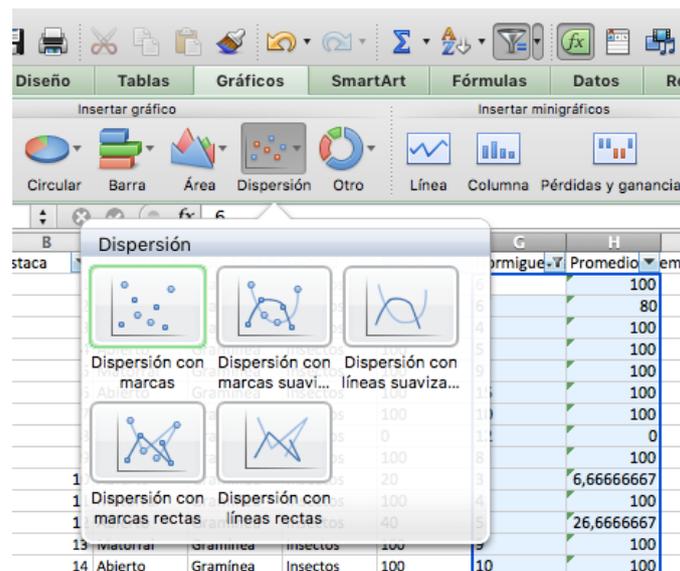


Figura 17. Selección de los datos y del tipo de gráfica para generar un diagrama de dispersión de la remoción e función del nº de hormigueros.

5. Pinchamos sobre el gráfico para desplegar “Diseño del gráfico” y ahí seleccionamos “Líneas de tendencia/Línea de tendencia lineal”. Esto calcula el modelo lineal que relaciona las dos variables: Remoción (y) frente a nº de hormigueros (x) de acuerdo con una función de tipo

$$y = a + bx$$

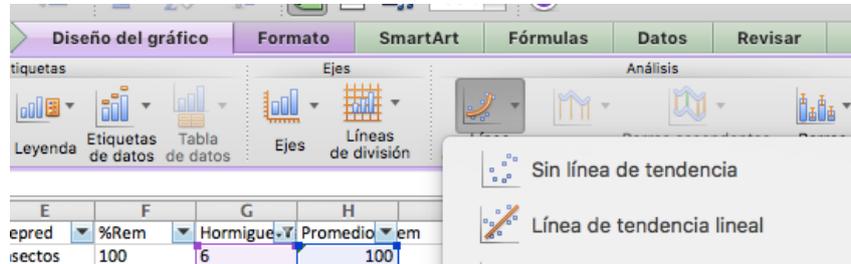


Figura 18. Cuadro de diálogo para extraer la función lineal que relacione nº de hormigueros y %Remoción.

6. Se pincha dos veces sobre la línea de tendencia en el gráfico y en opciones del menú que se despliega seleccionamos “Presentar el valor de R cuadrado”. Cuando aparezca en la figura lo movemos hasta los márgenes para que se vea bien.

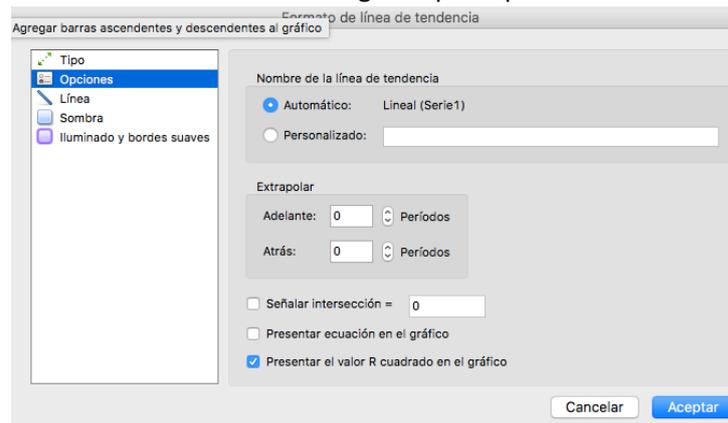


Figura 19. Cuadro de diálogo que aparece al pinchar dos veces sobre la línea de tendencia y que permite visualizar el coeficiente de determinación.

7. Como en las otras figuras, los títulos se establecen en las correspondientes opciones de “Diseño del gráfico”.

4. CUESTIONES

1. ¿Por qué es la depredación de semillas tan relevante para las poblaciones de plantas?
2. ¿Es igual la remoción de semillas que la depredación de semillas? Y si no lo son, ¿cuáles son las diferencias?
3. ¿Cuáles son los principales depredadores de semillas en ecosistemas mediterráneos?
4. ¿Cuáles son los principales depredadores de bellotas en ecosistemas mediterráneos?

5. ¿Existe alguna diferencia en el patrón de depredación entre puntos de aporte situados cerca de hormigueros y puntos de aporte alejados de hormigueros? Cuáles son estas diferencias y cómo podemos explicarlas.

5. BIBLIOGRAFÍA

Castro, J., Gómez, J.M., García, D., Zamora, R. & Hódar, J.A. 1999. Seed predation and dispersal in relict Scots pine forests in southern Spain. *Plant Ecology*, 145: 115-123.

Fenner, M. & Thompson, K. 2005. *The Ecology of Seed*. Cambridge University Press.

Serrano, J.M. & Delgado, J.A. 2006. Seed predation. En: *Handbook of seed science and technology* (ed. Basra A.). Haworth's Food Products Press.

3

VARIABILIDAD EN LAS POBLACIONES NATURALES

JOSÉ ANTONIO HÓDAR

Departamento de Ecología, Universidad de Granada

1. INTRODUCCIÓN

Las poblaciones no están compuestas por individuos idénticos entre sí que usan los recursos disponibles del mismo modo y con similar eficiencia, sino por individuos que muestran variaciones en la explotación de recursos. Dicha variación, a través del mecanismo de la selección natural, es la que eventualmente permite el ajuste de los organismos a su ambiente (ya sea abiótico o biótico) y, por lo tanto, como primera condición necesaria para la adaptación de los organismos a su medio, es un objeto esencial de estudio de la Ecología.

Podríamos pensar que, si una especie está perfectamente adaptada a su medio y a vivir explotando una serie de recursos, cualquier desviación de ese modelo óptimo tendría como consecuencia una reducción en la eficacia de explotación de tales recursos, lo que generaría las condiciones para una fuerte selección estabilizadora. Sin embargo, esto sólo es posible cuando las condiciones del medio son muy estables y homogéneas, y los recursos abundantes; de otro modo, la competencia sobre la porción de recurso más explotada hará que la explotación de segmentos del recurso más y más fuera del segmento óptimo sea cada vez más rentable por individuos cada vez más apartados del “patrón” de la especie. Pero, como todos sabemos, los recursos en la naturaleza pueden ser enormemente variables. La variabilidad en la disponibilidad de estos recursos es la primera causa para una correlativa variación en las especies que los explotan, y puede dar lugar a adaptaciones locales o, en el caso extremo, a la aparición de nuevas variedades.

Para el ser humano puede resultar más o menos obvio que cada uno de sus congéneres es único, singular e irreplicable, incluso puede ser capaz de distinguir individuos entre sí cuando se enfrenta a seres de su entorno más inmediato, como su perro, su gato, o el pececillo de su acuario. En cambio, nuestra primera impresión es que los organismos a los que no estamos habituados (los animales y las plantas) responden a un arquetipo bien definido, y que los individuos pertenecientes a una de estas especies varían poco (o nada) en torno a ese modelo.

La práctica tiene por objeto reconocer esta variedad, trabajar con los distintos estimadores que nos permiten cuantificarla y analizar sus posibles consecuencias para los individuos de una población. En un estudio de esta naturaleza, podríamos usar la

población de alumnos de nuestra clase y tomar una variable cualquiera bien definida, como la altura o el peso. Sin embargo, resulta difícil hoy en día atribuir posibilidades de selección a los rasgos que presenta el ser humano, y en todo caso abundaríamos en lo ya conocido, en que cada ser humano es único e identificable. Por ello, vamos a usar una población natural de una planta conocida por todos: la encina (*Quercus ilex*).

