



Tema 2

Experimentos y muestreos

En este tema abordaremos cuestiones generales relacionadas con los procedimientos de obtención de datos en la investigación ecológica. Siguiendo con el esquema planteado en el tema anterior, estableceremos la distinción entre los dos grandes tipos de estudios ecológicos (experimentales y observacionales) y, en correspondencia, analizaremos las características más relevantes relacionadas con el diseño de experimentos, por una parte, y con las técnicas de muestreo, por otra.

Introducción al diseño experimental

La experimentación en Ecología resulta una tarea especialmente complicada debido a las dificultades inherentes al trabajo en la naturaleza. Si la experimentación (en sentido estricto) requiere la manipulación de las condiciones ambientales que hipotéticamente determinan algún tipo de respuesta ecológica, es fácil comprender que para la investigación de muchos fenómenos ecológicos, esta manipulación resulta, cuando menos, técnicamente muy complicada y costosa. Recordaremos, no obstante, que en sentido más amplio puede hablarse de “*experimentos naturales*” para denominar aquellas investigaciones en las que se aprovechan variaciones naturales de los factores ambientales objeto de estudio, para realizar las observaciones o medidas (es decir, la **respuesta** biológica o ecológica). En cualquier caso, los principios generales del **diseño experimental** deben ser igualmente aplicados tanto en el laboratorio como en el campo, con el fin de asegurar el desarrollo adecuado de la investigación.

El término “diseño experimental” describe la estructura lógica de un experimento (Krebs, 1999), y entre sus características merecen consideración especial diversos conceptos que analizaremos a continuación. Podemos admitir que el elemento clave en un experimento es la **unidad experimental**; de la correcta consideración de lo que es, y no es, una unidad experimental, depende en gran medida la realización de un buen diseño experimental. Una unidad experimental es “*la división más pequeña de material experimental que recibe un tratamiento*”, es decir, cada uno de los objetos (parcelas,

individuos...) sobre los que se aplica un determinado tratamiento y, por tanto, son expuestos al posible efecto del factor ambiental investigado.

Un requerimiento importante de la experimentación es que entre los tipos de tratamientos de un experimento debe figurar uno de **control**, que sirva de comparación para el análisis de los efectos; generalmente, por tanto, el tratamiento control consiste en un *no-tratamiento*. No obstante, en determinadas ocasiones puede no tener sentido establecer un tratamiento control –por ejemplo cuando se pretende determinar entre dos o más tratamientos cuál es el mejor. En estos casos cada tratamiento actuaría como control del resto (Krebs, 1999).

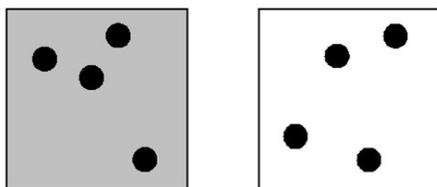
Replicación y pseudorreplicación

El concepto de unidad experimental está íntimamente ligado al de **replicación**. Replicar consiste en disponer *al menos* de dos unidades experimentales por cada tipo de tratamiento. Precisamente uno de los principales problemas de la realización de estudios experimentales en ecología y en las ciencias ambientales reside en la incorrecta consideración de lo que constituye una unidad experimental, circunstancia que se conoce como **pseudorreplicación**. La **pseudorreplicación** genera problemas de independencia de los datos, requisito necesario para la aplicación de numerosas pruebas estadísticas, e invalida por tanto las conclusiones extraídas del experimento. Hulbert (1984) distingue tres tipos de pseudorreplicación (Figura 2.1): simple, de sacrificio y temporal.

La pseudorreplicación simple consiste en considerar como unidades experimentales lo que no son más que submuestras tomadas dentro de cada unidad experimental. Se produce frecuentemente en los casos en los que sólo existe una réplica por tratamiento. Obviamente, las distintas observaciones realizadas dentro de cada unidad experimental no son independientes (Figura 2.1a). La pseudorreplicación de sacrificio ocurre cuando existiendo una verdadera replicación se comete el mismo error que en el caso anterior (y se confunden las submuestras con unidades experimentales, Figura 2.1b), o bien cuando las observaciones de distintas unidades experimentales se “mezclan” (por ejemplo en una tabla de contingencia) antes de realizar el análisis estadístico. En estos casos el problema es simplemente estadístico, ya que el diseño del experimento es correcto. Finalmente, la pseudorreplicación

temporal surge con frecuencia de la realización de observaciones repetidas a lo largo del tiempo en las mismas unidades experimentales (Figura 2.1c). Es importante reseñar que la realización de medidas repetidas en una misma unidad experimental (siempre que haya más de una réplica), no constituye en sí misma un mal diseño experimental; lo incorrecto es considerar dichas medidas como independientes. El análisis de este tipo de datos requiere la utilización de métodos estadísticos apropiados.

a) Pseudorreplicación simple



b) Pseudorreplicación de sacrificio



c) Pseudorreplicación temporal

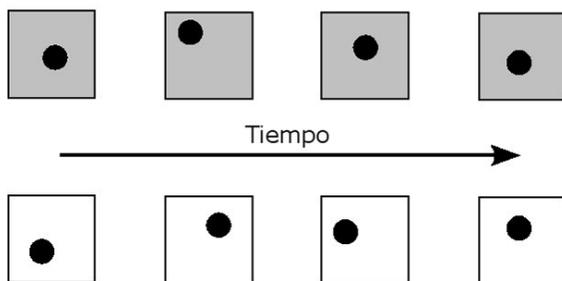


Figura 2.1. Tipos de pseudorreplicación. Las parcelas representan unidades experimentales con tratamiento (sombreadas) y control (no sombreadas). Los círculos representan diferentes medidas u observaciones (submuestras dentro de las unidades experimentales). Adaptado de Hulbert (1984).

Otro aspecto importante es la consideración de *cuántas* replicas son necesarias para realizar un buen diseño experimental. Esta cuestión, sin embargo, excede los objetivos de la asignatura, por lo que no la abordaremos en detalle. Aunque como regla general podamos establecer que “*cuantas más mejor*”, es evidente que normalmente existen limitaciones de tiempo, espacio y dinero que en última instancia determinan en número efectivo de réplicas a realizar. La teoría estadística no es ajena a estas consideraciones, de manera que en los textos especializados pueden encontrarse

métodos analíticos para el cálculo del número de réplicas necesarias en función de diferentes criterios (incluidos los económicos; véase por ejemplo, Sokal y Rohlf, 1995). No obstante en el apartado correspondiente al muestreo de vegetación analizaremos algunos aspectos que guardan relación con este asunto (determinación del tamaño de la muestra).

Aleatorización y espaciamento

Otro principio fundamental del diseño experimental hace referencia a distribución de las réplicas en el espacio. En este sentido, un esquema de disposición espacial aceptable debe considerar la adecuada separación o **espaciamento** (*interspersion*) de aquellas unidades experimentales con el mismo tratamiento. En la Figura 2.2. se representan esquemáticamente diversos ejemplos de diseños aceptables y de diseños incorrectos. Idealmente, el esquema más conveniente es el aleatorio, aunque en determinadas circunstancias, especialmente con pocas réplicas, puede ser conveniente una disposición sistemática, que asegura el máximo espaciamento. Otro esquema de gran interés, frecuentemente utilizado, es el diseño de bloques. Un bloque es un grupo de réplicas espacialmente agrupadas. Cada bloque consta de una réplica de cada tratamiento, y dentro de los bloques las réplicas se disponen al azar (de ahí la denominación *bloques completos al azar*). Los diseños en bloques son especialmente interesantes en experimentos de campo, en los que resulta complicado conseguir amplias extensiones homogéneas de terreno en las que distribuir aleatoriamente las réplicas. En estos casos se asume y se admite que la propia heterogeneidad ambiental entre bloques genere notables variaciones en las observaciones o medidas; por lo general, sin embargo, esta variación no resulta de interés (las diferencias entre bloques no son el objeto del experimento), y sólo se analizan las diferencias o variaciones debidas al efecto de los tratamientos.

