TRABAJO PRÁCTICO 5

CUANTIFICACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD

Los inventarios de especies son una herramienta básica para investigaciones de objetivos diversos. Por ejemplo, para detectar sitios de especial interés para conservación y manejo, para evaluar el cambio en el número de especies como consecuencia de perturbaciones locales o globales (e.g., obras de ingeniería, cambios en el uso del suelo, cambio climático) o de la aparición o desaparición de especies importantes (e.g., especies invasoras, extinción local), para hacer análisis biogeográficos, taxonómicos y evolutivos, o para generar teorías y modelos de los factores que estructuran las comunidades biológicas. En teoría, el inventario de especies nos debería informar acerca de cuáles son las especies que habitan un determinado lugar y, por lo tanto, la estimación de la riqueza de especies debería ser un simple recuento. Sin embargo, hay varios inconvenientes a resolver para confeccionar inventarios de buena calidad y ciertos criterios a tener en cuenta para poder usarlos posteriormente. En general, podemos decir que todo inventario depende de (1) factores intrínsecos de los lugares o de los organismos considerados, como el número de especies y sus abundancias, la distribución de abundancias relativas de las especies y su grado de dispersión temporal y espacial en el sitio, (2) las decisiones y criterios prácticos tomados al hacer el relevamiento, como la técnica usada y la aptitud y conocimiento previo de los investigadores, el esfuerzo de muestreo y el número y distribución de muestras, y (3) la interacción de ambos, como la detectabilidad relativa de las especies en función de la estructura del ambiente o la disposición de las muestras en relación a la escala de agregamiento espacial de los individuos.

La estimación de la riqueza de especies de un sitio debería provenir de relevamientos exhaustivos y confiables. Si bien hacer un gran esfuerzo ayuda, eso no garantiza la calidad de un relevamiento ni asegura poder usarlo con fines comparativos. El ideal sería lograr un estimador confiable de la riqueza de especies de un sitio que permita saber cuán exhaustivo es el relevamiento y que brinde resultados comparables con los de otras áreas geográficas u obtenidos a escalas distintas (con un esfuerzo que sea logísticamente viable).

Excepto que se haga un censo, a mayor esfuerzo de muestreo se detectarán más individuos y habrá más chances de registrar nuevas especies. Una manera de ver esto es construir una curva de riqueza de especies acumulada en función del esfuerzo hecho. Por ejemplo, si se hace un mismo recorrido de observación todas las mañanas, se puede graficar el número total de especies detectadas en función del día. Se espera que esa curva alcance una asíntota, lo que, por extrapolación, indicaría que el relevamiento está completo (i.e., se espera que al agregar más días no se detectarán nuevas especies). De la misma manera, cuántos más individuos se detecten más probabilidades habrá de encontrar a las especies raras. Así, si dos ambientes con la misma riqueza de especies difieren en sus abundancias o en la facilidad con que pueden encontrarse los individuos, una misma cantidad de esfuerzo podrá resultar en valores distintos de riqueza observada (mientras el esfuerzo sea menor al de un censo).

Las tres principales aproximaciones que se usan para cuantificar la diversidad son: la rarefacción, los estimadores de riqueza de especies y los índices de diversidad. La rarefacción implica construir una curva suavizada de acumulación de especies mediante un remuestreo al azar de los datos, y luego comparar la riqueza de especies entre dos o más sitios de interés en el punto de la curva correspondiente al número de individuos (o muestras) del sitio con menor intensidad de muestreo. A las curvas de rarefacción que usan como unidad de esfuerzo a las muestras se las llama “aleatorizadas” o “suavizadas”, mientras que a las que consideran como unidad de esfuerzo a los individuos se las llama “de Coleman” (Gotelli & Colwell 2001). Como el número de especies observadas no es un estimador exacto del número real de especies, el número de especies calculado por rarefacción será menor –y a veces considerablemente menor– que la riqueza total de especies en el ecosistema.