¿Por qué una planta? Hay dos razones. La primera es que, mucho más que para los animales, quien no se ha fijado en ellas puede dudar de la variabilidad que existe en casi cualquier rasgo de unos individuos a otros. La segunda es que permite una mejor estima de muchos de sus parámetros biométricos porque, debido a su naturaleza modular, ofrece muchos elementos medibles muchas veces: las hojas. En esta práctica cuantificaremos la variación que hay en tamaño de hoja y número de espinas a tres niveles diferentes: entre hojas, entre partes diferentes de la encina y entre diferentes pies de encina.

Objetivos

Los objetivos de esta práctica son:

1. Reconocer la variación entre individuos como una característica esencial de las poblaciones naturales.
2. Aprender a emplear los estimadores estadísticos adecuados para cuantificar dicha variabilidad.
3. Analizar las posibles consecuencias de la variabilidad en un rasgo para los individuos de una población.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

La población de encina a muestrear se sitúa en el Collado de los Blancares (La Peza), entre las sierras de Huétor y Sierra Nevada, justo en el límite de la zona que se quemó en el gran incendio de 1993 y donde se realiza otra práctica de la asignatura. Cada encina está numerada con una etiqueta metálica, de modo que es perfectamente identificable. Debido al manejo al que han sido sometidas (carboneo, pastoreo, extracción de leña, etc.), la mayor parte de las encinas tienen una zona de rebrote en su base, conocida como rabiche, y otra más alta que le da el porte arbóreo. Muestrearemos estas dos partes por separado, de modo que a cada encina se le recogen 30 hojas de la copa (por encima de 1,5 m de altura) y 30 hojas de los rebrotes de la cepa. Las hojas se prensan como es habitual en la preparación en seco de los materiales vegetales, y se etiquetan debidamente con rotulador indeleble.

Una vez en laboratorio, cada persona cogerá los sobres correspondientes a una planta, anotará su número, y medirá, para 10 hojas de las 30 de que dispone, la longitud de la hoja y el número de púas que presenta en su margen.

3. RESULTADOS

Con los datos recogidos en la tabla, hay que calcular la media y la desviación típica para la longitud y para el número de púas, tanto en las hojas del rebrote como de la copa.

Tabla 1. Recogida de datos en rebrotes y copa.

Planta nº _____								
Rebrotes					Copa			
	Longitud	(Longitud) ²	Espinas	(Esp.) ²	Longitud	(Longitud) ²	Espinas	(Esp.) ²
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
Σx								
X		---		---		---		---
DT		---		---		---		---
CV		---		---		---		---

La media se calcula dividiendo la sumatoria $\sum x$ por n , el tamaño de muestra, y la desviación típica (también conocida como desviación estándar, no confundir con error típico o estándar) como:

$$DT = \sqrt{\frac{\sum(x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}}$$

siendo x los datos que estamos analizando en ese momento. De este modo, para cada variable (longitud o número de púas) y para cada parte de la encina (rebrote o copa) tendremos un valor medio y un indicativo de la variabilidad del individuo. Por ejemplo, si decimos que nuestra encina tiene en su copa una longitud de hoja de $24,3 \pm 1,8$ mm y en sus rebrotes una de $27,6 \pm 3,8$ mm, podemos estar razonablemente seguros de que las hojas de los rebrotes son más grandes, pero también más variables, que las de la copa.

Un aspecto interesante de la DT es que nos puede ayudar a calcular qué tamaño de muestra necesitamos para tener una estima fiable del parámetro que nos interesa. Para ello calculamos el coeficiente de variación o CV, dividiendo la DT por la media, esto es, $CV = (DT/X) \cdot 100$. Este coeficiente se expresa como porcentaje: usualmente se admite que cuando CV está por debajo del 5% el tamaño de muestra con el que estimamos la media es suficiente; si está por encima debemos incrementar el tamaño de muestra. No obstante, esto es sólo una regla orientativa: puede ocurrir que la población sea muy variable y que, incluso incrementando mucho el tamaño de muestra, siga siendo mayor del 5%.

Reuniendo los valores promedio de toda la clase y representándolos en una distribución de frecuencias, encontramos que las distintas variables presentan una distribución acampanada, esto es, hay pocos valores extremos y la mayor parte de los individuos se agrupan en los valores medios.

Histogramas para la distribución de individuos (eje y) según el tamaño de la hoja (mm):

HOJAS DE REBROTE

Individuos	+								
	12								
	11								
	10								
	9								
	8								
	7								
	6								
	5								
	4								
	3								
	2								
	1								
	15-17,5	17,6-20	20,1-22,5	22,6-25	25,1-27,5	27,6-30	30,1-32,5	32,6-35	35,1-38
	Tamaño de la hoja (mm)								

HOJAS DE COPA

Individuos	+								
	12								
	11								
	10								
	9								
	8								
	7								
	6								
	5								
	4								
	3								
	2								
	1								
	15-17,5	17,6-20	20,1-22,5	22,6-25	25,1-27,5	27,6-30	30,1-32,5	32,6-35	35,1-38
	Tamaño de la hoja (mm)								

Histogramas para la distribución de individuos (eje y) según el número promedio de espinas:

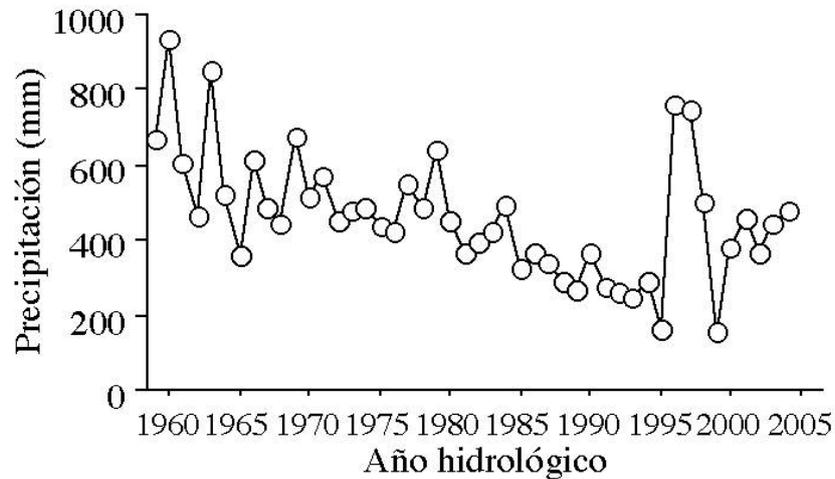
HOJAS DE REBROTE

Individuos	+										
	12										
	11										
	10										
	9										
	8										
	7										
	6										
	5										
	4										
	3										
	2										
1											
		0-2	2,1-4	4,1-6	6,1-8	8,1-10	10,1-12	12,1-14	14,1-16	16,1-18	>18
Número promedio de espinas											

HOJAS DE COPA

Individuos	+										
	12										
	11										
	10										
	9										
	8										
	7										
	6										
	5										
	4										
	3										
	2										
1											
		0-2	2,1-4	4,1-6	6,1-8	8,1-10	10,1-12	12,1-14	14,1-16	16,1-18	>18
Número promedio de espinas											

4. Aquí tienes la precipitación anual registrada en Granada durante un período de 45 años. ¿Te parece que la gráfica puede darte alguna idea para responder la pregunta anterior?



5. BIBLIOGRAFÍA

Grant, B.R. & Grant, P.R. 1989. Evolutionary dynamics of a natural population. The large cactus finch of the Galápagos. Chicago University Press.

Darwin, C. 1872. Origen de las especies por medio de la selección natural o la conservación de las razas favorecidas en la lucha por la existencia. Edición en español (traducción de la 6ª edición inglesa, Murray) de Akal, 1985. Capítulos 1 y 2.

Endler, J.A. 1986. Natural selection in the wild. Princeton University Press.

Weiner, J. 1994. El pico del pinzón. Edición en español (traducción de The beak of the finch, Vintage) de Galaxia Gutenberg-Círculo de lectores, 2002.

4

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 climatología local, como el viento.

De esta forma la radiación solar que incide sobre un cuerpo de agua, con mayor intensidad en primavera y verano, genera radiación infrarroja que 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.