El resto de diseños esquematizados en la Figura 2.2 resultan inapropiados por razones obvias: todos ellos incumplen el requisito de espaciamento o no aseguran la independencia de las réplicas. En resumen, el espaciamento evita que cualquier factor o circunstancia no controlada pueda afectar sólo a las réplicas de un mismo tratamiento, y de esta forma atribuir erróneamente sus efectos a los del propio tratamiento, o confundirlos con ellos.

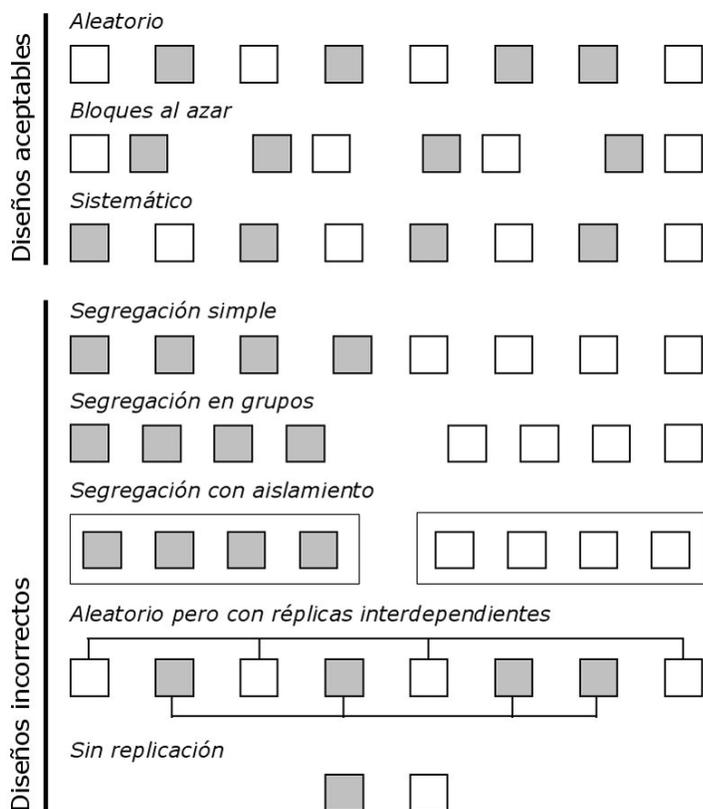


Figura 2.2. Representación esquemática de diversos tipos de disposición espacial de las réplicas. Los tres primeros diseños son aceptables porque aseguran un adecuado espaciamiento entre las réplicas de un mismo tratamiento. El resto representan ejemplos de diseños incorrectos. Adaptado de Hulbert (1984).

Efectos no deseados de la experimentación o la observación

Hairston (1989) pone de manifiesto la importancia de minimizar efectos no deseados que pueden ser consecuencia de la propia experimentación o muestreo, especialmente cuando estos se realizan en la naturaleza. Estos efectos no deseados se relacionan, por ejemplo, con la manipulación: colocación de cajas, vallas, u otros dispositivos de aislamiento y protección frente a depredadores, que originen efectos colaterales imprevistos (sombreado, interferencias con la circulación del agua o del aire, acceso de otros depredadores no habituales...). En el caso de trampeos de animales, pueden darse casos de individuos que modifiquen su comportamiento (por ejemplo, tendencia recurrente a caer en trampas con cebos atractivos). Otro efecto bastante común es la facilitación del acceso de depredadores a nidos de aves frecuentemente visitados por los investigadores.

Introducción a los métodos de muestreo

Con el término muestreo hacemos referencia al diseño de los procedimientos de obtención de información de los estudios “no manipulativos”, incluyendo estudios observacionales, descriptivos, de análisis de *pattern*, etcétera (Figura 1.5, Tema 1). Los objetivos del muestreo varían, por tanto, dependiendo de la tipología de nuestro estudio, pero en general el procedimiento particular en cada caso debe responder a los mismos principios. Más aún, muchas de las cuestiones planteadas en el apartado anterior sobre el diseño experimental, deben ser igualmente consideradas en cualquier muestreo (replicación, independencia de las observaciones...).

En la mayoría de los casos, el muestreo se utiliza para estimar la abundancia de los organismos, una labor fundamental en muchas investigaciones ecológicas. Tanto si el objetivo de nuestro estudio es determinar el tamaño de una población, como si se trata de comparar entre zonas de características ambientales distintas, en la práctica resulta imposible realizar un recuento completo de todos los individuos objeto de estudio (la **población**). Es necesario, por tanto, recurrir a técnicas de muestreo que permitan estimar la abundancia de dentro de unos márgenes de error aceptables. Esto se hace habitualmente contando el número de individuos contenidos en superficies de referencia llamadas **unidades de muestreo** (equivalentes a las réplicas de un experimento). El conjunto de unidades de muestreo constituye la **muestra**. Un error frecuente es el de confundir ambos términos, denominando muestra a lo que en realidad es una simple unidad de muestreo.

A continuación analizaremos los diferentes aspectos del muestreo, partiendo de la consideración de diferencias notables entre plantas y animales.

Muestreo de vegetación

Muestrear vegetación resulta una tarea relativamente sencilla si se tiene en cuenta que las plantas, a diferencia de la mayoría de especies animales, ni se mueven, ni se esconden. No obstante, la planificación de un muestreo de vegetación requiere la consideración de diferentes elementos o características que pueden afectar notablemente a los resultados del muestreo. En síntesis, en el diseño de un muestreo

hay que tomar una serie de decisiones sobre: (i) el tipo de medida a realizar, (ii) la forma y el tamaño de las unidades de muestreo, (iii) el número de unidades de muestreo (el tamaño de la muestra), y (iv) dónde y cómo situar las unidades de muestreo (el tipo de muestreo, propiamente dicho). Todos estos aspectos los analizaremos en los siguientes apartados.

Tipos de medidas

El primer paso de cualquier muestreo debe consistir en la elección del tipo de medida o estima a realizar. Para los estudios de vegetación se distingue entre las medidas destructivas y medidas no destructivas. Las primeras son medidas de biomasa (peso fresco, peso seco), utilizadas en estudios sobre producción de vegetación herbácea o arbustiva. La biomasa puede estimarse también de manera indirecta, utilizando medidas no destructivas (Bonham, 1989). Para árboles, por ejemplo, se utilizan estimas indirectas como el área basal o el diámetro de los troncos, que comentaremos más adelante. Entre las medidas no destructivas figuran principalmente la densidad y la cobertura, aunque también se utilizan la frecuencia (“presencia-ausencia”), diversas medidas de vigor (“performancia”), y las ya mencionadas área basal, perímetro y diámetro (Montes y Ramírez-Díaz, 1978).

Densidad

La **densidad** se define como el número de individuos por unidad de superficie (por ejemplo: individuos/ha, individuos/m², individuos/km²). Se trata de una estimación que se realiza habitualmente contando el número de individuos en las unidades de muestreo (a menudo denominadas *quadrats*), aunque también se pueden utilizar *medidas de distancia* (*sin* unidad de muestreo). Cuando se utilizan unidades de muestreo, la densidad de individuos en el área de estudio es extrapolada a partir de la media estimada (y de su intervalo de confianza) en las unidades de muestreo.

En los casos en los que se utilizan unidades de muestreo es necesario realizar una elección adecuada de la **forma** y **tamaño** de las mismas. Generalmente las unidades de muestreo son cuadradas, aunque también pueden utilizarse formas circulares y rectangulares. El tamaño, por su parte, suele elegirse en función del tamaño

de los individuos que se pretende estudiar. Así, para el estudio de vegetación herbácea se emplean con frecuencia unidades de muestreo de 1 m de lado o incluso menores, mientras que para matorrales y arbustos resultan más convenientes tamaños de 5-10 m de lado. Por lo general, para delimitar las unidades de muestreo se emplean cuerdas o cintas atadas a estacas o clavos, con los que se compone la forma elegida. Si las unidades son de tamaño reducido resulta más cómodo emplear estructuras fijas construidas con diferentes materiales.