Los estimadores de riqueza intentan predecir la asíntota de la curva de acumulación de especies, corrigiendo así la subestimación que ocurre cuando se considera solamente el número de especies observadas. Sin embargo, los estimadores de riqueza también son sensibles a la intensidad de muestreo, por lo que se debe seguir el mismo procedimiento que con la rarefacción (comparar todas las curvas en el valor del eje x correspondiente al sitio con la menor intensidad de muestreo) cuando se quieran comparar múltiples sitios.

Existen varios estimadores paramétricos y no-paramétricos, y la elección de uno de ellos dependerá del tipo de datos del que se dispone y de los objetivos particulares del estudio.

Los índices de diversidad también pueden usarse para comparar comunidades. Hay que tener en cuenta que en el cálculo de la diversidad se consideran no solo el número de especies presentes sino también la abundancia relativa de cada una de ellas en la comunidad. Al igual que con los estimadores de riqueza, existen numerosos índices de diversidad, y la elección de uno de ellos dependerá de los objetivos del estudio y de las características de cada conjunto de datos en particular. Estos índices también son sensibles a la intensidad de muestreo y nuevamente debería usarse el protocolo que se usa en la rarefacción para poder comparar entre sitios.

El **objetivo** de este trabajo práctico es estimar y comparar la riqueza y diversidad de especies de aves de distintos hábitats, aplicando diferentes estimadores y técnicas de rarefacción.

Desarrollo

Los alumnos de cada turno se dividirán en grupos de 2-3 alumnos. Los relevamientos se harán en la “Reserva El Destino”, discriminando entre dos tipos de hábitat: litorales o cerca de cuerpos de agua y de pastizal con montes de talares. Aquellos que estén familiarizados con el reconocimiento e identificación de aves se deberían distribuir en grupos distintos, al igual que los que poseen binoculares propios. Cada grupo contará con una guía con las especies más habituales de la reserva. A cada grupo se le asignará uno o más recorridos (transectas) diferentes. Cada transecta se recorrerá registrando e identificando a nivel de especie todos los individuos de aves que observe dentro de una franja de aprox. 20 m a cada lado de la línea de marcha y hacia arriba. Uno de los miembros del grupo asentará los datos en la planilla (ver Anexo 1), mientras los otros prestarán especial atención a la detección e identificación de las aves, teniendo especial recaudo en no contar dos veces a los mismos individuos y anotando las características de aquellas especies que no puedan identificarse en el momento.

Muy importante: se deben registrar los individuos en estricto orden de detección, usando la columna “individuos” de la planilla solo como un “atajo” en los casos en que se detecten simultáneamente a varios individuos de la misma especie (e.g.: Benteveo; Hornero (2); Torcaza; Hornero; Chingolo (3); Torcaza).

Los datos serán recopilados en una única planilla, sin perder la identificación del recorrido (número de grupo y transecta). El producto final será una lista de los individuos identificados con el nombre científico en el orden en que se fueron detectando en cada transecta.

La rarefacción de la riqueza de especies y el ajuste de curvas asintóticas a las curvas de acumulación de especies puede ser una tarea difícil, especialmente cuando se trabaja con bases de datos grandes. Por eso suelen hacerse utilizando programas específicos, como *EstimateS* (Colwell 2006), *EcoSim* (Gotelli & Entsminger 2006) y el *R Studio* –todos ellos gratuitos y disponibles en la web– que sirven para hacer la rarefacción y calcular los valores de riqueza y diversidad, mientras que el ajuste de curvas asintóticas involucra análisis más complejos (e.g., Soberón & Llorente 1993, Colwell & Coddington 1994). Aquí se emplearán primero procedimientos gráficos, menos precisos pero más útiles para entender los conceptos subyacentes y los potenciales sesgos de cada versión de los datos, y luego se usará el programa *EstimateS* para hacer las curvas de rarefacción y comparar los dos tipos de hábitat en cuanto a riqueza y diversidad de especies.

Aproximación gráfica:

(se recomienda usar *Excel* u otra planilla de cálculo)

(1) Haga una curva de acumulación de especies por muestreo (se denomina muestreo a cada recorrido) para todos los ambientes juntos, graficando el número de especies detectadas (acumuladas) en función del orden de los muestreos. Es decir, en el eje x se colocan los muestreos en orden (desde 1 hasta el número total de muestreos) y el valor en el eje y crece a medida que se detectan especies nuevas (que no habían sido registradas antes).