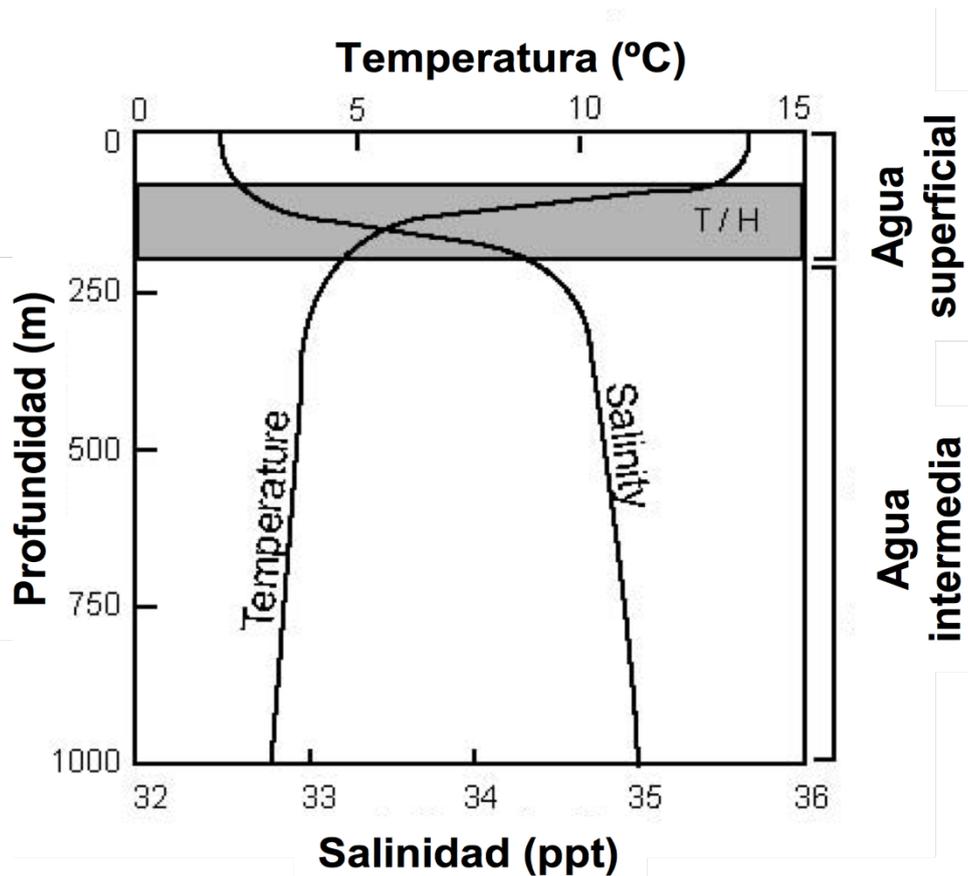


Figura 4. Esquema de la estratificación térmica en océanos. En la termoclina/haloclina la temperatura y salinidad descienden bruscamente por debajo de la capa superficial. Figura modificada de Chapin et al. 2002.

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 Comunidades y Sistemas (ver Anexo abajo).

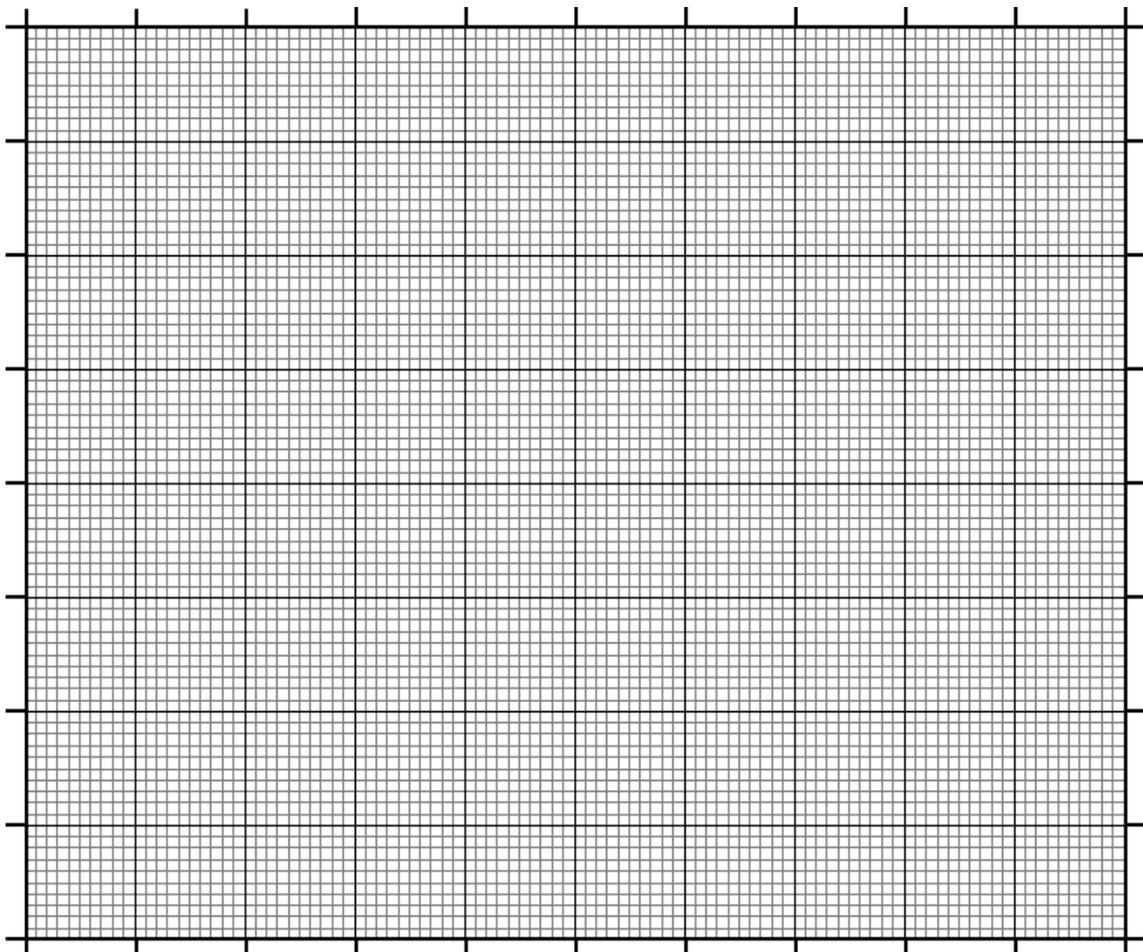
3. Otoño-invierno. Por último, apaga las luces y deja el ventilador encendido. Después de unos minutos, cubre aproximadamente $\frac{3}{4}$ de la superficie con hielo. Observa como el agua enfriada desciende por su mayor densidad provocando el

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. 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

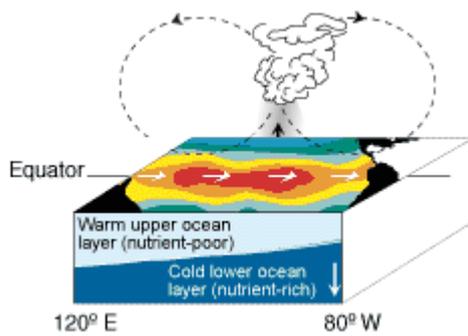
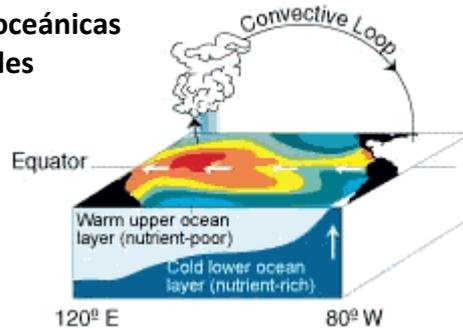
Rodríguez, J. 2013. Ecología. Pirámide.

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

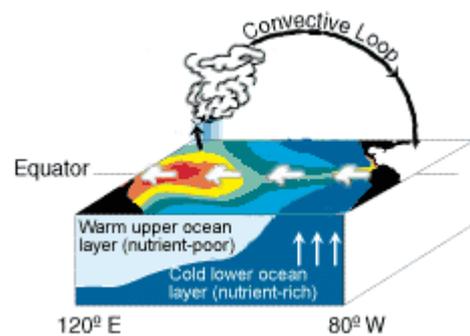
Wetzel, R.G. 2001. Limnology. Lake and river ecosystems. Academic Press.