La forma de la unidad de muestreo influye en el denominado **efecto borde**, que aumenta con la relación perímetro/superficie (Figura 2.3). El efecto borde es consecuencia de errores en la estimación que se cometen al tener que decidir si un individuo está dentro o fuera de la unidad de muestreo. En la práctica este es un problema más frecuente de lo que podría parecer, sobre todo cuando en terrenos irregulares, con vegetación abundante, y con unidades de gran tamaño. Desde este punto de vista, la forma circular minimiza el efecto borde, aunque dadas las dificultades que supondría delimitar círculos con cuerdas en el campo, en la práctica sólo se utilizan cuando se requieren unidades de muestreo de tamaño reducido. Las formas rectangulares suelen ser utilizadas para el análisis de gradientes o ecotonos en los que la vegetación cambia notablemente en un espacio reducido; en estos casos, el lado mayor del rectángulo se orienta paralelamente a la dirección principal del gradiente.

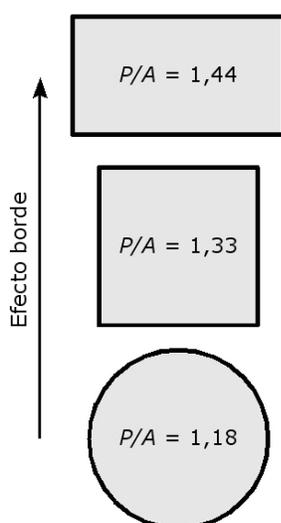
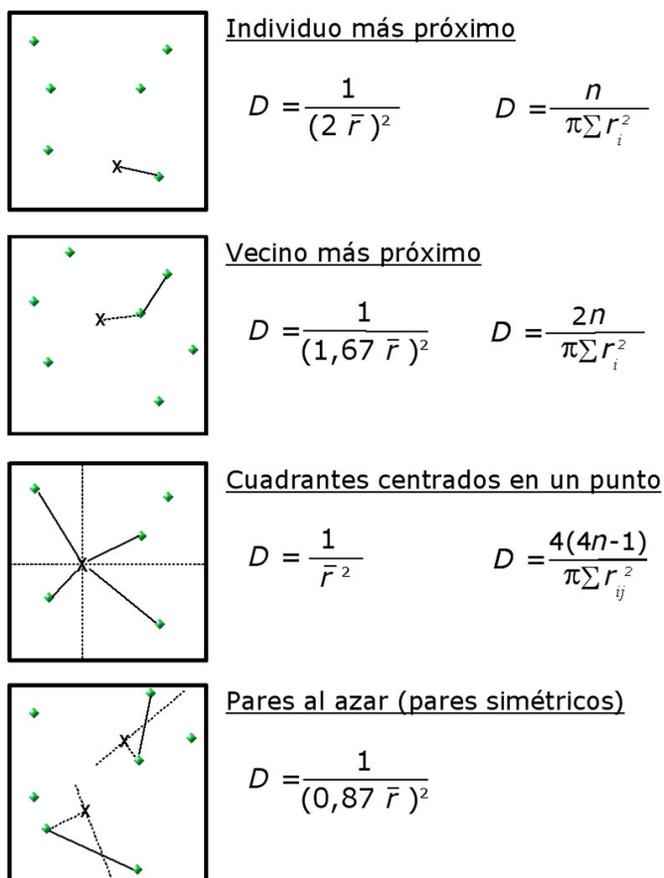


Figura 2.3. Diferentes formas de unidades de muestreo y su relación con el efecto borde. Las tres unidades de muestreo tienen la misma superficie, pero distinta relación perímetro/área.

Las **estimaciones de densidad sin unidad de muestreo** se utilizan principalmente para especies arbóreas y se basan en realizar medidas de distancias. Existen diversos métodos para los cuales se han desarrollado distintas ecuaciones que permiten estimar la densidad (Figura 2.4). La asunción básica de todos ellos es que los individuos presentan una distribución aleatoria. El método más sencillo es el del **individuo más próximo**, consistente en medir las distancias entre puntos localizados al azar y el individuo más próximo a cada punto. En el método del **vecino más próximo** la distancia que se considera es la existente entre el individuo más próximo y su vecino más próximo. En el método de los **cuadrantes centrados en un punto** por cada punto aleatorio se obtienen cuatro distancias: a los individuos más próximos de cada uno de los cuadrantes resultantes de trazar imaginariamente dos líneas perpendiculares. Por último, el método de los **pares al azar** consiste en localizar el individuo más próximo al punto, trazar imaginariamente la línea que los une y su *perpendicular*, y finalmente medir la distancia entre dicho individuo y su vecino más próximo *al otro lado de la perpendicular* (Figura 2.4).

Figura 2.4. Métodos de distancia para la estimación de densidad. Las "x" representan puntos al azar; las líneas discontinuas se trazan imaginariamente para localizar los individuos a medir, y las líneas continuas representan las distancias, r . Para cada método (excepto el de pares al azar) se proporcionan dos ecuaciones alternativas para el cálculo de la densidad, D ; n es el número total de puntos.



Una revisión de la bibliografía sobre los métodos de métodos de distancia revela una cierta discordancia entre las ecuaciones presentadas por los distintos autores. En la Figura 2.4 se presentan dos ecuaciones alternativas para cada método (excepto en el caso de los pares al azar). Las ecuaciones de la izquierda responden al modelo general

$$D = \frac{1}{(z \cdot \bar{r})^2} \quad (2.1)$$

donde D es la densidad, \bar{r} es la distancia media, y z es una constante que depende del método. En el libro de Bonham (1989) pueden encontrarse fórmulas para obtener la varianza de estas estimas.

Cobertura

La **cobertura** se define como el porcentaje de suelo ocupado por la proyección ortogonal de las partes aéreas de la vegetación. Se trata de una estima de abundancia, al igual que la densidad, y resulta especialmente útil cuando no se pueden identificar los individuos con facilidad (en el caso de organismos modulares, por ejemplo). La cobertura puede estimarse mediante diversos métodos y se expresa como proporción o porcentaje.

Un método clásico consiste en la estima **visual**, que como indica su nombre se realiza “a ojo” (y por tanto de manera subjetiva). Consiste en asignar un valor de cobertura de acuerdo con una escala de referencia (Tabla 2.1). Las estimas se realizan directamente sobre el conjunto del área de estudio o sobre unidades de muestreo de tamaño variable, dependiendo de las características de las especies. Es un método ampliamente utilizado en Fitosociología.

Un método más objetivo es la **cobertura puntual**, estimada mediante la intercepción de los individuos con una aguja que se desplaza verticalmente. Con frecuencia se utilizan series de agujas agrupadas (Figura 2.5a). Se expresa como la relación entre el número de “contactos” (las veces que un individuo es tocado) y el número total de “pinchazos” efectuados. La unidad de muestreo en este caso es puntual, y por tanto, adimensional. Se emplea principalmente para estimar la cobertura de la vegetación herbácea, aunque también es un método útil de estimación de

cobertura arbórea; en estos casos se utilizan dispositivos con un visor y dos líneas perpendiculares, cuyo punto de cruce actúa como unidad de muestreo (Figura 2.5b). Colocado perpendicularmente al suelo, y mirando hacia arriba, la cobertura se estima anotando el número de “contactos” con cualquier parte aérea de los árboles.

Tabla 2.1. Ejemplos de escalas empleadas para la estima visual de la cobertura.

Clases	Domin-Krajina	Braun-Blanquet	van der Maarel
+	1 ind.	< 1 %	
1	1–2 ind.	1 – 5 %	raros
2	< 1 %	6 – 25 %	pocos
3	1–4 %	26 – 50 %	< 1 %
4	4 – 10 %	51 – 75 %	1 – 5 %
5	11 – 25 %	76 – 100 %	5 – 12,5 %
6	26 – 33 %		12,5 – 25 %
7	34 – 50 %		25 – 50 %
8	51 – 75 %		50 – 75 %
9	76 – 90 %		> 75 %
10	91 – 100 %		

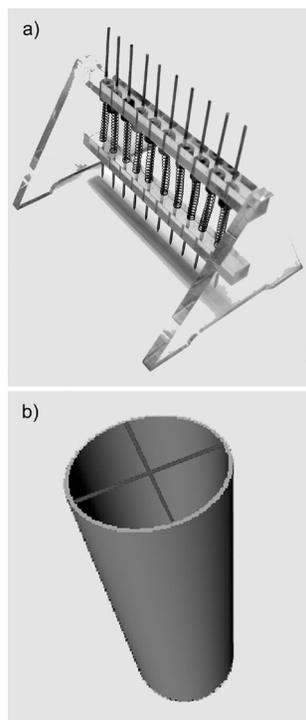


Figura 2.5. Dispositivos para realizar medidas de cobertura puntual: a) serie de agujas; b) visor.