(2) Para todos los ambientes juntos, haga un gráfico similar con las curvas de acumulación de especies en función del orden de los individuos registrados (comenzando por el primer individuo registrado el día 1 y hasta el número total de individuos registrados). Es decir, el valor en el eje y crece cuando el individuo x es de una especie no registrada antes en ese sitio.

- ¿Qué forma tienen las curvas? (si trabaja en *Excel*, puede probar ajustar una línea de tendencia exponencial o logarítmica: ¿ajusta bien a los datos?)
- ¿Considera que todas las curvas llegan a una asíntota (es decir, al número máximo de especies en el sitio)? Si la asíntota no se alcanzó, ¿cree que tiene elementos para estimar la riqueza “verdadera” en cada sitio? Si las curvas sí muestran una asíntota, ¿podría haberse hecho menos esfuerzo que el que se hizo?
- ¿Encuentra alguna diferencia entre los gráficos de acumulación de especies en función del número de muestreos y en función del número de individuos? ¿a qué cree que se debe?

(3) Con los mismos datos, repita una de las curvas de acumulación de especies para uno de los sitios (en función de las muestras o en función de los individuos, la que le parezca más adecuada). Agregue una segunda curva de acumulación de especies pero esta vez construida invirtiendo el orden de los muestreos (i.e., donde el primer muestreo a considerar sea el último). Repita lo mismo pero ordenando los muestreos en función del número de especies detectadas: una curva donde el primer muestreo sea el que tuvo más especies (i.e., ordenados de mayor a menor) y otra curva al revés (el muestreo 1 es el que tuvo menos especies).

- ¿Son iguales las curvas de acumulación? (piense que fueron obtenidas con el mismo esfuerzo, ¡y que son los mismos datos!). ¿Todas brindan la misma información de riqueza asíntótica y de esfuerzo óptimo que determinó antes? ¿Cuántas curvas de acumulación distintas podría construir con los mismos datos?
- ¿Cuál cree que es la curva de acumulación “correcta” para caracterizar a este sitio (o, lo que es lo mismo, el ordenamiento “correcto” de los muestreos)? Si no es una de las que ya obtuvo, ¿cómo la construiría (con esos mismos datos)?

Aproximación analítica:

(uso de *EstimateS* para cuantificar biodiversidad)

Abrir *EstimateS*

Si es la primera vez que abre el programa, éste le solicitará que seleccione un “data file”. Elija el archivo “Statistics.4DD” (Windows) o “Statistics.data” (Mac OS). De esta manera especificará cómo será el archivo de salida de los datos. **No intente cargar su base de datos en ese momento.**

Cargar la base de datos a usar

Del menú “File” elija la opción “Load Input File”. Siga las instrucciones de la pantalla para especificar el tipo de formato de la base de datos a cargar. Recuerde que el archivo a cargar debe estar en formato “.txt”, delimitado por tabulaciones.

Estimar la riqueza de especies

Del menú “Diversity” elija la opción “Diversity Settings”. Luego especifique los parámetros: en la pestaña “Randomization”, elija la opción “sample without replacement” (muestreo sin reposición). Corra el análisis haciendo click en “Compute”.

Exportar datos

En la ventana de resultados, haga click en “export” y guarde los resultados. Por defecto, los resultados se guardarán en un archivo de texto, pero para mayor comodidad cambie la extensión del archivo “.xls” para que tenga el formato de una hoja de cálculo (**NOTA:** Una vez que los datos han sido exportados puede volver a entrar en “Diversity Settings” para reanalizar los datos con parámetros diferentes). En el archivo de resultados, la primera columna muestra el número acumulado de muestras y la segunda el número promedio de individuos por cada número de muestra. La columna “Individuals” es la que se debe usar para graficar la

curva de acumulación de especies. La tercera columna son los valores de la función de riqueza observada (“Sobs”), llamada “Mao Tau”, calculada según Colwell et al. (2004).