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

Condiciones oceánicas normales



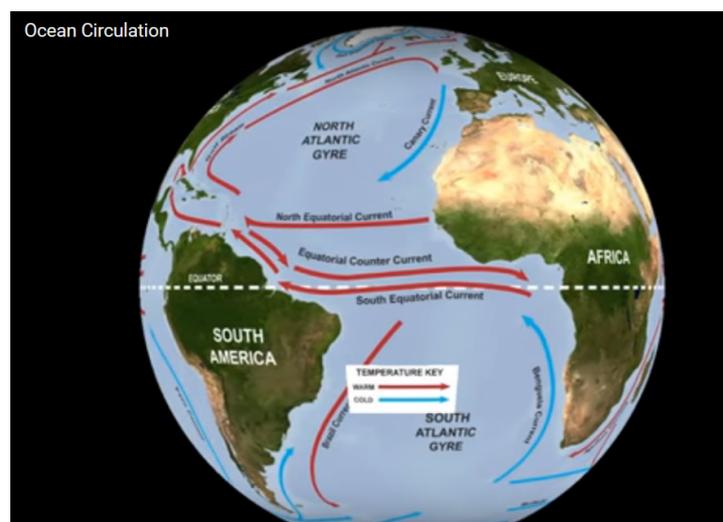
Condiciones de El Niño



Condiciones de La Niña

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

Circulación oceánica en superficie



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

5

CAPACIDAD DE NEUTRALIZAR ÁCIDOS EN ECOSISTEMAS ACUÁTICOS. DETERMINACIÓN DEL CARBONO INORGÁNICO

RAFAEL MORALES-BAQUERO, PRESENTACIÓN CARRILLO Y CARMEN PÉREZ-MARTÍNEZ

Departamento de Ecología, Universidad de Granada

1. INTRODUCCIÓN

La capacidad de neutralizar ácidos en las aguas naturales está relacionada con los compuestos de carbono (C) inorgánicos presentes en ellas que, a su vez, están determinados por los procesos biológicos de fotosíntesis (consumiendo C) y respiración (produciendo C), procesos esenciales en los ecosistemas acuáticos.

El dióxido de carbono (CO_2) puede estar disuelto en el agua, pero en muy pequeña fracción, ya que reacciona con ella para formar ácido carbónico (H_2CO_3); éste se disocia en dos etapas sucesivas originando iones bicarbonato (HCO_3^-) tras perder un hidrogenión e iones carbonato (CO_3^{2-}) tras perder el segundo hidrogenión. Estas reacciones están en equilibrio entre sí y con la concentración de hidrogeniones presentes formando el sistema carbónico-bicarbonato-carbonatos (CBC) (Figura 1).

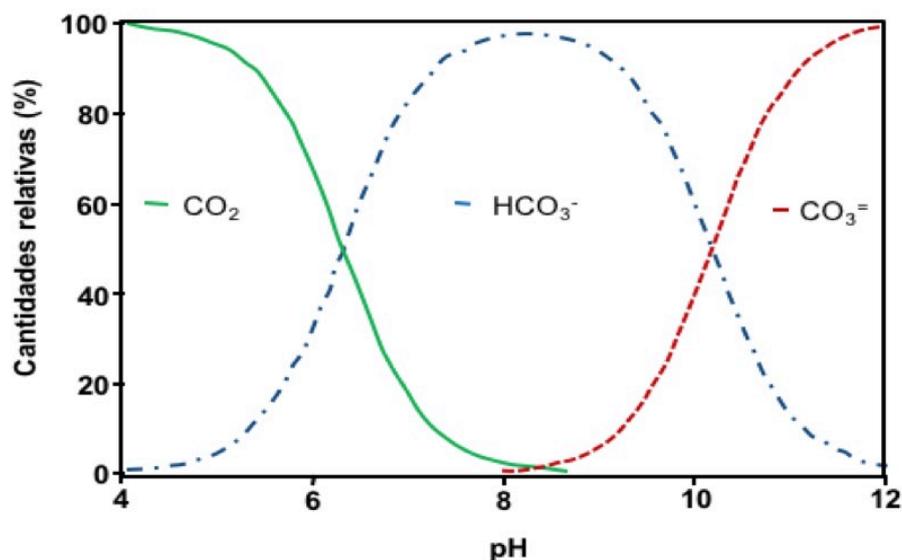


Figura 1. Porcentaje de dióxido de carbono, iones bicarbonato e iones carbonato en función del pH (agua desionizada a 25°C y 1 atm de presión).

Si el C estuviera en agua destilada, estos equilibrios tendrían muy poca capacidad de neutralizar ácidos, ya que el aumento de hidrogeniones que supondría la adición de ácidos desequilibraría rápidamente las reacciones hacia la izquierda, bajando el pH y dejando el C en forma de CO_2 , que pasaría a la atmósfera, ya que la solubilidad de esta molécula en el agua es muy baja.

Sin embargo, en las aguas naturales existen cationes (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , principalmente) que pueden formar sales con carbonatos y bicarbonatos, prolongando los equilibrios del sistema CBC (Figura 2).

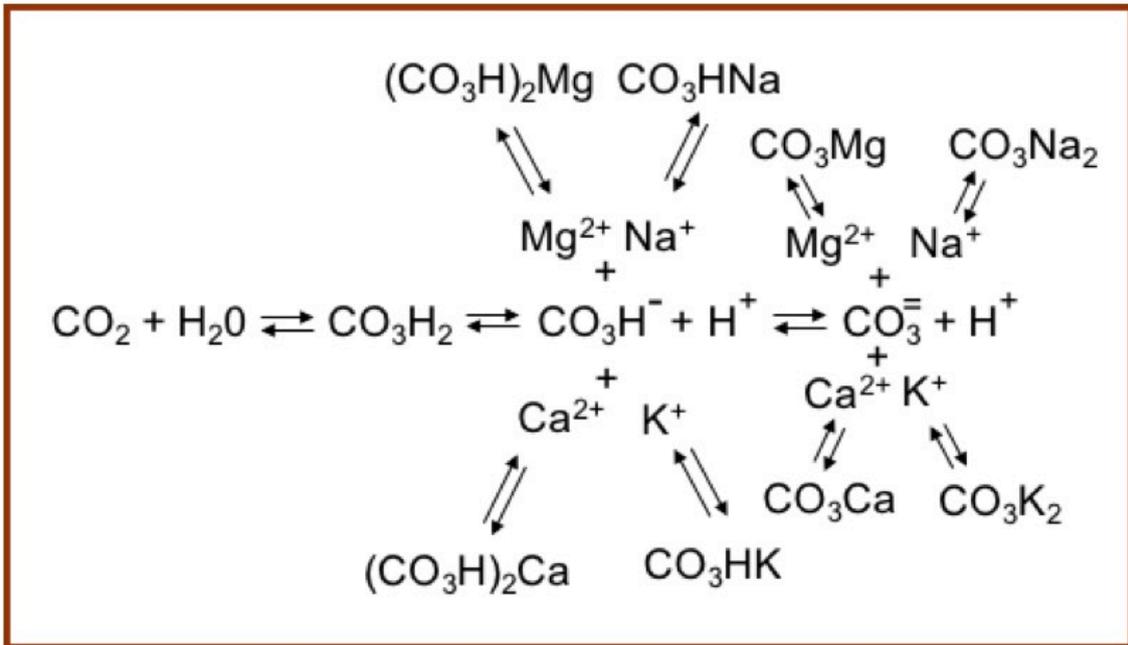


Figura 2. Sistema carbónico-bicarbonatos-carbonatos prolongado con las sales posibles que se pueden formar en presencia de los cationes correspondientes.

De esta forma la reserva de carbono en las aguas naturales para que pueda ser captado por los organismos fotosintetizadores (sólo en forma de CO_2 ó HCO_3^- ya que el CO_3^{2-} no lo pueden adquirir) aumenta de acuerdo con la cantidad de cationes disponibles para prolongar los equilibrios del sistema CBC. Estos equilibrios se desplazarán en un sentido u otro en función de las demandas o aportes de las distintas formas de C inorgánico disuelto.