Otro tipo de estima es la **cobertura lineal**, que se define como la intercepción lineal de la proyección vertical de los individuos sobre una cuerda o cinta métrica (Figura 2.6). Se expresa como la relación entre el número de unidades (por ejemplo, centímetros) “tocadas” por la especie y la longitud total considerada. En este caso la unidad de muestreo es una línea. Se trata de un método muy apropiado para vegetación arbustiva o de matorrales.



Figura 2.6. Representación esquemática del método de cobertura lineal.

Otros tipos de medidas

Se denomina **frecuencia** a la probabilidad de encontrar una especie en un área determinada: es la proporción de unidades de muestreo que contienen al menos un individuo (número de unidades de muestreo donde se encuentra la especie dividido por el número total de unidades de muestreo). Este tipo de medida consiste esencialmente en anotar la presencia o ausencia de individuos de la especie en cada unidad de muestreo. Es una estima, por tanto, que se obtiene de forma fácil y rápida, ideal para estudios preliminares o que tengan como objetivo la descripción de la vegetación en territorios de gran extensión. No obstante hay que tener en cuenta que es dependiente del tamaño de la unidad de muestreo, lo que limita notablemente su utilidad. Normalmente suele considerarse la denominada **frecuencia de enraizamiento**, en la que se considera que la especie está presente sólo si enraíza dentro de la unidad de muestreo; como alternativa puede utilizarse la **frecuencia de contacto**, en la que se considera también la inclusión de cualquier parte aérea de las plantas.

El **biovolumen** se utiliza especialmente para especies arbustivas, calculado como el producto de la cobertura por la altura media de los individuos.

Las medidas **área basal**, **perímetro** y **diámetro** se utilizan con especies arbóreas. La medida más fácil de realizar es el perímetro del tronco, que suele medirse a la altura del pecho (es decir, aproximadamente a 1,3 - 1,4 m de altura). Del perímetro, se obtienen el área basal (la superficie de la sección del tronco) y el diámetro. Esta última medida es la más utilizada, y se conoce como **dbh** (*diameter at breast height*).

$$\text{Área basal} = \text{Perímetro}^2 / 4\pi \quad (2.2)$$

Finalmente, las estimas de **vigor** o *performancia* (del inglés *performance*) constituyen medidas indirecta del estado fisiológico de las plantas. Suelen utilizarse medidas muy diversas, como la longitud o anchura de las hojas, el número de inflorescencias, el número de semillas producidas, etcétera.

Tamaño muestral

El **tamaño de la muestra** es el número de unidades de muestreo. La elección del tamaño muestral requiere considerar la disponibilidad de tiempo, dinero y personal, debiéndose llegar a un compromiso entre la calidad del muestreo y el esfuerzo posible. Un número reducido de unidades de muestreo supone un incremento notable del error en las estimas, por lo que en general será necesario considerar un mínimo en función del error que estemos dispuestos a asumir. Existen un sencillo método gráfico para determinar el tamaño de la muestra; consiste en representar el valor de la media (o de la varianza) en función del número de unidades de muestreo (Figura 2.7). Inicialmente los valores de la media y la varianza oscilan de forma acentuada, tendiendo a estabilizarse conforme n va aumentando. En el ejemplo de la Figura 2.7, el tamaño óptimo viene indicado por la flecha, y se corresponde con el valor de n para el cual la media o la varianza dejan de fluctuar más allá de unos límites previamente establecidos. Un inconveniente obvio de este método es que para su aplicación hay que tomar más unidades de muestreo de las necesarias, y por tanto sólo es útil para comprobar a posteriori que el tamaño muestral no es insuficiente.

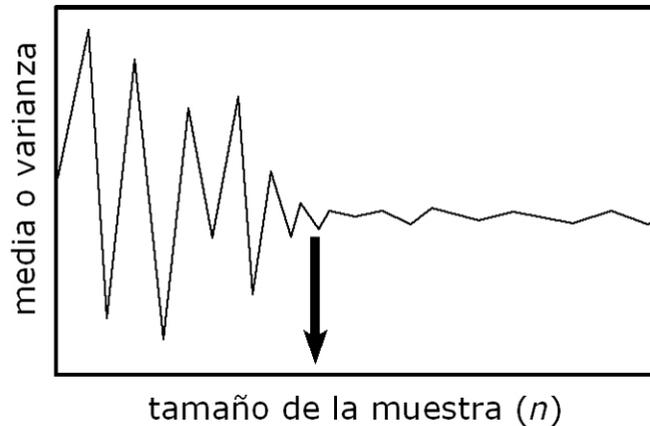


Figura 2.7. Método gráfico para estimar el tamaño óptimo de la muestra.

Más interesantes resultan los métodos analíticos, que permiten calcular el número de unidades de muestreo necesarias para estimar la densidad o la cobertura de una población con un determinado margen de error. El concepto de error tiene una gran importancia en la teoría del muestreo: en la estima de cualquier parámetro de la población basada en un muestreo siempre se comete un determinado error; en otras palabras, es muy poco probable que la estima coincida exactamente con el valor real (el cual, por otra parte, no se conoce normalmente). Pueden distinguirse dos tipos de error: el **error absoluto**, que es la diferencia entre el valor real de la población y el valor estimado, y el **error relativo**, que es el cociente entre el error absoluto y el valor real:

$$D = \frac{|\text{valor real} - \text{valor estimado}|}{\text{valor real}} \quad (2.3)$$

El error relativo resulta de gran interés porque puede fijarse de antemano para calcular n mediante la ecuación:

$$n = \frac{s^2 \cdot t_{v,\alpha}^2}{\bar{x}^2 \cdot D^2} \quad (2.4)$$

donde n es el tamaño de la muestra, \bar{x} la media, s^2 la varianza, t el valor de la distribución t de Student (con un nivel de confianza α y v grados de libertad), y D el error relativo. De esta forma, el n obtenido representa el tamaño mínimo de la muestra para obtener un error relativo menor de D con una probabilidad del 95%. Esta ecuación requiere estimas preliminares de la media y la varianza de la población objeto de

muestreo (obtenidas por ejemplo a partir de un estudio preliminar). Los valores de D que suelen emplearse en ecología oscilan entre 0,1 y 0,4. A primera vista puede parecer excesivo admitir un error del 40% en una estima, pero nótese que una ligera disminución del valor de D en la ecuación anterior tiene como consecuencia un incremento muy notable del valor de n .

Si estamos estimando densidad, y asumimos que la población sigue una distribución aleatoria ($s^2 = \bar{x}$), entonces la ecuación 2.4 se simplifica a:

$$n = \frac{t_{v,\alpha}^2}{x \cdot D^2} \quad (2.5)$$

Como el valor de t es aproximadamente 2 para el 95% de probabilidad, con frecuencia se encuentran las ecuaciones anteriores en la bibliografía con dicho valor en el numerador (2^2 , o directamente 4), lo cual puede conducir a cierta confusión.

Otras ecuaciones, por lo general algo más complicadas, permiten calcular el tamaño de la muestra para distribuciones contagiosas (en las que $s^2 > \bar{x}$), para otros tipos de estimas (por ejemplo, proporciones), o para tener en cuenta aspectos económicos, con la inclusión de términos donde se incorpora el coste estimado de tomar una unidad de muestreo (Sutherland, 1996). También el tamaño óptimo de la unidad de muestreo puede calcularse en función del coste (Krebs, 1999).

Tipos de muestreo

En este apartado hacemos referencia a la forma de situar las unidades de muestreo en el área de estudio, es decir, la manera de colocarlas físicamente en un lugar determinado. Dependiendo de esta decisión, podremos distinguir entre diferentes tipos de muestreo. Aquí comentaremos los tres principales (aleatorio, regular, estratificado), y algunas de sus variantes (Figura 2.8).

El **muestreo aleatorio** es considerado como el método ideal para cualquier análisis estadístico posterior de los datos, aunque en la práctica, su realización en el campo puede ser complicada. Sin embargo, la tecnología de posicionamiento a través de satélite (GPS), cada vez más asequible, puede ser muy útil en estos casos.

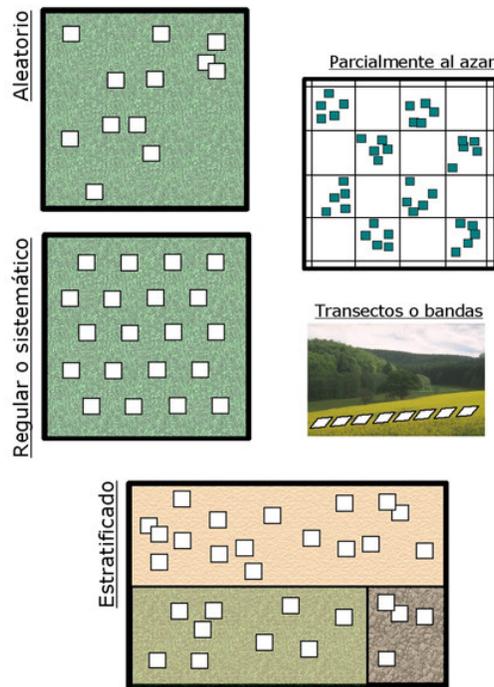


Figura 2.8. Principales tipos de muestreo.

El **muestreo regular** o sistemático es más fácil de llevar a la práctica y generalmente proporciona muy buenos resultados. Consiste en situar las unidades de muestreo a la misma distancia unas de otras. Los **transectos** o bandas son variantes del muestreo sistemático, y tienen gran utilidad cuando se pretende estudiar la influencia de gradientes ambientales (como, por ejemplo, la altitud o la orientación). En un transecto, las unidades de muestreo se colocan a menudo muy próximas unas a otras, lo que ocasiona generalmente la falta de independencia en los datos obtenidos. El **muestreo “parcialmente al azar”**, puede considerarse como una mezcla entre sistemático y azar (Figura 2.8): inicialmente se seleccionan grandes parcelas de forma sistemática, y dentro de cada una de ellas, en una segunda fase, se eligen al azar las unidades de muestreo.

El **muestreo estratificado** es uno de los más utilizados. Consiste en dividir el área de estudio en sectores homogéneos en cuanto a sus características ambientales. Dentro de cada sector se procede entonces a un muestreo aleatorio o sistemático, procurando que el número de unidades de muestreo dentro de cada sector sea proporcional a la superficie del mismo.

Un factor importante a tener en cuenta a la hora de elegir el tipo de muestreo es la **distribución espacial** de los organismos (Figura 2.9), que afecta notablemente también a otros aspectos del muestreo (especialmente a la determinación de n). Por ejemplo, una distribución regular de los individuos de una especie, que casualmente coincida con el patrón de un muestreo regular puede conducir a una sobreestimación excesiva de la densidad (o todo lo contrario). Por su parte, las distribuciones contagiosas (las más frecuentes en la naturaleza), generan una mayor varianza en los datos obtenidos, lo que se traduce en un mayor error y, por tanto, en la necesidad de un mayor número de unidades de muestreo para obtener estimas aceptables. Igualmente, la **abundancia** de los individuos influye de manera importante en las estimas, siendo éstas menos precisas en el caso de especies poco abundantes; las especies raras, por tanto, necesitan un mayor esfuerzo de muestreo para obtener estimas con un margen aceptable de error.

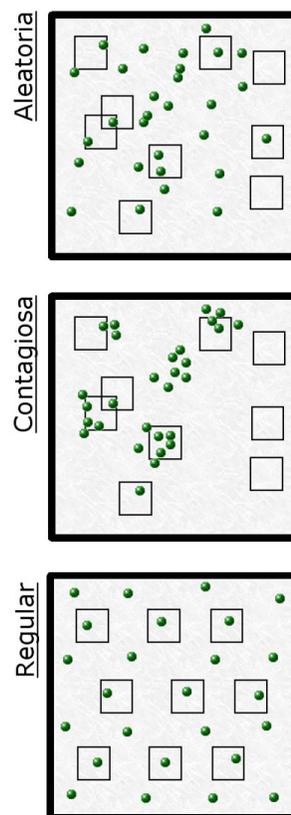


Figura 2.9. El tipo de distribución espacial de los individuos afecta notablemente a los resultados de un muestreo. Una distribución aleatoria y un muestreo aleatorio proporcionan los mejores resultados; las distribuciones contagiosas incrementan notablemente la varianza de los datos; un *pattern* de muestreo sistemático coincidente con un *pattern* de distribución regular conduciría a una sobreestimación (o subestimación) de la densidad.

Muestreo de poblaciones animales

En el caso de poblaciones animales, las estimas del número de individuos suelen denominarse **censo** (aunque el término es también utilizable para plantas). Contar animales resulta por lo general bastante más complicado que contar plantas. Los animales no sólo huyen o se esconden ante el observador, lo que dificulta las tareas de censo, sino que en muchos casos simplemente no se dejan ver, por lo que para detectar su presencia es necesario recurrir a evidencias indirectas (restos, huellas) o, más frecuentemente, a su captura mediante diversos procedimientos de trampeo.

Los métodos de muestreo de animales son muy diversos, adecuados en cada caso a las dificultades que plantea en cada caso la observación o captura de los diferentes grupos de especies. Puede establecerse una regla general (Tellería, 1984):

$$N = I/K \quad (2.6)$$

donde N es el tamaño de la población, I es el número de animales observados o capturados (muestreados), y K es un coeficiente que relaciona los parámetros anteriores. Cuando el método de muestreo se basa en la observación directa de los animales, K es un **coeficiente de detectabilidad**, y cuando se basa en capturas, K es un **coeficiente de capturabilidad**. Cuanto más difícil sea observar o capturar individuos, más pequeño será K . En general K es siempre inferior 1, lo que implica que el número de animales censados es habitualmente menor que el número total de animales en la población. K depende de numerosos factores:

$$K = f(m, e, h, n) \quad (2.7)$$

donde m representa la eficacia del método de observación o captura, e representa la especie, h representa el hábitat donde se realiza el muestreo, y n representa el esfuerzo (el tamaño de la muestra).

Siguiendo el esquema propuesto por Tellería (1984), en los siguientes apartados analizaremos diferentes procedimientos de muestreo de animales, agrupados en 6 grandes tipos.

A) Índices de abundancia

Los índices son **estimas relativas** de abundancia, es decir, estimas no referidas a una unidad de superficie (o volumen), sino a una unidad de esfuerzo. Como consecuencia, sólo sirven para establecer comparaciones sobre la abundancia relativa de una especie en distintas áreas de estudio, o para evaluar las tendencias de una población a lo largo del tiempo en una misma zona. Lo fundamental es controlar el esfuerzo (el número de kilómetros recorridos, el número de trampas, el tiempo de observación o escucha...). El cálculo de un índices de abundancia es más fácil que una estima de densidad (es decir una estima absoluta de la abundancia). Se utilizan por tanto cuando no es posible obtener dichas estimas absolutas (bien por falta de tiempo o dinero, bien por dificultades de cualquier tipo), o en estudios poco exigentes en los que no se requieren valores de densidad. Pueden clasificarse en varios tipos, atendiendo diferentes métodos de obtención de la información (observación directa, capturas, huellas...).

En el caso de animales fácilmente observables, dos índices de **observación directa** son especialmente utilizados:

IKA: Índice Kilométrico de Abundancia. Utilizado para aves, grandes mamíferos, determinadas especies de reptiles... Consiste en contar los individuos observados a lo largo de un recorrido que puede realizarse a pie o en diferentes tipos de vehículos (coches, avionetas, embarcaciones), dependiendo de la especie o especies muestreadas. Es importante realizar los recorridos siguiendo algún protocolo previamente establecido: a la misma hora, a la misma velocidad, con similares condiciones meteorológicas, los mismos observadores. El índice se expresa como número de animales observados por distancia recorrida (km, 10 km, 100 km).

IPA: Índice puntual de abundancia. Es un índice de observación directa que requiere el control del tiempo. El método consiste en registrar, desde un punto fijo, todos los individuos vistos u oídos durante un tiempo determinado (por ejemplo 20 minutos). Muy utilizado para aves forestales principalmente, aunque también para especies migratorias en zonas de paso.

Los **índices de captura**, por otra parte, se basan en procedimientos de caza (captura activa) o trampeo (captura pasiva). Dependen mucho de la capturabilidad de las especies. Los métodos de captura activa se utilizan mucho para invertebrados, utilizándose cazamariposas, mangas para medios acuáticos, etcétera. También se usan

con especies cinegéticas. En otros casos se utilizan métodos de captura pasiva (trampas para invertebrados terrestres, micromamíferos, lagartijas...). En general sólo sirven para mostrar tendencias en la evolución temporal de una población.

Finalmente debemos mencionar los índices relacionados con las **huellas, restos o señales** de los animales. Se emplean con especies que, por sus costumbres o comportamiento esquivo, son difícilmente detectables. Son muy utilizados los conteos de restos fecales (por ejemplo nutrias y otros mamíferos carnívoros, ungulados).

B) Itinerarios y estaciones de censo

Se realizan para obtener **estimaciones absolutas** de abundancia (densidad). Los procedimientos de censo son similares a los comentados para IKA e IPA, pero aquí se controla la superficie muestreada, por lo que el número de individuos queda referido a una unidad de superficie.

Entre los itinerarios de censo existen numerosas variantes. Aquí destacaremos por su simplicidad los denominados **transectos o taxiados**, que se basan en el registro de individuos observados dentro de una distancia W a cada lado de la línea de itinerario (Figura 2.10). Cada taxiado representa una unidad de muestreo.

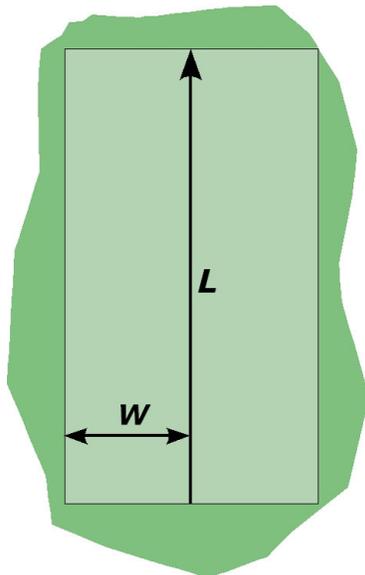


Figura 2.10. Esquema de un transecto o taxiado.

La estimación de la densidad se calcula mediante:

$$D = \frac{n}{2WL} \quad (2.8)$$

donde n es el número de individuos contados, L es la longitud del itinerario y W el ancho de banda (según el esquema de la Figura 2.10). La expresión 2.8 es válida cuando podemos asumir que todos los individuos presentes dentro de la banda son detectados. En caso contrario suele emplearse un coeficiente de detectabilidad C (de cálculo laborioso), que permite corregir la circunstancia de una menor probabilidad de observación en los extremos de la banda. De esta forma, la ecuación 2.8 se modifica ligeramente:

$$D = \frac{n}{2 W L C} \quad (2.9)$$

Otro tipo de itinerario de censo es el **itinerario de intercepción**, cuyo fundamento es el cálculo de la probabilidad de interceptar un objeto de radio r (Figura 2.11) En concreto se utiliza para especies que sólo son detectables cuando el observador se aproxima a una determinada distancia, momento en el que el animal abandona su posición y huye (agachadizas, liebres, lagartos). Medida para cada animal i , esta **distancia de huida** o **distancia de detección** (r_i) permite estimar la densidad según:

$$D = \frac{1}{2 L} \sum_{i=1}^n \frac{1}{r_i} \quad (2.11)$$

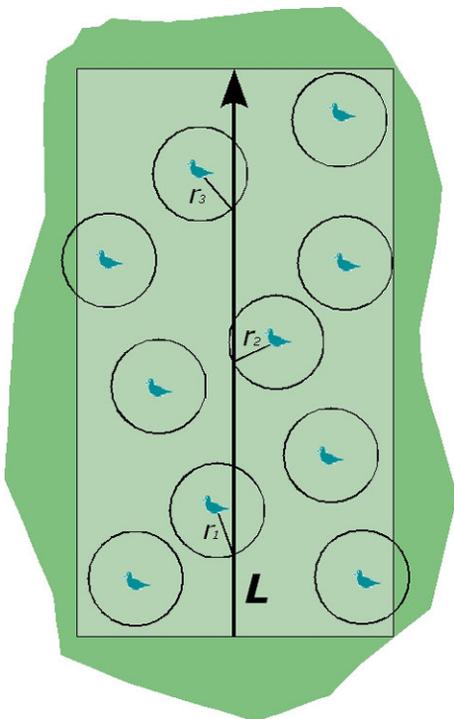


Figura 2.11. Esquema del itinerario de intercepción.

Las **estaciones de censo** constituyen una alternativa a los itinerarios en terrenos abruptos o muy heterogéneos, donde resulta complicado realizar un recorrido lineal; son muy utilizados también para aves. El observador se sitúa en un punto y va anotando todos los contactos en un área circular de radio prefijado (Figura 2.12).

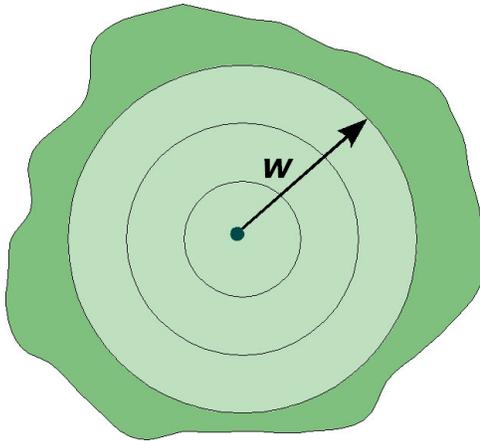


Figura 2.12. Esquema de una estación de censo.

La densidad puede estimarse mediante:

$$D = \frac{n}{\pi W^2 C} \quad (2.12)$$

donde n es el número de individuos registrados, W es el radio y C el coeficiente de detectabilidad, que debe estimarse en cada caso.

C) Parcelas

Son en cierto modo equivalentes a los muestreos con parcelas (*quadrats*) de vegetación, y en general los fundamentos son los mismos, aunque con variaciones debidas a la menor detectabilidad de los animales. Un método muy empleado para animales territoriales es el del **mapeo de territorios** (también denominado “método de la parcela”). Consiste en delimitar un área de dimensiones más o menos amplias, según las especies, en la que se anotan los contactos con los individuos presentes en la zona. Tras múltiples visitas finalmente pueden cartografiarse los territorios de cada pareja reproductora (Figura 2.13).

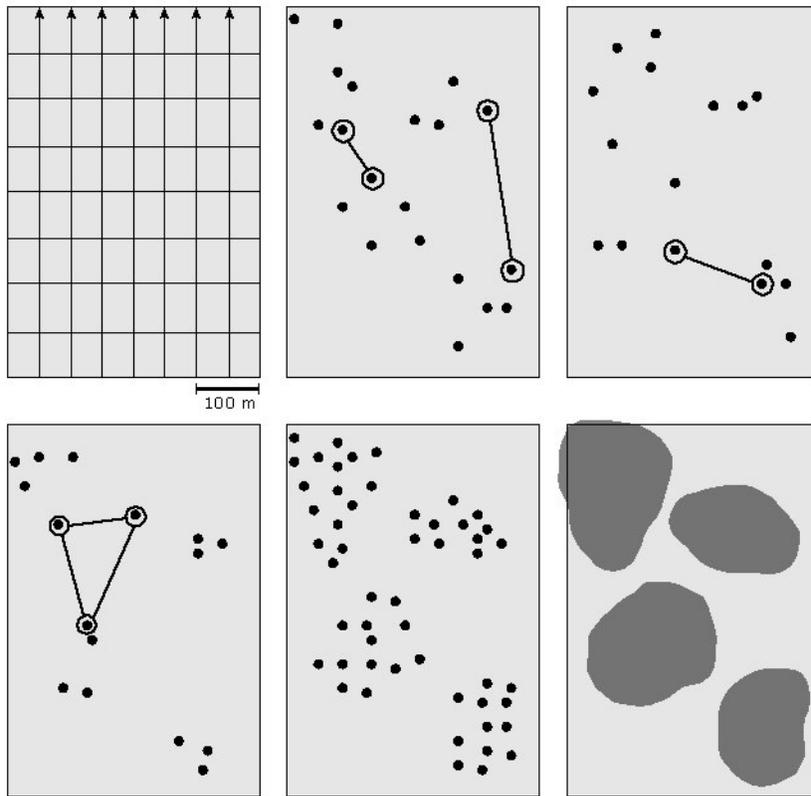


Figura 2.13. Método de la parcela (mapeo de territorios). En un área delimitada se realizan recorridos sistemáticos con objeto de registrar los contactos. Son especialmente útiles los contactos simultáneos. Tras repetidas visitas, la distribución de los contactos permiten cartografiar los territorios de las parejas presentes en la parcela. Modificado de Tellería(1984).

D) Control de capturas

Aquí se incluyen varios métodos que utilizan información procedente de sesiones de captura de los individuos cuyo tamaño poblacional se pretende estimar. Uno de estos métodos es el de **capturas acumuladas**. El fundamento de este método es el siguiente: si se representa el número de capturas de cada sesión frente a las capturas acumuladas en ese momento, se observará una relación decreciente que puede ser ajustada a la ecuación de una recta mediante una regresión lineal (Figura 2.14). El punto de corte con el eje de abscisas se corresponderá con el tamaño inicial de la población, es decir, el punto en el que no hay más capturas porque todos los individuos han sido ya capturados. Como es obvio, el método asume que no existen otras pérdidas de individuos (mortalidad natural, emigraciones) durante el período de capturas.

Se utiliza principalmente para especies cinegéticas o de interés comercial, aprovechando la información sobre capturas proporcionada por cazadores o pescadores.

Semana	Número de capturas	Capturas acumuladas
1	35	0
2	21	35
3	10	56
4	8	66
5	4	74

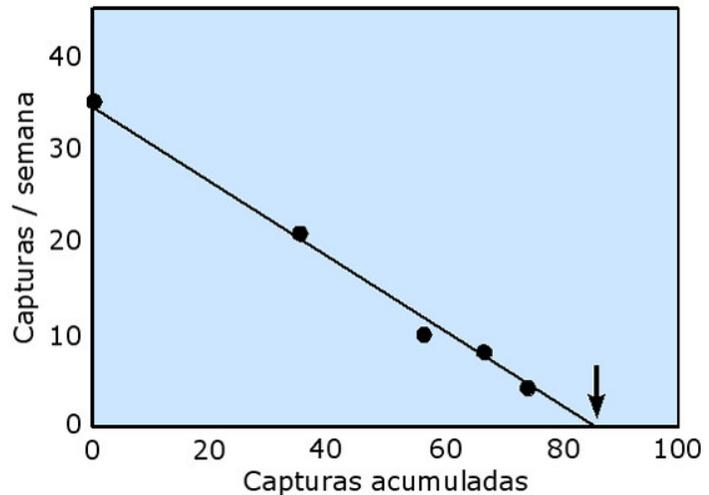


Figura 2.14. Ejemplo de estima del tamaño poblacional mediante el método de capturas acumuladas. De Tellería [\[http://www.ucm.es/info/zoo/Vertebrados/censos/censos.html\]](http://www.ucm.es/info/zoo/Vertebrados/censos/censos.html)

E) Marcaje y recaptura

Constituyen un grupo muy complejo de métodos que tienen como fundamento el marcaje de individuos y la evaluación de la información procedente de posteriores recapturas de los animales marcados. Aquí comentaremos sólo dos métodos, el de Petersen –el más sencillo puesto que consta de una sola sesión de recaptura–, y el de Jolly-Seber –algo más complejo, diseñado para el análisis de varias sesiones de marcaje y recaptura.

Los métodos de marcaje asumen que las marcas no influyen en la probabilidad de que los animales vuelvan a ser recapturados. Por supuesto, no deben disminuir su tasa de supervivencia, ni deben afectar a su comportamiento.

Método de Petersen. Inicialmente se realiza una sesión de trampeo, en la que a los animales capturados (M) se les coloca una marca. En una segunda sesión de trampeo, se vuelven a capturar n animales, de los cuales un número determinado (m) estarán marcados (Figura 2.15). El razonamiento para la estima del número total de individuos de la población (N) se basa en la siguiente equivalencia:

$$\frac{m}{n} = \frac{M}{N} \quad (2.13)$$

de donde:

$$N = \frac{M \cdot n}{m} \quad (2.14)$$

La ecuación 2.14 tiende a sobreestimar la población, por lo que Seber (1982) propuso una ligera modificación, que mejora notablemente las estimas:

$$N = \frac{(M + 1) \cdot (n + 1)}{(m + 1)} - 1 \quad (2.15)$$

La asunción fundamental del método de Petersen es que la población es cerrada, es decir, que N se mantiene constante entre las dos sesiones de captura.

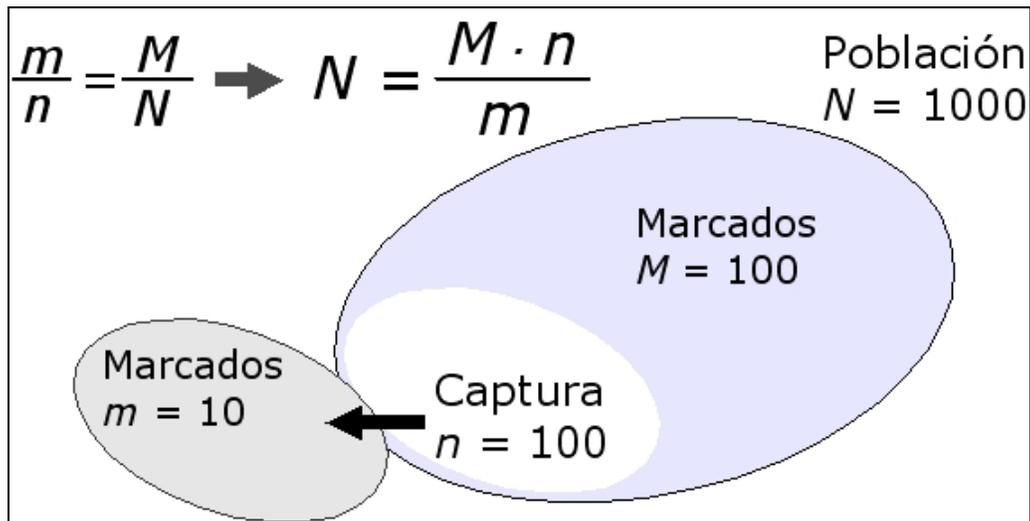


Figura 2.15. Esquema y ejemplo del método de Petersen.

Método de Jolly-Seber. Es un método adecuado para estimar el número de individuos de poblaciones abiertas, es decir, en las que existe posibilidad de cambios poblacionales debidos a inmigraciones y emigraciones. El método consiste en realizar diversas sesiones de marcaje y recaptura, para construir una tabla como la que se presenta en la Figura 2.16 y estimar el tamaño de la población para los diferentes días de captura (a excepción del primero y el último). El fundamento de la estima es básicamente el mismo que el del método de Petersen, pero a diferencia de aquél, dado que la población es abierta, no se conoce el número de animales marcados en cada momento (M_i), por lo que es necesario utilizar la información de posteriores capturas

para estimarlo. Así pues, con la información procedente del historial de capturas, para cada día deben calcularse diferentes parámetros que se describen en la Figura 2.17 y Tabla 2.2: n_i , r_i , m_i , y_i , z_i . De esta forma, para calcular M_i se establece la siguiente relación:

$$\frac{z_i}{M_i - m_i} = \frac{y_i}{r_i} \quad (2.16)$$

es decir, durante una sesión de recaptura, una fracción z_i de los animales marcados existentes en ese momento en la población ($M_i - m_i$) serán recapturados posteriormente. Esta relación debe ser igual a la existente entre el número de animales marcados el día i que serán recapturados en días sucesivos (y_i) y el número de animales liberados ese día (r_i). A partir de la ecuación 2.16, puede despejarse M_i y sustituirlo en la ecuación 2.14:

$$N_i = n_i + \frac{z_i \cdot r_i \cdot n_i}{y_i \cdot m_i} \quad (2.17)$$

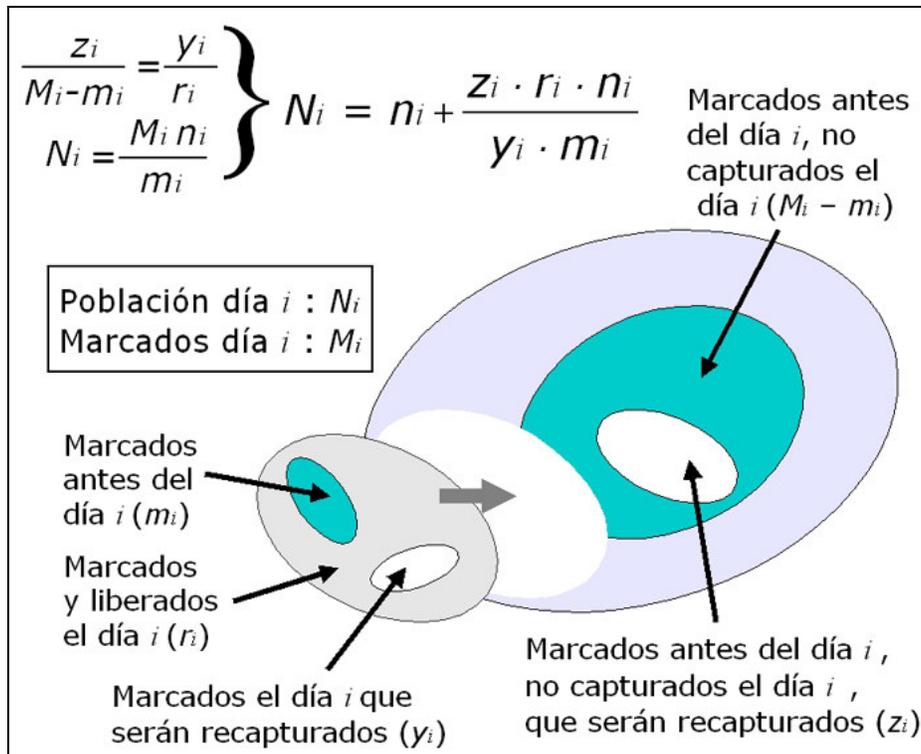


Figura 2.16. Esquema del método de Jolly-Seber.

Tabla 2.2. Aplicación del método de Jolly-Seber a una población de Carriceros Comunes durante su paso otoñal en un carrizal. Según Tellería (1984).

Día	Capturados	Liberados	Capturados en i y marcados en j						m_i	y_i	z_i	N_i	SE(N_i)	
			$j =$	1	2	3	4	5						6
1	75	74		—					—	15	—	—	—	—
2	80	80		9	—				9	22	6	274	76	
3	79	76		3	11	—			14	31	14	273	48	
4	90	90		2	5	15	—		22	34	23	339	53	
5	111	110		0	2	9	16	—	27	18	30	865	206	
6	107	105		1	3	5	11	13	33	18	15	391	90	
7	121	119		0	1	2	7	5	33	—	—	—	—	
				\downarrow	\downarrow	\downarrow	\downarrow	\downarrow						
				z_2	z_3	z_4	z_5	z_6						

F) Conteo directo

En determinadas ocasiones es posible realizar el recuento de todos los individuos de la población. Esto ocurre en determinadas circunstancias y con determinadas especies; por ejemplo: aves acuáticas en lagos y lagunas, parejas reproductoras de aves de gran tamaño (rapaces), grupos familiares de mamíferos (lobos, ungulados), colonias reproductoras (gaviotas, garzas, buitres, leones marinos, anfibios en charcas...), concentraciones postreproductivas (aves migratorias). En general, en estos casos el censo no sólo consiste en contar los individuos, sino que cada situación requiere el seguimiento de una estrategia particular, es decir, que los conteos se realizan siguiendo un determinado protocolo o método de trabajo (Tellería, 1984). Aunque la totalidad de los animales de la población puedan ser observados, el recuento no siempre es una tarea sencilla (Figura 2.17).



Figura 2.17. Flamencos en la laguna de La Mata, (Alicante). ¿Cuántos hay en la imagen?

A modo de síntesis: los 10 principios de Green (1979)

1. Es necesario precisar la pregunta que se intenta responder con la investigación. Los resultados serán tan coherentes como comprensible sea la concepción inicial del problema.
2. Han de tomarse unidades de muestreo replicadas en cada combinación de tiempo, localidad y cualquier otra variable controlada. Las diferencias entre las situaciones sólo pueden ser demostradas comparando las diferencias en los grupos.
3. Debe tomarse, para cada combinación de variables controladas, el mismo número de replicas seleccionadas aleatoriamente. Tomar unidades de muestreo en sitios *típicos* o *representativos* no es muestrear al azar.
4. Para comprobar que una condición produce efecto ha de muestrearse en una situación en la que se produzca la condición y en otra en la que no se produzca, permaneciendo todo lo demás igual. Un efecto sólo puede ser demostrado por comparación con un control.
5. Es necesario realizar algunos muestreos previos para disponer de elementos para la evaluación del diseño de muestreo y de las posibles opciones de análisis estadístico. Saltar este paso por no disponer de tiempo produce a menudo una pérdida de tiempo.
6. Es necesario verificar que los instrumentos y métodos permiten muestrear la población que se desea, y poseen una adecuada eficacia y constante en todo el espectro de condiciones que pueden encontrarse. Las variaciones de eficacia en distintas situaciones produce sesgos al comparar estas.
7. Si el área de estudio presenta una *pattern* ambiental a gran escala, es necesario dividirla en subáreas relativamente homogéneas y muestrear en cada una de ellas proporcionalmente a su superficie. Si se intenta estimar la abundancia de organismos, el número de unidades de muestreo dependerá entonces de la proporción de individuos en cada subárea y no del tamaño de estas.
8. Es necesario verificar que la unidad de muestreo es adecuada al tamaño, la densidad y distribución espacial de los organismos que se están muestreando. Con ello puede estimarse el tamaño muestral necesario para obtener la precisión deseada.
9. Los datos han de ser probados para determinar: la normalidad, la homogeneidad de la varianza y la independencia de la media. Si no se produce esta situación, como ocurre en la mayor parte de los datos de campo entonces: (a) transformar apropiadamente los datos; (b) utilizar una prueba de distribución libre (no paramétrica); (c) utilizar un diseño de muestreo secuencial apropiado; ó (d) contrastar la H_0 con datos obtenidos por simulación.
10. Los datos deben analizarse con la técnica estadística elegida *a priori*. Unos resultados inesperados o no deseables no son una razón para rechazar una técnica y elegir otra *mejor*.

Referencias bibliográficas

- Green, R.H. 1979. *Sampling design and statistical methods for environmental biologists*. John Wiley & Sons. New York.
- Hairston, N.G. 1989. *Ecological Experiments. Purpose, design, and execution*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Hulbert, S.H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*, 54: 187-211.
- Krebs, C.J. 1999. *Ecological Methodology*. 2ª ed. Benjamin/Cummings. Menlo Park, CA.
- Montes, C. y Ramírez-Díaz, L. 1978. *Descripción y muestreo de poblaciones y comunidades vegetales y animales*. Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Sevilla.
- Seber, G.A.F. 1982. *The estimation of Animal Abundance*. 2ª ed. Griffin. London.
- Sokal, R.R. y Rohlf, F.J. 1995. *Biometry*. 3º ed. Freeman. New York.
- Sutherland, W.J. (ed.) 1996. *Ecological Census Techniques*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Tellería, J.L. 1986. *Manual para el censo de los vertebrados terrestres*. Raíces. Madrid. [Ver también <http://www.ucm.es/info/zoo/Vertebrados/censos/censos.pdf>]