(4) Grafique la curva de rarefacción basada en los individuos (“Individuals” vs. “Sobs (Mao Tau)”) para los muestreos cerca de cuerpos de agua. Puede agregarle los intervalos de confianza (“Sobs 95% CI Lower/Upper Bound”).

- ¿Por qué le parece que se usa la columna de individuos y no la de muestras acumuladas para generar las curvas de acumulación de especies?
- ¿Qué diferencias encuentra entre esta curva y las anteriores? ¿A qué cree que se deben esas diferencias?

(5) Cargue los datos para los muestreos lejos de cuerpos de agua y corra el programa eligiendo los mismos parámetros que usó para el primer conjunto de datos. Grafique la nueva curva de rarefacción de especies. Junte las curvas de ambos sitios (cerca y lejos del agua) en un mismo gráfico y compárelas. Trace una línea vertical en el número de muestreo máximo del sitio con menor esfuerzo de muestreo y registre el valor de riqueza (eje y) en el que corta la curva del otro sitio. Esto es “rarificar”: intrapolar la riqueza al mayor número común de muestreos.

- ¿Cuál de los dos sitios presenta menor cantidad de individuos? Cuando los comparamos a este número de individuos, ¿cuál tiene mayor riqueza de especies? ¿Se superponen los intervalos de confianza?
- ¿Cuál es el máximo valor de riqueza observada en cada sitio? ¿Cree que sería adecuado usar el número máximo de especies observadas en cada sitio para compararlos? ¿Por qué?

(6) Grafique el número de individuos vs. la riqueza observada de especies y los diferentes estimadores disponibles en *EstimateS* (ver Tabla 1).

NOTA: para obtener intervalos de confianza válidos para los estimadores de riqueza que proporciona *EstimateS* deberá volver a correr el programa, pero cambiando algunos parámetros. Vuelva al menú “Diversity” y elija la opción “Diversity Settings”. En la pestaña “Randomization”, especifique 100 corridas (“runs”) y elija la opción “sample with replacement” (muestreo con reposición). En la pestaña “Estimators” elija la fórmula clásica para Chao1 y Chao2 (“classic formula for Chao1 & Chao2”) y especifique el límite para las especies raras o infrecuentes en 10. Corra el análisis haciendo click en “Compute”. Debe notarse que el archivo de resultados solo incluye los valores del IC para Chao1 y Chao2. Para el resto de los estimadores se puede calcular a partir de los valores del desvío estándar (SD). Recordar que $IC = \text{promedio} \pm SD * 1.96$.

- ¿Cuáles estimadores se estabilizan más rápido? ¿Cuáles son los más conservativos (i.e., más cercanos a la riqueza de especies observada) y cuáles producen las estimaciones más altas?
- Observe el comportamiento de los estimadores a números bajos de individuos. ¿Cuáles estimadores sobrepasan rápidamente la riqueza de especies observada y cuáles son más estables?

(7) Estime los índices de diversidad disponibles en *EstimateS*. Para ello, vuelva al menú “Diversity” y elija la opción “Diversity Settings”. En la pestaña “Other options”, marque la opción “Compute Fisher’s alpha, Shannon & Simpson indexes”. Asegúrese de marcar “Sampling with replacement” en la pestaña “Randomization”. Corra el análisis haciendo click en “Compute”. Grafique los tres índices de diversidad en función del número de individuos muestreados.

- ¿Cuán sensibles son los índices de diversidad a la intensidad de muestreo?
- ¿Cuál de los dos sitios es el más diverso?