No obstante, la cantidad de cationes disponibles para alimentar el sistema CBC depende también de la cantidad de aniones de ácidos fuertes (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} principalmente) que captan a los cationes para formar las sales correspondientes. En las aguas naturales, los aniones de ácidos fuertes suelen estar en menor cantidad que los cationes y, por eso, el exceso de cationes sobre los aniones de ácidos fuertes es lo que permite alimentar el sistema CBC (que se forma porque el H_2CO_3 es un ácido débil) y conferir cierta capacidad a las aguas naturales para neutralizar nuevas adiciones de ácidos fuertes. En la medida que se añaden estos ácidos, el sistema CBC se desplazaría liberando cationes que formarían sales con los aniones añadidos sin que el pH cambiara muy rápidamente.

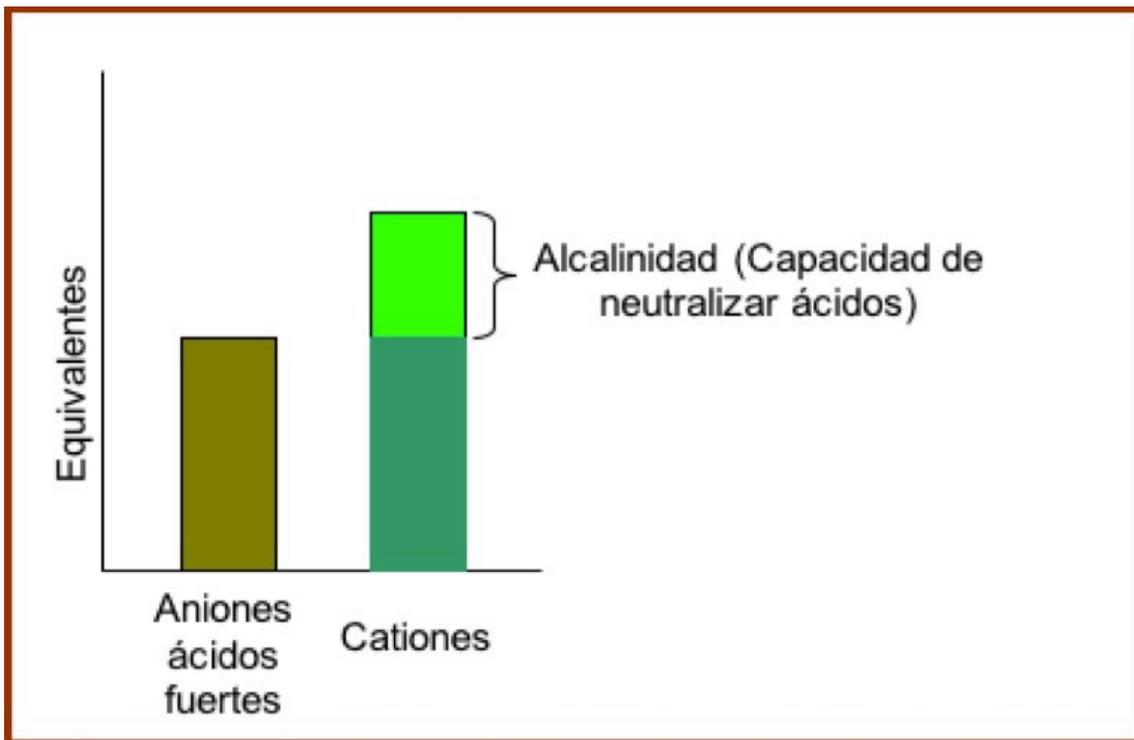


Figura 3. Alcalinidad total como diferencia, en miliequivalentes, entre los cationes ($2 [Ca^{2+}] + 2 [Mg^{2+}] + [Na^+] + [K^+] + [NH_4^+]$) y los aniones de ácidos fuertes ($[Cl^-] + [NO_3^-] + 2 [SO_4^{2-}]$).

La alcalinidad total (AT) mide el exceso de cationes en relación a la concentración de aniones fuertes y se cuantifica añadiendo ácido a un volumen conocido de un agua natural controlando el pH hasta que alcance un valor en el que todo el sistema CBC ha sido desplazado a CO_2 . El volumen de ácido necesario (en miliequivalentes por litro, $(meqL^{-1})$) cuantifica la capacidad de neutralizar ácidos (CNA).

Hay que hacer notar que, en ciertas aguas naturales, por ejemplo las marinas, existen también otros ácidos débiles como los boratos $H_2BO_3^-$ y que en otras puede haber un exceso de hidróxidos (frecuente en algunas aguas contaminadas). En ambos casos la CNA se incrementa

$$CNA = [HCO_3^-] + 2 [CO_3^{2-}] + [H_2BO_3^-] + [OH^-]$$

y hay que hacer las correcciones oportunas para calcular lo que se debe sólo al sistema CBC si queremos deducir la reserva de C disponible para la fotosíntesis. En lo que sigue consideraremos que en las muestras de agua a analizar no existen tales interferencias y que la AT se debe sólo al sistema CBC.

Objetivos

Los objetivos de esta práctica son:

1. Determinar la capacidad de neutralizar ácidos en forma de carbonatos y bicarbonatos que tienen distintos sistemas acuáticos en relación con la naturaleza geológica de su cuenca de captación y su estado trófico.
2. Cuantificar la disponibilidad de carbono inorgánico en los ecosistemas seleccionados.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de esta práctica se pueden seguir diferentes métodos, uno de ellos es el de Wattenberg, que consiste en titular el agua problema con un ácido fuerte controlando los puntos de pH a fin de que desplace a los carbonatos ($\text{pH} \sim 8,3$) y bicarbonatos ($\text{pH} \sim 4,5$) de sus sales pasándolos a CO_2 libre (Figura 1).

Reactivos

- Indicador mixto: 0,02 g de rojo de metilo y 0,1 g de verde de bromocresol; disolver en 100 ml de etanol o isopropanol. El punto de viraje es incoloro, ligeramente amarillo, en el paso de base-ácido, e incoloro, ligeramente azul-verdoso, en el paso de ácido-base.
- Fenolftaleína: fenolftaleína al 1% en etanol o isopropanol. El punto de viraje es a $\text{pH} \sim 8,3$, pasando de rosa a incoloro.
- Ácido sulfúrico: a concentraciones que pueden oscilar entre 0,002 y 0,2 N (dependiendo del grado de mineralización del agua y de la precisión de la bureta).

Análisis

- Sobre un volumen de muestra de 50 mL, se añaden 4 ó 5 gotas de fenolftaleína.
- Si aparece un color rosa, titular con ácido sulfúrico hasta que vire a incoloro. Se anotan los ml de ácido gastado en la valoración (V_1). Si no aparece el color rosa, anotar carbonatos igual a cero. El punto de viraje de la fenolftaleína es aproximadamente $\text{pH} = 8,3$.
- Sobre la misma muestra se añaden 4 ó 5 gotas de indicador mixto y la muestra tomará color azul, comenzamos a valorar con SO_4H_2 lentamente y agitando continuamente. Cuando desaparece el color azul se continúa añadiendo ácido gota a gota hasta que la solución adquiera un tono rosado-grisáceo. Se anotan los mL de ácido gastado en la segunda valoración (V_2). El punto de viraje del indicador mixto es aproximadamente $\text{pH} = 4,5$.
- Anotamos los mililitros totales de ácido gastados en las dos etapas de la valoración ($B = V_1 + V_2$).

Cálculo de la alcalinidad

El cálculo de la alcalinidad o CNA en agua dulce es simplemente la cuantificación de la cantidad de ácido usado para neutralizar los aniones bicarbonato y carbonato presentes en la muestra:

$$\text{Eq. 1} \quad \text{meqL}^{-1} \text{ de } \text{CO}_3^{-2} = \frac{2 \cdot V_1 \cdot N \cdot 1000}{\text{mL de muestra}}$$

Donde:

V_1 = mL de H_2SO_4 gastados en la primera titulación

N = Normalidad del H_2SO_4 usado

$$\text{Eq. 2} \quad \text{meqL}^{-1} \text{ de } \text{HCO}_3^{-} = \frac{(B - 2 \cdot V_1) \cdot N \cdot 1000}{\text{mL de muestra}}$$

Donde:

B = mL de H_2SO_4 gastados en las dos titulaciones

V_1 = mL de H_2SO_4 gastados en la primera titulación

N = Normalidad del H_2SO_4 usado

Cálculo de la capacidad de neutralizar ácidos CNA o alcalinidad total

$$\text{Eq. 3} \quad \text{meqL}^{-1} \text{ de } \text{CO}_3^{-2} + \text{HCO}_3^{-} = \frac{B \cdot N \cdot 1000}{\text{mL de muestra}}$$

Donde:

B = mL de H_2SO_4 gastados en las dos titulaciones ($V_1 + V_2$)

N = Normalidad del H_2SO_4 usado

Cálculo de concentración de carbono inorgánico disuelto total (ΣCO_2)

Calculamos ΣCO_2 a partir de esta expresión:

$$\text{Eq. 4} \quad \text{Concentración de } \text{CO}_2 \text{ total (mg } \text{CO}_2 \text{ L}^{-1}) = X + 0,44 (2 \cdot Y + Z)$$

Donde:

$$X = \text{mg } \text{CO}_2 \text{ libre L}^{-1}$$

$$Y = \text{mg } \text{HCO}_3^- \text{ L}^{-1}$$

$$Z = \text{mg } \text{CO}_3^{2-} \text{ L}^{-1}$$

$$X = \text{mg } \text{CO}_2 \text{ libre L}^{-1} = 2,0 \cdot Y \cdot 10^{(6-\text{pH})}$$

(El pH se refiere al valor de pH de la muestra de agua).

Y y Z podemos calcularlos a partir de los datos de alcalinidad obtenidos anteriormente y teniendo en cuenta el peso equivalente de cada molécula:

$$Y = \text{mg } \text{HCO}_3^- \text{ L}^{-1} = \text{meq } \text{HCO}_3^- \text{ L}^{-1} \cdot (61.017 \text{ mg} / 1 \text{ meq})$$

$$Z = \text{mg } \text{CO}_3^{2-} \text{ L}^{-1} = \text{meq } \text{CO}_3^{2-} \text{ L}^{-1} \cdot (60.009 \text{ mg} / 2 \text{ meq})$$

Para terminar, estimamos el contenido en carbono (mg C L^{-1}) teniendo en cuenta el peso atómico del C en cada molécula de CO_2 :

$$\text{Eq. 5. Concentración de Carbono (mg C L}^{-1}) = \text{mg } \text{CO}_2 \text{ total L}^{-1} \times (12 \text{ g C} / 44 \text{ g } \text{CO}_2)$$

3. RESULTADOS

	Muestra 1	Muestra 2
Alcalinidad Carbonatos (meqL^{-1})		
Alcalinidad Bicarbonatos (meqL^{-1})		
Alcalinidad total = CNA (meqL^{-1})		
Bicarbonato ($\text{mg HCO}_3^- \text{L}^{-1}$) Pm = 61,017		
Carbonato ($\text{mg CO}_3^{2-} \text{L}^{-1}$) Pm = 60,009		
CO ₂ libre (mg L^{-1})		
Carbono inorgánico (mg C L^{-1})		
pH (antes de acidificar)		
pH (después de acidificar)		

Evaluación de sensibilidad del ecosistema frente a la acidificación

Tomar 50 mL de agua de cada uno de los ecosistemas estudiados y medirle el pH (pH 1). A continuación, añadir 1 mL de HCl 0,05 N, agitar y volver a medir el pH (pH 2). Anotar en la tabla de resultados.

(Página en blanco para anotar resultados y hacer los cálculos)

(Página en blanco para anotar resultados y hacer los cálculos)

4. CUESTIONES

1. ¿Son los valores de pH predictores de la alcalinidad en ecosistemas acuáticos?
2. Conociendo el pH de un ecosistema, ¿se puede saber en qué forma se encuentra el carbono inorgánico?
3. ¿Qué ecosistema de los analizados es más sensible frente a procesos de precipitación ácida? ¿Por qué?
4. Se añadió indicador de fenolftaleína a la muestra, y ésta no cambió de color. Luego se añadió indicador mixto y la muestra tomó un color azul. ¿Qué nos indican estos hechos?

5. ¿Cómo interpreto los siguientes datos? Al titular una muestra, gasto 10,0 mL de ácido sulfúrico en el viraje de la fenolftaleína y en el viraje con indicador mixto gasto también 10,0 mL.

6. Si la alcalinidad en el sistema A = $0,5 \text{ meq}\cdot\text{L}^{-1}$ y en el sistema B = $3 \text{ meq}\cdot\text{L}^{-1}$, discutir de forma comparativa su capacidad para neutralizar ácidos, para amortiguar variaciones de pH, su potencial contenido de bicarbonatos y carbonatos, y la potencial limitación de los productores primarios por C inorgánico.

7. El embalse del Cubillas presenta unos valores de alcalinidad superiores a los de lagunas Sierra Nevada. ¿A qué puede deberse este resultado?

5. BIBLIOGRAFÍA

Rice, E.W., Baird, R.B. & Eaton, A.D. 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater, 23 ed. American Public Health Association.

6

NÚMERO Y TAMAÑO DE LAS UNIDADES DE MUESTREO

JOSÉ ANTONIO HÓDAR Y JUAN MANUEL GONZÁLEZ-OLALLA
Departamento de Ecología, Universidad de Granada

1. INTRODUCCIÓN

Andrewartha y Birch (1954) definieron Ecología como el estudio de la distribución y la abundancia de los organismos, y de los factores que los determinan. Obviamente, para estudiar los factores que determinan la distribución y la abundancia de los organismos, necesitamos en primer lugar describir los patrones de la distribución y la abundancia de los mismos, y eso requiere de una serie de procedimientos que nos permitan adquirir esa información. Esto es lo que conocemos como muestreo. Podemos decir que un muestreo es un protocolo de adquisición de muestras, una muestra es un conjunto de observaciones, y una observación es una unidad de información útil para el propósito de nuestro estudio.

Es conveniente aclarar que en Ecología (y, en general, en los estudios ambientales) suele llamarse muestra a lo que en términos estadísticos se llama unidad de muestreo. En el guion de esta práctica hemos intentado ser escrupulosos con la nomenclatura estadística.

También es importante resaltar que muestra, unidad de muestreo y observación pueden no ser lo mismo dependiendo del interés de nuestro estudio. Por ejemplo, si estamos interesados en estimar la densidad de retamas en un determinado sitio y para ello medimos el número de individuos en diez parcelas de 20 x 20 m, la unidad de muestreo será el cuadrado, el número de retamas en cada cuadrado será una observación, y los diez cuadrados constituyen una muestra. Sin embargo, si estamos interesados en la entomofauna que vive asociada a la retama, podríamos escoger 30 retamas al azar en esa misma población y, mediante un muestreo entomológico estándar, obtener las especies presentes en cada retama y el número de individuos de cada una de ellas. En este caso, la muestra serían las 30 retamas, cada retama sería una unidad de muestreo, y cada artrópodo capturado sería una observación.

¿Por qué el tamaño y el número de unidades de muestreo son tan importantes en Ecología? En primer lugar, el tamaño de las unidades de muestreo puede condicionar nuestra percepción de un fenómeno natural, ya que cambia la escala espacial en la que lo medimos. Especialmente importante es, en este sentido, la distribución espacial de los organismos, que puede cambiar totalmente dependiendo de la escala a la que la midamos. En segundo lugar, el número y el tamaño de las unidades de muestreo

determinan el esfuerzo que tendremos que realizar para obtener la información que deseamos. Lógicamente, nuestro interés es obtener la mejor información posible con el mínimo esfuerzo posible. Por eso es interesante saber cuánto debemos muestrear para que el muestreo sea efectivo y plausible. Una vez que tengamos claro el número y el tamaño, podremos determinar con qué esquema espacial y temporal efectuamos el muestreo, algo que se sale del propósito de esta práctica. Para responder a todas estas preguntas hay libros enteros al respecto. En esta práctica vamos a hacer una breve introducción a la pregunta de cuántas unidades de muestreo y de qué tamaño debemos utilizar en un muestreo para responder a una pregunta ecológica.

Por lo general, se admite que por encima de $n = 30$ observaciones en las que contamos, digamos, número de animales o plantas, podemos establecer una media de individuos por unidad de muestreo y un intervalo de confianza alrededor de esa media. La media real de la población (μ) es constante, pero nosotros necesitaríamos muestrear toda la población para conocer ese valor. Nos conformamos, por lo tanto, con hacer una estima de ese valor a partir de las muestras que tomamos. La media de nuestras muestras X variará más o menos cerca de μ , pero en virtud del teorema central del límite, la distribución de las medias de nuestras muestras toma la forma de una curva normal en torno al valor de μ . Y esta distribución normal tiene su propia desviación típica, que es la desviación típica de las medias muestrales, lo que se conoce como error típico (ET) o error estándar (EE) de la media.