TABLA 1. Índices de riqueza que pueden calcularse en *EstimateS*

Índices	Referencias
Chao 1. Basado en el número de especies en una muestra que están representados por 1 individuo (<i>singletons</i>) o por 2 individuos (<i>doubletons</i>). Es un estimador basado en la abundancia.	Chao (1984)
Chao 2. Basado en las especies que aparecen solo en 1 muestra (<i>uniques</i>) o en 2 muestras (<i>duplicates</i>). Es un estimador basado en la incidencia.	Chao (1984, 1987)
ACE (Abundance-based Coverage Estimator of species richness). Basado en el número de individuos de las especies “raras”. El nivel de abundancia para el cual una especie se considera “rara” debe ser definido por el investigador (se suele recomendar usar 10 como valor umbral).	Chao et al. (2000), Chazdon et al. (1998)
ICE (Incidence-based Coverage Estimator of species richness). Basado en el número de incidencias (ocurrencias) de las especies “infrecuentes”. El nivel de incidencia para el cual una especie se considera “infrecuente” debe ser definido por el investigador (se suele recomendar usar 10 como valor umbral).	Chao et al. (2000), Chazdon et al. (1998)
Jack 1. Estimador de Riqueza Jackknife de primer orden. Tiene en cuenta a las especies que aparecen solo en 1 muestra (<i>uniques</i>), pero pesadas por el número total de muestras.	Burnham & Overton (1978, 1979), Smith & van Belle (1984), Heltshe & Forrester (1983)
Jack 2. Estimador de Riqueza Jackknife de segundo orden. Tiene en cuenta a las especies que aparecen solo en 1 muestra (<i>uniques</i>) y en 2 muestras (<i>doubles</i>), ambos pesados por el número total de muestras.	Burnham & Overton (1978, 1979), Smith & van Belle (1984), Palmer (1991)
Bootstrap. Tiene en cuenta la probabilidad de que una especie sea muestreada a medida que aumenta el número de muestras.	Smith & van Belle (1984)
MMRuns. Estimador de riqueza de Michaelis-Menten promediado. Basado en el valor de la asíntota de la curva de acumulación de especies, promediado entre todas las aleatorizaciones.	Raaijmakers (1987)
MMMeans. Estimador promedio de riqueza de Michaelis-Menten. Basado en el valor de la asíntota de la curva de acumulación de especies analítica de Mao Tau. No requiere aleatorizaciones.	Raaijmakers (1987), Colwell et al. (2004)

BIBLIOGRAFÍA

BURNHAM KP & OVERTON WS (1978) Estimation of the size of a closed population when capture probabilities vary among animals. *Biometrika* 65:623-633

BURNHAM KP & OVERTON WS (1979) Robust estimation of population size when capture probabilities vary among animals. *Ecology* 60:927-936

CHAO A (1984) Non-parametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics* 11:265-270

CHAO A (1987) Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. *Biometrics* 43:783-791

CHAO A, HWANG W-H, CHEN Y-C & KUO C-Y (2000) Estimating the number of shared species in two communities. *Statistica Sinica* 10:227-246

CHAZDON RL, COLWELL RK, DENSLOW JS & GUARIGUATA MR (1998) Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forests of NE Costa Rica. Pp. 285-309 en: DALLMEIER F & COMISKEY JA (eds) *Forest biodiversity research, monitoring and modeling: conceptual background and Old World case studies*. Parthenon Publishing, París

COLWELL RK (2006) *EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples (software and user's guide)*. Versión 8.0. URL: <http://purl.oclc.org/estimates/>

COLWELL RK & CODDINGTON A (1994) Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 345:101-118

COLWELL RK, MAO CX & CHANG J (2004) Interpolating, extrapolating, and comparing incidence-based species accumulation curves. *Ecology* 85:2717-2727

GOTELLI NJ & COLWELL RK (2001) Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* 4:379-391

GOTELLI NJ & ENTSMINGER GL (2006) *EcoSim: null models software for ecology*. Versión 7. URL: <http://garyentsminger.com/ecosim/index.htm>

PALMER MW (1991) Estimating species richness: the second-order jackknife reconsidered. *Ecology* 72:1512-1513

RAAIJMAKERS JGW (1987) Statistical analysis of the Michaelis-Menten equation. *Biometrics* 43:793-803

SMITH EP & VAN BELLE G (1984) Nonparametric estimation of species richness. *Biometrics* 40:119-129

SOBERÓN J & LLORENTE J (1993) The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. *Conservation Biology* 7:480-488