¿Por qué es interesante el EE? Todos sabemos calcular la media aritmética de una muestra de datos $X = \sum x_i/n$, siendo x los datos obtenidos en las muestras y n el número de datos. También sabemos obtener una medida de variación, como la desviación típica, abreviada como s o DT. La DT puede calcularse de varias formas, pero la más usual es

$$DT = \sqrt{\frac{\sum(x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}}$$

Pues bien, el EE puede estimarse como

$$EE = \frac{DT}{\sqrt{n}}$$

Y resulta que, dadas las propiedades de la curva normal, si n es lo suficientemente grande, un 68% aproximadamente de las medias muestrales se encuentran en ± 1 EE de μ . Así pues, una media muestral tomada a partir de una muestra suficientemente amplia con un error estándar bajo es una estima muy fiable del valor promedio de la población en la que estamos interesados.

Objetivos

Los objetivos de esta práctica son:

1. Entender el efecto que ejercen el tamaño de la unidad de muestreo y el tamaño de la muestra en los datos adquiridos de la población objeto de estudio.
2. Aprender a determinar de forma objetiva el tamaño de muestra adecuado en un determinado muestreo ecológico.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El objeto de estudio en esta práctica es una planta, la retama (*Retama sphaerocarpa*), una leguminosa muy común en las zonas secas y semiáridas del sureste español. Para trabajar con la retama “en laboratorio” vamos a usar una fotografía aérea a escala 1:2000 de una zona cercana a la presa Francisco Abellán (La Peza, Granada) en la que hemos destacado los individuos de retama (Figura 1). Dada la resolución de la foto y el tamaño de las retamas, no todos los individuos pueden marcarse, y nos hemos limitado, más o menos, a individuos de más de 1 m de diámetro. Como referencia para definir las unidades de muestreo usaremos la retícula de las coordenadas UTM, que nos servirán como cuadrados de muestreo de diferentes tamaños.

Primero contaremos los individuos en cada uno de los cuadrados de 25 x25 m y esto nos permitirá hacer una estima de la densidad de individuos en la zona. Para observar el comportamiento de la media muestral y del EE, calculamos ambos parámetros cada 6 unidades de muestreo.

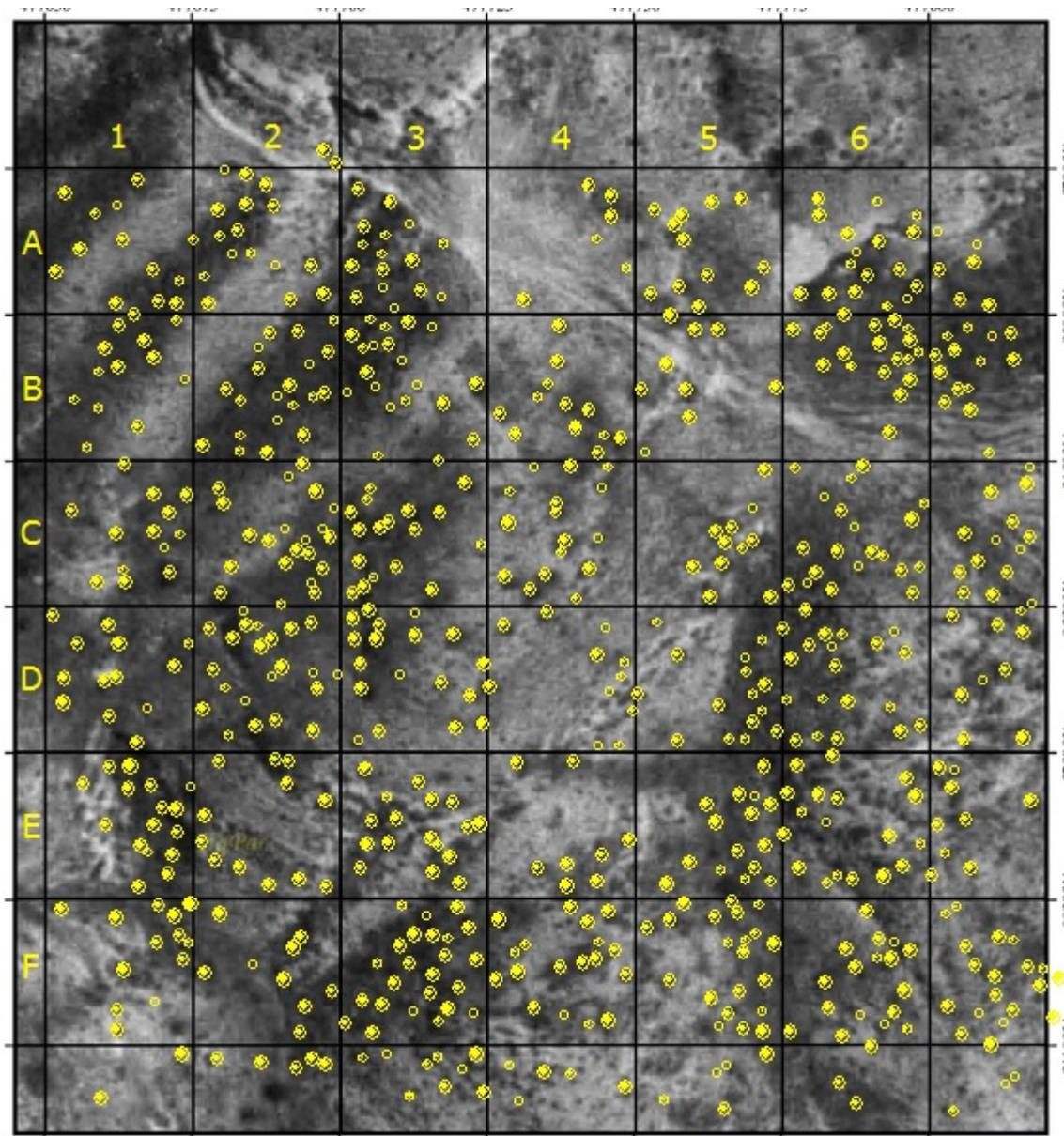


Figura 1. Foto aérea (1: 2000) en la que aparecen resaltados los individuos de retama.

Veamos ahora qué ocurriría si la unidad de muestreo no fuera un cuadrado de 25x25 m, sino uno de 25x50 m, es decir, el doble de tamaño. Para ello, sumamos los cuadrados contiguos dos a dos y repetimos el procedimiento.

3. RESULTADOS

Tabla 1. Recogida de datos.

	<i>Cuadrado 625 m²</i>	<i>Cuadrado 1250 m²</i>
Cuad.	<i>x</i>	<i>x</i>
A1		
A2		
A3		
A4		
A5		
A6		
B1		
B2		
B3		
B4		
B5		
B6		
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
D1		
D2		
D3		
D4		
D5		
D6		
E1		
E2		
E3		
E4		
E5		
E6		
F1		
F2		
F3		
F4		
F5		
F6		

Tras crear la Tabla 1 en Excel y anotar la abundancia de retamas (n) para cada cuadrícula, calcularemos, también en Excel, la media (X), desviación típica (DT) y el error estándar (EE) en la Tabla 2 de la siguiente forma:

$$X \rightarrow =\text{PROMEDIO}(\text{Rango de celdas})$$

$$DT \rightarrow =\text{DESVEST}(\text{Rango de celdas})$$

$$EE \rightarrow =DT/\text{RCUAD}(n)$$

Tabla 2. Estadísticos a calcular para cada tamaño de cuadrado.

	Cuadrados de 625 m ²			Cuadrados de 1250 m ²		
	X	DT	EE	X	DT	EE
A						
A+B						
A+B+C						
A+B+C+D						
A+B+C+D+E						
A+B+C+D+E+F						

Para representar un histograma de frecuencias en Excel será necesario activar primero la opción de “Análisis de datos”. Para ello, haremos clic en el menú “Archivo” y a continuación en “Opciones”. Se abrirá la ventana “Opciones de Excel” donde habrá que clicar en la pestaña “Complementos”. Dentro de la pestaña, en la parte baja, donde indica “Administrar”, marcaremos “Complementos de Excel” y aceptamos. Ahora, dentro del menú “Datos”, podremos visualizar la opción “Análisis de datos”.

A continuación, crearemos dos tablas en Excel, una para cada tamaño de cuadrícula, de la siguiente forma:

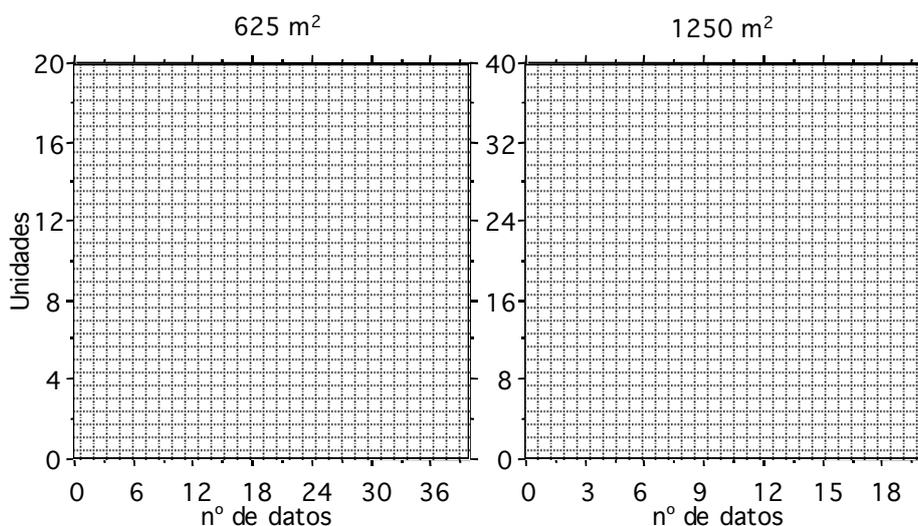
Cuadrados de 625 m ²		Cuadrados de 1250 m ²	
Lím. inferior cerrado	Lím. Superior Abierto	Lím. inferior cerrado	Lím. Superior Abierto
4	6	20	22
6	8	22	24
8	10	24	26
10	12	26	28
12	14	28	30
14	16	30	32
16	18	32	34
18	20	34	36
20	22	36	38
22	24	38	40
24	26	40	42
		42	44

Para crear el histograma de frecuencias, haremos clic en la opción que activamos previamente “Análisis de datos”. En “Funciones para análisis”, seleccionamos “Histograma” y aceptamos. En la nueva ventana, deberemos introducir las abundancias de cada cuadrícula en la pestaña “Rango de entrada”. En “Rango de clases”, deberemos

marcar las celdas de “Límite Superior Abierto”. En “Opciones de salida” marcamos “Rango de salida” y seleccionamos la celda de nuestra hoja Excel en la que queremos que aparezcan los resultados. Finalmente, marcamos la opción “Crear gráfico” y aceptamos.



Ahora, representamos gráficamente el comportamiento de la media, desviación típica y del error estándar, insertando un gráfico de líneas en Excel.



Si lo que deseamos es una buena medida de la densidad de retamas en la zona, deberíamos intentar minimizar las medidas de dispersión en torno a la media. La media, de hecho, no varía (el número de retamas por cuadrado de 625 m² es, obviamente, la mitad del número obtenido en los cuadrados de 1250 m²). ¿Qué ocurre si analizamos el comportamiento de X y EE respecto a n? Nuestros resultados evidencian que al incrementar n la media se estabiliza, pero no muestra una tendencia clara ni a aumentar ni a disminuir, mientras que las medidas de dispersión se van estabilizando, pero además van netamente reduciéndose. Lógicamente, cuando tanto X como EE se hacen estables, deberíamos dejar de muestrear ya que en estas condiciones no hay una mejora clara de la estima por mucho que incrementemos n.

Preguntémonos, en primer lugar, qué tamaño de unidad de muestreo nos interesa más. Vemos que, a mayor tamaño de la unidad de muestreo, la medida de dispersión se

estabiliza antes. Pero sabemos que tomar unidades de medida grandes incrementa el esfuerzo para obtener cada medida, por lo que el esfuerzo puede no compensar. Es decir, o bien tomamos un n grande con unidades muestrales pequeñas, o un n pequeño con unidades grandes. ¿Qué es preferible?

Las muestras no pueden ser demasiado pequeñas porque la retama es una planta relativamente grande y si lo que contamos son individuos, al menos en principio, la unidad de muestreo debería tener un tamaño mayor que los individuos (no tendría sentido usar, por ejemplo, cuadrados de 1 m de lado). Por otra parte, si las unidades de muestreo son muy pequeñas, incrementamos la probabilidad de que aparezcan cuadrados con cero retamas, lo cual complica el análisis posterior de los datos. Deberíamos, por tanto, tomar un tamaño de cuadrado que minimizara la aparición de cuadrados con ceros.

Así pues, un cuadrado entre _____ sería adecuado para la retama, en función de los datos obtenidos.

Una vez determinado el tamaño de la unidad de muestreo, viene la segunda pregunta: **¿cuántas unidades de muestreo deberíamos tomar?** Podemos utilizar la curva que hemos trazado para estimar el momento en que se estabilizan media y EE (y por tanto, incrementar el esfuerzo de muestreo no nos merece la pena). Pero claro, hacer esta curva requiere haber muestreado toda la zona. En nuestro caso, con la foto, esto es posible, pero en el campo lógicamente no nos sirve muestrear 36 cuadrados para comprobar que nos podíamos haber quedado en 20. Para esto se suele usar un procedimiento diferente. Hay varias fórmulas, con diferente nivel de complicación, que nos permiten estimar el *n*; usaremos una de las más sencillas, que es válida para poblaciones de organismos distribuidos de forma más o menos uniforme. Tomaremos una muestra pequeña, de digamos 10 datos al azar (en el campo serían 10 cuadrados distribuidos al azar) y se calcula *X* y la DT de la misma forma en que se realizó para la Tabla 2.

Tabla 3. Ejemplo de tabla de datos.

	A	B
1	Cuadrado	x
2	A1	14
3	A4	6
4	A5	13
5	B3	20
6	C1	13
7	C4	16
8	D2	21
9	D6	19
10	E1	16
11	F2	9

Entonces aplicamos la fórmula

$$n \geq t^2 s^2 / (DX)^2$$

en la que t es un valor de la t de Student que depende del nivel de confianza con el que queramos estimar nuestra medida, s es la DT, D la precisión que queremos tener en la medida de la media (tomada en tanto por uno), y X la media obtenida de nuestra muestra inicial. Así, si queremos estimar la media con un error de $\pm 5\%$, miramos el valor de t en la tabla de la t de Student con $\alpha=0,05$ de dos colas y $n = 10$. El resultado es $t = 2,22$.

Para calcular en Excel el número mínimo de campos necesarios, deberemos introducir en una celda vacía la fórmula anterior de la siguiente forma:

$$n=(POTENCIA(valor\ t;valor\ potencia)*POTENCIA(valor\ DT; valor\ potencia))/POTENCIA(valor\ precisión*valor\ X; valor\ potencia)$$

Entonces, tomando DT y X de nuestra muestra inicial,

$$n \geq \underline{\hspace{10em}}$$

Es decir, este es el número de cuadrados de 625 m^2 en los que deberíamos medir el número de retamas para tener una estima fiable de la densidad de retamas en esta zona.

4. ¿Por qué es preferible la ecuación $n \geq t^2 s^2 / (DX)^2$ a la curva de estabilización de X y EE a la hora de determinar el tamaño de muestra que debemos tomar para una buena estima del valor e X?

5. BIBLIOGRAFÍA

Andrewartha, H.G. & Birch, L.C. 1954. *The distribution and abundance of animals*. Chicago University Press.

Fowler, J. & Cohen, L. 1999. *Estadística básica en ornitología*. SEO/Birdlife.

Henderson, P. A. 2003. *Practical methods in ecology*. Blackwell.

Sutherland, W.J. (ed.) 2006. *Ecological census techniques. A handbook*. Cambridge University Press.

Wratten, S.D. & Fry, G.L.A. 1982. *Prácticas de campo y laboratorio en ecología*. Academia.

Zar, J.H. 1984. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall.