

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

DEPARTAMENTO DE ESTADÍSTICA



**Análisis de los efectos de *Cytisus multiflorus* en
la emergencia y supervivencia de las plántulas
procedentes de bellotas de dos especies
contrastadas de *Quercus*, y de los mecanismos
implicados**

ROBERTO DÍAZ HERNÁNDEZ

2022

**Análisis de los efectos de *Cytisus multiflorus* en
la emergencia y supervivencia de las plántulas
procedentes de bellotas de dos especies
contrastadas de *Quercus*, y de los mecanismos
implicados**

Memoria que, para optar al Grado de Doctor
por el Departamento de Estadística de la
Universidad de Salamanca, presenta:

Roberto Díaz Hernández

Salamanca

2022

AGRADECIMIENTOS

No podría comenzar este apartado de otra manera más que agradeciendo de mi manera más sincera y profunda a mis directores de tesis, José Luis Vicente Villardón y Belén Fernández Santos, por este proyecto que hemos investigado durante todos estos años. Gracias por esas charlas a lo largo del tiempo mediante las cuales he aprendido mucho y poco a poco hemos ido rompiendo la barrera de lo profesional.

A Dani y Mario, por la larga amistad que hemos conservado y que ha aguantado pese a todos estos años en los que hemos estado separados.

A Santi, por ese año que vivimos juntos y esas (escasas) excursiones que compartimos. Ya habrá más.

A Álvaro, por esa amistad que no esperaba encontrar y esos dos años maravillosos que, por pura casualidad, vivimos juntos. A ver si acabamos encontrándonos de nuevo en Badajoz.

A Samuel y Laura, que estar encerrado con vosotros en el confinamiento fue una bendición. Espero que ocurra en el futuro otro viaje por ahí, esta vez de verdad.

A Adri, que conecté contigo enseguida. Se te echa muchísimo de menos con los kilómetros que te has alejado. Desearía que en un futuro decidieses escapar de Suecia y volver a un clima más templado, pero se te ve muy a gusto allí.

A Vicenta y José, por haberme metido en la familia en seguida. Sin vosotros, vuestro cariño y vuestra ayuda, no me habría dado tiempo a llegar aquí.

A Pepe y Mariví, que cuidaron de mí en mi peor momento. Siempre deseo volver a Canarias para tener una de esas conversaciones tan provechosas. Que sean más.

A Carmen, mi segunda madre para mí. Ojalá estuviese más tiempo allí para ir más veces a la crepería. Has sido un pilar mucho más importante en mi vida de lo que probablemente creas, titir.

A Gorka, que aunque no tengamos el mismo apellido, lo considero como un hermano.

A mi padre, por esos pequeños momentos que ya no tendremos. Fue tu cumpleaños hace poco. Ojalá hubiesen sido más.

A mi madre, que aunque no lo sepa es de las personas más sabias que conozco. Sin tus consejos y lecciones no sería la persona que soy ahora.

Al resto de la familia, pues habría muchas más personas a las que agradecer que no caben aquí, pues haría falta la longitud de otra tesis para ello. Agradezco todos los días haber nacido en esta familia.

Y, por último, a Blanca. Es imposible decir en unas palabras lo mucho que te debo. Si antes haría falta una tesis, ahora haría falta una serie de novelas. Has sido la persona que más me ha aguantado en estos momentos difíciles, la que ha estado continuamente a mi lado, la que ha soportado mi encierro en mí mismo, la que me ha mantenido a flote y la que ha hecho que conserve la cordura. Sin ti, nada de lo que he conseguido sería posible. Haré todo lo que esté en mi mano para mostrarte mi infinito agradecimiento en los años venideros, agradecimiento que, por desgracia, no he mostrado hasta ahora tanto como me gustaría. Te prometo que ya no será así.

Índice General

AGRADECIMIENTOS	5
CAPÍTULO 1 – INTRODUCCIÓN	13
1.- LOS BOSQUES MEDITERRANEOS	14
1.1.- Características de los Bosques Mediterráneos.....	14
1.2.- Impacto humano sobre los Bosques Mediterráneos	15
2.- LOS SISTEMAS ADEHESADOS	17
3.- LA REGENERACIÓN DE LOS <i>QUERCUS</i> MEDITERRÁNEOS	19
3.1.- Fase de establecimiento o post-dispersiva: limitaciones por factores externos	20
3.2.- Importancia de las características intrínsecas para el establecimiento: Peso de la semilla.....	22
3.3.- Necesidad de aplicar los conocimientos sobre regeneración natural a la restauración y gestión forestal.....	23
4.- SÍNTESIS.....	24
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS ECOLÓGICOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	27
1.- OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS.....	28
2.- ESPECIES ESTUDIADAS	29
3.- ÁREA DE ESTUDIO	32
4.- DISEÑO EXPERIMENTAL Y MÉTODOS ECOLÓGICOS	34
CAPÍTULO 3 - ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	39
1.- ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA)	40
1.1.- ANOVA de una vía para datos independientes	41
1.2.- ANOVA de múltiples vías	47
1.3.- ANOVA de medidas repetidas	50

2.- ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	53
3.- ANÁLISIS DE COORDENADAS PRINCIPALES	59
4.- MÉTODOS BILOT	67
4.1.- Descomposición en Valores Singulares.....	68
4.2.- Construcción del Biplot a partir de la SVD (GSVD)	69
4.3.- Propiedades y tipos de Biplots.....	72
4.3.1.- El GH-Biplot.....	72
4.3.2.- El JK-Biplot	73
4.3.3.- HJ-Biplot.....	74
4.3.4.- Biplot Logístico Externo.....	75
4.3.5.- Manova Biplot/Biplot Canonico.....	79
5.- ANALISIS KAPLAN MEIER.....	82
6.- TEST DE LOG-RANK.....	85
7.- MODELO DE COX.....	87
8.- ANÁLISIS DE SERIES TEMPORALES	89
8.1.- Introducción al análisis de series temporales.....	89
8.2.- Componentes de una serie de tiempo	90
8.3.- Patrones estacionales múltiples	91
8.4.- Método de las medias móviles.....	94
CAPÍTULO 4 - ANÁLISIS DE LA EMERGENCIA DE LAS PLÁNTULAS	
DE QUERCUS	97
1.- METODOLOGÍA	98
2.- RESULTADOS.....	99
2.1.- Emergencia al final del período de estudio.....	99
2.2.- Emergencia a través del tiempo	102
2.3.- Análisis Multivariante.....	106
2.3.1.- Regresiones y Biplot Logísticos	106
2.3.2.- Biplot Canónicos.....	111

3.- DISCUSIÓN	117
CAPÍTULO 5 - ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA DE LAS PLÁNTULAS	
DE QUERCUS	125
1.- METODOLOGÍA	126
2.- RESULTADOS.....	128
2.1.- Supervivencia durante todo el periodo de estudio.....	128
2.2.- Supervivencia en fechas concretas	136
3.- DISCUSIÓN	144
CAPÍTULO 6 - ANÁLISIS TEMPORAL DEL EFECTO DE CYTISUS	
MULTIFLORUS SOBRE LAS VARIABLES AMBIENTALES	153
1.- METODOLOGÍA	154
2.- RESULTADOS.....	155
2.1- Análisis de los sensores de 2011 a 2014.....	155
2.1.1.- Análisis de serie temporal de las variables ambientales fuera y dentro del	
matorral	155
2.1.1.1.- Análisis de la temperatura.....	156
2.1.1.2.- Análisis de la humedad relativa.....	158
2.1.1.3.- Análisis de la radiación	160
2.1.1.4.- Análisis de la cantidad de agua en el suelo.....	162
2.1.2.-Análisis de las diferencias de las variables ambientales.....	164
2.1.2.1.-Análisis de la temperatura.....	164
2.1.2.2.- Análisis de la humedad relativa.....	167
2.1.2.3.- Análisis de la radiación	170
2.1.2.4.- Análisis de la cantidad de agua en el suelo.....	174
2.2.- Análisis de los sensores de abril de 2011 a octubre de 2011	177
2.2.1.- Análisis de serie temporal de las variables ambientales fuera y dentro del	
matorral	178
2.2.1.1.- Análisis de la temperatura.....	178

2.2.1.2.- <i>Análisis de la humedad relativa</i>	180
2.2.1.3.- <i>Análisis de la radiación</i>	182
2.2.1.4.- <i>Análisis de la cantidad de agua en el suelo</i>	184
2.2.2.- <i>Análisis multivariante de las variables ambientales</i>	186
2.2.3.- <i>Análisis de las diferencias de las variables ambientales</i>	188
2.2.3.1.- <i>Análisis de la temperatura</i>	188
2.2.3.2.- <i>Análisis de la humedad relativa</i>	191
2.2.3.3.- <i>Análisis de la radiación</i>	194
2.2.3.4.- <i>Análisis de la cantidad de agua en el suelo</i>	197
2.2.4.- <i>Análisis multivariante de las variables ambientales</i>	200
2.3.- <i>Análisis horario de los sensores de abril de 2011 a octubre de 2011</i>	202
2.3.1.- <i>Análisis de la temperatura</i>	203
2.3.1.1.- <i>Análisis exploratorio por horas</i>	203
2.3.1.2.- <i>Biplot de las temperaturas medias</i>	204
2.3.1.3.- <i>Biplot de las diferencias</i>	205
2.3.2.- <i>Análisis de la humedad relativa</i>	206
2.3.2.1.- <i>Análisis exploratorio por horas</i>	206
2.3.2.2.- <i>Biplot de las humedades relativas medias</i>	207
2.3.2.3.- <i>Biplot de las diferencias</i>	208
2.3.3.- <i>Análisis de la radiación</i>	209
2.3.3.1.- <i>Análisis exploratorio por horas</i>	209
2.3.3.2.- <i>Biplot de las radiaciones medias</i>	210
2.3.3.3.- <i>Biplot de las diferencias</i>	212
2.3.4.- <i>Análisis de la cantidad de agua en el suelo</i>	213
2.3.4.1.- <i>Análisis exploratorio por horas</i>	213
2.3.4.2.- <i>Biplot de las cantidades de agua medias</i>	213
2.3.4.3.- <i>Biplot de las diferencias</i>	215
3.- <i>DISCUSIÓN</i>	216

CAPÍTULO 7 - CONCLUSIONES	225
BIBLIOGRAFÍA	229
APÉNDICE A. ARTÍCULO ENVIADO A “FORESTS”	269
APENDICE B. POSTER. XV CONGRESO NACIONAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE ECOLOGÍA TERRESTRE	301



Capítulo 1

Introducción

1.- LOS BOSQUES MEDITERRANEOS

1.1.- Características de los Bosques Mediterráneos

El bioma mediterráneo contiene cerca del 20% de la diversidad vegetal mundial ocupando sólo el 2% de la superficie del mundo, siendo el clima con una mayor biodiversidad a excepción de las regiones tropicales (Fady y Médail, 2004). Los bosques mediterráneos se caracterizan, comparados con los bosques templados o boreales, por su complejidad espacial y temporal; así como por su heterogeneidad, no sólo en términos físicos (como la geografía, geología, bioclima, etc), pero también en términos de sus componentes biológicos y atributos: composición florística y faunística, riqueza y orígenes biogeográficos, representando el 1.8% del área mundial boscosa (Cagri y Mooney, 1973). Asimismo, los ecosistemas mediterráneos se caracterizan por la escasez e irregularidad de la lluvia además del hecho de que la evapotranspiración es mayor que las precipitaciones en el periodo en el que las temperaturas son más altas. La originalidad del clima Mediterráneo, que consiste en una transición entre los climas templados y secos tropicales, reside en la existencia de un periodo de verano seco y caluroso de duración variable, que impone un estrés hídrico en la vegetación en la estación de crecimiento y es el principal condicionante de la distribución de las especies arbóreas mediterráneas; aunque en esta distribución también influyen eventos irregulares, como temperaturas muy frías en la primavera tardía (Fady y Médail, 2004).

En los estudios ecológicos y ecofisiológicos comparativos se ha señalado que las comunidades vegetales en las regiones mediterráneas del mundo muestran estrategias similares para resistir el estrés hídrico, así como las perturbaciones naturales y humanas. Una estrategia muy común y extendida de adaptación de especies arbóreas y arbustivas a largos tiempos de sequía y calor es la esclerofilia, presencia de hojas duras y pequeñas, como las de *Quercus ilex*, y también sistemas

radicales complejos, tolerancia celular a la baja cantidad de agua o una alta producción de compuestos secundarios (Cagri y Mooney, 1973). Ahora bien, en las zonas mediterráneas con menor deficiencia en agua es frecuente la presencia de especies más mesófilas, como *Quercus pyrenaica*.

1.2.- Impacto humano sobre los Bosques Mediterráneos

Aunque el impacto humano puede haber ocurrido ya cuando las personas vivían como cazadores-recolectores, por ejemplo, mediante el aumento de la dispersión de semillas a través de las migraciones estacionales, esto se convirtió en algo realmente importante para los bosques mediterráneos con la llegada de la domesticación, hace unos 10.000 años en Oriente Próximo. Debido a la necesidad cada vez mayor de tierra cultivable para el cultivo y pastoreo, la superficie de los bosques disminuyó a lo largo de los siglos. La madera también se utilizaba entonces a gran escala para la construcción naval, la carpintería y muchos ámbitos de la vida social humana. A finales del siglo XIX, tras la Revolución Industrial, el bosque mediterráneo había perdido tres cuartas partes de su superficie post-glacial inicial. Las consecuencias de este impacto milenario han afectado tanto a sus estructuras de la vegetación como a su biodiversidad (Fady y Médail, 2004).

Se calcula que la reducción neta de la cubierta forestal y de los bosques en el mundo ha sido de 5,3 millones de hectáreas al año, sobre todo como resultado del aumento de la población humana y de la agricultura (Nias y Mooney, 2007). Las tendencias de la deforestación y los cambios netos en la superficie forestal varían según las regiones, aunque hay muchos puntos en común entre ellas. La pérdida a gran escala de los ecosistemas resultante de la influencia humana ha sido más evidente en la conversión de los fértiles bosques templados en tierras de cultivo y pastos.

Los bosques mediterráneos han perdido gran parte de su estado natural como consecuencia de la tala excesiva, los incendios y el sobrepastoreo del

ganado, especialmente el ganado caprino (Nias y Mooney, 2007). La agricultura tradicional y el pastoreo tradicionales han disminuido desde mediados del siglo XX en alturas medias y bajas en el norte del Mediterráneo. Esto ha provocado un aumento drástico de la cubierta forestal y un cambio en su composición (Fady y Médail, 2004).

El impacto humano en los ecosistemas forestales puede modificar significativamente todos los procesos naturales que regulan la biodiversidad a nivel de poblaciones, especies y ecosistemas. Según Fady y Médail (2004), se pueden reconocer tres categorías de impactos humanos:

A. **Destrucción y fragmentación del hábitat:** Tradicionalmente, el impacto más duradero sobre los bosques a lo largo del tiempo en relación con los asentamientos humanos, ha sido la destrucción del hábitat impulsada por la agricultura y el pastoreo, las guerras y actividades industriales; y se ha llevado a cabo con herramientas como los incendios forestales y la tala de árboles. Esto ha provocado la desaparición de especies, así como el aislamiento de aquellas que han permanecido.

B. **Introducción de especies:** Los recursos genéticos forestales exóticos han sido a menudo transportados por el ser humano a lo largo de la historia porque constituían un suministro potencial de alimentos (por ejemplo, *Pinus pinea*, *Olea europaea*), tenían un valor paisajístico o religioso (*Cupressus sempervirens*), o eran capaces de detener los procesos de degradación y producir más madera que el recurso local. Algunas de estas especies se han naturalizado, aumentando así la biodiversidad a nivel local. Sin embargo, los riesgos fitosanitarios son elevados en estos bosques artificiales, ya que suelen carecer de una estructura biológicamente funcional.

C. **Práctica forestal:** estudios recientes indican que la reforestación reduce la diversidad genética debido a la selección del material vegetal en el vivero. Cuando se prepara un rodal para la regeneración natural, se elimina una parte importante de los árboles sexualmente maduros y, por tanto, se elimina parte de la diversidad genética de la población original, lo que puede perturbar los sistemas de apareamiento, aumentar el apareamiento consanguíneo y la deriva genética y afectar al valor selectivo del futuro rodal.

Por todo ello, el paisaje que se observa actualmente es un mosaico de bosques intercalados entre matorrales, pastizales, cultivos agrícolas y formaciones adehesadas (Costa *et al.*, 1997; Terradas, 1999). A estas alteraciones antropogénicas se unen las características propias del clima mediterráneo: fuerte sequía coincidente con el periodo de máximas temperaturas, suelos pobres en nutrientes y presencia de elementos perturbadores como la herbivoría y el fuego (Baraza *et al.*, 2006; Lionello *et al.*, 2006).

2.- LOS SISTEMAS ADEHESADOS

Los sistemas agroforestales han influido en el paisaje de la cuenca mediterránea durante muchos siglos. A pesar de las diferentes condiciones ecológicas, económicas y sociales existentes en estas zonas, se pueden distinguir algunas características comunes a todos estos sistemas. En primer lugar, se puede identificar la profunda influencia de la historia rural en la configuración del paisaje y en la vegetación de la región mediterránea. La segunda característica fundamental de estos sistemas es que tienen una gran capacidad de adaptación a las condiciones naturales y de superar la imprevisibilidad debido al hecho de que tengan que enfrentarse a la variabilidad del clima mediterráneo. Es decir, adoptan diferentes estrategias de uso de los recursos vegetales correspondientes a las principales formas de crecimiento (Cubera y Moreno, 2007).

Muchos bosques de quercíneas de todo el mundo han sido transformados por la ganadería, dando lugar a paisajes similares a los de la sabana (McCreary, 2004; Bergmeier *et al.*, 2010), con una matriz de pastos predominante de robles y matorrales aislados. Estos paisajes tienen una alta diversidad biológica que se asocia con una alta diversidad estructural (Beniston *et al.*, 1997; Rolo *et al.*, 2013), donde los robles son esenciales para el mantenimiento de los servicios del ecosistema (Marañón *et al.*, 2009). El mayor ejemplo de este paisaje en Europa es un sistema agroforestal muy peculiar: el sistema adehesado del suroeste de la Península Ibérica (Joffre *et al.*, 1988; San Miguel, 1994; Gómez Gutiérrez y Pérez Fernández, 1996), que abarca casi 3,5 millones de hectáreas (Plieninger y Bieling, 2013).



Figura 1.- Cerdos en un sistema adehesado ibérico. Tomada de <https://www.moniberic.com/blog/wp-content/uploads/1219large.jpg>

En las formaciones adehesadas están presentes árboles del género *Quercus* con un estrato inferior de pastizales o matorrales (figura 1). Además, se distinguen por la presencia de un estrato arbóreo abierto de tipo sabana, de árboles dispersos, dominados principalmente por encinas mediterráneas de hoja perenne, como *Quercus ilex* subsp. *ballota* Samp (encina), *Q. suber* L. (alcornoque), o en menor medida las marcescentes como *Q. faginea* Lam. (quejigo) y marcescente/caducifolias como *Quercus pyrenaica* Willd (roble melojo) (Cubera

y Moreno, 2007), que ocupan más de 5.800.000 hectáreas en las provincias occidentales y suroccidentales de España, representando el 52% del total de la superficie agraria utilizada dentro de estas provincias (Campos Palacín, 1992) y más de 500.000 hectáreas en el sur de Portugal.

Estas formaciones adehesadas con su estructura de dos capas, una arbórea y otra herbácea, depende de las prácticas humanas. No obstante, existen algunas características como la densidad de los árboles, que parecen estar parcialmente controladas por los recursos edáficos y climáticos. Los estudios que se han llevado a cabo en sistemas silvopastorales para determinar la estructura de estratos herbáceos y arbóreos, se han centrado en la importancia del agua disponible (Joffre *et al.*, 1999).

Se ha visto que la estructura de estas formaciones adehesadas sigue un equilibrio ecohidrológico, dando lugar a una densidad de follaje que produce el mínimo estrés hídrico y, a su vez, la máxima biomasa (Cubera y Moreno, 2007). Es decir, al producirse una marcada estacionalidad en la disponibilidad del agua, una formación mixta de herbáceas y plantas leñosas es el único estado de equilibrio estable. En una de estas formaciones adehesadas se realizó nuestro experimento.

3.- LA REGENERACIÓN DE LOS *QUERCUS* MEDITERRÁNEOS

La regeneración consiste en un proceso dinámico mediante el cual se reclutan nuevos individuos en la población de adultos, compensando las pérdidas de mortalidad natural (Harper, 1977). Este reclutamiento se produce gracias a la floración, producción y dispersión de frutos, germinación, emergencia y establecimiento de plántulas, crecimiento y reclutamiento de adultos (Clark *et al.*, 1999; Pulido, 2002) (fig. 2). La vegetación mediterránea, especialmente las

especies de crecimiento lento como *Quercus* (Villar *et al.*, 2008), ven su regeneración fuertemente condicionada en todas sus fases (Jordano *et al.*, 2008). Las tres fases donde son más importante las limitaciones son la producción de semillas, la dispersión de estas y el establecimiento de las plántulas (Jordano *et al.*, 2008), entendiendo este establecimiento por el momento en el que la supervivencia de los nuevos individuos reclutados se estabiliza, lo cual ocurre en el mediterráneo al final del primer o segundo verano después de la emergencia (Jordano *et al.*, 2008).

3.1.- Fase de establecimiento o post-dispersiva: limitaciones por factores externos

La depredación de las bellotas dispersadas condiciona fuertemente el reclutamiento de las especies de *Quercus* (Pérez-Ramos y Marañón, 2008), siendo la etapa de establecimiento clave en este reclutamiento. En los bosques mediterráneos, los consumidores más habituales de las bellotas son los ungulados silvestres, jabalíes, micromamíferos y aves. La posibilidad de escapar a la depredación cambia en función de su posición en el espacio, así como por las características propias de la bellota, como el tamaño o la especie a la que pertenece (Gómez, 2004; Pons y Pausas, 2007).

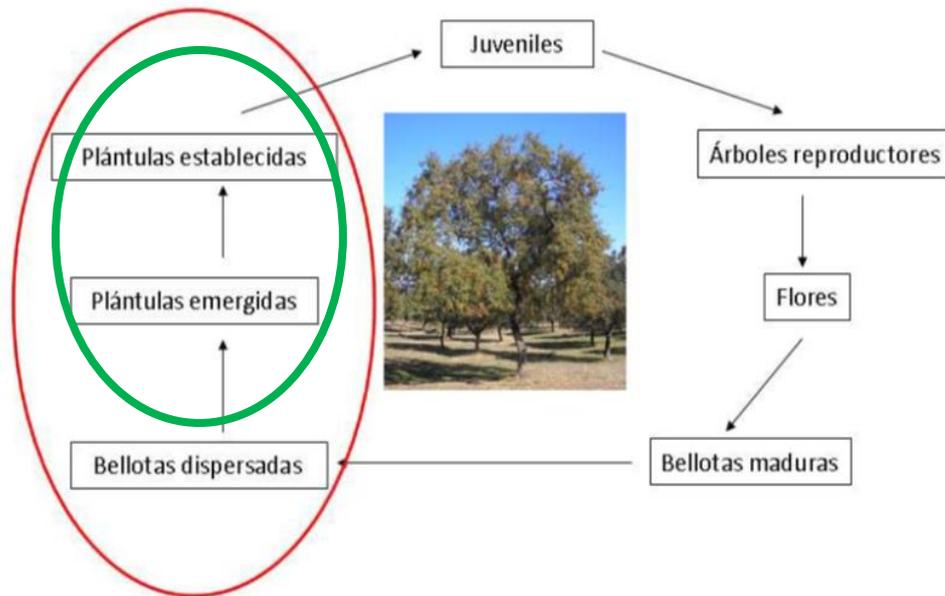


Figura 2. Esquema de las fases en la regeneración. El círculo rojo rodea las fases de establecimiento o post- dispersivas, normalmente la más conflictivas. (Jordano *et al.*, 2008; Rodríguez-González, 2010). El círculo verde rodea las fases estudiadas en esta Tesis.

Como las semillas y plántulas recién emergidas son más vulnerables al estrés abiótico, otras fases críticas en el establecimiento son la emergencia, crecimiento y supervivencia tras el primer verano (Grubb, 1977; Harper, 1977; Kitajima y Fenner, 2000). La disponibilidad de los recursos abióticos como la luz, el agua y los nutrientes, puede variar en pocos metros (Gallardo *et al.*, 2000; Gallardo, 2003; Gómez *et al.*, 2003; Quero, 2006). Estos factores están relacionados entre sí de forma compleja (Sack y Grubb, 2002; Gallardo, 2003; Marañón *et al.*, 2004), condicionando el establecimiento de las plántulas en micrositios con condiciones diferentes. Esto puede influir en la composición de los ecosistemas (Terradas, 2001; Maestre *et al.*, 2006).

Además, hay que resaltar que en una fase del establecimiento las condiciones de un micrositio pueden ser favorables, mientras que para otra pueden ser limitantes. Algunos matorrales pueden competir con las plántulas por la luz y nutrientes, mientras que otras proporcionan efectos facilitadores (Castro *et al.*, 2002; Gómez-Aparicio *et al.*, 2004). Se han identificado los hábitats bajo árboles o matorrales altos, debido a las condiciones intermedias de sombra, como importantes nichos de regeneración para *Q. ilex* (Gómez, 2004; Acacio *et al.*, 2007; Puerta-Piñero *et al.*, 2007).

A esta heterogeneidad espacial se añade la variabilidad temporal de recursos y condiciones ambientales, que es de gran importancia en el establecimiento, debido a la influencia en el patrón de reclutamiento de nuevos individuos (Paynter *et al.*, 1998; Castro *et al.*, 2004; Quero, 2006; Herrero *et al.*, 2008), sobretodo en climas donde el agua es un recurso muy limitante, como en climas mediterráneos y semi-áridos (Milton, 1995; Puerta-Piñero *et al.*, 2006).

3.2.- Importancia de las características intrínsecas para el establecimiento: Peso de la semilla

Las características intrínsecas de las semillas, como el tamaño, también pueden influir en las posibilidades exitosas de transición entre unas fases y otras. Una bellota de mayor tamaño tiene más reservas disponibles en las primeras fases de su vida, pudiendo tener consecuencias tanto durante la fase de emergencia como de supervivencia y establecimiento (Vázquez, 1998; Gómez, 2004; Moles y Westoby, 2004; Baraloto *et al.*, 2005; Urbietta *et al.*, 2008), sobre todo en zonas de sombra intensa (Leishman y Westoby, 1994; Saverimuttu y Westoby, 1996) o en suelos pobres en nutrientes (Milberg y Lamont, 1997).

En función de la especie de *Quercus*, el peso de las semillas cambia (Vázquez, 1998; Bonner, 2003, Ramírez-Valiente *et al.*, 2009). Sin embargo,

existe también una gran variabilidad a nivel intraespecífico, de manera que individuos de la misma población pueden desarrollar bellotas de mayor o menor tamaño (Ramírez y Gómez, 1982; Ducouso *et al.*, 1993; Bonfil, 1998; Gómez, 2004). Se han apreciado diferencias en el porcentaje de humedad, la composición química, o tasas de germinación de bellotas de la misma especie (Tilki y Alptekin, 2005; Fernández-Rebollo *et al.*, 2008), reflejándose también esta variabilidad en otros caracteres morfológicos o fisiológicos de las plántulas (Leiva y Fernández-Alés, 1998; Bruschi *et al.*, 2003; González-Rodríguez y Oyama, 2005; López de Heredia y Gil, 2006; Sánchez-Vilas y Retuerto, 2007).

3.3.- Necesidad de aplicar los conocimientos sobre regeneración natural a la restauración y gestión forestal.

El estudio de la regeneración natural debería ayudar a ofrecer pautas para una adecuada gestión de la vegetación (González-Rodríguez, 2010). De hecho, a partir del conocimiento generado en los últimos años, aspectos como la biodiversidad o la conectividad de los ecosistemas se han comenzado a tener en cuenta en las políticas de gestión ambiental (Noss, 1990; Franklin, 1993).

Según algunos autores, la comunidad vegetal de la Península Ibérica ha reducido la capacidad de recuperarse por sí sola (Costa, 2006; Acacio *et al.*, 2007) y, por tanto, son necesarias actuaciones concretas de restauración. Ahora bien, debido a las bajas tasas de crecimiento y supervivencia de las especies de *Quercus*, sobre todo si las condiciones del primer periodo seco son muy estresantes, la reforestación con estas especies presenta muchas dificultades (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005).

Habitualmente en los proyectos de reforestación no se tiene en cuenta que las condiciones del medio puedan cambiar en pocos metros, condicionando el establecimiento de las especies, sino que se presta más atención a factores

relativos a la calidad de la planta o la procedencia de las semillas. El reconocimiento de la heterogeneidad espacial y temporal es especialmente importante en las actuaciones llevadas a cabo en las zonas con clima mediterráneo debido a la variabilidad del ambiente (Zamora, 2002; Valladares y Gianoli, 2007; González Rodríguez, 2010).

En conclusión, como señala González Rodríguez (2010) en su Tesis doctoral, la optimización de las acciones de restauración pasa por conocer mejor los procesos subyacentes a la regeneración natural, la búsqueda de técnicas de bajo coste e impacto ambiental y la consideración explícita de la heterogeneidad ambiental y temporal inherente a los ecosistemas.

4.- SÍNTESIS

Muchos bosques de *Quercus* de todo el mundo han sido transformados por la ganadería, dando lugar a paisajes tipo sabana (McCreary, 2004; Bergmeier *et al.*, 2010) con una matriz de pastos predominante salpicada de individuos de *Quercus* y matorrales aislados. Estos paisajes tienen una alta diversidad biológica que se asocia con una alta diversidad estructural (Beniston *et al.*, 1997), siendo los árboles del género *Quercus* esenciales para el mantenimiento de los servicios del ecosistema (Marañón *et al.*, 2009), aunque su regeneración suele ser muy difícil (Jordano *et al.*, 2008).

En las últimas décadas, varios estudios han concluido que las especies de matorral podrían desempeñar un papel en la regeneración de quercíneas (Beniston *et al.*, 1997; Gómez *et al.*, 2008; Pulido *et al.*, 2010; Madrigal-González *et al.*, 2014; Torroba-Balmori *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2017), probablemente porque la interacción positiva entre las leñosas domina sobre la competencia. Este balance positivo (facilitación) tiene lugar preferentemente en ambientes con un alto estrés abiótico o con una elevada presión de herbivoría (Bertness y Callaway, 1994;

Callaway, 1997; Callaway *et al.*, 2002). Entre los principales papeles del matorral se señala la protección frente a los herbívoros (Rousset y Lepart, 1999; García y Obeso, 2003; Baraza *et al.*, 2006), o la mejora de las condiciones abióticas, reduciendo el estrés hídrico (Plieninger y Bieling, 2013). Respecto a este último, se ha visto que algunas especies arbustivas modifican las características bajo su copa y forman “islas de fertilidad” (Pugnaire *et al.*, 1996a; 1996b), debido principalmente a alguno de los siguientes cambios: reducción de la elevada radiación solar incidente y disminución de las temperaturas altas (Moro *et al.*, 1997; López Pintor *et al.*, 2000), mejora de la disponibilidad hídrica (Joffre y Rambal, 1993; Tielborger y Kadman, 2000), aumento de la concentración de nutrientes (Pugnaire *et al.*, 1996a; Choler *et al.*, 2001), aumento de la porosidad del suelo (Pugnaire *et al.*, 1996a). Por ello, el abandono temporal y la posterior invasión por parte de los matorrales se han propuesto como herramientas útiles para mejorar el establecimiento de los árboles (Porta *et al.*, 2003).

Ahora bien, algunos estudios han informado de que no todos los matorrales pueden facilitar la regeneración, y que el resultado e intensidad de la interacción puede variar dependiendo, entre otros factores, de la especie de matorral (Maestre *et al.*, 2009; Rolo *et al.*, 2013) y de la tolerancia al estrés de la especie de *Quercus* (Maestre *et al.*, 2009; Madrigal-González *et al.*, 2014). *Cytisus multiflorus* (L'Her.) Sweet es una especie arbustiva endémica de la Península Ibérica, predominante en los sistemas adehesados mediterráneos que se encuentran en el centro oeste de la Península y en las que normalmente las especies arbóreas son *Quercus pyrenaica* Willd y *Quercus ilex* subsp. *ballota* Samp (Rivas-Martínez, 1987). El papel de *C. multiflorus* en el establecimiento de las especies de *Quercus* no es bien conocido (Madrigal-González *et al.*, 2014). Se vio un efecto positivo de esta especie de matorral en la supervivencia y crecimiento inicial de plántulas de *Quercus* en un experimento de plantación (Costa *et al.*, 2017). Sin embargo,

su efecto en la emergencia y supervivencia a partir de siembra de bellotas, así como posibles cambios microambientales, son desconocidos (no se han encontrado publicaciones previas). Por otro lado, también puede ser de interés analizar si el tamaño de las bellotas puede influir en la emergencia y en la supervivencia, porque el tamaño de las bellotas varía mucho tanto dentro de una misma especie como entre especies de *Quercus* (Quero *et al.*, 2007). La masa de la semilla determina los nutrientes que tendrá la plántula cuando germine, y pueden proporcionar ventajas durante las primeras etapas de la plántula en condiciones de sombra (Quero *et al.*, 2007). Además, las semillas grandes pueden conferir una ventaja competitiva porque permiten el acceso a recursos limitados, como el agua, los nutrientes o la luz, y promoverá una mayor supervivencia (Lloret *et al.*, 1999).

Por lo tanto, se planteó un experimento de campo para evaluar el efecto de *Cytisus multiflorus* (L'Her.) Sweet, el tamaño de las bellotas y el efecto de la exclusión de grandes herbívoros, en la emergencia y supervivencia de las plántulas a partir de la siembra de bellotas de dos especies contrastadas de *Quercus*, en zonas adehesadas donde coexisten de forma natural. En él, se ha intentado conocer el resultado de la interacción y también los mecanismos implicados.



Capítulo 2

Objetivos y diseño experimental

1.- OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS

El objetivo ecológico general es el estudio de los factores que condicionan el establecimiento de dos especies contrastadas del género *Quercus*, en zonas adhesionadas de coexistencia de ambas especies, en las que *Cytisus multiflorus* (L'Her.) Sweet es la especie de matorral dominante, y los mecanismos implicados.

En concreto se pretende evaluar :

1. el efecto del matorral (*Cytisus multiflorus*), de la exclusión de grandes herbívoros y el tamaño de las bellotas, en la emergencia de plántulas a partir de la siembra de bellotas de las dos especies de *Quercus*: encina (*Q. ilex* L. subsp *ballota* (Desf.) Samp.) y roble (*Q. pyrenaica* Willd.).
2. el efecto de esos mismos factores en la supervivencia de las plántulas emergidas a partir de bellotas, durante los primeros años.
3. los cambios ambientales que proporciona el matorral de *C. multiflorus*, en cuanto a temperatura, humedad relativa, radiación y cantidad de agua del suelo; y cuales pueden explicar mejor los resultados obtenidos en el establecimiento de las plántulas.

Para alcanzar estos objetivos se han realizado experimentos de manipulación en campo y los resultados se han organizado en la Tesis en los siguientes capítulos:

En el **capítulo 3** se estudia la fase de emergencia de plántulas a partir de la siembra de bellotas.

En el **capítulo 4** se exponen los resultados de la fase de supervivencia de las plántulas emergidas, durante los tres primeros años.

En el **capítulo 5** se analizan los cambios ambientales que proporciona el matorral de *C. multiflorus*, en cuanto a temperatura, humedad relativa, radiación

y cantidad de agua del suelo; y se relacionan con los resultados obtenidos en el establecimiento de las plántulas.

2.- ESPECIES ESTUDIADAS

Quercus ilex subsp. *ballota* Samp (esclerófilo; en adelante *Q. ilex*) (foto 1) y *Q. pyrenaica* Willd (marcescente) (foto 2) son dos especies de *Quercus* frecuentes en la Península Ibérica, cuya distribución se ha explicado tradicionalmente por las diferencias interespecíficas en su tolerancia a la sequía y la sombra (Pigott y Pigott, 1993; Valladares y Niinemets, 2008). Ambas son especies típicamente mediterráneas presentando, sin embargo, distintas adaptaciones y requerimientos que les hacen coincidir ocasionalmente en el espacio, aunque ocupando nichos ecológicos bien diferenciados (González-Rodríguez, 2010).



Foto 1.- *Quercus ilex* en formación adeshada. Detalle de hojas y bellotas.

Tomada de

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/11/Quercus_ilex.jpg



Foto 2.- *Quercus pyrenaica* en el NW de la provincia de Salamanca (Fernández-Santos, B.) y detalle de hojas y bellotas. Foto de la derecha tomada de <https://www.riomoros.com/2011/03/el-rebollo-quercus-pyrenaica.html>

Por una parte, como señala González-Rodríguez (2010), *Q. ilex* presenta adaptaciones de tipo esclerófilo que le permiten soportar las grandes oscilaciones de temperatura, la sequía estival y la escasez de nutrientes propias de las áreas que ocupan. Algunas de estas adaptaciones son: la cutícula gruesa para evitar pérdidas de agua, capas de esclerénquima reforzadas y pelos, y escamas o ceras que reflejan la luz solar. Además, es una especie muy poco exigente con respecto a la humedad y tipo de suelo. Por otra parte, *Q. pyrenaica* es más exigente en humedad, necesitando precipitaciones superiores a 600mm anuales, se sitúa preferentemente sobre suelos ácidos y es por ello más abundante en la mitad occidental de la Península, especialmente en el cuadrante noroeste (Castroviejo *et al.*, 1987; Valdés *et al.*, 1987; Costa *et al.*, 1997). La distribución de ambas especies en la Península Ibérica se incluye en la figura 1.

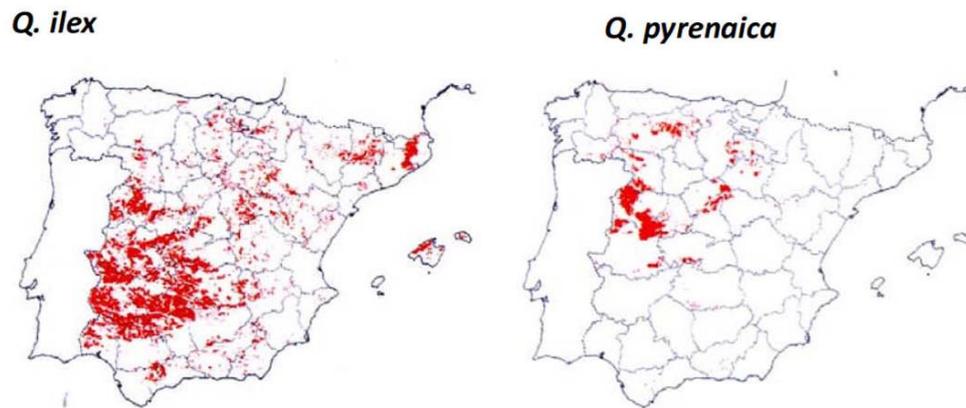


Figura 1.- Mapas de distribución en la Península Ibérica de *Q. ilex* y *Q. pyrenaica*. Tomado de Tuset y Sánchez (2004)

Así pues, *Q. ilex* está bien adaptada a las condiciones mediterráneas subhúmedas o semiáridas mientras que *Q. pyrenaica* es una especie arbórea típica de la transición mediterránea-templada en las zonas ibéricas, que coexiste ocasionalmente con *Q. ilex*, pero es más exigente en cuanto a la humedad y predomina en las condiciones mediterráneas más subhúmedas y húmedas (Rivas-Martínez *et al.*, 1987). Por tanto, las zonas de coexistencia en la Península Ibérica son de gran interés para simultáneamente probar la importancia de los mecanismos de facilitación abiótica/biótica para especies con rasgos contrastados de tolerancia al estrés.

En cuanto a las especies de matorral, *Cytisus multiflorus* (L'Her.) Sweet, comúnmente denominado escoba blanca (foto 3) es una especie leguminosa, que ocupa grandes extensiones como dominante en estos sistemas. Su área general de distribución se reduce a la Península Ibérica (Vicioso, 1953-56; Pascual, 1978) y, según el Atlas de los Hábitats Naturales y Seminaturales de España (2005), su distribución queda restringida al cuadrante CW de la Península Ibérica (Fig. 1). Se regenera muy bien tras las perturbaciones, tales como la quema y el corte, pudiendo calificarse como especie rebrotadora facultativa (Fernández – Santos *et*

al., 1999). y apenas se conoce su papel en el establecimiento de las especies de *Quercus* (Madrigal-González *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2017).



Foto 3.- *Cytisus multiflorus* (foto tomada de <http://www.naturescene.net/plants/Cytisus%20multiflorus.html>) y panorámica de nuestra zona de estudio (Fernández-Santos, B.)

3.- ÁREA DE ESTUDIO

El experimento de campo se llevó a cabo en el noroeste de la provincia de Salamanca, centro oeste de España (41°130 N, 6°240 W; 740-750 m a.s.l.), con una altura sobre el nivel del mar entre 700-800m (fig. 2). El clima es mediterráneo subhúmedo, con 550-650 mm de precipitación media anual y 12,4°C de temperatura media anual (datos: estación meteorológica de Villarmuerto, fig. 3). Existe una pronunciada sequía estival y una gran variación entre años en la precipitación (Luis y Montserrat, 1979).

Los tipos de suelo que predominan en la zona son los cambisoles (clasificación de suelos de la FAO), siendo los cambisoles dístricos los más abundantes (Dorronsoro, 1992). Estos son suelos oligotróficos, poco profundos, ácidos y presentan baja capacidad de retención de agua debido al elevado porcentaje de arena que contienen. Los análisis realizados en las parcelas experimentales confirman estas características (Costa *et al.*, 2017).



Figura 2.- Localización del área de estudio. Tomado de Costa (2014).

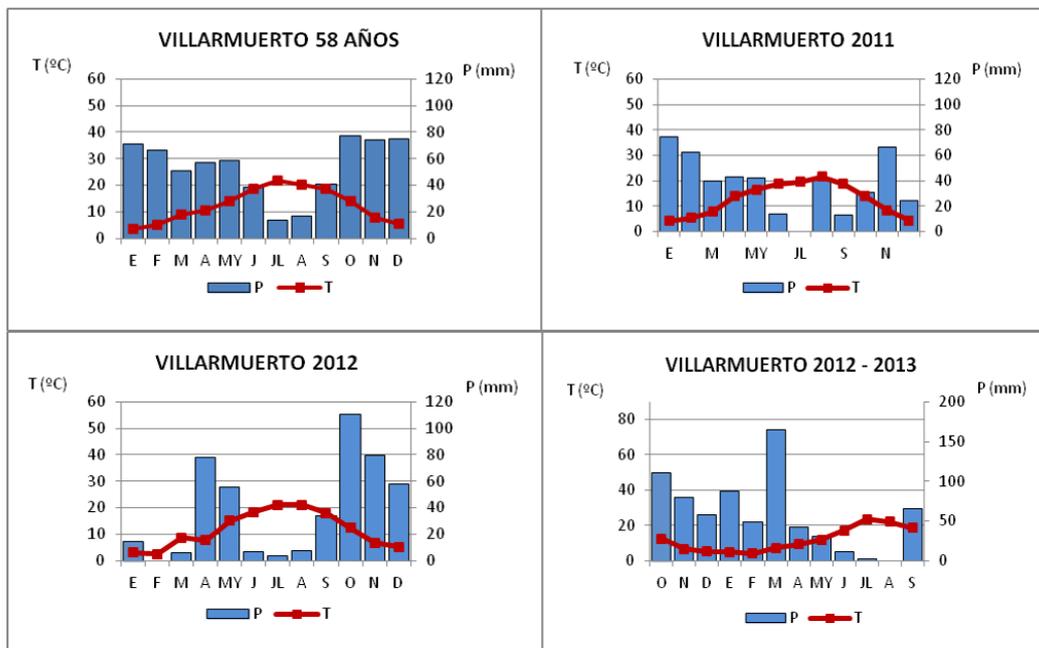


Figura 3.- Diagramas ombrotérmicos basados en datos mensuales de la estación meteorológica de Villarmuerto; a) para un periodo de 58 años; b) para el año 2011; c) para el año 2012; d) desde octubre 2012 a septiembre de 2013. Tomado de Costa (2014).

En cuanto a la vegetación natural, es una zona de transición entre el dominio de la encina (*Q. ilex*) más hacia el este (clima más seco) y el dominio del roble melojo (*Q. pyrenaica*) en el oeste (clima más húmedo) (Calabuig y Montserrat,

1979). Por acción del ser humano, la mayor parte de estas zonas son formaciones adehesadas con baja densidad de árboles y un estrato herbáceo invadido por matorrales, siendo la leguminosa *Cytisus multiflorus* la especie arbustiva dominante; en la zona seleccionada para el estudio estaban presentes ambas especies de *Quercus*, pero los árboles de más de 60 años de edad eran principalmente *Q. pyrenaica*. Estas zonas se utilizan tradicionalmente como pastos para el ganado vacuno y ovino en régimen de ganadería extensiva; en la actualidad, principalmente ganado con una alta carga ganadera; en los últimos años la carga ganadera ha aumentado mucho en la zona, pasando de 1 vaca por cada 6 ha (carga tradicional) a 1 vaca por hectárea (Gómez-Cuadrado, comunicación personal). Los matorrales se queman con frecuencia en pequeños parches, regenerándose *C. multiflorus* bien después de las perturbaciones (Fernández-Santos *et al.*, 1999; Paula *et al.*, 2009). Además del ganado doméstico, también hay especies silvestres que consumen bellotas, como jabalíes, arrendajos y varias especies de pequeños roedores.

4.- DISEÑO EXPERIMENTAL Y MÉTODOS ECOLÓGICOS

Para analizar la influencia del matorral y de la exclusión de grandes herbívoros en la emergencia de *Quercus*, considerando también el tamaño de las bellotas, se seleccionaron cinco sitios (separados al menos 300 m) en una dehesa de 800 ha. En cada sitio, había ambientes con matorral y otros próximos sin matorral, y en ellos se cercaron algunas partes y otras se dejaron abiertas. Con ello, en cada sitio se diferenciaron cuatro tratamientos: (1) Matorral y Valla (SF), (2) Matorral Sin valla (SO), (3) Sin matorral y con Valla (NF), y (4) Sin matorral ni valla (NO) (fig. 4). A continuación, en cada lugar y tratamiento se sembró una parcela con 10 bellotas grandes y 10 pequeñas de *Q. ilex* y *Q. pyrenaica* (un total de 100 bellotas por tratamiento).



Figura 4.- Diseño experimental en el campo. Distribución espacial de las cuatro parcelas experimentales, una para cada tratamiento, consideradas en cada sitio seleccionado. Matorral-Valla (SF), Matorral-No valla (SO), Sin Matorral y con valla (NF), y Sin matorral ni valla (NO).

Se seleccionaron plantas grandes de *C. multiflorus*, de más de 1,5 m de diámetro de copa y de unos 10-15 años de edad. Los recintos (3,5 m × 3,5 m) se cercaron con vallas móviles (2 m de alto × 3,5 m de largo, agujero de malla: 12 cm de ancho × 22 cm de largo) fijadas a bases de hormigón. Las parcelas abiertas tenían dimensiones similares a las de los recintos.

En octubre-noviembre de 2010, se recogieron bellotas de *Q. pyrenaica* y *Q. ilex* en árboles cercanos y se almacenaron a 4 °C hasta su siembra en diciembre de 2010. Las bellotas no viables (vacías o muy afectadas por insectos) se excluyeron empleando el método de flotación (Bonfil, 1998). Los pesos húmedos de las bellotas fueron respectivamente (media ± error estándar) 3,28 ± 0,07 g y 5,50 ± 0,10 g para las bellotas pequeñas y grandes de *Q. ilex*, y 5,19 ± 0,14 g y 7,94 ± 0,33 g para las bellotas pequeñas y grandes de *Q. pyrenaica*. En cada parcela se sembraron 10 bellotas de cada especie de *Quercus*, 5 pequeñas(s) y 5 grandes (l), en áreas de 60 cm × 50 cm, en 4 filas × 5 columnas, según el diseño

representado en la figura 5; en la primera y cuarta columnas se colocaron sólo semillas de *Q. ilex* (Qi), en la segunda y quinta columnas sólo se colocaron bellotas de *Q. pyrenaica* (Qp), y en la tercera columna se colocaron bellotas de ambas especies de *Quercus*. En el diseño de siembra, el tamaño de la bellota y la especie se alternaron sistemáticamente para evitar el posible efecto de borde y también para favorecer la identificación de la especie en los primeros estadios de las plántulas. Las bellotas se enterraron en el suelo a 2-3 cm en agujeros individuales, separados sistemáticamente unos de otros a 8-10 cm, con la superficie protegida contra los roedores con una malla metálica etiquetada (1,2 cm de ancho de malla) y fijada con clavos, como también se había hecho en otros estudios para reducir el efecto de los roedores (González-Rodríguez *et al.*, 2012; Torroba-Balmori *et al.*, 2015).

Qi(l)	Qp(s)	Qi(l)	Qi(s)	Qp(l)
Qi(l)	Qp(s)	Qp(s)	Qi(s)	Qp(l)
Qi(s)	Qp(l)	Qi(s)	Qi(l)	Qp(s)
Qi(s)	Qp(l)	Qp(l)	Qi(l)	Qp(s)

Figura 5.- Diseño experimental de siembra realizado en cada parcela. (A)- Esquema de la unidad experimental básica consistente en un área de siembra de 20 agujeros en una disposición de 4 filas × 5 columnas; cinco agujeros con bellotas grandes (l), y cinco agujeros con bellotas pequeñas (s) de cada especie de *Quercus*. En la primera y cuarta columnas se colocaron sólo semillas de *Quercus ilex* (Qi), en la segunda y quinta columnas sólo se colocaron bellotas de *Q. pyrenaica* (Qp), y en la tercera columna se colocaron bellotas de ambas especies de *Quercus*.



La emergencia y supervivencia de las plántulas se registró durante los cuatro primeros años tras la siembra. Se comprobaron en 19 fechas diferentes, cada quince días durante los seis primeros meses desde que empezaron a emerger (en abril) hasta el final de la primera estación seca (octubre) y, posteriormente, en primavera y otoño hasta completar tres años más.

Por el otro lado, para el estudio de los factores abióticos se colocaron una serie de sensores capaces de medir las condiciones abióticas del terreno, siendo estas: la radiación, la temperatura, la humedad relativa en el aire, y la humedad en el suelo. Se colocaron en dos ambientes: bajo el matorral y fuera del mismo, dentro de parcelas valladas; en cada ambiente, un sensor de cada tipo y tres para medir la humedad del suelo. Se tomaron mediciones durante cada hora desde el 1 de enero de 2011 a las 0:00 hasta el 31 de diciembre de 2014 a las 23:00, gracias a la presencia de un datalogger fijo y mantenido con placa solar. Para medir la temperatura y la humedad relativa se usó la sonda HMP45C. Esta sonda se caracteriza por su buena estabilidad a largo plazo y su bajo consumo, además de ser insensible al polvo y tener tolerancia a agentes químicos. Para la radiación, se ha usado el sensor de radiación neta NR-LITE. Estos radiómetros miden el balance de energía entre la radiación incidente de onda corta más la infrarroja de onda larga con relación a la onda corta y larga infrarroja reflejada por la superficie. Por último, para medir el contenido de agua se ha usado el reflectómetro CS616. La respuesta depende de la constante dieléctrica del medio que rodea a las varillas. El agua es el principal agente que afecta a la conductividad dieléctrica, sin embargo, ciertos constituyentes sólidos como la arcilla también afectan a esta conductividad. Todos los análisis de datos se llevaron a cabo con el programa estadístico gratuito R y con el software IBM SPSS Statistics 25.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EE.UU.).



Capítulo 3

Análisis estadísticos

1.- ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA)

El objetivo del análisis de varianza (ANOVA) se encarga del estudio del efecto de uno o más factores (cada uno de ellos con dos o más niveles) sobre la media de una variable continua. Por tanto, consiste en el test estadístico a emplear cuando se quiere comparar las medias de dos o más grupos. El análisis de la Varianza (ANOVA) se usa para contrastar la hipótesis nula de que las medias de distintas poblaciones coinciden. Por el otro lado, la hipótesis alternativa consistiría en que no todas las medias poblacionales son iguales. El ANOVA permite la comparación de múltiples medias a través del estudio de sus varianzas (Spiegel *et al.*, 2007).

El ANOVA consiste en primero en calcular la media de los distintos grupos para comparar la varianza de estas medias (la cual es la *intervarianza* o la varianza explicada por el grupo), frente a la varianza promedio dentro de cada grupo (o *intravarianza*, la cual no está explicada por la variable “grupo”). Con la hipótesis nula de que las observaciones de los distintos grupos tienen la misma media y varianza, la varianza ponderada entre los grupos será la misma que la varianza dentro de los grupos. A medida que las medias de los grupos se alejen entre sí, la varianza entre medias aumentará y dejará de ser igual a la varianza dentro de los grupos (Tejedor, 1999).

El estadístico que se estudia en el ANOVA es el F_{ratio} , que consiste en el ratio entre la varianza de las medias de los grupos y el promedio de la varianza dentro de cada grupo. El F_{ratio} sigue una distribución conocida como F de Snedecor. Con la hipótesis nula aceptada, el estadístico adquiere el valor de 1, ya que ambas varianzas serán iguales. Cuanto más difieran las medias, se irán obteniendo valores de F cada vez más superiores a 1.

Por tanto, S_1^2 es la varianza de una muestra de tamaño N_1 extraída de una población normal cuya varianza es σ_1^2 y, por el otro lado, S_2^2 es la varianza de una muestra de tamaño N_2 extraída de una población normal cuya varianza es σ_2^2 . Si ambas muestras son independientes, el cociente:

$$F = \frac{S_1^2/\sigma_1^2}{S_2^2/\sigma_2^2}$$

se distribuye como una variable F de Snedecor con N_1 y N_2 grados de libertad.

Dos de las condiciones que son necesarias para el ANOVA, son la normalidad de los grupos y la homocedasticidad de varianza. El valor F se puede obtener dividiendo las dos varianzas calculadas de las muestras (la *intravarianza* y la *intervarianza*).

Existen diferentes tipos de ANOVA dependiendo de si se tratan de datos independientes, si son pareados, si comparan la variable cuantitativa dependiente contra los niveles de un único factor (ANOVA de una vía) o frente a más factores (ANOVA de múltiples vías). Este último tipo de ANOVA puede ser aditivo o multiplicativo (si hay presencia de interacciones entre los factores).

1.1.- ANOVA DE UNA VÍA PARA DATOS INDEPENDIENTES

En muchos experimentos se busca determinar el efecto que tienen distintos niveles de una variable independiente X sobre una variable dependiente Y. Para el análisis simple de la varianza, el diseño consistirá en obtener muestras aleatorias e independientes de Y, las cuales están asociadas a cada uno de los niveles del factor X. Gracias a ello podremos determinar si los niveles de este factor tienen un efecto significativo sobre la variable dependiente.

Entonces, el funcionamiento de la técnica ANOVA simple consiste en que, para comparar las medias de Y, las cuales están asociadas a cada nivel del factor X, compararemos una medida de la variación entre los diferentes niveles de la

variable (variación producida por el factor) con una medida de variación dentro de cada nivel (variación producida por el error aleatorio). Si la primera variación es significativamente mayor a la segunda, se puede concluir que las medias de Y asociadas a cada valor de X son distintas y, por tanto, X influye significativamente en la variable dependiente Y . Por el contrario, si no hay diferencias significativas en la variación, no se rechazará la hipótesis nula de que todas las medias coinciden.

El ANOVA de una vía se utiliza cuando los datos no están pareados y se quiere estudiar si existen diferencias significativas entre las medias de una variable aleatoria en los diferentes niveles de un factor. Por tanto, es una extensión de los t -test independientes, aplicada a más de dos grupos.

En un ANOVA de un factor, las hipótesis contrastadas son:

- **H_0 :** No hay diferencias entre las medias de los diferentes grupos: $\mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k = \mu$
- **H_a :** Al menos un par de medias son significativamente distintas la una de la otra.

Como se ha mencionado con anterioridad, la diferencia entre medias se detecta gracias al estudio de la varianza entre y dentro de los grupos. Para lograr esto, se descompone la varianza basada en la siguiente idea:

Variabilidad total

= *variabilidad debida a los niveles del factor* (*varianza entre niveles* o *intervarianza*)
+ *variabilidad residual* (*varianza dentro de los niveles* o *intravarianza*)

Cada observación se denominará Y_{ij} . Se entiende que en esa observación el factor X está en el nivel i y que, en las observaciones que tienen esas

características, esta observación ocupa el lugar j . Representando la media global como μ , el modelo de ANOVA de una vía supone que:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Para calcular las varianzas, han de calcularse antes las Sumas de Cuadrados:

- **Suma de Cuadrados Total (TSS):** mide la variabilidad total de los datos. Es la suma de los cuadrados de las diferencias de cada observación con respecto a la media general de todas las observaciones. Los grados de libertad son $N-1$.
- **Suma de Cuadrados debido al Tratamiento (SSE):** mide la variabilidad en los datos asociada al efecto del factor sobre la media. Es la suma de los cuadrados de las desviaciones de la media de cada observación respecto a la media general, ponderando cada diferencia al cuadrado por el número de observaciones de cada grupo. Los grados de libertad serán igual al número de niveles del factor menos uno ($k-1$).
- **Suma de cuadrados residual (SSR):** mide la variabilidad dentro de cada nivel y , por tanto, aquella que no es debida al factor. Se calcula como la suma de los cuadrados de las desviaciones de cada observación respecto a la media del nivel del factor al que pertenece. Los grados de libertad son $N-k$.

$$TSS = SSE + SSR$$

El ANOVA se define como el análisis de varianza, pero se trata de un análisis de la Suma de Cuadrados Medios en sentido estricto. Los Cuadrados Medios consisten en el cociente entre la Suma de Cuadrados y sus grados de libertad, que se pueden emplear como estimador de la varianza.

- Cuadrados Medios Totales = Cuasivarianza Total (varianza muestral total)

$$\hat{S}_T^2 = \frac{TSS}{N - 1}$$

- Cuadrados Medios del Factor = *Intervarianza* (varianza entre las medias de los distintos niveles)

$$\hat{S}_t^2 = \frac{TSS}{k - 1}$$

- Cuadrados Medios del Error = *Intravarianza* (varianza dentro de los niveles, conocida como varianza residual o de error)

$$\hat{S}_E^2 = \frac{SSE}{N - k}$$

Una vez descompuesta la estimación de la varianza, se obtiene el estadístico F_{ratio} dividiendo la *intervarianza* entre la *intravarianza*:

$$F_{\text{ratio}} = \frac{\text{Cuadrados Medios del Factor}}{\text{Cuadrados Medios del Error}} = \frac{\hat{S}_t^2}{\hat{S}_E^2} = \frac{\text{intervarianza}}{\text{intravarianza}} \sim F_{k-1, N-k}$$

Dado que por definición el estadístico F_{ratio} sigue una distribución *F Fisher-Snedecor* con $k-1$ y $N-t$ grados de libertad, se puede conocer la probabilidad de obtener valores iguales o más extremos que los observados.

Condiciones del ANOVA de una vía para datos independientes

- Independencia: las observaciones deben ser aleatorias y las respuestas de las unidades experimentales deben ser independientes entre sí.
- Normalidad: cada uno de los grupos ha de seguir una distribución normal, aunque esta condición es menos estricta cuanto mayor sea el tamaño de cada grupo. En caso contrario, se puede recurrir a la prueba H de Kruskal-Wallis.
- Homocedasticidad: la varianza dentro de los grupos debe ser aproximadamente igual en todos los grupos. Esto es debido a que la hipótesis nula considera a todas las observaciones procedentes de la misma

población y, por tanto, con la misma media y varianza. Sin embargo, si el diseño es equilibrado, el ANOVA es bastante robusto a la falta de homocedasticidad. Si no es posible aceptar la homocedasticidad, se realizará el ANOVA heterodástico, que emplea la corrección de Welch.

Comparación múltiple de medias. Contrastes POST-HOC

Si el ANOVA resulta ser significativo, esto significará que al menos dos de las medias comparadas son significativamente diferentes entre sí, pero aún no se sabe cuáles.

Para identificarlas, se comparan dos a dos las medias de los grupos introducidos, lo cual se denomina análisis post-hoc. Por la inflación del error tipo I, cuantas más comparaciones haya, mayor es la probabilidad de encontrar diferencias significativas. Sin embargo, el nivel de significación puede ser ajustado en función del número de comparaciones. Si no se hace ningún tipo de corrección aumentará la posibilidad de falsos positivos (error tipo I), pero si se es muy estricto con estas pueden aumentar los falsos negativos (error tipo II).

Los niveles de significancia pueden ser ajustados en función del número de comparaciones (corrección de significancia). La necesidad de corrección o no, y de qué tipo, se ha de estudiar con detenimiento en cada caso. Los principales métodos post-hoc de comparación, los cuales algunos tienen corrección y otros no, son:

- **Intervalos *LSD* de Fisher:** siendo \bar{x}_i la media muestral de un grupo, la desviación típica estimada de dicha media (asumiendo la homocedasticidad de los grupos) es igual a la raíz cuadrada de los Cuadrados Medios del Error (que como se ha visto es la estimación de la *intravarianza* o varianza del error) dividida por el número de

observaciones de dicho grupo. Al asumir la normalidad de los grupos, el intervalo LSD se obtiene como:

$$\bar{x}_i \pm \frac{\sqrt{2}}{2} t_{gl(error)}^{\alpha} \sqrt{\frac{SSE}{n}}$$

Al alejarse los intervalos de dos grupos entre sí, las medias se harán más diferentes, siendo significativa dicha diferencia si los intervalos no se solapan entre sí. Como el método *LSD* no conlleva ningún tipo de corrección de significación, su uso está desaconsejado para determinar significación, aunque sí se puede usar para identificar qué grupos tienen las medias más distantes.

- **Ajuste de Bonferroni:** La corrección de *Bonferroni* se obtiene al dividir el nivel de significación α entre el número de comparaciones realizadas dos a dos.

$$\alpha_{corregido} = \frac{\alpha}{\text{número de grupos}}$$

Con esta corrección se asegura que la probabilidad de obtener al menos un falso positivo entre todas las comparaciones es $\leq \alpha$. Permite por lo tanto contrastar una hipótesis nula general (la de que todas las hipótesis nulas testadas son verdaderas) de forma simultánea, cosa que raramente es de interés en las investigaciones. Es considerado como un método muy conservador, sobre todo a medida que se va incrementando el número de comparaciones.

- **Test de Tukey:** El test de Tukey ha sido el análisis post-hoc que hemos utilizado. Es muy similar a un t-test, salvo que corrige el error del experimento mediante un estadístico. Este estadístico se define como:

$$q_{calculado} = \frac{\bar{x}_{max} - \bar{x}_{min}}{S\sqrt{2/n}}$$

Siendo \bar{x}_{max} la mayor de las medias de los dos grupos comparados, \bar{x}_{min} la menor, S la Desviación Estándar de estos dos grupos y n el número total de observaciones en los dos grupos. Para cada par de grupos, se obtiene el valor de q , y este valor se compara con el esperado en una distribución t de Student con los grados de libertad correspondientes. Si la probabilidad es menor al α establecido, se considera significativa la diferencia de medias.

1.2.- ANOVA DE MÚLTIPLES VIAS

En un ANOVA de múltiples vías se plantea la existencia de una variable respuesta continua Y , y ciertos factores categóricos X_1, X_2, \dots, X_n (Yates, 1934). Por tanto, mediante este método se desea contestar:

- 1) Qué factores resultan significativos. Es decir, cuales de ellos influyen sobre la variable respuesta.
- 2) Si existe interacción entre los factores. Es decir, si la combinación de estos posee influencia en el valor de la variable respuesta.

Si hay evidencia de que la interacción no es significativa, se utilizará un modelo de ANOVA multifactorial sin interacción. En caso contrario, utilizaremos un modelo con interacción, siendo este último más completo. Sin embargo, requiere en general de más observaciones que el modelo sin interacción.

Modelo de ANOVA multifactorial sin interacción:

El modelo aditivo supone que la variación total en los datos se puede expresar como suma de variaciones procedentes de los diversos factores. En este modelo se supone una sola variable respuesta Y , y dos factores, que se

denominaran X_1 y X_2 . El modelo se puede generalizar fácilmente para el caso en el que haya más de dos factores.

En caso de dos factores:

$$\begin{aligned} & \textit{Variación total en los datos} \\ &= \textit{Variación debida al primer factor} \\ &+ \textit{Variación debida al segundo factor} \\ &+ \textit{Variación debida al error aleatorio} \end{aligned}$$

En este modelo, si la variación debida al primer factor es mucho mayor que la debida al error aleatorio, podríamos rechazar la hipótesis nula de que el primer factor no tiene un efecto sobre la variable dependiente y, análogamente, lo mismo podríamos concluir con el segundo factor.

Cada observación se denominará Y_{ijk} . Se entiende que en esa observación el factor X_1 está en el nivel i , el X_2 en el nivel j y que, en las observaciones que tienen esas características, esta observación ocupa el lugar k . Representando la media global como μ , el modelo de ANOVA sin interacción supone que:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ijk}$$

Siendo α_i el efecto que tiene el factor X_1 en el nivel i , β_j el efecto que tiene X_2 en el nivel j , y ϵ_{ijk} el residuo debido al azar. Siendo μ_i la media de todas las observaciones que tienen el factor 1 en el nivel i , y μ_j la media de observaciones que tienen el factor 2 en el nivel j :

$$\alpha_i = \mu_i - \mu, \beta_j = \mu_j - \mu$$

Para ver si el primer factor es significativo, haremos el siguiente contraste de hipótesis:

- $H_0: \alpha_i = 0$ para todo i

- **H₁**: algún $\alpha_i \neq 0$

Si se rechaza H_0 , se dice que el primer factor es significativo. Para ver la significación del segundo factor, se hará el mismo tipo de contraste de hipótesis.

Los requisitos de este modelo de ANOVA, teniendo en cuenta que el primer factor tiene a niveles posibles y el segundo factor b niveles posibles, son:

- 1) Cada uno de los $a*b$ grupos es normal.
- 2) Homocedasticidad: la varianza es la misma en cada uno de estos grupos.
- 3) Independencia: las observaciones deben ser aleatorias y las respuestas de las unidades experimentales deben ser independientes entre sí.

Modelo de ANOVA multifactorial con interacción:

En el modelo de ANOVA multifactorial con interacción ha de prestarse atención sobre la interacción de los factores independientes entre sí, la cual, como hemos comentado con anterioridad, consiste en el efecto que tiene un factor sobre otro. Este modelo supone que la variación de los datos, en un modelo de dos factores, puede descomponerse así:

Variación total de los datos

$$\begin{aligned} &= (\text{variación debida al primer factor}) \\ &+ (\text{variación debida al segundo factor}) \\ &+ (\text{variación debida a la interacción entre los dos factores}) \\ &+ (\text{variación debida al error aleatorio}) \end{aligned}$$

En este caso, para cada observación Y_{ijk} , se supone:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

α_i , β_j y ϵ_{ijk} tienen el mismo significado que en el modelo anterior, mientras que $(\alpha\beta)_{ij}$ es el efecto de interacción entre el primer factor en el nivel i y el segundo en el nivel j . Los contrastes sobre la significación de cada factor son los mismos

que en el modelo anterior pero, en este nuevo modelo, se debe comprobar si existe interacción entre factores y, para ello, se debe contrastar la siguiente hipótesis:

- $H_0 : (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$ para todo i, j
- $H_1 : \text{algún } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$

$(\alpha\beta)_{ij}$ se puede estimar como:

$$(\alpha\beta)_{ij} = \mu_{ij} - \mu_i - \mu_j + \mu$$

Los requisitos del modelo son los mismos que en el modelo sin interacción, aunque los residuos son diferentes. En el caso de la existencia de una interacción significativa, los contrastes para los efectos principales dejan de ser interpretables, ya que las diferencias entre los niveles de un factor no son iguales en los distintos niveles del otro.

1.3.- ANOVA DE MEDIDAS REPETIDAS

El ANOVA de medidas repetidas se utiliza cuando se van a comparar mediciones distintas sobre los mismos sujetos y, por tanto, no se cumple la condición de independencia. El análisis de la varianza de medidas repetidas (rANOVA) es un enfoque estadístico comúnmente utilizado para los diseños de medidas repetidas. En estos diseños, el factor de medidas repetidas (la variable cualitativa independiente) es el factor dentro de los sujetos, mientras que la variable cuantitativa sobre la que se mide a cada participante es la variable dependiente (Salkind, 2019).

El rANOVA tiene una serie de ventajas y una de las mayores, es la capacidad de dividir la variabilidad debida a las diferencias individuales. Considere la estructura general del estadístico F:

$$F = \frac{MS_{Tratamiento}}{MS_{Error}} = \frac{SS_{Tratamiento}/df_{Tratamiento}}{SS_{Error}/df_{Error}}$$

En un diseño entre sujetos hay un elemento de varianza debido a la diferencia individual que se combina con los términos de tratamiento y error:

$$SS_{Total} = SS_{Tratamiento} + SS_{Error}$$

$$df_{Total} = n - 1$$

En un diseño de medidas repetidas es posible separar la variabilidad del sujeto de los términos de tratamiento y error. En este caso, la variabilidad puede dividirse en variabilidad entre tratamientos (o efectos dentro de los sujetos, excluyendo las diferencias individuales) y variabilidad dentro de los tratamientos. La variabilidad dentro de los tratamientos puede dividirse además en variabilidad entre sujetos (diferencias individuales) y error (diferencias excluyendo las diferencias individuales):

$$SS_{Total} = SST_{Tratamiento}(\text{excluyendo las diferencias individuales}) \\ + SS_{Sujetos} + SS_{Error}$$

$$df_{Total} = df_{Tratamiento}(\text{dentro de los sujetos}) \\ + df_{entre}(\text{entre los sujetos}) + df_{error} \\ = (k - 1) + (n - 1) + ((n - k)(n - 1))$$

En referencia a la estructura general del estadístico F, está claro que al dividir la variabilidad entre los sujetos, el valor F aumentará porque el término de error de la suma de los cuadrados será menor, lo que dará lugar a un MS_{Error} menor. Cabe destacar que la partición de la variabilidad reduce los grados de libertad de la prueba F, por lo que la variabilidad entre sujetos debe ser lo suficientemente significativa como para compensar la pérdida de grados de libertad. Si la variabilidad entre sujetos es pequeña, este proceso puede reducir el valor F.

Supuestos

Como en todos los análisis estadísticos, deben cumplirse unos supuestos específicos para justificar el uso de esta prueba. Su incumplimiento puede afectar de forma moderada a grave a los resultados y, a menudo, provocar un aumento en el error de tipo 1. Con el rANOVA, se aplican supuestos estándar univariantes y multivariantes. Los supuestos univariantes son:

- Normalidad: Para cada nivel del factor intra-sujeto, la variable dependiente debe tener una distribución normal.
- Esfericidad: las puntuaciones de diferencia calculadas entre dos niveles de un factor intra-sujeto deben tener la misma varianza para la comparación de dos niveles cualquiera (este supuesto sólo se aplica si hay más de 2 niveles de la variable independiente).
- Aleatoriedad: Los casos deben proceder de una muestra aleatoria, y las puntuaciones de los distintos participantes deben ser independientes entre sí.

El rANOVA requiere también que se cumplan ciertos supuestos multivariantes debido a que se realiza una prueba multivariante sobre las puntuaciones de las diferencias. Estos supuestos incluyen:

- Normalidad multivariante: Las puntuaciones de diferencia se distribuyen normalmente de forma multivariante en la población.
- Aleatoriedad: Los casos individuales deben proceder de una muestra aleatoria, y las puntuaciones de diferencia de cada participante son independientes de las de otro participante.

Prueba F

Al igual que otras pruebas de análisis de la varianza, el rANOVA utiliza un estadístico F para determinar la significación. Dependiendo del número de

factores intra-sujetos y de las violaciones de los supuestos, es necesario seleccionar la más apropiada de tres pruebas distintas:

- Prueba F estándar de ANOVA univariante: Esta prueba se utiliza habitualmente cuando sólo hay dos niveles del factor intra-sujeto (es decir, punto de tiempo 1 y punto de tiempo 2). no se recomienda cuando hay más de dos niveles del factor intra-sujeto porque en estos casos se suele violar el supuesto de esfericidad.
- Prueba univariante alternativa: Estas pruebas tienen en cuenta las violaciones del supuesto de esfericidad, y pueden utilizarse cuando el factor intra-sujeto supera los 2 niveles. El estadístico F es el mismo que en la prueba F de ANOVA univariante estándar, pero se asocia a un valor p más preciso. Se suelen utilizar dos correcciones: la corrección de Greenhouse-Geisser y la corrección de Huynh-Feldt. La corrección de Greenhouse-Geisser es más conservadora, pero aborda un problema común de aumento de la variabilidad con el tiempo en un diseño de medidas repetidas. La corrección de Huynh-Feldt es menos conservadora, pero no aborda los problemas de aumento de la variabilidad. Se ha sugerido que se utilice un Huynh-Feldt más bajo con pequeñas desviaciones de la esfericidad, mientras que el Greenhouse-Geisser se utilice cuando las desviaciones son grandes.
- Prueba multivariante: esta prueba no asume la esfericidad, pero también es muy conservadora.

2.- ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

La estadística multivariante abarca el análisis simultáneo de más de una variable dependiente o respuesta. Es decir, el objetivo de este análisis es describir e interpretar los datos que provienen de la observación de varias variables

estadísticas simultáneamente, que se estudian de forma conjunta. Estas variables han de ser homogéneas y correlacionadas, y ninguna de ellas predomina sobre el resto. La información es multidimensional, así que la geometría, el cálculo matricial y las distribuciones multivariantes juegan un papel fundamental (Cuadras, 2014). La información se trata en una matriz de datos, aunque a veces esta puede ser una matriz de distancias o similitudes entre los individuos.

El Análisis de Componentes Principales (ACP) es una técnica de análisis multivariante cuyo objetivo consiste en reducir la dimensionalidad de los datos (Pearson, 1901). Este método describe la información de un conjunto de variables observadas posiblemente correlacionadas mediante un conjunto de variables más pequeño. Estas se denominan componentes principales explicando unas pocas la mayor parte de la variabilidad de los datos (Hotelling, 1936). Las componentes principales son combinaciones lineales de las variables de partida y no están correlacionadas entre sí, obteniéndose en orden decreciente de importancia (Cuadras, 2014). Sin embargo, es necesario que las variables originales estén correlacionadas, ya que, si no, no tendría sentido hacer un análisis de componentes principales.

Obtención de las Componentes Principales

Tenemos una matriz de datos X con n filas y p columnas que contiene las medidas de n individuos en p de variables (X_1, X_2, \dots, X_p) . A partir de ellas, se calculan otras variables $Y=(Y_1, Y_2, \dots, Y_p)$, que están incorrelacionadas entre sí, y sus varianzas van disminuyendo progresivamente. Cada variable Y_j es combinación lineal de las variables x originales y, por tanto, teniendo p variables, la componente principal j se obtiene como:

$$Y_j = v_{1j}X_1 + v_{2j}X_2 + \dots + v_{pj}X_p$$

Cada v es el vector de coeficientes que tiene cada variable original sobre la componente principal, y por tanto v_{ij} , es el coeficiente que tiene la variable original X_i sobre la componente principal j . Si llamamos $V = (v_{ij})$ a la matriz cuyas columnas son los vectores que definen las componentes principales. En notación matricial, podemos escribir:

$$Y = XV$$

Como hemos dicho, las componentes principales se obtienen por orden decreciente de varianza, por tanto, para obtener la primera componente trataremos de calcular los coeficientes $v_1 = (v_{11}, \dots, v_{1p})$ que hacen máxima la varianza. La varianza de $Y_1 = Xv_1$ se calcula como:

$$\text{Var}(Y_1) = \left(\frac{1}{n}\right) v_1' X' X v_1 = v_1' S v_1$$

Donde S es la matriz de varianzas-covarianzas entre las variables observadas. Como existen infinitas posibles soluciones para v_1 , se tomará una de todas las posibles, aquel vector que tenga longitud 1. Por tanto, la restricción que se impone para cada componente es:

$$v_j' v_j = 1$$

Por tanto, se busca el máximo de la varianza de la primera componente principal:

$$L(v_1) = v_1' S v_1$$

Sujeto a la restricción:

$$v_1' v_1 = 1$$

Al introducir el multiplicador de Lagrange, se trata de buscar el máximo de:

$$L(v_1) = v_1' S v_1 - \lambda(v_1' v_1 - 1)$$

Derivando e igualando a cero:

$$\frac{L(v_1)}{dv_1} = 2Sv_1 - 2\lambda v_1 = 0$$

Obtenemos:

$$Sv_1 = \lambda v_1$$

Esto quiere decir que v_1 es un vector propio de la matriz de covarianzas con valor propio asociado λ . Sin embargo, S tiene distintos valores propios $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_p$, que supondremos que son distintos y están ordenados en orden decreciente. Por tanto, λ_1 debe ser el valor propio más grande y v_1 su vector propio asociado. Por tanto, el primer valor propio se puede interpretar como la varianza muestral de la primera componente principal (Jolliffe, 1987).

La segunda componente principal se obtiene de forma similar,

$$Y_2 = Xv_2$$

pero añadimos la restricción adicional de que Y_1 e Y_2 no estén correlacionadas, como se estableció en la definición de las componentes:

$$v_2' v_1 = 0$$

Volviendo a utilizar multiplicadores y derivar igualando a cero acabamos obteniendo una ecuación similar a la anterior:

$$Sv_2 = \lambda v_2$$

Y, por tanto, λ es el segundo valor propio y v_2 su segundo vector propio. Haciendo esto, iremos obteniendo las sucesivas componentes principales a partir de los correspondientes vectores y valores propios. Sabiendo todo esto, las

componentes principales se obtienen de la descomposición en valores propios y vectores propios de la matriz de covarianzas S (Abdi, 2010).

Bondad del ajuste

La bondad del ajuste consiste en la cantidad de información recogida por cada una de las componentes, o, con otras palabras, la cantidad de varianza absorbida por cada una de las componentes. Si tenemos en cuenta que la varianza total de las componentes coincide con la suma de valores propios, para obtener la proporción de varianza absorbida por cada componente dividimos el valor propio correspondiente a esa componente por la suma de todos los valores propios (O'Rourke y Hatcher, 2013):

$$\lambda_j / \left(\sum_j \lambda_j \right)$$

Si queremos las primeras dividiremos la suma de los q primeros valores propios entre la suma de todos.

Hay que resaltar la importancia de la escala de medida de las variables originales ya que, si estas son muy diferentes, la variabilidad estará dominada con las variables con mayor magnitud, así que las primeras componentes mostrarán simplemente las diferencias de estas variables (Vicente-Villardón, s.f.). Por tanto, es conveniente tomar la matriz de datos X estandarizada por columnas, centrando y dividiendo por la desviación típica. Como las componentes se obtienen de combinar las variables originales, cada variable “contribuye” una cantidad a cada componente. Esta cantidad, llamada carga de una variable en la componente, refleja la importancia de esa variable en la componente.

Interpretación de los resultados

Para la interpretación del Análisis de Componentes Principales se utilizan diagramas de dispersión que representan los valores de los individuos en las primeras componentes principales. Cabe resaltar que si representamos a los individuos en las tres primeras componentes principales tendríamos que representarlos en un espacio tridimensional, el cual es más difícil de interpretar que un plano de únicamente dos dimensiones. En el diagrama de dispersión, las distancias entre individuos se interpretan en términos de similitud, y, por tanto, esto nos permite realizar la búsqueda de clústers, es decir, de grupos de individuos similares y de posibles patrones.

Se interpretan las variables responsables de los patrones que hemos encontrado en los individuos utilizando las correlaciones de las componentes principales con las variables originales. Las posiciones de los individuos se interpretan posteriormente en relación con la interpretación dada a las componentes (Vicente- Villardón, s.f.).

Selección de componentes

Para representar el Análisis de Componentes Principales tenemos que seleccionar cuántas componentes retenemos para conservar la mayor parte de la información. Para ello, existen diferentes métodos (Vicente-Villardón, s.f.).

- En primer lugar, tenemos lo que se denomina un Scree-Plot. Esto consiste en un gráfico en el que se representan los valores propios. Se seleccionarán ejes hasta que se vea un decrecimiento brusco en la magnitud de los valores propios.
- Seleccionar las componentes principales que hagan falta para explicar un determinado porcentaje de la variabilidad, que puede ser un 50%, un 75%, etc.

- Usar pruebas más formales, basadas en contrastes de hipótesis, como la Prueba de Anderson.
- Número elegido a priori por el usuario a partir del conocimiento que este tiene de sus datos.

3.- ANÁLISIS DE COORDENADAS PRINCIPALES

Como con el Análisis de Componentes Principales, el objetivo del Análisis de Coordenadas Principales es el representar los objetos en un espacio de dimensión reducida (normalmente 2 o 3 dimensiones), mediante diagramas de dispersión. El propósito general de estos métodos en comparación con el análisis factorial, con el que se pretende explicar relaciones entre variables a partir de un número menor de factores comunes; es interpretar las similitudes y disimilitudes entre los individuos de manera sencilla.

Se parte de una matriz Δ de distancias $n \times n$ entre los n elementos de un conjunto, normalmente los individuos estudiados. El objetivo de este análisis es representar las distancias observadas en la matriz mediante un conjunto de variables hipotéticas Y_1, \dots, Y_k , con $k < n$, de forma que las distancias euclídeas entre los elementos, calculadas a partir de estas variables, tienen que ser lo más próximas posibles a las distancias de la matriz original. Así, cuando se represente gráficamente en dimensiones, se formará una reproducción lo más fiel posible a la estructura observada.

Las variables Y_1, \dots, Y_k , se pueden ir ordenando en función de su importancia (variabilidad explicada), haciéndose representaciones gráficas en dos y tres dimensiones para recoger la mayor parte de la información en solamente unas cuantas (las coordenadas principales).

Por ejemplo, si tenemos k variables continuas en una matriz $X_{n \times k}$, se pueden construir dos tipos de matrices cuadradas y semidefinidas positivas: la matriz de covarianzas S (estando definida por $1/n X'X$), en caso de que las variables tengan media cero, y la matriz de productos cruzados (o productos escalares) $Q = XX'$.

Mientras que el Análisis de Componentes Principales consistiría en un análisis de la matriz S , el Análisis de Coordenadas Principales podría verse como un análisis de la matriz Q . Sus términos q_{ij} contienen el producto escalar de las observaciones de dos elementos dados.

$$q_{ij} = \sum_{k=1}^p x_{ik}x_{jk} = x'_i x_j$$

Si ésta es definida positiva de rango r entonces puede descomponerse como

$$Q = U\Lambda^2U'$$

Donde U es una matriz $n \times r$ y Λ^2 es una matriz diagonal $r \times r$ que contiene los valores propios no nulos de Q . Obsérvese que se trata de los cuadrados de los valores singulares utilizados para el biplot.

Por tanto, tenemos

$$Q = (U\Lambda)(\Lambda U')$$

Tomamos

$$Y = U\Lambda$$

Obtenemos r variables incorreladas Y ordenadas con orden decreciente de importancia (variabilidad), que reproducen aproximadamente los productos escalares (euclídeos) y, por tanto, las distancias euclídeas entre los elementos. Las

coordenadas principales obtenidas son también las coordenadas de los elementos sobre las Componentes Principales, y las coordenadas de estos en el que denominábamos RMP-Biplot.

Si, en un biplot, fijamos las coordenadas A en las coordenadas principales, $A = Y$, y queremos calcular las coordenadas B de las variables para obtener un biplot

$$X = AB'$$

Podemos calcularlas mediante una regresión multivariante

$$B' = (A'A)^{-1}A'X$$

Para las variables iniciales en X y teniendo en cuenta que $A = Y = U\Lambda$, tenemos

$$B' = (\Lambda U'U\Lambda)^{-1}\Lambda U'U\Lambda V'$$

Es decir, las coordenadas del biplot obtenidas de la SVD son también las obtenidas por regresión.

Este procedimiento podría usarse también para proyectar un conjunto de variables externas continuas y la regresión lineal podría sustituirse por una regresión logística cuando las variables son binarias nominales u ordinales.

Si $\Delta = \delta_{ij}$ es la matriz de distancias euclídeas entre los elementos, es decir,

$$\delta_{ij}^2 = \sum_{k=1}^p (x_{ik} - x_{jk})^2$$

Puede comprobarse que

$$Q = \frac{-1}{2} H \Delta^2 H$$

Donde H es la matriz de centrado $H = I - \frac{1}{n} \mathbf{1}\mathbf{1}'$.

Esta idea es generalizable cuando en lugar de tener la matriz de distancias euclídeas, disponemos de una matriz de distancias (o disimilitudes) calculadas por cualquier otro procedimiento.

Mostramos, a continuación, algunos ejemplos de distancias o disimilitudes tanto para datos continuos como para datos categóricos.

Medidas de distancia para datos cuantitativos

- *Diferencias medias*: las diferencias medias suponen que tratamos con variables comparables con respecto a escala. Sin embargo, es problemática debido a que son demasiado simples para utilizarse en la práctica, así como que usar el valor absoluto suele dar problemas a nivel algebraico.
- *Distancia euclídea (pitagórica)*: La distancia euclídea consiste en la distancia en línea recta entre dos puntos en un espacio multidimensional, cuya ventaja es que nos resulta fácil de interpretar. Se usará en las representaciones finales con dimensión reducida. Como con las diferencias medias, supone escalas comparables, así que es muy sensible cuando estas son diferentes. Por tanto, se suelen estandarizar las variables. La distancia aumenta con el número de variables, corrigiendo esto con lo que se denomina distancia media.

$$\delta_{ij}^2 = \sum_{k=1}^p (x_{ik} - x_{jk})^2$$

- *Distancia Manhattan*: En este tipo de distancia, la distancia entre dos puntos es la suma de las diferencias (absolutas) de sus coordenadas.

$$\delta_{ij} = \sum_{k=1}^p |x_{ik} - x_{jk}|$$

- *Distancia de Minkowsky*: Consiste en una generalización de las distancias euclídeas y Manhattan.

$$\delta_{ij} = \sqrt[r]{\sum_{k=1}^p |x_{ik} - x_{jk}|^r}$$

- *Métrica de Canberra*: Consiste en una distancia para datos positivos en la cual se estandarizan las diferencias dividiendo estas por la suma de los valores. Se usa en Biología en estudios de taxonomía.

$$\delta_{ij}^{CA} = \sum_{j=1}^J \frac{|x_{ik} - x_{jk}|}{x_{ik} + x_{jk}}$$

- *Bray-Curtis*: Consiste en una distancia para datos positivos utilizada especialmente en Ecología para medidas de abundancia

$$\delta_{il}^{BC} = \frac{\sum_{k=1}^p |x_{ik} - x_{jk}|}{\sum_{k=1}^p |x_{ik} + x_{jk}|}$$

Coeficientes de similaridad para datos binarios

En este caso, tendremos una matriz con variables binarias que consisten generalmente en la presencia/ausencia de un carácter cualitativo, indicada normalmente la presencia con un 1 y la ausencia con un 0. El propósito al analizar este tipo de datos es medir la similitud entre pares de individuos a partir de la información de los caracteres que se han medido para ellos.

Para este tipo de datos, se puede crear una tabla de contingencia para cada par de individuos, donde se cuentan las presencias y ausencias comunes de cada uno de los caracteres estudiados.

i/j	Presente	Ausente	Total
Presente	a	b	$a+b$
Ausente	c	d	$c+d$
Total	$a+c$	$b+d$	$n=a+b+c+d$

A partir de esta tabla se pueden construir distintos coeficientes de similitud (s_{ij}). Algunos de estos coeficientes no consideran las dobles ausencias, con el fin de no sobreestimar la similitud a partir de características no presentes en ninguno de los individuos. Veamos algunos ejemplos:

- *Coficiente de Jaccard*: Este está acotado entre cero y uno, y no considera las dobles ausencias.

$$s_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

- *Coficiente de Dice y Sorensen*: Es igual al Coeficiente de Jaccard, pero da mayor importancia a las dobles presencias.

$$s_{ij} = \frac{2a}{2a + b + c}$$

- *Coficiente de Sokal y Michener*: Está acotado entre cero y uno.

$$s_{ij} = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

- *Coficiente de Rogers y Tanimoto*: Acotado entre cero y uno.

$$s_{ij} = \frac{a + d}{a + 2b + 2c + d}$$

- *Coficiente General de Similitud de Gower*: Este coeficiente permite mezclar distintos tipos de variables.

Una vez obtenida la similitud es fácil convertirla en una disimilitud tomando, por ejemplo,

$$\delta_{ij} = \sqrt{1 - s_{ij}}$$

El algoritmo de cálculo de las coordenadas principales podría resumirse en los pasos siguientes:

1. Obtenemos una matriz de distancias o disimilitudes $\Delta = \delta_{ij}$ por cualquiera de los procedimientos mostrados.
2. Obtenemos la matriz de productos escalares a partir de las distancias

$$Q = \frac{-1}{2} H \Delta^2 H$$

3. Descomponemos la matriz de productos escalares en sus valores y vectores propios

$$Q = U \Lambda^2 U'$$

4. Obtenemos la matriz de coordenadas principales

$$Y = U \Lambda$$

5. Calculamos la variabilidad recogida en dimensión reducida

$$\rho^2 = \frac{\sum_{i=1}^s \lambda_i^2}{\sum_{i=1}^r \lambda_i^2}$$

Cuando la disimilitud/distancia medida es "euclídea", se puede encontrar una configuración exacta en $n - 1$ dimensiones. Se puede obtener una aproximación de menor dimensión proyectando sobre las primeras s coordenadas principales, que suelen ser 2. En Mardia *et al.* (1979) se pueden encontrar las consideraciones teóricas y las demostraciones del método. En el PCoA, se sabe que la proporción de la varianza total explicada por las s dimensiones (siendo esta

bondad global del ajuste) puede considerarse como una media de los n puntos de la representación gráfica.

Sin embargo, el tener un buen ajuste global no significa que todos los individuos tengan la misma calidad de representación. Es decir, no significa que la interpretación de las posiciones de todos los puntos sea igual de fiable. Se considera que un individuo está bien representado cuando la mayor parte de su información, medida a través de la variabilidad, se contabiliza en la dimensión reducida. La variabilidad de cada individuo se mide por su distancia cuadrada al centro, de modo que la calidad de la representación puede medirse por la relación entre la distancia cuadrada en la dimensión reducida y la distancia cuadrada en el espacio completo, es decir:

$$CR_i^s = \frac{\sum_{l=1}^s y_{il}^2}{\sum_{j=1}^{n-1} y_{ij}^2} \times 100\%,$$

donde y_{ij} denota las coordenadas principales del individuo i en la j -ésima dimensión. La calidad de la representación es, entonces el coseno al cuadrado ángulo que forman el vector en el espacio multidimensional y su proyección en el espacio de dimensión reducida.

La representación, en un diagrama de dispersión de las primeras columnas de Y nos permite interpretar las posiciones de los individuos en términos de distancia, es decir, individuos próximos se corresponden con individuos similares.

El principal problema del ACoP es que no tiene información directa sobre las variables responsables ya que estas no se representan directamente en el gráfico. Una posible solución cuando tenemos variables numéricas sería proyectar las variables mediante regresiones como hacíamos antes. En el caso de que las variables sean binarias nominales u ordinales, el procedimiento necesita algunas adaptaciones. Vicente-Villardón y Hernández-Sánchez (2020) describen la forma

de colocar sobre el biplot variables de distintos tipos sobre los resultados de un ACoP. Describimos con más detalle los resultados para variables binarias conocido como biplot logístico (Vicente-Villardón et.al., 2006) concretamente su forma externa basada en el ACoP (Demey et. Al., 2008).

4.- MÉTODOS BILOT

Un Biplot es una representación gráfica multivariante, capaz de representar múltiples variables, en la que se representan simultáneamente individuos y variables (Gabriel, 1971). El Biplot aproxima la muestra en un espacio de dimensión reducida, normalmente en únicamente dos dimensiones con el fin de tener una buena interpretación, y sobre este espacio se superponen las representaciones de las variables mediante vectores normalmente, y los individuos como puntos (Vicente-Villardón, s.f.).

La utilidad de los métodos Biplot radica en producir una descripción gráfica de los datos, o para mostrar los resultados proporcionados por otros modelos. La interpretación de los Biplots se basa en conceptos geométricos sencillos. Por ejemplo, la similitud entre individuos es inversa a la distancia entre los mismos sobre la representación Biplot, como en el Análisis de Componentes Principales. Donde cambia con respecto a método es al interpretar las variables, y las relaciones entre estas y los individuos. Las longitudes de los vectores de las variables y los ángulos de estos se interpretan como variabilidad y covariabilidad de estas variables respectivamente. En cuanto a las relaciones con los individuos, estas se interpretan en términos de producto escalar, es decir, en términos de las proyecciones de los puntos de los individuos sobre los vectores de las variables (Vicente-Villardón, s.f.).

Un Biplot es una extensión del ACP en el que se añade información sobre las variables en la representación de los individuos.

Más formalmente, un biplot es la descomposición de una matriz $X_{n \times p}$ mediante el producto de otras dos

$$X = AB'$$

Ambas de dimensión menor que la de la matriz original. Las filas de $A = (a_1, \dots, a_n)'$ pueden usarse como marcadores para las filas y las de $B = (b_1, \dots, b_p)'$ como marcadores de X de forma que, si la dimensión de ambas es 2, se pueden representar en un plano de tal manera que el producto escalar de un marcador fila por un marcador columna aproxima el elemento correspondiente de la matriz:

$$x_{ij} \cong a_i' b_j$$

Los métodos estadísticos multivariantes utilizados en el estudio se basan en un procedimiento llamado Descomposición en Valores Singulares (SVD) que, a grandes rasgos, consiste en la transformación de una matriz más compleja en tres matrices más sencillas (Abdi, 2007), lo cual se explicará más adelante. Además el Biplot logístico se basa en otro análisis multivariante, el Análisis de Coordenadas Principales, que también se desarrollará.

4.1.- DESCOMPOSICIÓN EN VALORES SINGULARES

La SVD de una matriz X , con n filas y p columnas, se obtiene de la descomposición en el producto tres matrices (Golub y Reinsch, 1970):

$$X = U D V' \quad \text{con} \quad U'U = V'V = I,$$

siendo U la matriz $n \times r$ de los vectores propios normalizados de XX' (donde r es el rango de X), V la matriz $p \times r$ de los vectores propios normalizados de $X'X$ y $\Lambda = \text{diag}(\lambda_1, \dots, \lambda_r)$ la matriz diagonal $r \times r$ de los r valores singulares. La descomposición en valores singulares provee la mejor reconstrucción de la matriz

original en una matriz de menor rango, $s < r$, usando las s primeras columnas de las tres matrices de la descomposición (Abdi, 2007).

Descomposición en Valores Singulares Generalizados

La Descomposición en Valores Singulares Generalizados (GSVD) generaliza la SVD de una matriz incorporando dos matrices adicionales. Estas son definidas positivas, es decir, matrices simétricas cuyos valores propios son todos positivos, y representan métricas incorporadas en la descomposición (Abdi, 2007). En concreto, $M_{n \times n}$ que representa las restricciones impuestas a las filas en la matriz X y la otra matriz $N_{p \times p}$ representa la métrica impuesta a las columnas de X . La GSVD de X , teniendo en cuenta M y N , se expresa como:

$$X = U \Lambda V' \quad \text{con} \quad U' M U = V' N V = I$$

4.2.- CONSTRUCCIÓN DEL BILOT A PARTIR DE LA SVD (GSVD)

Si partimos de la SVD, que nos proporciona la mejor aproximación a bajo rango de la matriz de datos, es fácil construir un biplot que, además, aproxima lo mejor posible a la matriz de datos inicial. Tomaremos los marcadores para las filas y las columnas de X de la siguiente manera

$$A = U \Lambda^\gamma \quad \text{y} \quad B = V \Lambda^{1-\gamma}$$

Siendo γ cualquier valor entre 0 y 1. Entendemos que se han seleccionado las primeras s columnas de U , Λ y V antes de construir el biplot.

Para cualquiera de los valores de γ , la bondad del ajuste (aproximación de la matriz de datos) es la misma y puede medirse como

$$\rho^2 = \frac{\sum_{i=1}^s \lambda_i^2}{\sum_{i=1}^r \lambda_i^2}$$

Esta cantidad mide la bondad del ajuste global para el conjunto de todas las filas y las columnas.

Se puede calcular una medida de bondad del ajuste para cada fila o columna separadamente para cada dimensión. Las medidas se denominan Contribuciones Relativas del Factor al Elemento.

La Contribución Relativa del Factor al Elemento es la medida que tiene en cuenta la relación entre los ejes de la representación Biplot y cada variable original, representando la parte de la variabilidad de cada una de las variables explicada por el factor (Vicente-Villardón, s.f.). Esto nos permite saber cuáles son las variables que están más relacionadas con cada eje, y, por tanto, qué variables son las responsables de la colocación de los individuos sobre las proyecciones en cada uno de los ejes. Por tanto, como la contribución de cada eje a cada variable es independiente porque son construidas para que lo sean entre sí, para calcular la contribución de un plano simplemente hay que sumar las contribuciones de sus propios ejes.

Por tanto, como la contribución de cada eje a cada variable es independiente porque son construidas para que lo sean entre sí, para calcular la contribución de un plano simplemente hay que sumar las contribuciones de sus propios ejes. Las contribuciones sumadas se denominan Calidades de Representación.

Los casos particulares más interesantes son aquellos en los que γ vale 0 ó 1 ya que los marcadores tienen propiedades relacionadas con algunas de las técnicas multivariantes más conocidas.

Si $\gamma = 1$, entonces

$$A = U \Lambda \quad \text{y} \quad B = V$$

Las coordenadas de las filas son las puntuaciones sobre las componentes principales y permiten la representación de los individuos con alta calidad de representación. A esta representación se la suele denominar GH-Biplot o RMP-Biplot (Row metric preserving) porque representa mejor a las filas.

Si $\gamma = 0$, entonces

$$A = U \quad \text{y} \quad B = V \Lambda$$

Las coordenadas de las columnas son las correlaciones de las componentes principales y las variables originales (estandarizadas) y permiten la representación de la estructura de covariación de las variables con alta calidad de representación. A esta representación se la suele denominar JK-Biplot o CMP-Biplot (Column metric preserving) porque representa mejor a las columnas.

Para otros valores de γ las representaciones no tienen interpretaciones concretas aunque reproducen los valores originales exactamente con la misma calidad que las otras.

Pueden combinarse las coordenadas bien representadas tomando

$$A = U \Lambda \quad \text{y} \quad B = V \Lambda$$

Para obtener el denominado HJ-Biplot (Galindo, 1985) obteniendo una representación simultánea de las filas y las columnas que se interpreta usando los factores tal y como se hace en técnicas factoriales en la tradición francesa, como el Análisis de Correspondencias. El HJ-Biplot permite la interpretación de ambas nubes por separado con la misma calidad de representación que, además, es óptima. La aproximación de los elementos de la matriz mediante el producto escalar de marcadores fila y columna, no es óptima para este biplot, aunque puede utilizarse de forma aproximada.

4.3.- PROPIEDADES Y TIPOS DE BILOTS

Los resultados del biplot se muestran en forma de diagramas de dispersión, generalmente en dos dimensiones. Se produce entonces una reducción de la dimensionalidad, con la subyacente pérdida de información, la cual es capaz de distorsionar las configuraciones iniciales (Vicente-Villardón, s.f.).

Hay varios procedimientos que nos permiten buscar las dimensiones que hacen falta para describir óptimamente nuestros datos. Estos métodos fueron descritos para el ACP y para el Análisis de Correspondencias, pero se pueden extender a los Métodos Biplot. Estos procedimientos ya están descritos en el apartado del análisis de componentes principales.

Suponiendo que se ha seleccionado el número de dimensiones suficiente para explicar el comportamiento de los datos, se interpretarán las distancias entre individuos como disimilaridades entre los mismos, sobre todo si tienen una buena representación. En un GH-biplot, se interpretarán la longitud de los vectores que representan a las variables en términos de variabilidad y los ángulos de dos vectores como la correlación entre ellos (Vicente-Villardón, s.f.). En un JK-Biplot, como las variables están peor descritas que los individuos, este tipo de interpretaciones es menos exacta, aunque el biplot nos dará una idea aproximada de la relación con los ejes.

En cuanto a cómo están relacionados los individuos y las variables, se estudia gracias a la proyección de los individuos respecto a los vectores de las variables, lo cual hace que sea posible determinar cuáles son las variables que más diferencian los subconjuntos de individuos.

4.3.1.- EL GH-BILOT

Partiendo de la descomposición en valores singulares

$$X = U D V'$$

Suponiendo que los datos estén centrados, para el GH-Biplot se tienen en cuenta estos marcadores:

$$G = U \qquad H = VD$$

Este biplot tiene una serie de propiedades:

1. Los productos escalares de las columnas de la matriz X coinciden con los productos escalares de los marcadores H . Por tanto, la longitud de los vectores h aproxima la desviación típica de la variable X . Además, el coseno del ángulo de dos marcadores columnas aproxima la correlación entre esas variables.
2. Gracias a la distancia euclídea entre dos marcadores filas, se puede obtener una aproximación de la distancia de Mahalanobis de dos filas de X .
3. El GH-biplot nos da una mejor aproximación para las varianzas-covarianzas (columnas) que para el producto escalar en la métrica de Mahalanobis (filas). Por tanto, a este tipo de biplot se le denomina CMP-Biplot (biplot que preserva la métrica de las columnas) (Vicente-Villardón, s.f.).

4.3.2.- EL JK-BIPLLOT

Suponiendo que los datos están centrados, los marcadores para filas y columnas serán:

$$J = UD \qquad K = V$$

Este biplot tiene propiedades distintas al anterior, siendo las propiedades más relevantes las siguientes:

1. Los productos escalares de los marcadores J , coinciden con los productos escalares de las filas de la matriz X , y por tanto su aproximación es óptima. Por tanto, la distancia euclídea entre marcadores J coincide con la distancia entre dos filas de la matriz original pudiendo aproximar la distancia euclídea entre filas.
2. Las coordenadas de los individuos en las componentes principales coinciden con los marcadores fila.
3. Las proyecciones de los ejes originales en las componentes principales son las coordenadas de las columnas.
4. En este biplot, la calidad de representación es mejor para las filas.

Por tanto, a este tipo de biplot, se le denomina RMP-Biplot (biplot que preserva la métrica de las filas) (Vicente-Villardón, s.f.).

4.3.3.- HJ-BIPLLOT

Tal como hemos dicho antes, la calidad de representación en los Biplots anteriores es asimétrica, es decir, no tienen la misma calidad las filas y las columnas de la matriz de datos. Cuando son importantes las filas y las columnas en sí mismas, si se quieren interpretar las características de ambas, es más útil usar interpretaciones de representaciones simétricas. Con este fin aparece el HJ-Biplot (Galindo, 1985).

En este tipo de biplot, se eligen como marcadores:

$$J = UD \qquad H = VD$$

Vemos que, en este biplot, tanto en J como en H se encuentra la matriz D . En este biplot no se reproducen los elementos de la matriz original pero tiene la ventaja de se alcanza la máxima calidad de representación tanto para las filas como para las columnas de la matriz de datos.

Las propiedades generales del HJ-Biplot son las siguientes (Vicente-Villardón, s.f.):

1. Los marcadores columna y fila se pueden representar en el mismo sistema de referencia.
2. La calidad de representación de estas columnas y filas es la misma.

4.3.4.- BIPLLOT LOGÍSTICO EXTERNO

Se parte de una matriz X , en la que las filas corresponden a n individuos y las columnas a p variables o caracteres binarios. Sea $S = (s_{ij})$ una matriz que contiene las similitudes entre individuos, obtenida a partir de la matriz de datos binarios X y, por último, sea $\Delta = (\delta_{ij})$ la correspondiente matriz de disimilitud/distancia, tomando por ejemplo $\delta_{ij} = \sqrt{1 - s_{ij}}$.

A partir de la matriz de distancias calculamos las coordenadas principales $A = Y$, con el procedimiento descrito antes. Estas serían las coordenadas de los individuos en el biplot logístico. Buscamos coordenadas para las variables y su interpretación en el caso de que tengamos datos binarios.

Se puede demostrar que las configuraciones PCA también se obtienen aplicando un PCoA a la matriz de distancias euclídeas. Como se describe en Vicente-Villardón *et al.* (2006), un biplot clásico se obtiene ajustando regresiones lineales a esa configuración. Para buscar las variables asociadas a la ordenación obtenida en PCoA, podemos buscar las direcciones en el diagrama de ordenación que mejor predicen la probabilidad de presencia de cada carácter.

Más formalmente, definimos $\pi_{ij} = E(x_{ij})$ como la probabilidad esperada de que el carácter j esté presente en el individuo para un individuo con coordenadas a_{ik} ($i = 1, \dots, n; k = 1, \dots, s$) en el diagrama de ordenación, entonces:

$$\pi_{ij} = \frac{e^{b_{j0} + \sum_{k=1}^s b_{jk} a_{ik}}}{1 + e^{b_{j0} + \sum_{k=1}^s b_{jk} a_{ik}}}$$

donde b_{jk} ($j = 1, \dots, p$) son los coeficientes de Regresión Logística que corresponden a la j -ésima variable en la k -ésima dimensión. El modelo es un modelo lineal generalizado que tiene el logit como función de enlace.

$$\text{logit}(\pi_{ij}) = \log\left(\frac{\pi_{ij}}{1 - \pi_{ij}}\right) = b_{j0} + \sum_{k=1}^s b_{jk} a_{ik} = b_{j0} + \mathbf{a}_i' \mathbf{b}_j,$$

donde $\mathbf{a}_i = (y_{i1}, \dots, y_{is})'$ y $\mathbf{b}_j = (b_{j1}, \dots, b_{js})'$, los vectores \mathbf{a} y \mathbf{b} definen un biplot en escala logit. Se denomina Biplot Logístico Externo porque las coordenadas de los individuos se calculan en un procedimiento externo (PCoA). Dado que las \mathbf{a} 's se conocen a partir del PCoA, la obtención de las \mathbf{b} 's equivale a realizar una Regresión Logística utilizando la j -ésima columna de X como variable de respuesta y las columnas de A como regresores.

Vicente-Villardón *et al.* (2006) tiene una explicación completa de las propiedades geométricas del Biplot Logístico Externo. La ecuación de regresión predice la probabilidad de que un carácter esté presente en ese individuo. Geométricamente, las \mathbf{a} 's pueden representarse como puntos en el espacio de dimensión reducida y las \mathbf{b} 's son los vectores que muestran las direcciones que mejor predicen la probabilidad de presencia de cada carácter.

La predicción de las probabilidades se realiza de la misma manera que en un Biplot lineal. Los resultados del biplot se muestran en forma de diagramas de dispersión, generalmente en dos dimensiones. Se produce entonces una reducción de la dimensionalidad, con la subyacente pérdida de información, la cual es capaz de distorsionar las configuraciones iniciales (Vicente-Villardón, s.f.).

En cuanto a cómo están relacionados los individuos y las variables, se estudia mediante la proyección de los individuos respecto a los vectores de las variables, lo cual hace que sea posible determinar cuáles son las variables que más diferencian los subconjuntos de individuos.

Para facilitar la interpretación del gráfico, se sitúan puntos de probabilidades de predicción fijos en cada vector. La longitud del vector puede interpretarse como una medida inversa del poder discriminante de los caracteres. Los vectores con una menor longitud corresponderán a los caracteres que diferencian mejor a los individuos.

Dos caracteres que apuntan en la misma dirección están altamente y positivamente correlacionados, dos caracteres que apuntan en direcciones opuestas están negativamente correlacionados, y dos caracteres que forman un ángulo cercano a 90° están muy poco correlacionados. Para cada carácter, el diagrama de ordenación puede dividirse en dos regiones separadas que predicen la presencia o la ausencia, las dos regiones están separadas por la línea que es perpendicular a los vectores en el Biplot y corta el vector en el punto que predice 0,5.

En una situación práctica, no todos los caracteres están asociados a la ordenación. Debido al elevado número de caracteres que se suelen estudiar, es conveniente situar en el gráfico sólo los que están relacionados con la configuración, es decir, los que tienen una bondad de ajuste adecuada después de ajustar la Regresión Logística. Un criterio de bondad de ajuste, para seleccionar los caracteres, es el "porcentaje de clasificaciones correctas" calculado como el porcentaje de coincidencias entre la matriz binaria de datos y la matriz binaria esperada obtenida a partir de los modelos de Regresión Logística. Cuando se añade el porcentaje de clasificaciones correctas para todos los caracteres, se obtiene la bondad de ajuste global del Biplot logístico. Además, el pseudo R^2 -

Cuadrado realizado según Nagelkerke/Cragg y Uhler (Long, 1997) para las regresiones de las variables de resultado categóricas se utiliza como medida de la "calidad de la representación" y se interpreta de la manera comúnmente utilizada en el Análisis de Correspondencias (Tenenhaus y Young, 1985).

Además del pseudo R^2 puede realizarse un contraste para comparar el modelo de cada variable con el modelo nulo acompañado de una corrección de Bonferroni como criterio de selección de los caracteres con mayor poder discriminatorio. Con este método, sólo se incluirán en el Biplot aquellos caracteres que tengan un nivel de significación determinado ($P = 0,05/\text{número total de variables}$).

Con frecuencia el análisis también obtiene agrupaciones; se puede aplicar el Análisis de Clústers utilizando la matriz de distancia inicial o la matriz de distancia euclidiana ajustada \mathbf{D} obtenida del PCoA. Podría argumentarse que el uso de las coordenadas principales \mathbf{Y} o de la distancia ajustada \mathbf{D} para el análisis adicional puede dar lugar a una pérdida de información. Esto también puede pensarse como una forma de separar la señal del ruido; la pérdida de información que conlleva el uso de las Coordenadas Principales se compensa con el nivel de ruido que se reduce.

En resumen, el algoritmo general del Biplot Logístico Externo funciona como sigue:

1. Hacer un PCoA de la matriz de datos binarios, utilizando el coeficiente de similitud más adecuado para los datos.
2. Calcular la Regresión Logística estándar utilizando las coordenadas principales como variables independientes y cada carácter como dependiente.

3. Trazar el Biplot filtrando las variables utilizando la corrección de Bonferroni.
4. Dibujar los grupos utilizando las coordenadas principales y el algoritmo de clustering más adecuado.

4.3.5.- MANOVA BILOT/BILOT CANONICO

La técnica más popular para analizar datos multivariantes es el Análisis de Componentes Principales. Sin embargo, desde el punto de vista estadístico, no es la técnica adecuada cuando los individuos tienen una estructura de grupos. Para cuando se quiere buscar las diferencias entre varios grupos y se dispone de varias variables respuesta, el Análisis Multivariante de la Varianza o MANOVA es un análisis adecuado, con el MANOVA para estudiar la significación de las diferencias y el Análisis Canónico de Poblaciones (CVA) para estudiar la dimensionalidad de la hipótesis alternativa cuando se rechaza la nula en el MANOVA.

Existen más ventajas de utilizar el CVA:

- Este utiliza las direcciones que mejor muestran las diferencias entre grupos, a diferencia del PCA que utiliza las direcciones que explican la mayor parte de la variabilidad total.
- La importancia de diferencias entre grupos depende de la variabilidad dentro de estos, y el PCA no tiene en cuenta esta variabilidad, pero el CVA sí.
- El CVA no depende de la escala.
- La estructura de los grupos se utiliza directamente en los cálculos en el CVA.

Para poder representar los resultados, se utilizan Métodos Biplot para representar los resultados del MANOVA, poniendo de manifiesto las principales diferencias entre grupos, así como las variables responsables de las diferencias. Las inferencias sobre las variables se realizan mediante círculos de confianza situados sobre puntos que representan a los grupos y, por tanto, esta incorporación de pruebas gráficas de significación resalta la diferencia respecto a otros Biplots Clásicos. Este Canonical/MANOVA Biplot consiste en una representación conjunta de las medias de los grupos y las variables de una matriz de datos cuyas filas se dividen en varios grupos. Estas medias de los grupos se proyectan en las combinaciones de las variables observadas que mejor explican las diferencias entre los grupos, es decir, las variables canónicas.

En el propio gráfico, se pueden interpretar las similitudes entre grupos como función inversa de las distancias de Mahalanobis, las variables responsables de las diferencias entre grupos como proyecciones de los puntos del grupo sobre las direcciones de las variables y, por último, las correlaciones entre las variables como ángulos entre los vectores; significando los ángulos relaciones positivas, los obtusos negativas y los rectos se interpretan como ninguna relación.

Se parte de la suposición de que las n filas de la matriz de datos X se dividen en g grupos con cada grupo teniendo n_k individuos ($k = 1, 2, \dots, g; n = n_1 + n_2 + \dots + n_g$), los cuales están centrados por columnas (y si no tienen la misma escala de medición, normalizados). \bar{X} es la matriz que contiene las medias de cada grupo para cada variable, D_n la matriz diagonal que contiene los tamaños de las muestras de los grupos y, por último, $W = \frac{1}{n-g} (X'X - \bar{X}'D_n\bar{X})$ y $B = \frac{1}{g-1} \bar{X}'D_n\bar{X}$ las matrices de covarianza "dentro de los grupos" y "entre los grupos", respectivamente.

El Análisis Canónico se deriva de los vectores propios de $W^{-1}B$ y de ahí se obtiene las combinaciones lineales de las variables con el máximo poder discriminatorio. La primera variable canónica se interpreta como la combinación lineal que muestra las mayores diferencias entre grupos. La segunda variable es ortogonal a esta y explica la mayor parte de diferencias restantes, y así de forma sucesiva.

Si consideramos la matriz

$$\bar{Y} = D_n^{1/2} \bar{X} W^{-1/2}$$

de las medias ponderadas del grupo, y su Descomposición en Valores Singulares (SVD) es

$$Y = U D_\lambda V'$$

Entonces al despejar X obtenemos $\bar{X} = D_n^{-1/2} U D_\lambda V' W^{1/2}$ que es el SVD generalizado de X , con D_n y W^{-1} como métricas. Por tanto, los grupos se ponderan según el tamaño de la muestra y la información redundante en las variables es eliminada. La GSVD proporciona la mejor aproximación de bajo rango de la matriz utilizando los primeros valores y vectores singulares.

La descomposición nos permite construir una representación biplot para la matriz de medias de grupo $\bar{X} \cong AB'$, tomando las primeras s columnas de $A = D_n^{-1/2} U D_\lambda$ como marcadores fila y las primeras s columnas de $B = W^{1/2} V$ como los marcadores de columna. Se representarán los primeros como puntos en el diagrama de dispersión y los segundos como vectores.

La distancia euclídea entre marcadores fila se aproxima a la distancia de Mahalanobis entre grupos. Por ello, como en el resto de Biplots, la similitud entre grupos se mide como la función inversa de sus distancias entre sí en el gráfico y el ángulo entre variables se puede interpretar como aproximación a su corrección.

El producto interno $a'_k b_j$ de un marcador fila a_k por un marcador de columna b_j aproxima a la media x_{kj} del grupo k en la variable j , lo cual permite la caracterización de las diferencias entre grupos.

Se añaden a los marcadores de grupo círculos de confianza de forma que sus proyecciones sobre la dirección que representa una variable aproximen un intervalo de confianza. Al comprobar la superposición de dos proyecciones podemos ver si existe significación de la diferencia entre los grupos sobre una variable concreta.

El radio del círculo es calculado como $t_{n-g,\alpha}/\sqrt{n_k}$, siendo $t_{n-g,\alpha}$ el punto crítico de una distribución t de Student con $n - g$ grados de libertad, con un nivel de significación de α . Para comparaciones múltiples se puede corregir el procedimiento. Por ejemplo, una corrección de Bonferroni se haría dividiendo el nivel de significación por el número de grupos.

Si no se encuentra ninguna superposición en el procedimiento podemos concluir que hay una diferencia significativa, pero si hay una superposición podríamos encontrar una diferencia significativa a lo largo de otra dirección del espacio multidimensional, por lo que el test puede considerarse como conservador.

5.- ANALISIS KAPLAN MEIER

El estimador Kaplan-Meier

El estimador de Kaplan-Meier o estimador del límite del producto, es un estadístico no paramétrico utilizado para estimar la función de supervivencia de los datos del tiempo de vida de unos individuos. Normalmente se suele utilizar en

la investigación médica para medir la proporción de pacientes que viven en un tiempo determinado después de aplicarles un tratamiento.

El estimador de la función de supervivencia $S(t)$, es decir, la probabilidad de que la vida sea más larga que t viene dado por:

$$\hat{S}(t) = \prod_{i:t_i \leq t} \left(1 - \frac{d_i}{n_i}\right),$$

siendo t_i el tiempo en el que ocurrió al menos un evento, d_i el número de eventos que ocurrieron en el tiempo t_i , y n_i los individuos que se sabe que han sobrevivido (aún no han tenido un evento o han sido censurados) hasta el tiempo t_i .

Un gráfico del estimador de Kaplan-Meier es una serie de pasos horizontales decrecientes que, con un tamaño de muestra suficientemente grande, se aproxima a la verdadera función de supervivencia de esa población y se supone que el valor de la función de supervivencia entre las sucesivas observaciones es constante (Kaplan y Meier, 1958).

Para crear el estimador Kaplan-Meier, se requieren al menos dos datos para cada individuo: el estado en la última observación (aparición del evento o censura a la derecha) y el tiempo hasta el evento (o censura). Si se van a comparar las funciones de supervivencia entre dos o más grupos, se requiere la asignación de grupo de cada sujeto.

La curva de Kaplan-Meier tiene una ventaja importante, ya que el método puede tener en cuenta algunos tipos de datos censurados, como la censura a la derecha. Esta se produce si un paciente se retira de un estudio, se pierde durante el seguimiento, o está vivo sin que se produzca ningún evento en el último seguimiento. En el gráfico, esto se indica mediante pequeñas marcas verticales

que muestran los pacientes individuales cuyos tiempos de supervivencia han sido censurados a la derecha.

El estimador de Kaplan-Meier es uno de los métodos de análisis de supervivencia más utilizados (Bland y Altman, 1998). Sin embargo, su capacidad para estimar la supervivencia ajustada por covariables es limitada; para ello se utilizan los modelos de riesgos proporcionales de Cox, de lo que hablaremos más adelante.

Definición

Sea $\tau \geq 0$ una variable aleatoria, que consideramos como el tiempo hasta que se produce un evento de interés. El objetivo es estimar la función de supervivencia S subyacente a τ , definida como:

$$S(t) = \text{Prob}(\tau > t), \text{ donde } t = 0, 1, \dots \text{ es el tiempo}$$

Sean $\tau_1, \dots, \tau_n \geq 0$ variables aleatorias independientes e idénticamente distribuidas, cuya distribución común es $\tau: \tau_j$, que consiste en el tiempo aleatorio en el que ocurrió algún evento j . Los datos disponibles para estimar S serán la lista de pares $((\tilde{\tau}_j, c_j))_{j=1, \dots, n}$ donde para $j \in [n] := \{1, 2, \dots, n\}$, $c_j \geq 0$ es número entero fijo y determinista, que es el tiempo de censura del suceso j y $\tilde{\tau}_j = \min(\tau_j, c_j)$. En concreto, la información disponible sobre el momento del suceso j consiste en si el suceso ha ocurrido antes del momento fijo c_j y, si es así, también se dispone del momento real del suceso. El reto consiste en estimar $S(t)$ con estos datos (Jager *et al.*, 2008).

Consideraciones estadísticas

Se utilizan varios estimadores para aproximar la varianza del estimador de Kaplan-Meier. La fórmula de Greenwood es uno de los estimadores más comunes:

$$\widehat{var}(\hat{S}(t)) = \hat{S}(t)^2 \sum_{i:t_i \leq t} \frac{d_i}{n_i(n_i - d_i)},$$

siendo d_i es el número de casos y n_i es el número total de observaciones, para $t_i < t$.

Para comprar diferentes curvas de Kaplan-Meier se puede hacer mediante la prueba de rango logarítmico (Log-Rank) y la prueba de riesgos proporcionales de Cox.

Por último, hay que comentar que el estimador Kaplan-Meier se basa en una serie de supuestos:

- La censura no está relacionada con el pronóstico
- Los acontecimientos ocurrieron en los momentos especificados.
- Las probabilidades de supervivencia son las mismas para los sujetos reclutados al principio y al final del estudio.

6.- TEST DE LOG-RANK

La prueba Log-Rank es una prueba de hipótesis que se usa en la comparación de más comunes es en ensayos clínicos para establecer la eficacia de un nuevo tratamiento en comparación con un tratamiento de control cuando la medida de la que se dispone es el tiempo hasta el evento.

La prueba de rango logarítmico se basa en los mismos supuestos en los que se basa la curva de supervivencia de Kaplan-Meier. Las desviaciones de estos supuestos son más importantes si estas desviaciones se cumplen de forma diferente en los grupos que se comparan como, por ejemplo, si la censura es más probable en un grupo que en otro (Bland y Altman, 2004).

Definición

El estadístico de prueba Log-Rank se encarga de comparar las estimaciones de las funciones de riesgo de los dos grupos en cada momento observado. La construcción de este estadístico consiste en calcular los eventos esperados y observados que ocurrirán en uno de los grupos en cada momento observado (Bland y Altman, 2004). Posteriormente, para obtener un resumen en todos los puntos que hay un evento, estos se sumarán.

Empezamos considerando dos grupos de pacientes. Un ejemplo sería tratamiento frente a control. Sea $1, \dots, J$ los tiempos distintos de los eventos observados en cualquiera de los grupos. Sea $N_{1,j}$ y $N_{2,j}$ el número de sujetos al inicio del periodo j en los grupos 1 y 2 respectivamente que aún no han tenido un evento o han sido censurados. Sea $O_{1,j}$ y $O_{2,j}$ el número observado de eventos en los grupos en el momento j . Por último, definimos la expresión $N_j = N_{1,j} + N_{2,j}$ y $O_j = O_{1,j} + O_{2,j}$.

La hipótesis nula de la que se parte es que los dos grupos tienen funciones de riesgo idénticas, $H_0: h_1(t) = h_2(t)$. Por lo tanto, bajo la hipótesis nula, para cada grupo $i=1, 2$, $O_{i,j}$ sigue una distribución hipergeométrica con un valor esperado:

$$E_{i,j} = N_{i,j} \frac{O_j}{N_j}$$

y una varianza:

$$V_{i,j} = E_{i,j} \left(\frac{N_j - O_j}{N_j} \right) \left(\frac{N_j - N_{i,j}}{N_j - 1} \right)$$

Para todos los $j=1, \dots, J$, el estadístico Log-Rank compara $O_{i,j}$ con su expectativa $E_{i,j}$ bajo la hipótesis nula. Se define como:

$$Z = \frac{\sum_{j=1}^J (O_{i,j} - E_{i,j})}{\sqrt{\sum_{j=1}^J V_{i,j}}} \xrightarrow{d} \mathcal{N}(0,1) \quad (\text{para } i = 1 \text{ o } 2)$$

La distribución de Z converge a la de una distribución normal estándar a medida que J se aproxima al infinito debido al teorema del límite central y, por tanto, se puede aproximar con una distribución normal estándar si hay un J suficientemente grande.

7.- MODELO DE COX

El modelo de Cox o modelo de riesgos proporcionales es otra clase de modelos de supervivencia en estadística. En esta clase de modelos, el efecto de un aumento unitario de una covariable es multiplicativo respecto a la tasa de riesgo. Los modelos de supervivencia se pueden considerar que están compuestos por dos partes: la función de riesgo $\lambda_0(t)$ que describe cómo el riesgo de evento por unidad de tiempo cambia a lo largo del tiempo en los distintos niveles de referencia de las covariables; y los parámetros de efecto, que describen cómo en respuesta a las covariables explicativas el riesgo varía (Breslow, 1975).

La condición de este modelo establece que las covariables están relacionadas de forma multiplicativa con el riesgo. La covariable no se limita a los predictores binarios; en el caso de una covariable continua x , se suele suponer que el riesgo responde exponencialmente; cada aumento unitario de x da lugar a un aumento proporcional del riesgo.

La probabilidad parcial de Cox, se obtiene utilizando la estimación de Breslow de la función de riesgo base, introduciéndola en la probabilidad completa y luego observar que el resultado es un producto de dos factores. El primer factor es la probabilidad parcial en la que el riesgo de referencia desaparece. El segundo

factor está libre de los coeficientes de regresión y depende de los datos sólo a través del patrón de censura. El efecto de las covariables estimado por cualquier modelo de riesgos proporcionales puede, por tanto, presentarse como ratios de riesgos.

Si se supone que se cumple el supuesto de riesgos proporcionales, es posible estimar el parámetro o parámetros del efecto sin tener en cuenta la función de riesgo, y este enfoque consiste en el modelo de riesgos proporcionales de Cox.

Sea $X_i = (X_{i1}, \dots, X_{ip})$ los valores de las covariables para el sujeto i . La expresión da la función de riesgo en el tiempo t para el sujeto i con el vector de covariables (variables explicativas) X_i y tiene la forma:

$$\lambda(t|X_i) = \lambda_0(t) \exp(\beta_1 X_{i1} + \dots + \beta_p X_{ip}) = \lambda_0(t) \exp(X_i \cdot \beta)$$

La probabilidad de que el evento observado ocurra para el sujeto i en el tiempo Y_i puede escribirse como

$$L_i(\beta) = \frac{\lambda(Y_i|X_i)}{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \lambda(Y_i|X_j)} = \frac{\lambda_0(Y_i)\theta_i}{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \lambda_0(Y_i)\theta_j} = \frac{\theta_i}{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j},$$

donde $\theta_j = \exp(X_j \cdot \beta)$ y el sumatorio se realiza sobre el conjunto de sujetos j en los que el evento no ha ocurrido antes del tiempo Y_i . Se trata de una verosimilitud parcial: el efecto de las covariables puede ser estimado sin necesidad de modelar el cambio en el riesgo a lo largo del tiempo (Breslow, 1975).

Suponiendo que los sujetos son estadísticamente independientes entre sí, la probabilidad conjunta de todos los sucesos realizados es la siguiente verosimilitud parcial, donde la ocurrencia del suceso se indica por $C_i = 1$:

$$L(\beta) = \prod_{i:C_i=1} L_i(\beta)$$

La correspondiente probabilidad parcial logarítmica es:

$$\ell(\beta) = \sum_{i:C_i=1} \left(X_i * \beta - \log \sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j \right)$$

Esta función puede maximizarse sobre β para producir estimaciones de máxima verosimilitud parcial de los parámetros del modelo.

La función de puntuación parcial es:

$$\ell'(\beta) = \sum_{i:C_i=1} \left(X_i - \frac{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j X_j}{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j} \right)$$

y la matriz Hessiana de la log-verosimilitud parcial es

$$\ell''(\beta) = - \sum_{i:C_i=1} \left(\frac{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j X_j X_j'}{\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j} - \frac{[\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j X_j][\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j X_j']}{[\sum_{j:Y_j \geq Y_i} \theta_j]^2} \right)$$

Con la función de puntuación y la matriz hessiana, la probabilidad parcial se puede maximizar utilizando el algoritmo de Newton-Raphson. La inversa de la matriz hessiana, evaluada en la estimación de β , puede utilizarse como una matriz de varianza-covarianza aproximada para la estimación, y utilizarse para producir errores estándar aproximados para los coeficientes de regresión.

8.- ANÁLISIS DE SERIES TEMPORALES

8.1.- Introducción al análisis de series temporales

Una serie temporal consiste en una colección de observaciones de una variable realizadas de forma secuencial en el tiempo. En ella el orden de observación es importante, ya que los valores van ligados a instantes de tiempo. Por tanto, el análisis de una serie temporal consiste en el manejo conjunto de dos variables: la variable de estudio y la variable del tiempo. Las series pueden tener

diferentes periodicidades como una periodicidad anual, semestral, trimestral, mensual, etc, según los periodos de tiempo en los que se recogen los datos que la componen. En esta clase de análisis se pretende extraer las regularidades que se observan en el comportamiento pasado de la variable. Mediante ello, se puede analizar el mecanismo que la genera y, por tanto, tener un mejor conocimiento de la misma en el tiempo (Hyndman y Athanasopoulos, 2018).

El estudio de una serie temporal puede tener distintos objetivos. Cuando existe una única variable, el objetivo del análisis de series temporales suele ser construir un modelo para explicar la estructura o prever la evolución de la variable de estudio. Al observar simultáneamente un grupo de variables, el objetivo que se persigue consiste generalmente en analizar las posibles relaciones entre las variables observadas y su evolución conjunta entre sí.

El estudio de las series temporales se inicia realizando una representación gráfica de la misma. Esta representación nos permite analizar algunas características básicas de la serie como son los movimientos a largo plazo, su tendencia, posible existencia de ciclos, valores anómalos, etc. La representación gráfica, juega un papel fundamental, ya que nos permitirá decidir en muchos casos el análisis a realizar. Esta representación suele ser mediante un gráfico de secuencias, representando en el eje de abscisas el tiempo y la variable cuya evolución en el tiempo queremos estudiar en el eje de ordenadas (Hyndman y Athanasopoulos, 2018).

8.2.- Componentes de una serie de tiempo

La teoría clásica de las series de tiempo, se basa en que toda serie de tiempo empírica está formada por cuatro componentes, cuya actuación conjunta da como resultado los valores medidos:

- **Tendencia:** Componente de periodo largo, que refleja la evolución a largo plazo. Solo tiene sentido vincularla a un número suficientemente grande de

años. La tendencia puede ser creciente, decreciente o constante. Indica el comportamiento promedio de la serie a lo largo de los años.

- **Componente estacional:** Son fluctuaciones regulares de periodo corto y conocido, es decir, menos de 1 año. Se trata de una componente casual debida a la influencia de ciertos fenómenos que se repiten de manera periódica. Se deben frecuentemente a causas climatológicas y reflejan los efectos de estas sobre las variables en estudio. Su reproducción en los distintos años se puede reconocer fácilmente. El periodo no tiene que coincidir con la estación del año, puede ser el mes, la semana o incluso un día del año. La componente recoge las oscilaciones que se producen en esos periodos de repetición.
- **Componente Cíclica:** Son fluctuaciones de periodo largo, recogiendo las oscilaciones periódicas de amplitud superior a un año. Consiste en movimientos normalmente irregulares alrededor de la tendencia. A diferencia de las variaciones estacionales, tiene un periodo y amplitud variables. Es la componente más difícil de determinar ya que frecuentemente pueden superponerse varios ciclos.
- **Componente aleatoria o residual:** También llamada ruido, no muestra ninguna regularidad (salvo las regularidades estadísticas), y son debidos a fenómenos de carácter ocasional, que no se pueden vaticinar. Son movimientos que no muestran un carácter periódico reconocible. En general son ocasionados por fenómenos particulares que afectan a la variable en estudio no de manera permanente, sino por algo casual.

8.3.- Patrones estacionales múltiples

Los datos de los que disponemos se pueden modelar mediante métodos para series temporales. Como se mencionó con anterioridad, normalmente una serie temporal se descompone en varias componentes que son habitualmente, una

tendencia a largo plazo, una componente estacional, una cíclica y una componente residual. En nuestro caso, la serie temporal es demasiado pequeña para que exista una componente cíclica. Si denotamos con X_t los valores de la serie temporal, la descomposición puede escribirse como:

$$X_t = \hat{T}_t + \hat{S}_t + \hat{R}_t$$

donde \hat{T}_t , \hat{S}_t y \hat{R}_t son la tendencia, la componente estacional y la componente residual respectivamente. La mayor parte de los modelos clásicos de series temporales consideran una única componente estacional.

Actualmente, con la implantación de sensores automáticos se dispone de datos con frecuencias mucho más altas, como a cada hora, cada minuto, etc... En el caso que estamos analizando, los datos se han tomado cada hora a lo largo de los días durante cuatro años. En este tipo de datos con frecuencias altas, probablemente, existirán varios patrones de estacionalidad (Bandara *et al.*, 2020). Por ejemplo, si disponemos de datos de la demanda horaria de electricidad podemos encontrar un patrón estacional diario debido a la diferencia de demanda entre las distintas horas del día, un patrón estacional semanal, debido a las diferencias entre días laborables y festivos e incluso un patrón anual relacionado con el clima.

En el caso de, por ejemplo, los datos de temperatura, o incluso de la diferencia en las temperaturas tendremos una estacionalidad diaria (el periodo consiste en 24 horas), que se corresponde con las diferencias de temperatura a lo largo del día. En el caso de las diferencias de temperatura fuera y dentro del matorral cabe esperar que, durante el día, el matorral proteja de la radiación solar y la temperatura sea más fría dentro mientras que, durante la noche, el matorral proteja del frío y la temperatura sea más alta dentro. Si hacemos la diferencia *fuera-dentro* querría decir que en las horas de más calor la diferencia es positiva mientras que en las de más frío será negativa.

En nuestro caso no existirá un patrón estacional semanal, ya que no tiene

por qué existir diferencias entre distintos días de la semana, como en el caso de la demanda de electricidad. Sin embargo, existirá también un patrón estacional anual, ya que los valores cambiarán sistemáticamente a lo largo de las estaciones como el verano o el invierno.

Podríamos tener otro patrón no fácilmente identificable que está relacionado con la noche y el día, pero como las horas de noche y de día cambian a lo largo del año, las diferencias en temperatura en distintas horas dependen del día concreto del año. Además es posible que de alguna manera podría interpretarse como una interacción o efecto multiplicativo conjunto de la hora y el día. Este efecto es complejo y se añadiría a los efectos aditivos de la hora y el día.

Así el modelo que podemos tener ahora sería:

$$X_t = \hat{T}_t + \hat{S}_t^H + \hat{S}_t^D + \hat{R}_t$$

donde \hat{S}_t^H sería el patrón estacional horario dentro del día y \hat{S}_t^D el patrón estacional diario dentro del año.

Uno de los métodos tradicionales de descomposición de series temporales más utilizados es la descomposición Estacional-Tendencia mediante Loess o STL (Cleveland *et al.*, 1990). Aunque este método se ha utilizado bastantes veces en muchas aplicaciones del mundo real debido a su robustez y eficiencia, esta técnica sólo puede manejar series temporales con una única estacionalidad. Más recientemente, se han planteado métodos para descomponer series temporales con múltiples patrones estacionales (Dokumentov y Hyndman, 2021; Wen *et al.*, 2020). Por ejemplo, Dokumentov y Hyndman (2021) introdujeron la descomposición estacional-tendencia por regresión (STR), una técnica de descomposición aditiva basada en la regresión, que también es capaz de modelar la influencia de factores externos hacia los patrones estacionales en una serie temporal.

Para obtener las distintas estacionalidades, hay que introducir la Descomposición STL Múltiple (MSTL), un algoritmo de descomposición de

series temporales totalmente automatizado y aditivo para manejar series temporales con múltiples ciclos estacionales. El algoritmo MSTL es una versión ampliada del algoritmo de descomposición STL, en el que el procedimiento se aplica de forma iterativa para estimar los múltiples componentes estacionales de una serie temporal. Esto permite al MSTL controlar la suavidad del cambio de componentes estacionales para cada ciclo estacional extraído de la serie temporal, y separar sin problemas sus variaciones estacionales. En el caso de las series temporales no estacionales, el MSTL sólo determina los componentes de tendencia y resto de la serie temporal.

En concreto, el algoritmo MSTL determina inicialmente el número de patrones estacionales disponibles en la serie temporal. A menudo, los múltiples patrones estacionales no están anidados estructuralmente y se entrelazan entre sí. Como resultado, durante la descomposición, los componentes estacionales relevantes para un ciclo estacional inferior pueden ser excesivamente absorbidos por un ciclo estacional superior. Para minimizar esa confusión estacional, en el segundo paso, el MSTL ordena los ciclos estacionales identificados en orden ascendente. A continuación, si la serie temporal es estacional, el MSTL aplica el algoritmo STL de forma iterativa a cada una de las frecuencias estacionales identificadas. A continuación la componente de tendencia de la serie temporal se calcula utilizando la última iteración de STL. Por último, para calcular la parte restante de las series temporales estacionales, el componente de la tendencia se resta de la serie temporal ajustada estacionalmente.

8.4.- Método de las medias móviles

En ocasiones se habrá aplicado el método de medias móviles para representar una serie temporal de forma más clara. Este método permite “suavizar” una serie, calculando de manera reiterativa valores medios, según el procedimiento que se describe a continuación:

Se debe calcular un conjunto de medias, cada una de ellas utilizando p valores. Considerando dos situaciones:

- p impar

$$\bar{y}_{\frac{p+1}{2}} = \frac{y_1 + y_2 + \dots + y_p}{p}$$

$$\bar{y}_{\frac{p+3}{2}} = \frac{y_2 + y_3 + \dots + y_{p+1}}{p}$$

$$\bar{y}_{\frac{p+5}{2}} = \frac{y_3 + y_4 + \dots + y_{p+2}}{p}$$

Y así sucesivamente. Los valores serán enteros, ya que p es impar. Mediante esto se habrá reducido la cantidad de datos existentes y se podrá realizar una representación gráfica más clara.

- p es par

En este caso tenemos que realizar dos pasos:

1. Realizando el mismo proceso que cuando p es impar, pero al ser un número par, la serie queda descentrada. Por tanto, los valores obtenidos no serán números enteros, así que todavía hay que realizar un segundo paso.
2. Se calcula las medias móviles entre cada par de medias móviles consecutivas obtenidas en el paso 1°.

$$\bar{y}_{\frac{p+2}{2}} = \frac{\frac{\bar{y}_{\frac{p+1}{2}} + \bar{y}_{\frac{p+3}{2}}}{2}}{2}$$

$$\bar{y}_{\frac{p+4}{2}} = \frac{\frac{\bar{y}_{\frac{p+3}{2}} + \bar{y}_{\frac{p+5}{2}}}{2}}{2}$$

El método de medias móviles es útil cuando se tienen series muy largas. Este método amortigua las crestas y valles de la trayectoria de la serie temporal, lo cual será de utilidad más adelante.



Capítulo 4

Análisis de la emergencia de las plántulas de *Quercus*

Parcialmente publicado en:

Díaz Hernández, R., Vicente Villardón, J.L., Martínez-Ruiz C. & Fernández-Santos B.
2021. The effects of native shrub, fencing, and acorn size on the emergence of
contrasting co-occurring oaks in Mediterranean grazed areas. **Forests** 12 (3): 307
<https://doi.org/10.3390/f12030307>

1.- METODOLOGÍA

Los análisis de emergencia se aplicarán a una base de datos que consiste, por una parte, en 18 variables binarias que indican si cada plántula concreta ha emergido en cada una de esas 18 fechas. Por la otra parte consiste en variables binarias que indican el resto de factores: la presencia/ausencia de matorral, presencia/ausencia de valla, la especie de *Quercus* y el tamaño de la bellota. En primer lugar, se realizó un análisis de varianza de múltiples vías (ANOVA) con los valores de emergencia (en porcentaje) obtenidos al final del periodo de estudio. Los cuatro factores cuyos efectos queríamos analizar eran: el matorral (niveles: matorral/no matorral); la valla (vallado/abierto); la especie de *Quercus* (*Q. pyrenaica* y *Q. ilex*); y el tamaño (pequeño/grande). El sitio/bloque se añadió como factor aleatorio. Cuando el ANOVA fue significativo, se calcularon las comparaciones de las medias mediante la prueba de Tukey. Todas las interacciones de tres y cuatro vías se eliminaron del modelo para evitar el sobreajuste.

Para el análisis de la emergencia a través del tiempo, se realizó un ANOVA de cuatro vías de medidas repetidas. Se incluyeron los datos hasta junio del segundo año. Esto se hizo así porque sólo se registró una emergencia más más tarde que esta fecha, y además las fechas repetidas con la misma frecuencia de emergencia podrían resultar en un enmascaramiento de la significación de los resultados. Como en el análisis al final del periodo de estudio, todas las interacciones de cuatro y cinco vías se eliminaron del modelo para evitar el sobreajuste. Dado que no se cumplieron los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk) y homocedasticidad, se llevó a cabo la transformación del arcoseno de los datos. Como en el ANOVA de múltiples vías, al ser este significativo, se calcularon las comparaciones de las medias mediante la prueba de Tukey.

Por último, se utilizaron métodos Biplot para analizar las interacciones entre las fechas e individuos. Se llevaron a cabo tanto Biplots Logísticos como Biplots Canónicos, aplicándose los primeros a la base de datos inicial (la de variables binarias) y los segundos a los porcentajes de emergencia a los que se le realizó la transformación del arcoseno.

2.- RESULTADOS

2.1.- EMERGENCIA AL FINAL DEL PERÍODO DE ESTUDIO

Al final del periodo de estudio, el porcentaje global de emergencia fue del 77%, habiendo emergido el 88% de las bellotas de *Q. ilex* y el 66.50% de las de *Q. pyrenaica*. Los valores medios más contrastados fueron del $36\% \pm 13\%$ para las bellotas pequeñas de *Q. pyrenaica* en el tratamiento sin matorral (NO), y del $100\% \pm 0\%$ para las bellotas grandes de *Q. ilex* en el tratamiento con matorral (SO).

El ANOVA multifactorial (tabla 1) mostró diferencias significativas en la emergencia para el efecto principal del factor matorral pero no detectó interacción significativa con ningún otro factor. El factor especie de *Quercus* y la interacción entre los factores valla y especie de *Quercus* también fueron significativos en la emergencia. Así, la emergencia fue significativamente mayor en el tratamiento con matorral ($87\% \pm 3\%$) que en el tratamiento sin matorral ($67\% \pm 4\%$) (figura 1A). Este efecto positivo de los matorral se detectó tanto para *Q. ilex* ($97\% \pm 2\%$ vs. $79\% \pm 5\%$) como para *Q. pyrenaica* ($76\% \pm 5\%$ vs. $55\% \pm 6\%$) (figura 1B). Sin embargo, el incremento de la emergencia en el tratamiento con matorral comparado con el tratamiento sin matorral fue algo mayor para *Q. pyrenaica* que para *Q. ilex*; el ratio de incremento fue de 0,382 y 0,228, respectivamente.

Además, la emergencia de *Q. ilex* fue mayor que la de *Q. pyrenaica* ($88\% \pm 3\%$ frente a $66\% \pm 4\%$) tanto en los tratamientos con matorral como sin ellos (figura 1B), y en los tratamientos abiertos ($93\% \pm 4\%$ frente a $58\% \pm 6\%$) (figura 1C). No

hubo efecto principal del factor cercado sobre la emergencia cuando se consideraron ambas especies de *Quercus* juntas ($78\% \pm 4\%$ y $75\% \pm 4\%$ en los tratamientos cercados y abiertos, respectivamente). Sin embargo, al analizar la interacción valla \times especies de *Quercus*, se observaron mayores diferencias entre los tratamientos vallados y abiertos para *Q. pyrenaica* ($73\% \pm 5\%$ vs. $58\% \pm 6\%$) que para *Q. ilex* ($83\% \pm 5\%$ vs. $93\% \pm 4\%$), siendo el balance positivo para la primera especie (figura 1C). No se detectó ningún efecto principal del factor tamaño de la bellota sobre la emergencia, pero sí en la interacción con la especie *Quercus*, siendo significativas las diferencias entre bellotas pequeñas y grandes de *Q. pyrenaica* ($54\% \pm 5\%$ vs. $78\% \pm 5\%$) pero no para *Q. ilex* ($86\% \pm 5\%$ vs. $90\% \pm 3\%$) (figura 1D). La interacción entre el tamaño de la bellota y el matorral mostró que en los tratamientos abiertos los valores medios de emergencia diferían más entre bellotas pequeñas y grandes ($59\% \pm 7\%$ vs. $75\% \pm 5\%$) que en los tratamientos de matorral ($87\% \pm 4\%$ vs. $86\% \pm 5\%$), aunque las diferencias no fueron significativas.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	<i>p</i>
Shrub	1.681	1	1.681	20.016	<0.001
Fence	0.001	1	0.001	0.012	0.915
<i>Quercus</i> species	2.585	1	2.585	30.770	<0.001
Size	0.195	1	0.195	2.316	0.133
Site	0.691	4	0.173	2.056	0.097
Shrub \times Fence	0.211	1	0.211	2.509	0.118
Shrub \times <i>Quercus</i>	0	1	0	0.004	0.950
Shrub \times Size	0.183	1	0.183	2.175	0.145
Fence \times <i>Quercus</i>	0.724	1	0.724	8.621	0.005
Fence \times Size	0.008	1	0.008	0.096	0.758
<i>Quercus</i> \times Size	0.064	1	0.064	0.757	0.387
Error	5.460	65	0.084		

Tabla 1.- Resultados del ANOVA multifactorial para los datos de porcentaje de emergencia (transformados en arco seno) obtenidos al final del periodo de estudio.

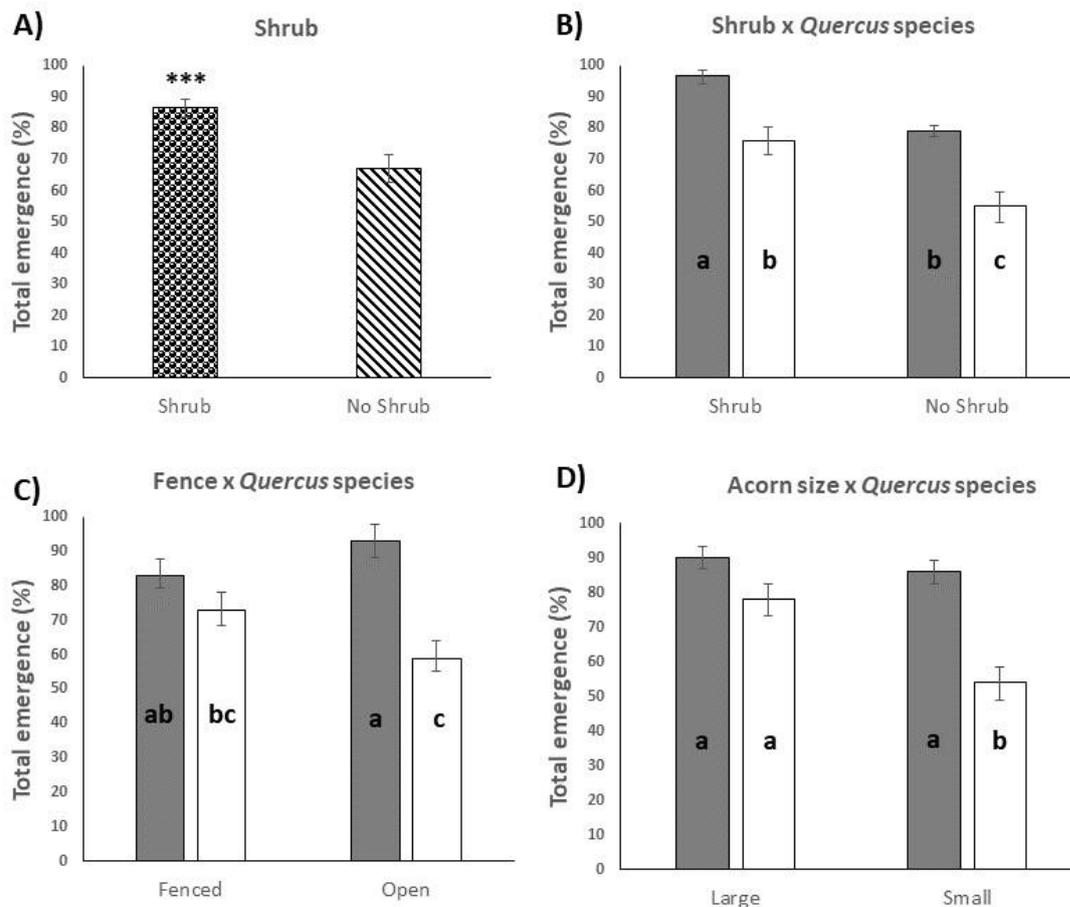


Figura 1.- Porcentaje de emergencia (media \pm SE) obtenido en cada tratamiento al final del periodo de estudio, para ambas especies de *Quercus* juntas (A) y para cada especie de *Quercus* (B-D). Barras grises para *Q. ilex* y barras blancas para *Q. pyrenaica*. Se muestran los resultados tras el ANOVA multifactorial. *** indican diferencias altamente significativas (test de Tukey; $p < 0,001$). Con letras los resultados de las comparaciones por pares entre las interacciones de dos factores; letras diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey; $p < 0,05$).



2.2.- EMERGENCIA A TRAVÉS DEL TIEMPO

La emergencia de las plántulas comenzó 3,5 meses después de la siembra y el 98,4% de la emergencia total tuvo lugar de abril a octubre del primer año. En los 3 años siguientes, sólo emergieron 5 plántulas más, cuatro de ellas en la primavera del segundo año y una en el tercero (1,3 y 0,3% de la emergencia total, respectivamente).

El ANOVA de medidas repetidas proporcionó los siguientes resultados. En la prueba de efectos entre sujetos (sin analizar la interacción con el tiempo), sólo se detectaron diferencias significativas en la emergencia para el factor matorral ($df = 1$, $F = 19,471$, $p < 0,001$), especie de *Quercus* ($df = 1$, $F = 27,443$, $p < 0,001$), y para la interacción valla \times especie de *Quercus* ($df = 1$, $F = 6,264$, $p = 0,015$). Estos resultados, considerando todo el proceso temporal, fueron como los obtenidos en el ANOVA multifactorial que utilizó los datos de emergencia acumulada obtenidos al final del periodo de estudio, que se exponen en el apartado anterior (tabla 1). En las pruebas de efectos intra-sujetos (tabla 2), el tiempo fue significativo, así como las interacciones de dos vías del tiempo con el matorral, la especie de *Quercus* y el tamaño de la bellota. Además, dos interacciones de tres vías fueron significativas: tiempo \times matorral \times valla, y tiempo \times matorral \times especie de *Quercus*.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	P
Time	85.208	13	6.554	236.622	<0.001
Time * Shrub	2.007	13	0.154	5.574	<0.001
Time * Fence	0.342	13	0.026	0.95	0.5
Time * <i>Quercus</i>	1.214	13	0.093	3.37	<0.001
Time * Size	0.672	13	0.052	1.867	0.03
Time * Shrub * Fence	1.824	13	0.14	5.066	<0.001
Time * Shrub * <i>Quercus</i>	0.791	13	0.061	2.196	0.008
Time * Shrub * Size	0.188	13	0.014	0.523	0.912
Time * Fence * <i>Quercus</i>	0.529	13	0.041	1.469	0.123
Time * Fence * Size	0.054	13	0.004	0.149	0.999
Time * <i>Quercus</i> * Size	0.51	13	0.039	1.415	0.146
Error (Time)	24.847	897	0.028		

Tabla 2.- Resultados de los análisis de medidas repetidas de los valores de emergencia acumulados (transformación del arco seno) obtenidos a través del tiempo.

La interacción de tres vías tiempo × matorral × especie de *Quercus* (figura 2A) mostró que para ambas especies de *Quercus* la emergencia tuvo lugar en su totalidad en primavera, con sólo un 1,65% en septiembre del primer año. La emergencia de *Q. ilex* fue mayor y más rápida en el tratamiento con matorral que en el tratamiento sin matorral. La emergencia de *Q. ilex* fue mayor que la de *Q. pyrenaica*, pero en el tratamiento sin matorral las diferencias significativas se detectaron un mes más tarde que en los tratamientos con matorral. *Q. pyrenaica* mostró una emergencia significativamente mayor en los tratamientos con matorral que en los tratamientos sin matorral antes del 15 de mayo. En el caso de *Q. ilex*, el matorral promovió una emergencia más rápida y más temprana en primavera que en el caso de *Q. pyrenaica*.

La interacción de tres vías tiempo × matorral × valla (figura 2B) mostró que a los 15 días del inicio de la emergencia ya había diferencias significativas entre los



tratamientos abiertos, con matorral (SO: 44% \pm 6,2%) y sin matorral (NO: 25% \pm 6,3%), mientras que no se detectaron diferencias entre los tratamientos vallados (SF y NF) durante el primer mes. A partir del 15 de mayo, aparecieron diferencias significativas entre los tratamientos con matorral (SF: 86% \pm 4,1% y SO: 78% \pm 5,9%) y sin matorral (NF: 54% \pm 4,8% y NO: 53% \pm 6,7%), sin que el efecto del vallado fuera significativo. La emergencia se estabilizó en julio y, desde entonces, la mayor emergencia se encontró en el tratamiento SF (91% \pm 3%), significativamente mayor que en los tratamientos sin matorral (NF y NO), seguido por el tratamiento SO (82% \pm 5%), que se diferenció significativamente de NF y, finalmente, los tratamientos sin matorral (65% \pm 5% NF y 69% \pm 7% NO) que no se diferenciaron entre sí.

La interacción de tres vías tiempo \times tamaño \times matorral de *Quercus* (figura 2C) mostró que el tamaño de la bellota no tuvo un efecto significativo en la emergencia de *Q. ilex* a lo largo del tiempo, pero sí para *Q. pyrenaica*. Para *Q. ilex*, la emergencia de las bellotas grandes y pequeñas fue similar en cada fecha, y la emergencia acumulada aumentó hasta el 15 de mayo y luego se estabilizó. Para *Q. pyrenaica*, la emergencia fue significativamente mayor para las bellotas grandes que para las pequeñas a partir del 1 de junio. Independientemente del tamaño de la bellota, la emergencia para *Q. ilex* fue significativamente mayor que para *Q. pyrenaica* desde mediados de abril.

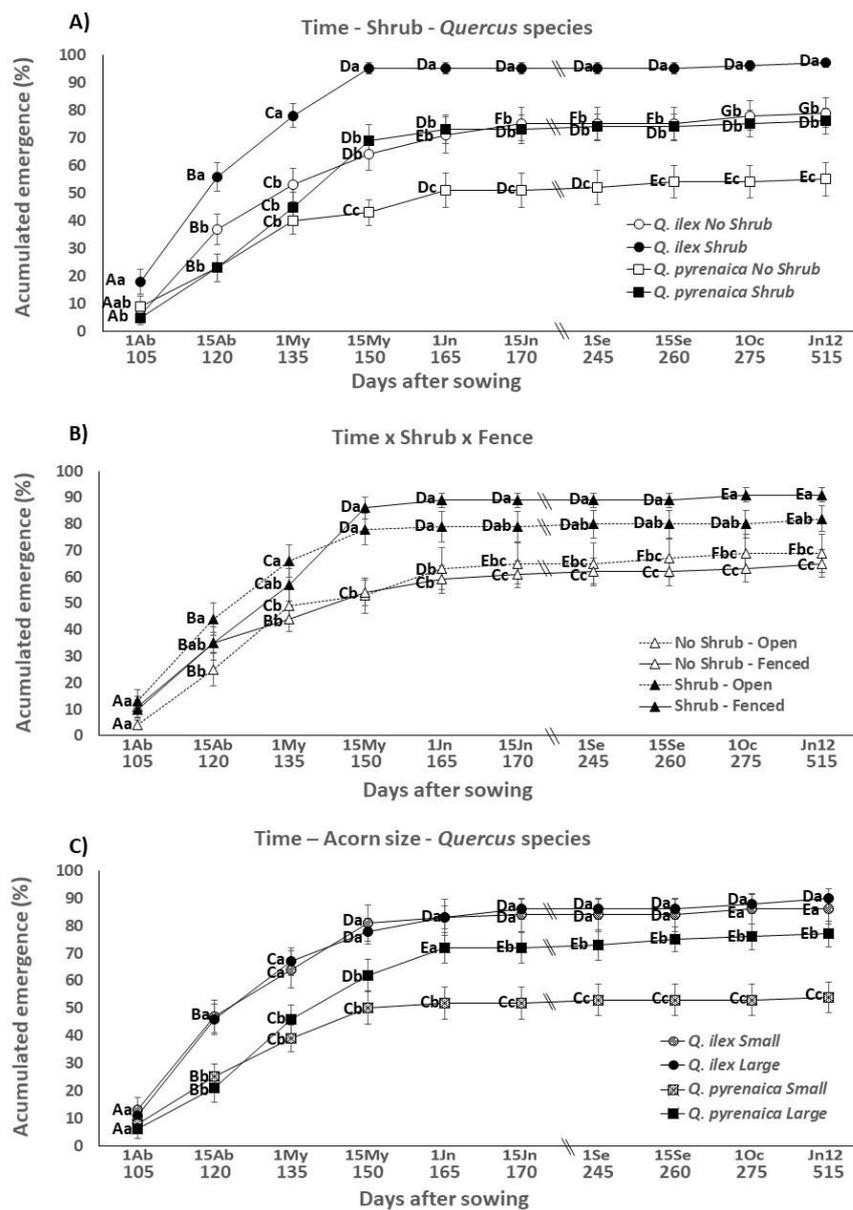


Figura 2.- Valores de emergencia acumulados (media \pm SE) para cada especie de *Quercus* y tratamiento en diferentes fechas a lo largo del primer año y medio después de la siembra. Se muestran los resultados tras los análisis de medidas repetidas. Con letras y números los resultados de las comparaciones por pares entre las interacciones de tres factores. Letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas (test de Tukey; $p < 0,05$) entre fechas dentro de la misma especie de *Quercus* (A,C) o tratamientos (B). Letras más bajas diferentes indican diferencias significativas (prueba de Tukey; $p < 0,05$) entre especies de *Quercus* (A,C) o tratamientos (B) en la misma fecha.

2.3.- ANÁLISIS MULTIVARIANTE

2.3.1.- Regresiones y Biplot Logísticos

Para el análisis multivariante, en primer lugar se realizaron las Regresiones y Biplots Logísticos. Se puede comprobar en el Biplot logístico que la emergencia acumulada en las cinco primeras fechas (hasta junio de 2011) apenas está correlacionada con la emergencia en fechas posteriores (a partir de julio de 2011), ya que los vectores de las variables son perpendiculares o casi perpendiculares entre sí (figura 3). El resto de fechas están correlacionadas positivamente entre sí.

Separación	Variable	Dimensión	Estimado	Error estándar	Valor Z	P-valor	
<i>Q. ilex</i>	Tamaño	Dim 1	1,71E-01	6,37E-01	0,27	7,90E-01	
		Dim 2	4,14E-01	1,25E+00	0,33	0,74	
	Matorral	Dim 1	3,63E+00	7,50E-01	4,84	1,31E-06	
		Dim 2	7,10E-01	1,33E+00	0,535	0,59	
	Valla	Dim 1	8,00E-02	6,40E-01	0,13	9,00E-01	
		Dim 2	2,76E+00	1,29E+00	2,14	0,03	
	Mat/Valla	Dim 1	3,66E+00	1,03E+00	3,54	4,00E-04	
		Dim 2	3,53E+00	1,88E+00	1,88	0,06	
	<i>Q. pyrenaica</i>	Tamaño	Dim 1	2,21E+00	6,02E-01	-3,661	2,51E-04
			Dim 2	2,36E+00	1,38E+00	1,707	0,088
		Matorral	Dim 1	3,04E+00	6,30E-01	4,831	1,36E-06
			Dim 2	4,04E+00	1,51E+00	-2,669	0,008
Valla		Dim 1	1,76E+00	5,90E-01	2,97	2,00E-03	
		Dim 2	1,83E+00	1,34E+00	-1,35	0,176	
Mat/Valla		Dim 1	5,35E+00	1,02E+00	5,23	1,71E-07	
		Dim 2	6,54E+00	2,21E+00	-2,95	0,003	

Tabla 3.- Resultados de las regresiones logísticas en las primeras dos dimensiones, teniendo en cuenta la emergencia para comprobar la significación de los datos. Elaboración propia.

En cuanto al efecto de los distintos factores, analizamos en primer lugar el efecto del matorral sobre la emergencia acumulada y observamos una clara diferenciación entre las agrupaciones. Existe una correlación positiva de los

individuos protegidos por matorral con la emergencia de las fechas más tardías (después del 1 de junio de 2011) y, por tanto, en las fechas más tardías los individuos protegidos por el matorral tienen una mayor probabilidad de haber emergido. Existe además una baja correlación del matorral con las cinco primeras fechas, lo que indica que en nuestros datos el matorral no influye (al menos, demasiado) en las primeras fechas de medición (figura 3). Comparando el efecto del matorral para *Q. ilex* o *Q. pyrenaica* vemos que el efecto es muy similar en ambos gráficos, pero vemos que *Q. pyrenaica* está significativamente correlacionada con ambas componentes ($p < 0.001$ y $0,007$), mientras que *Q. ilex* sólo está correlacionada con la primera ($p < 0.001$) (tabla 3). Por lo tanto, esto confirma que el matorral tiene un efecto importante en la emergencia, independientemente de la especie de *Quercus* estudiada.

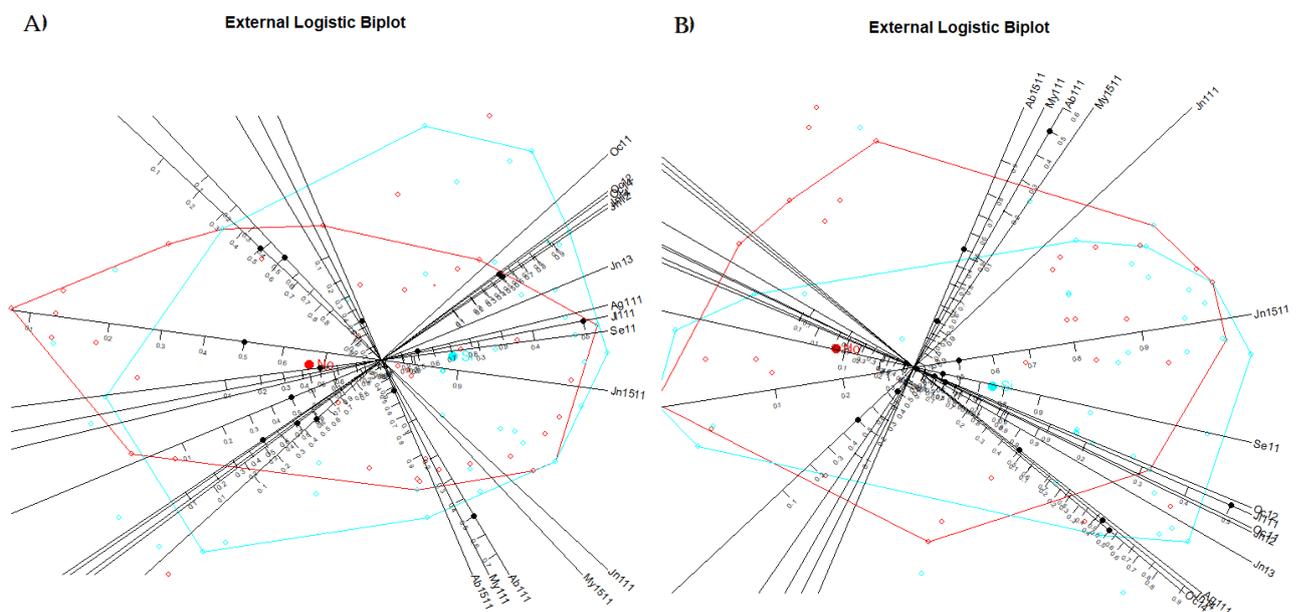


Figura 3.- Biplots logísticos que separan los clústers en función de si los individuos potenciales están protegidos o no por los matorrales. A la izquierda el biplot de *Q. ilex* y a la derecha el biplot de *Q. pyrenaica*. Elaboración propia.

En cuanto al efecto de la valla que protege de los grandes herbívoros se puede observar que no hay una separación tan clara como en el matorral, pues los clústeres

están en su mayor parte superpuestos entre sí (figura 4). En este caso el efecto es bastante diferente en ambas especies de *Quercus*. El efecto de la valla es altamente significativo en *Q. pyrenaica* ($p: 0,002$ en la primera componente) pero, sin embargo, las agrupaciones en *Q. ilex* están muy cercanas entre sí y la significación es sólo probablemente significativa en la segunda componente ($p: 0,03$) (tabla 3).

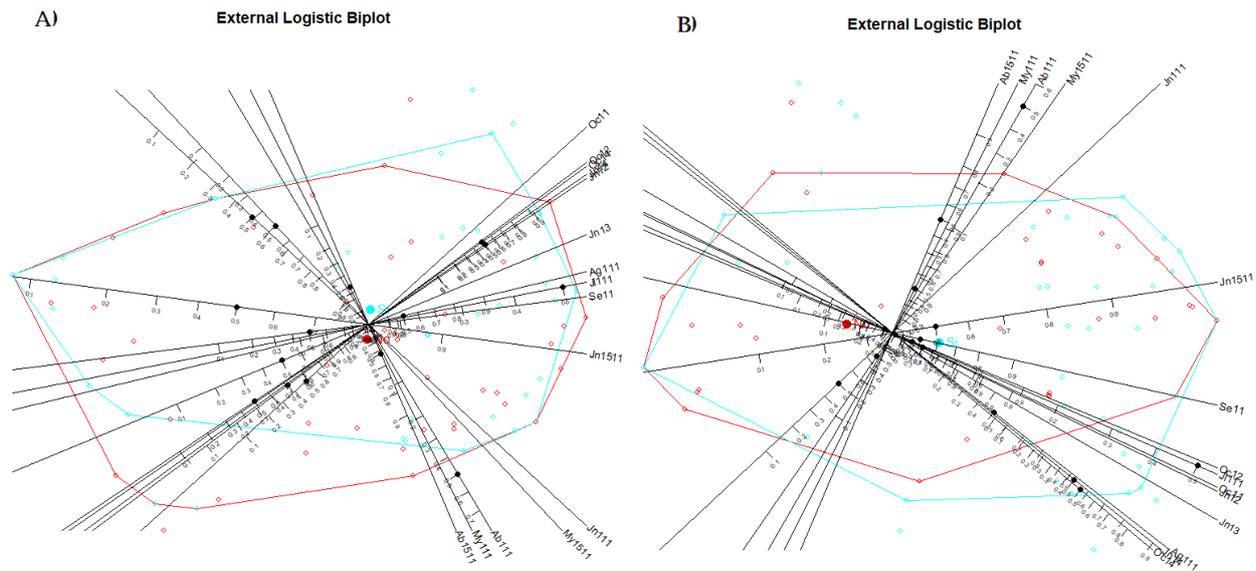


Figura 4.- Biplots logísticos que separan los clústers según si los individuos potenciales están protegidos por la valla o no. A la izquierda el biplot de *Q. ilex* y a la derecha el biplot de *Q. pyrenaica*. Elaboración propia.

Al tener en cuenta ambos factores al mismo tiempo (matorral y valla) se observa que tienen una mayor correlación con una alta emergencia en fechas posteriores al 1 de junio de 2011, el tratamiento SF, seguido del SO, el NF y, finalmente, el NO. Como se ha mencionado anteriormente, la valla tuvo poca influencia sobre *Q. ilex*. Por tanto, en el gráfico de *Q. ilex* se agrupan los clústeres que no tienen ninguna protección junto con los que están protegidos sólo por la valla y, por otro lado, los que están protegidos por el matorral junto con los que están protegidos por ambos factores. Por el contrario, el gráfico de *Q. pyrenaica* muestra que emergen más los que están protegidos por ambos factores, luego los protegidos

por matorral, seguidos por los de valla y, finalmente, los que no están protegidos por nada, lo cual se observa claramente en los centroides de estos clústeres (figura 5).

En este caso, la regresión logística indica que, cuando se tienen en cuenta ambos factores, el efecto es altamente significativo en ambos árboles: en *Q. ilex* ($p < 0.001$) en la primera componente, y en *Q. pyrenaica* ($p < 0.001$) en la primera y ($p = 0.003$) en la segunda. Por tanto, analizando los resultados de la regresión logística con los factores juntos y por separado, se puede llegar a la conclusión de que el matorral es un factor más importante en la emergencia que la valla, y que esta última posee una mayor importancia en *Q. pyrenaica* que en *Q. ilex*.

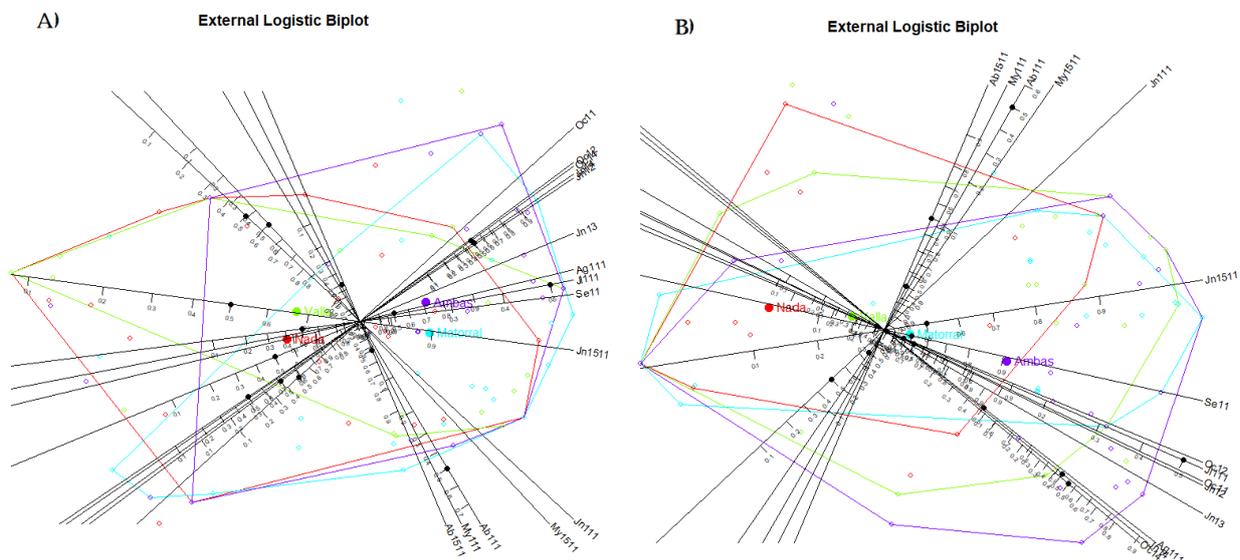


Figura 5.- Biplots logísticos que separan los clústers según la protección, teniendo en cuenta tanto el matorral como la valla. A la izquierda el biplot de *Q. ilex* y a la derecha el biplot de *Q. pyrenaica*. Elaboración propia.

En el caso del efecto de la especie de *Quercus* por sí solo, se puede ver que los grupos se superponen en su mayoría y que parece que no hay grandes diferencias, aunque se puede ver mediante los centroides que *Q. ilex* tiende a la parte inferior derecha del gráfico (figura 6). Por lo tanto, al correlacionarse positivamente con todas las fechas de emergencia, los individuos de *Q. ilex* en general parecen haber emergido más.

External Logistic Biplot

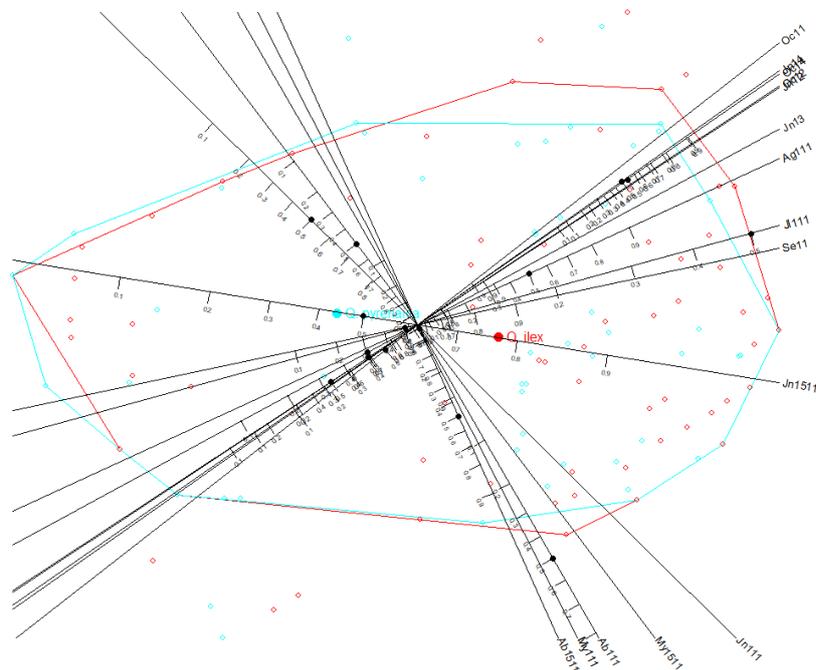


Figura 6.- Biplot logístico, separando los clústers según las especies de *Quercus*.
Elaboración propia.

Por último, cabe destacar que el efecto del tamaño de la semilla tampoco está correlacionado con las fechas tempranas, mientras que las semillas grandes tienen una mayor tasa de emergencia en fechas posteriores en *Q. pyrenaica* (figura 7). En *Q. ilex* se observa que el tamaño no es un factor significativo, con los centroides muy próximos y los valores p no significativos (p : 0,788 en la primera componente y p :0,740 en la segunda). Sin embargo, en *Q. pyrenaica* influye el tamaño de la semilla, teniendo las semillas grandes un mayor índice de emergencia en fechas intermedias y posteriores, desde septiembre de 2011 (con valores p : 0,00025 y p : 0,0879 en la primera y segunda componente respectivamente).

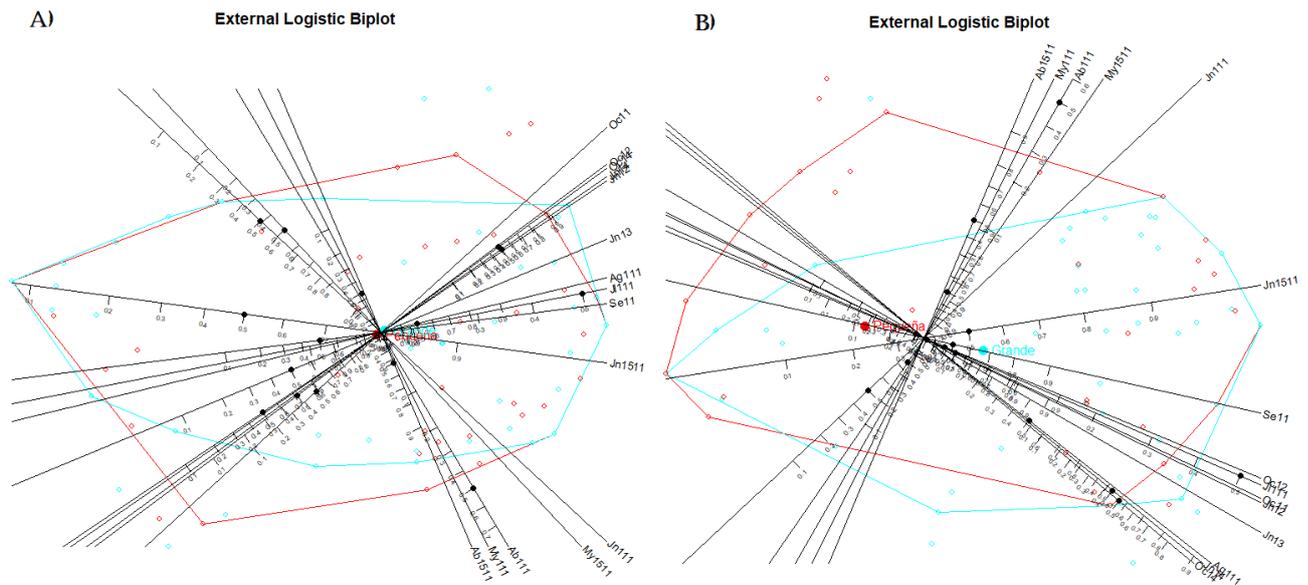


Figura 7.- Biplots logísticos que separan los clústers según el tamaño de las bellotas. A la izquierda el biplot de *Q. ilex* y a la derecha el biplot de *Q. pyrenaica*. Elaboración propia.

2.3.2.- Biplot Canónicos

En el caso del Biplot Canónico se puede observar que las dos primeras fechas (1 y 15 de abril de 2011) no están correlacionadas con las fechas posteriores. El resto de fechas están correlacionadas positivamente entre sí, aunque mayo de 2011 está relacionado con un ángulo más abierto con el resto de fechas y, por tanto, su correlación es menor.

Analizando los clústeres separados por la valla y el matorral, se puede concluir debido a la proyección de los clústeres sobre los vectores de abril de 2011, que todos los tratamientos tienen una emergencia parecida en esa fecha salvo aquellos no protegidos ni por matorral ni valla, que tienen una emergencia significativamente inferior (figura 8). En fechas posteriores, sin embargo, la mayor emergencia la tiene el tratamiento SF, seguido por el SO, el NO y, finalmente, el NF (aunque las diferencias no son significativas, pues estos dos últimos grupos tienen una proyección sobre los vectores muy similar).

Canonical/MANOVA Biplot / 1 - 2 (87.55 %)

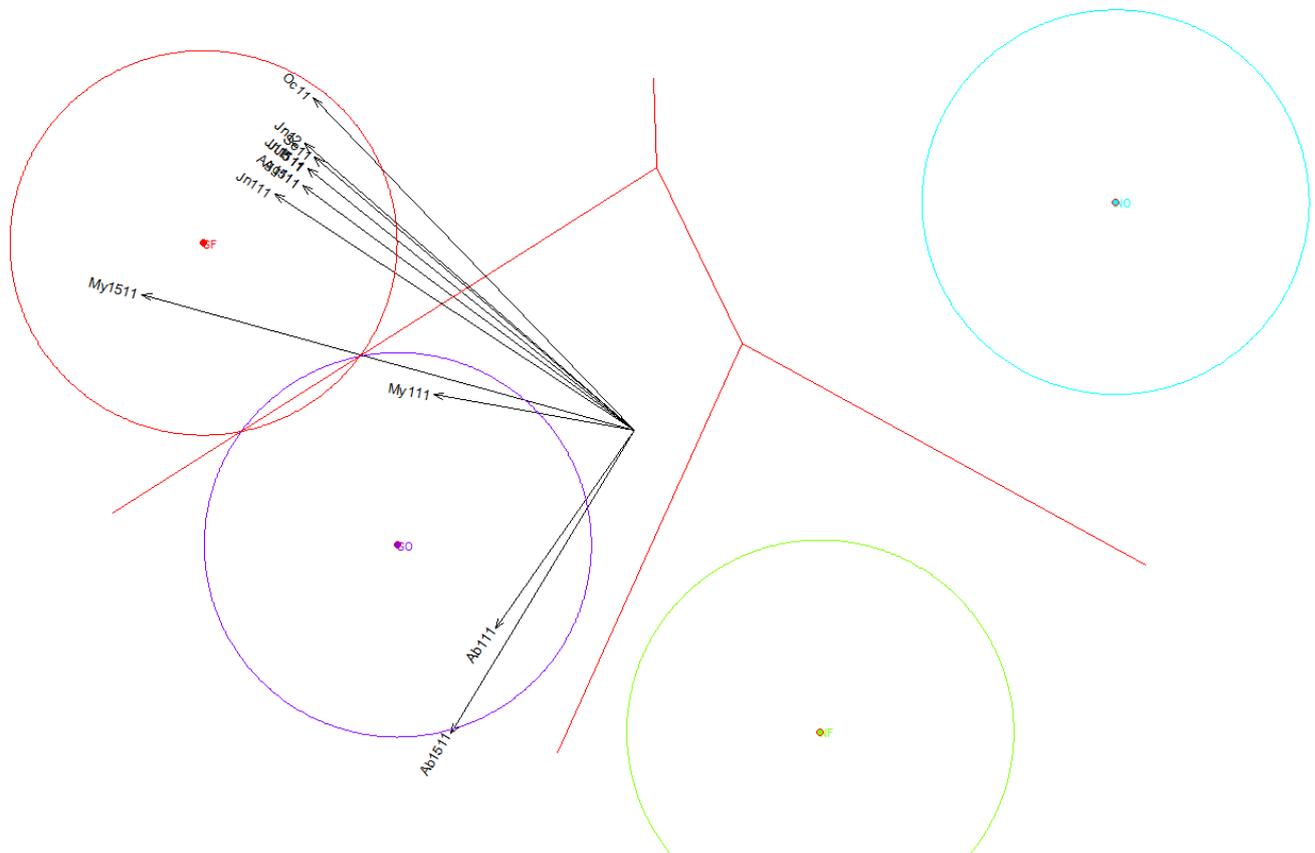


Figura 8.- Biplot canónico, separando los clústers según la protección.

Elaboración propia.

Al separar por tamaño y especie de *Quercus*, se puede observar que en el primer mes *Q. ilex* tiene la mayor emergencia, indistintamente del tamaño, seguida de las bellotas pequeñas de *Q. pyrenaica* y, por último, las grandes (figura 9). En fechas posteriores, aquellas que han emergido más son las de *Q. ilex*, primero las grandes y luego las pequeñas, y posteriormente las de *Q. pyrenaica*, primero grandes y luego pequeñas también. Sin embargo, sólo parecen haber diferencias de las 3 primeras con la última, pues el clúster de las bellotas pequeñas de *Q. pyrenaica* se aleja del resto, aunque también parece haber diferencias significativas entre las bellotas grandes de *Q. ilex* y las de *Q. pyrenaica*.

Canonical/MANOVA Biplot / 1 - 2 (94.31 %)

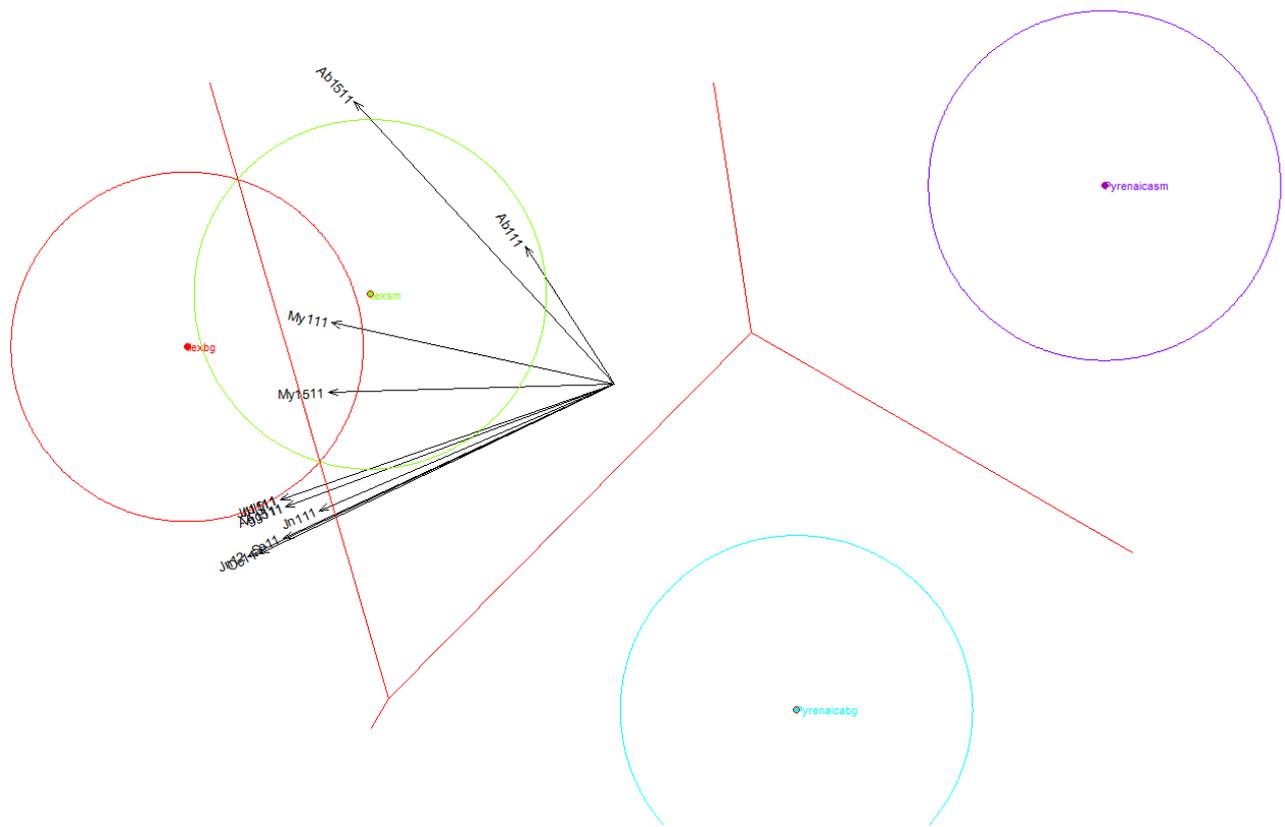


Figura 9.- Biplot canónico, separando los clústers según las especies de *Quercus* y el tamaño. Elaboración propia.

Al tener en cuenta la protección y el tamaño de las bellotas, en las primeras fechas (abril de 2011) las bellotas grandes sin protección emergen significativamente menos que el resto de tratamientos, que están más agrupados. Sin embargo, pueden observarse también diferencias significativas entre el resto de tratamientos, por ejemplo entre las del tratamiento NF provenientes de bellotas pequeñas, que emergen significativamente más que las provenientes de bellotas grandes (figura 10). En cuanto a fechas posteriores, vemos que las bellotas en tratamientos SF emergen ligeramente más que las grandes en tratamiento SO (que a su vez tienen una emergencia parecida a las provenientes de grandes en tratamiento NO), y estas a su vez emergen más que las que están en tratamiento SO pequeñas, que tienen una emergencia parecida a aquellas en NF o NO pequeñas. Este último

diferencia es parecida a la de fechas previas. *Q. ilex* bajo matorral (con y sin valla) emerge significativamente más que *Q. pyrenaica* bajo matorral, valla o sin protección, así como más que *Q. ilex* bajo únicamente la valla. Además, se pueden observar más diferencias en estos tratamientos de *Q. pyrenaica* sin matorral. Por ejemplo, *Q. pyrenaica* bajo valla emerge significativamente menos que resto de tratamientos salvo *Q. pyrenaica* bajo matorral y *Q. pyrenaica* sin protección; y *Q. pyrenaica* sin protección emerge significativamente menos que todos los tratamientos salvo de *Q. pyrenaica* bajo valla.

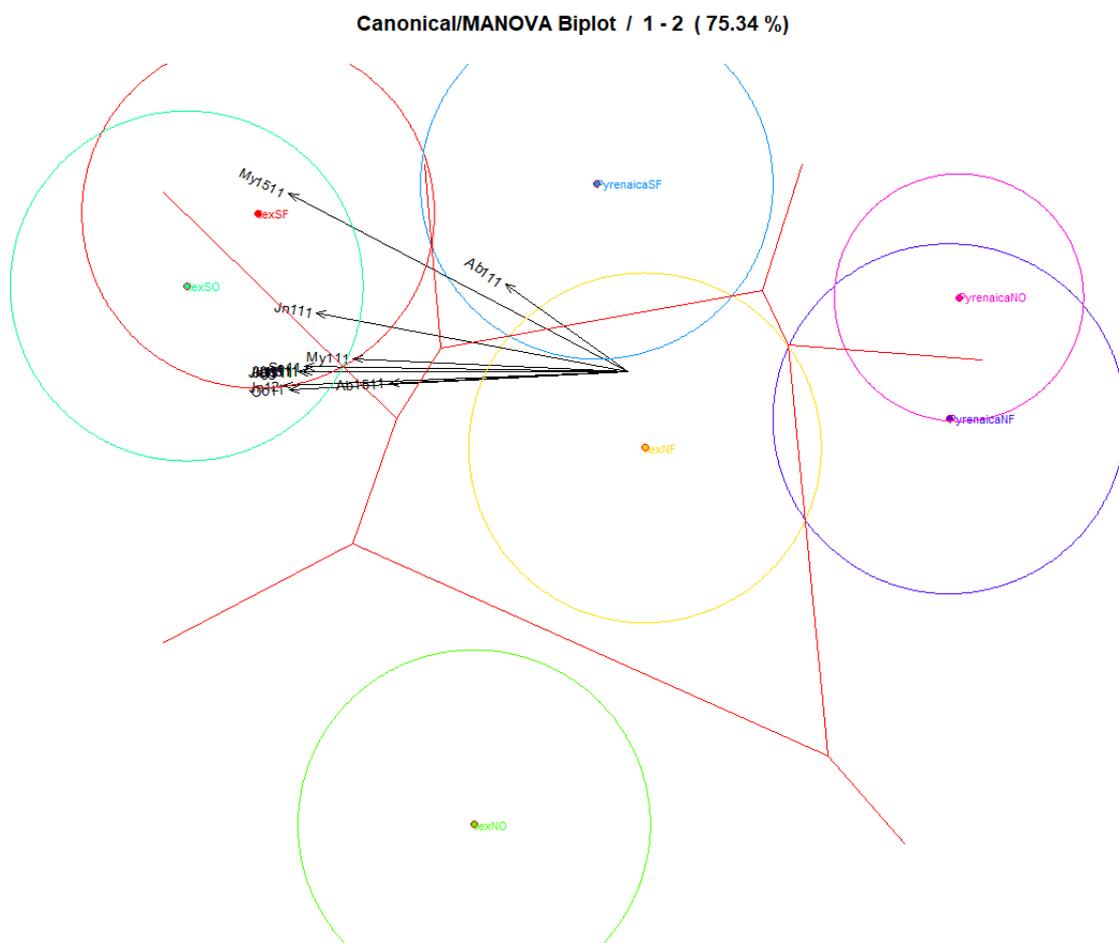


Figura 11.- Biplot canónico, separando los clústers según las especies de *Quercus* y la protección. Elaboración propia.

Con todos los factores, los vectores de las variables vuelven a tener la misma tendencia que en Biplots Canónicos previos, aunque los vectores de las fechas tienen

un menor ángulo entre sí. Es complicado interpretar el gráfico debido a la cantidad de grupos que hay, pero sí que se puede observar que en las primeras fechas el grupo que emerge menos es el de *Q. pyrenaica* de bellotas grandes y sin protección, seguido de *Q. pyrenaica* sin protección pequeñas, y *Q. pyrenaica* bajo valla y bellotas pequeñas (figura 12). En las fechas posteriores, las bellotas grandes de *Q. pyrenaica* sin protección emergen más que las pequeñas sin protección, así como más que las pequeñas bajo valla. Cabe resaltar que las bellotas pequeñas bajo matorral de *Q. pyrenaica* han emergido ligeramente menos, aunque no llegan a haber diferencias significativas.

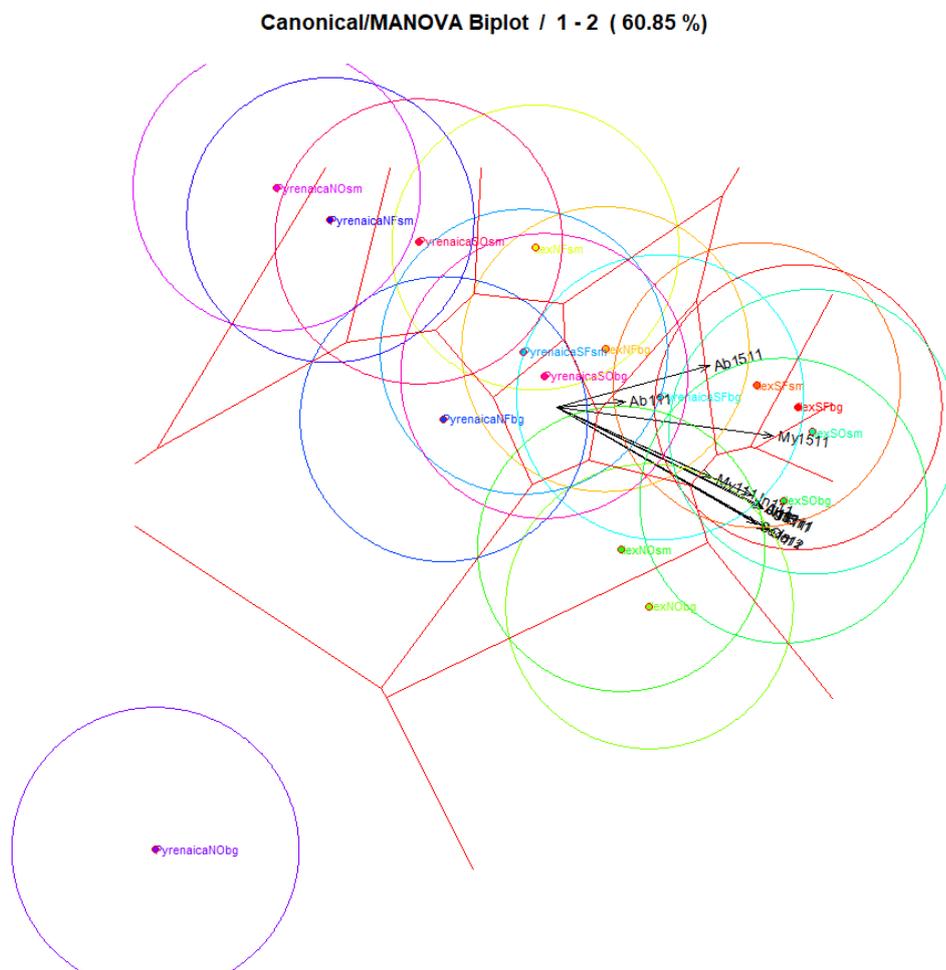


Figura 12.- Biplot logístico, separando los clústers según las especies de *Quercus*, protección y tamaño. Elaboración propia.

3.- DISCUSIÓN

Se demostró que *Cytisus multiflorus* facilitó la emergencia de *Quercus ilex* y *Q. pyrenaica*, comparando con las zonas sin matorral. También se ha descrito en las últimas décadas el efecto positivo de otras especies de matorral leguminosos sobre la emergencia de *Quercus*, como *Genista hirsuta* Vahl (Smit *et al.*, 2007), *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss (Rolo *et al.*, 2013), *Genista florida* L., y *Cytisus scoparius* (L.) (Torroba-Balmori *et al.*, 2015). Sin embargo, se encuentran otros resultados interesantes cuando se evalúa el efecto de la exclusión de los grandes herbívoros, el tamaño de la bellota y la especie de *Quercus* considerada.

Independientemente del tratamiento, la emergencia de *Quercus* en la zona de estudio fue mucho mayor que en otras zonas para *Q. ilex* (Smit *et al.*, 2007; Rolo *et al.*, 2013) y para *Q. pyrenaica* (Torroba-Balmori *et al.*, 2015). Sin embargo, se obtuvieron valores de emergencia similares en otros estudios en los que se utilizó una malla de protección para evitar la depredación de las bellotas por parte de pequeños mamíferos (González-Rodríguez *et al.*, 2012). La protección con malla ha demostrado ser muy eficaz en nuestra zona de estudio, ya que la eliminación de las bellotas por parte de los pequeños mamíferos fue casi del 100% bajo la cubierta de matorral (datos no publicados), mientras que se obtuvieron altos valores de emergencia utilizando una malla. El consumo de bellotas por pequeños mamíferos es un problema común para la regeneración de *Quercus* incluso si las bellotas están enterradas (Gómez *et al.*, 2003; Smit *et al.*, 2008), y la protección con malla también fue eficaz para mejorar la emergencia de las bellotas (Gómez-Aparicio *et al.*, 2008; González-Rodríguez *et al.*, 2012; Torroba-Balmori *et al.*, 2015). Aquí, la emergencia tuvo lugar principalmente durante la primera primavera y sólo un porcentaje mínimo de bellotas emergió posteriormente. Es bien sabido que



las bellotas son recalcitrantes y su viabilidad disminuye debido a la deshidratación cuando están a la intemperie durante algún tiempo (Joët *et al.*, 2013). Por ello, la emergencia de las bellotas de *Quercus* está condicionada por la humedad del suelo (Pérez-Ramos *et al.*, 2013). En estas zonas mediterráneas, la humedad del suelo disminuye significativamente durante el periodo seco de verano, ya que las precipitaciones son muy escasas y el suelo es muy arenoso, con una capacidad de retención de agua muy escasa (Costa *et al.*, 2017). También encontramos que algunas bellotas presentaban un retraso en la emergencia, como se ha encontrado en otros estudios (González-Rodríguez *et al.*, 2012; Torroba-Balmori *et al.*, 2015), lo que ocurre cuando la germinación se produce tarde debido a que la sequía estival inhibe su crecimiento hasta que las condiciones de humedad vuelven a ser óptimas de nuevo (González-Rodríguez *et al.*, 2012).

Al analizar el efecto de los diferentes factores, el resultado más claro fue el efecto positivo efecto del matorral nativo, *Cytisus multiflorus*, sobre la emergencia de ambas especies de *Quercus*, que fue mayor y más rápida en las zonas de matorral. Otros matorrales leguminosos también han mostrado un efecto facilitador en la emergencia de *Q. pyrenaica* (Torroba-Balmori *et al.*, 2015) o *Q. ilex* (Smit *et al.*, 2007; Rolo *et al.*, 2013), o en la supervivencia y crecimiento de las plántulas de *Quercus* (Rolo *et al.*, 2013; Torroba-Balmori *et al.*, 2015; Costa *et al.*, 2017). Nuestros resultados se deben probablemente al aumento significativo de la materia orgánica y un porcentaje ligeramente mayor de arcilla bajo *C. multiflorus* (Costa *et al.*, 2017) que, a su vez, contribuyó a un aumento de la capacidad de retención de agua del suelo que se sabe que es muy importante para la germinación y emergencia de las especies de *Quercus* (Farnsworth, 2000; Joët *et al.*, 2013; Gil-Pelegrín *et al.*, 2017). Por lo tanto, *C. multiflorus* mejora la emergencia de *Quercus* al impedir la desecación de las bellotas, como otras especies de matorral (Smit *et al.*, 2006; Smit *et al.*, 2008; Pugnaire *et al.*, 2011),

lo que es muy importante en zonas mediterráneas con una capacidad de retención de agua muy baja en el suelo. *C. multiflorus* también puede tener un efecto significativo al mejorar otras condiciones abióticas (microclimáticas), como descritas para otras especies de matorral (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; Gómez-Aparicio *et al.*, 2008; Smit *et al.*, 2008; Muhamed *et al.*, 2013), o mediante la protección contra los herbívoros, como como también se ha mencionado para otras especies (Rousset y Lepart, 1999; García y Obeso, 2003; Baraza *et al.*, 2006).

En cuanto al uso de la valla para excluir a los grandes herbívoros, se encontraron interesantes interacciones. La valla favoreció la emergencia de *Q. pyrenaica* pero no la de *Q. ilex* y redujo las diferencias de emergencia entre las dos especies de *Quercus*. Por otro lado, el vallado retrasa la detección de diferencias de emergencia entre zonas arbustivas y no arbustivas en comparación con las zonas abiertas, siendo mayor la emergencia bajo los matorrales. Esto indica que el matorral tenía inicialmente (primer mes desde el inicio de la emergencia) un papel protector contra los grandes herbívoros. Sin embargo, más tarde (después del primer mes), el principal efecto de *C. multiflorus* fue más bien la mejora de las condiciones abióticas, ya que la valla ya no afectó a la emergencia. Los estudios realizados en la misma zona concluyeron que el principal efecto facilitador de *C. multiflorus* sobre la supervivencia de las plántulas de *Q. ilex* y *Q. pyrenaica* era la mejora de las condiciones abióticas, mientras que la valla también afectó al crecimiento de las plántulas, principalmente para *Q. pyrenaica* (Costa *et al.*, 2017). En otras zonas, no se detectó un efecto significativo del vallado sobre la emergencia de las plántulas de *Q. pyrenaica* y *Q. petraea* (Torroba-Balmori *et al.*, 2015). Muchos estudios muestran un importante efecto de los roedores, arrendajos y grandes herbívoros sobre el consumo de bellotas (Gómez *et al.*, 2003; Leiva *et al.*, 2005; Pulido y



Díaz, 2005; Pérez-Ramos *et al.*, 2007; Perea *et al.*, 2011; Perea *et al.*, 2012; Del Arco *et al.*, 2018). Sin embargo, en nuestro estudio no se encontró evidencia de depredación de bellotas en nuestro estudio, ya que las mallas protectoras no fueron alteradas y no se observaron madrigueras de roedores en las cercanías.

El efecto de los herbívoros en el área de estudio es más probable que haya sido causado por el pisoteo, ya que el ganado doméstico es muy abundante y tiende a pastar más en zonas sin matorral. No hemos encontrado estudios sobre el efecto del pisoteo en la aparición comparativa de estas dos especies de *Quercus*, sin embargo, el pisoteo puede compactar el suelo y alterar su capacidad de absorber o retener la humedad (Chaichi *et al.*, 2005; Sigcha *et al.*, 2018) o también puede reducir la transpiración de los árboles y el crecimiento (Komatsu *et al.*, 2007; Ciapała *et al.*, 2014). Estas modificaciones del suelo pueden afectar a la germinación y emergencia de *Q. pyrenaica* más que a *Q. ilex*, ya que *Q. pyrenaica* es menos tolerante a la deshidratación de sus bellotas (Salomón *et al.*, 2012) y al déficit hídrico en el desarrollo de las plántulas (Costa *et al.*, 2017). Futuros estudios que arrojen más luz sobre este tema serían bienvenidos.

Al estudiar el efecto del tamaño de la bellota en la emergencia, se mostraron comportamientos diferentes en ambas especies. Las bellotas grandes de *Q. pyrenaica* mostraron una mayor tasa de emergencia, mientras que para *Q. ilex* no se encontró ningún efecto significativo del tamaño de la bellota sobre la emergencia. Otros estudios también encontraron que el tamaño de la bellota puede beneficiar la emergencia de las especies de *Quercus* (Quero *et al.*, 2007), específicamente *Q. pyrenaica* (Urbieta *et al.*, 2008; Quero *et al.*, 2009; González-Rodríguez *et al.*, 2012), mientras que para *Q. ilex*, esto no siempre ocurre (Gómez, 2004) y la relación puede ser válida sólo para algunas plantas maternas (Castro-Díez *et al.*, 2000; González-Rodríguez *et al.*, 2012). Por otro lado, la relación positiva entre el tamaño de la bellota y la emergencia para *Q. pyrenaica* sólo se

da en zonas abiertas. Parece que el matorral proporciona condiciones más favorables para la emergencia de ambas especies y, en tales condiciones, el tamaño de la bellota pierde importancia. Algunos estudios describen los efectos de los factores ambientales en la emergencia de las bellotas (Tyler *et al.*, 2008; Mendoza *et al.*, 2009) y el efecto positivo del tamaño de la bellota en la emergencia y establecimiento en suelos con baja fertilidad u otras características adversas (Puerta-Piñero *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de que en este estudio no se observaron grandes ventajas del tamaño de la bellota, especialmente para *Q. ilex*, puede ser importante para otros aspectos del establecimiento de *Quercus*, como la producción de plántulas más grandes con raíces más largas, que aumentan las posibilidades de sobrevivir a la sequía estival (Metcalf y Grubb, 1997; Lloret *et al.*, 1999; Fernández-Santos *et al.*, 2013; Alonso-Crespo *et al.*, 2020), favoreciendo el rebrote tras acción de los herbívoros (Green y Juniper, 2004), o facilitar el establecimiento de las plántulas en ambientes sombreados donde las bellotas son frecuentemente dispersadas por arrendajos y roedores (Bossema, 1979; Gómez *et al.*, 2003). De hecho, como se muestra en los biplots, la protección y el tamaño de la bellota no están correlacionados con la emergencia antes de la estación seca pero sí después, por lo que esto demuestra que esta fecha es muy importante para la emergencia, ayudando estos factores a sobrevivir a este estrés (Pulido y Díaz, 2005).

Comparando las dos especies de *Quercus*, la emergencia fue siempre mayor para *Q. ilex* que para *Q. pyrenaica*, tanto bajo el matorral como sin él. El aumento de la emergencia en áreas con matorral comparado con las zonas sin matorral fue algo mayor para *Q. pyrenaica* que para *Q. ilex*. Estos resultados apoyan la idea de que las interacciones positivas son relevantes para la persistencia de las especies mesofíticas en los márgenes de sus áreas de distribución (Choler *et al.*, 2001; Castro *et al.*, 2006; Wang y Ba, 2008; Madrigal-González *et al.*, 2012). Por otro



lado, en las áreas de matorral, la emergencia de *Q. ilex* fue cercana al 100% y el proceso fue más rápido, detectándose las diferencias con *Q. pyrenaica* antes que en zonas abiertas. Por lo tanto, aunque los matorrales en nuestro sitio de estudio eran grandes y constituían antiguas comunidades, nuestros resultados respecto a la emergencia no apoyan la idea de que las formaciones de matorral antiguos favorezcan la regeneración de *Q. pyrenaica* frente a *Q. ilex*, como proponen otros autores (Madrigal-González *et al.*, 2014). Sin embargo, en este estudio sólo se ha evaluado la emergencia y no otros aspectos importantes para el establecimiento de las especies de *Quercus*, como la supervivencia y crecimiento de las plántulas. En otro estudio realizado en la misma zona, *C. multiflorus* favoreció la supervivencia y el crecimiento temprano de *Q. pyrenaica* y *Q. ilex* pero en diferente grado dependiendo de la variable medida (Costa *et al.*, 2017); la supervivencia de las especies marcescentes fue más favorecida que las especies esclerófilas, mientras que la ventaja inicial de *Q. pyrenaica* en términos de crecimiento se atenuó después de 2 años.

Teniendo en cuenta nuestros resultados, parece que *Q. pyrenaica* tiene más problemas con la emergencia en la zona de estudio, pues los valores son más bajos y la emergencia, en general, se produce más tarde. En otros sitios, sin embargo, las especies caducifolias y marcescentes como *Q. pyrenaica* emergieron antes que las perennes como *Q. ilex* (Urbieta *et al.*, 2008; González-Rodríguez *et al.*, 2012). Incluso la fecha de emergencia parece ser un carácter específico de la especie (Laliberté *et al.*, 2008), aunque puede ser modificado por la fuente materna (González-Rodríguez *et al.*, 2012). Estas diferencias obtenidas nos han sorprendido aún más ya que en la zona los árboles de más de 60 años son de *Q. pyrenaica*, con ejemplares que tienen incluso 200 años, y sólo se observan algunos árboles jóvenes de *Q. ilex*. Por lo tanto, la clara ventaja en la aparición de *Q. ilex* sobre *Q. pyrenaica* podría interpretarse como un reflejo del cambio hacia



condiciones más xéricas que se viene produciendo desde hace algunas décadas, y que se acentúa aún más en el centro de la Península Ibérica (Moreno-Rodríguez, 2005), lo que en el futuro podría llevar a un cambio en la especie arbórea dominante, de marcescente a esclerófila.

Sin embargo, aunque *Q. ilex* es más resistente al déficit hídrico que *Q. pyrenaica* (Plieninger *et al.*, 2010), en ambientes xéricos los matorrales pueden mejorar las condiciones de *Q. pyrenaica* al protegerla de la luz solar y la fotoinhibición (Gómez-Aparicio *et al.*, 2008) y reduciendo la demanda de transpiración durante la estación seca (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005), como se observó en esta zona al evaluar la supervivencia inicial de las de las plántulas (Costa *et al.*, 2017). Por lo tanto, si se tienen en cuenta otras fases del establecimiento de las plantas, principalmente la supervivencia y el crecimiento, el cambio de la especie arbórea dominante en nuestras zonas puede ser más lento si hay matorral. Sería de gran interés que otros estudios evaluaran el proceso de interacciones entre las especies de *Quercus* y los matorrales a medio y largo plazo.





Capítulo 5

Análisis de supervivencia de las plántulas de *Quercus*

Parcialmente presentado en Congreso:

Díaz Hernández, R., Vicente Villardón, J.L., Martínez-Ruiz C. & Fernández-Santos B.
2021. Análisis del efecto de *Cytisus multiflorus* y del tamaño de las bellotas sobre la
emergencia y crecimiento de *Quercus ilex* y *Quercus pyrenaica*." en "**La restauración en
España en el marco de la década de la ONU 2021-2030. ¿Cómo puede contribuir
España?**", XV Congreso Nacional de la Asociación Española de Ecología
Terrestre, Plasencia, Cáceres, España.



1.- METODOLOGÍA

La base de datos de supervivencia es muy parecida a la de emergencia. Se parte de 18 variables binarias que indican si cada plántula está viva o muerta en una fecha determinada, mientras que por otra parte se tienen las variables binarias que indican la presencia/ausencia de matorral, presencia/ausencia de valla, la especie de *Quercus* y el tamaño de la bellota.

Los análisis de Supervivencia se aplicarán a una base de datos de 291 “individuos” pues, de las 400 bellotas sembradas inicialmente, estas 291 son las plántulas cuya emergencia se ha producido el 1 de junio o antes. La primera fecha que se tuvo en cuenta fue el 1 de abril de 2011 y la última fecha fue octubre de 2013, pues en 2014 se abrieron las vallas de algunas parcelas y, por tanto, no se podía seguir valorando las diferencias en supervivencia.

Se comenzó utilizando el análisis de Kaplan-Meier para comparar las curvas de supervivencia en función de una serie de factores. Se analizó en primer lugar cada factor por separado y luego, para la representación de las curvas de supervivencia, se hizo por una parte la comparación entre tratamientos (4 tratamientos productos de la combinación de los factores “valla” y “matorral”) para cada especie de *Quercus*; por otra lo mismo, pero añadiendo el factor tamaño de la bellota. Para ver la significación de las distintas variables y la diferenciación entre los distintos tratamientos se realizó el test Log-Rank ($p < 0.05$), cuya diferencia está representada en las curvas de supervivencia.

Posteriormente, se realizó un análisis a lo largo del tiempo mediante el Modelo de Cox con todos los factores, en el que se tuvo en cuenta la fecha de emergencia de las plántulas. Hay que resaltar que, a diferencia de este análisis, en la representación gráfica del Kaplan-Meier todas las plántulas que emergieron hasta el 1 de junio se representan como si hubiesen emergido en el 1 de abril. Por

tanto, mientras que el eje Y representa la proporción de supervivientes, el eje X no representa el número de días que ha sobrevivido las plántulas procedentes de bellotas, sino que representa la supervivencia hasta la fecha concreta, a diferencia de en el Modelo de Cox. Para ver qué modelo es mejor, se partió de un modelo factorial sin interacciones, y se calculó el AIC con el fin de obtener la calidad de ese modelo. Entonces, se añadieron las interacciones una a una (primero las de orden inferior) hasta llegar a un modelo factorial completo, calculando el AIC para cada nuevo modelo. Al final, se seleccionó el modelo con mayor número de factores que no llegase a tener una diferencia de 2 unidades de AIC en comparación a aquel modelo con un mejor AIC.

Finalmente, se realizaron análisis de la supervivencia en seis fechas concretas: en primavera (1 junio) y otoño (1 octubre) de cada uno de los tres años de seguimiento: 01-06-11, 01-10-11, 01-06-12, 01-10-12, 01-06-13 y 01-10-13; es decir, antes y después de cada periodo seco. Como con el Kaplan-Meier, se ha realizado un análisis teniendo en cuenta el tamaño de las bellotas y otro sin tenerlo en cuenta. Se quiso observar si existe significación entre tratamientos dentro de una especie, y entre especies dentro de un mismo tratamiento. Para ello se realizaron dos ANOVAs multifactoriales por fecha. Uno de ellos incluyendo todos los factores (valla, matorral, especie y tamaño) y el otro incluyendo los mismos salvo el tamaño. Como no se cumplían las condiciones de normalidad y homocedasticidad, y se trataban de datos porcentuales, se llevó a cabo la transformación del arcoseno. Cuando el ANOVA fue significativo, el análisis de Tukey se utilizó como análisis post-hoc para ver la diferencia entre tratamientos dentro de una misma especie y entre especies dentro de un mismo tratamiento.

2.- RESULTADOS

2.1.- Supervivencia durante todo el periodo de estudio

Al final del periodo de estudio, 2 años y medio después del comienzo de la emergencia, el porcentaje de supervivencia general fue del $77\% \pm 2.4\%$; con el valor medio de supervivencia más bajo de $33\% \pm 16\%$ para las plántulas provenientes de bellotas de *Q. pyrenaica* pequeñas en el tratamiento sin matorral ni valla (NO), y de un $96\% \pm 4\%$ para plántulas de bellotas grandes de *Q. ilex* en zonas bajo matorral y valla (SF).

Como se comentó con anterioridad, se llevó a cabo el análisis Kaplan-Meier y el Log-Rank de cada factor por separado para ver la significación de cada factor por separado:

Factor	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Valla	8,551	1	0,003
Matorral	15,347	1	0
<i>Quercus</i>	2,7	1	0,1
Tamaño	1,894	1	0,169

Tabla 1.- Resultados del análisis Kaplan-Meier para cada factor por separado.

Según el análisis Kaplan-Meier (tabla 1), se observa que al tomar los factores por separado, Valla ($\chi^2=8.551$, $df=1$ $p=0.003$) y Matorral ($\chi^2=15.347$, $df=1$, $p=<0.001$) producen diferencias significativas en la supervivencia mientras que estas no se detectan para Especie de *Quercus* y Tamaño de la bellota . Además, cuando se tiene en cuenta cada especie por separado, se observa que Valla y Matorral son factores significativos en la supervivencia tanto en *Q. ilex* como en *Q. pyrenaica* pues existen diferencias significativas entre los que tienen algún tipo de protección en comparación con zonas completamente abiertas (NO). Además, aunque no se detecten diferencias estadísticamente significativas, se

aprecia que para *Q. pyrenaica* la supervivencia en el tratamiento matorral y valla (SF) es notablemente mayor que si solo hay valla (NF) ($\chi^2= 2.292$, $p= 0.13$), mientras que para *Q. ilex* en ambos tratamientos la curva de supervivencia es muy parecida ($\chi^2=0. 0.033$, $p= 0.856$). Al comparar los tratamientos con un solo factor de protección (SO y NF), en *Q. pyrenaica* se ve una mayor diferencia entre aquellos protegidos por matorral (SO) y aquellos protegidos únicamente por valla (NF) ($\chi^2=0.995$, $p=0.319$), mientras que en *Q. ilex* ambos tratamientos tienen curvas de supervivencia más parecidas ($\chi^2=0.405$, $p=0.524$) (tabla 2, figura 1A y B). En los tratamientos con matorral, la presencia o no de valla no modifica sensiblemente la supervivencia para ninguna de las dos especies (*Q. ilex* $\chi^2=0.253$, $p= 0.615$; *Q. pyrenaica* $\chi^2=0. 226$, $p= 0.634$).

		<i>Q. ilex</i>		<i>Q. pyrenaica</i>	
Tratamiento 1	Tratamiento 2	Chi-cuadrado	Sig.	Chi-cuadrado	Sig.
NO	NF	8,517	0,004	3,76	0,052
NO	SO	8,208	0,004	9,608	0,002
NO	SF	10,056	0,002	13,176	0
NF	SO	0,405	0,524	0,995	0,319
NF	SF	0,033	0,856	2,292	0,13
SO	SF	0,253	0,615	0,226	0,634

Tabla 2.- Resultados del Kaplan-Meier para los distintos tratamientos separados por especie.

En *Q. ilex* (figura 1A), aunque a comienzos de junio se registra un descenso en NO, la principal caída en la supervivencia dentro de este tratamiento tiene lugar durante la segunda quincena de junio. En los tratamientos con matorral la caída es menor que en NO y tiene lugar un poco más tarde (en la segunda quincena de junio en SF y también en julio en SO). Posteriormente se observan pocos descensos destacables, únicamente una ligera caída durante el segundo periodo seco en los tratamientos sin matorral (NO y NF), y de otoño a primavera en los

tratamientos bajo matorral sin valla (SO). Por otra parte, en *Q. pyrenaica* (figura 1B) ocurre lo mismo que en *Q. ilex* en la caída de la supervivencia en junio y julio en los diferentes tratamientos, aunque ésta es más pronunciada y se da sobre todo en los tratamientos sin matorral (NO y NF). No se produjo más disminuciones en la supervivencia en los tratamientos salvo aquellos bajo matorral (SO y SF, principalmente en SO) del otoño a la primavera de 2013.

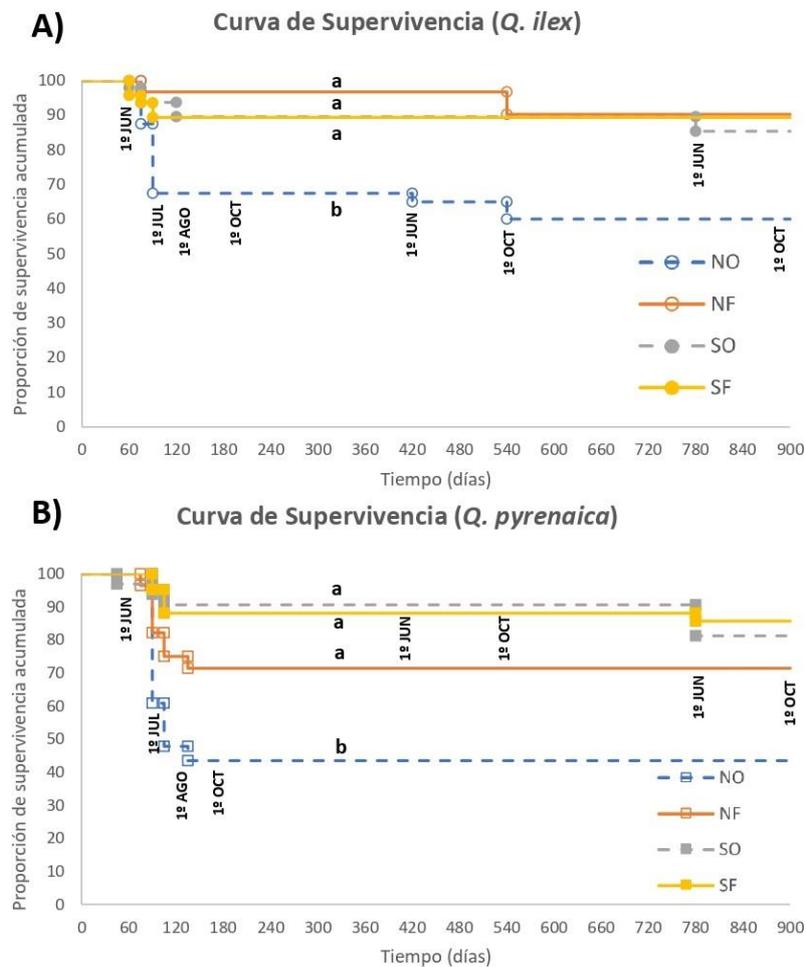


Fig. 1.- Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier obtenidas para las plántulas de cada especie (A: *Q. ilex* y B: *Q. pyrenaica*) en cada tratamiento para todo el periodo estudiado; sin diferenciar el tamaño de las bellotas. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes según la prueba Log-Rank ($p < 0,05$). Tratamientos: SF, con matorral y valla; SO, con matorral y sin valla; NF, sin matorral y con valla; NO, sin matorral y sin valla.

Cuando tenemos en cuenta el tamaño de las bellotas se observan mayores diferencias entre las especies (figura 2). Las diferencias en *Q. pyrenaica* son más pronunciadas, y sólo se detectan dos grupos (tabla 3, figura 2B). Por un lado, las plántulas procedentes de bellotas pequeñas en los tratamientos sin matorral, con y sin valla (NF, NO), y las de bellotas grandes en tratamiento sin valla ni matorral (NO), que tuvieron una supervivencia significativamente inferior a las del otro grupo; en el segundo grupo se incluyen las plántulas en los tratamientos con matorral (SO y SF), tanto de bellotas grandes como pequeñas, y plántulas de bellotas grandes en el tratamiento valla sin matorral (NF). Al comparar el efecto del tamaño dentro de un mismo tratamiento se detecta un efecto significativo del tamaño si no hay matorral pero sí valla (NF: ($\chi^2=5,041$, $p=0,025$), mientras que no se detectan diferencias significativas por el tamaño en los tratamientos con matorral (SO: $\chi^2=2,346$, $p=0,126$; SF: $\chi^2=0,035$, $p=0,851$) o en el que no hay ningún factor de protección (NO: $\chi^2=0,065$, $p=0,799$). Los mayores valores de supervivencia se obtienen para plántulas procedentes de bellotas grandes y en el tratamiento SO, mientras que los menores se obtienen para plántulas procedentes de bellotas pequeñas y en el tratamiento sin valla ni matorral (NO).



		<i>Q. ilex</i>		<i>Q. pyrenaica</i>	
Tratamiento 1	Tratamiento 2	Chi-cuadrado	Sig.	Chi-cuadrado	Sig.
Peq NO	Gra NO	0,611	0,434	4,63	0,031
Peq NO	Peq NF	0,017	0,896	0,617	0,432
Peq NO	Gra NF	0,097	0,756	15,631	0
Peq NO	Peq SO	2,957	0,086	3,535	0,06
Peq NO	Gra SO	3,616	0,057	18,401	0
Peq NO	Peq SF	2,386	0,122	15,974	0
Peq NO	Gra SF	6,712	0,01	27,264	0
Gra NO	Peq NF	0,293	0,588	2,264	0,132
Gra NO	Gra NF	0,186	0,666	3,334	0,068
Gra NO	Peq SO	6,739	0,009	0,131	0,717
Gra NO	Gra SO	7,33	0,007	4,064	0,044
Gra NO	Peq SF	5,399	0,02	3,534	0,06
Gra NO	Gra SF	10,912	0,001	9,105	0,003
Peq NF	Gra NF	0,06	0,807	10,937	0,001
Peq NF	Peq SO	2,997	0,083	1,41	0,235
Peq NF	Gra SO	3,868	0,049	12,718	0
Peq NF	Peq SF	2,651	0,104	11,614	0,001
Peq NF	Gra SF	6,958	0,008	20,418	0
Gra NF	Peq SO	3,826	0,05	4,757	0,029
Gra NF	Gra SO	4,698	0,03	0,001	0,974
Gra NF	Peq SF	3,333	0,068	0,003	0,957
Gra NF	Gra SF	8,301	0,004	1,049	0,306
Peq SO	Gra SO	0,085	0,771	5,335	0,021
Peq SO	Peq SF	0,015	0,903	5,138	0,023
Peq SO	Gra SF	1,261	0,261	10,778	0,001
Gra SO	Peq SF	0,159	0,69	0	0,987
Gra SO	Gra SF	0,672	0,412	0,947	0,33
Peq SF	Gra SF	1,376	0,241	1,079	0,299

Tabla 3.- Resultados del Kaplan-Meier para los distintos tratamientos teniendo en cuenta el tamaño separados por especie.

Por otra parte, en *Q. ilex* las diferencias detectadas son más graduales (tabla 3, figura 2A). Las que tienen una mayor tasa de supervivencia son las plántulas en tratamiento matorral y valla (SF) y provenientes de bellotas grandes, que únicamente se diferencian de las de los tratamientos sin matorral ni valla (NO), tanto procedan de bellotas pequeñas ($\chi^2=5.289$, $p=0.021$) como grandes ($\chi^2=10.67$, $p=0.001$). Por la otra parte, las plántulas provenientes de bellotas grandes en tratamiento sin matorral ni valla (NO), tuvieron una supervivencia significativamente inferior al resto, salvo con respecto a las plántulas provenientes de bellotas pequeñas en el mismo tratamiento (NO); en este último caso, NO pequeñas, la supervivencia también es menor que la registrada en otros tratamientos con algún factor de protección, pero la diferencia solo es probablemente significativa (con NF pequeñas, SO Grandes) o no es significativa (tabla 3, figura 2A). Por último, al comparar el efecto del tamaño dentro de un mismo tratamiento, en *Q. ilex* no se detectan diferencias significativas entre tamaños en ninguno de ellos (tabla 3, figura 2A). Así pues, puede decirse que en *Q. ilex* el tamaño de la bellota no parece tener un efecto claro en la supervivencia de las plántulas.

En cuanto a los periodos de mayor mortalidad, en todos los tratamientos, especies y tamaños, la principal disminución en la supervivencia tiene lugar durante el primer periodo seco. En este periodo se marcan las diferencias mencionadas en párrafos anteriores. En *Q. pyrenaica* no se detecta ninguna disminución durante el segundo periodo seco, al igual que tampoco ocurren en los periodos invernales, a excepción de las plántulas procedentes de bellotas grandes en tratamientos bajo matorral sin valla (SO) durante el segundo invierno (figura 2B). Por el otro lado, en *Q. ilex* se detecta otra disminución (aunque menor) durante el segundo periodo seco en tratamientos sin matorral, con y sin valla (NF

y NO), tanto para plántulas procedentes de bellotas grandes como pequeñas (excepto pequeñas en NF) (figura 2A).

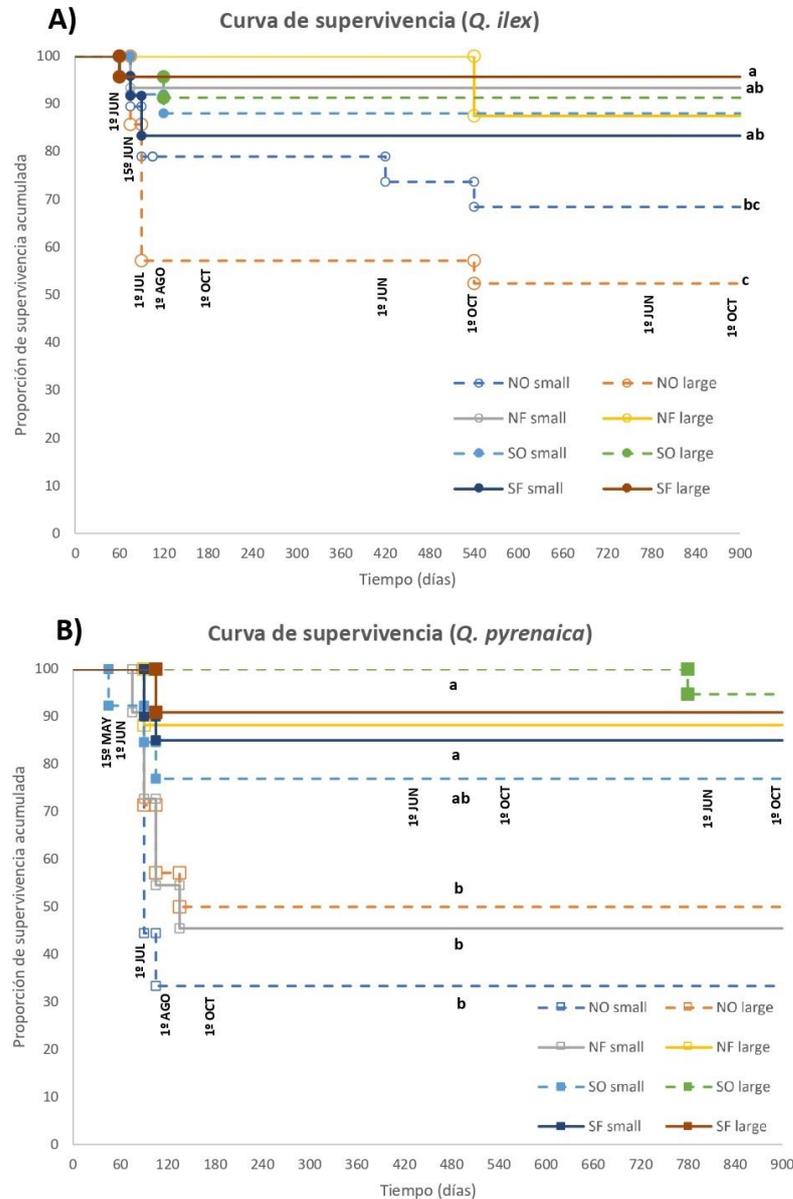


Fig. 2.- Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier obtenidas para las plántulas provenientes de bellotas grandes (large) y pequeñas (small) de cada especie (A: *Q. ilex*, B: *Q. pyrenaica*) en cada tratamiento para todo el periodo estudiado. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes según la prueba Log-Rank ($p < 0,05$). Tratamientos: SF, con matorral y valla; SO, con matorral y sin valla; NF, sin matorral y con valla; NO, sin matorral y sin valla.

Como se comentó con anterioridad, se llevó a cabo un modelo más complejo mediante el Modelo de Cox, empezando sin ninguna interacción y se fueron añadiendo éstas una a una para calcular el mejor modelo. Seleccionamos aquel modelo con un mayor número de interacciones sin llegar a haber una diferencia mayor a 2 unidades de AIC que aquel resultado con un menor AIC.

Factores	Log-2 (a)	Parámetros (b)	AIC (a+2b)
Entero	670,441	14	698,441
Sin interacción cuádruple	671,298	13	697,298
Sin <i>Quercus</i> *Matorral*Valla	671,736	12	695,736
Solo <i>Quercus</i> *Matorral*Tamaño	672,936	11	694,936
Sin interacción triple	675,452	10	695,452
Sin <i>Quercus</i> *Valla	675,896	9	693,896
Sin Tamaño*Valla	676,636	8	692,636
Sin <i>Quercus</i> *Matorral	677,379	7	691,379
Sin <i>Quercus</i> * Tamaño	679,029	6	691,029
Sin Matorral* Tamaño	681,027	5	691,027
Sin interacción doble	683,262	4	691,262

Tabla 4.- AIC para cada modelo en una escala descendente de interacciones partiendo de un modelo entero con todas (el superior) y eliminándolas hasta un modelo sin interacciones dobles, quedándonos sólo con los factores (el modelo inferior).

El mejor modelo con mayor número de factores es aquel que tiene todas las interacciones dobles salvo *Quercus**Valla y Tamaño*Valla (AIC=692.636) (tabla 4). Sin embargo, este modelo sólo detecta una significación en el tamaño y una casi significativa en el factor matorral, mientras que el resto de factores no son significativos, así como tampoco las interacciones (tabla 5).

VARIABLES EN LA ECUACIÓN	B	SE	WALD	GL	SIG.	EXP(B)
Valla	0,134	0,497	0,073	1	0,787	1,144
Matorral	1,133	0,589	3,7	1	0,054	3,103
<i>Quercus</i>	-0,099	0,617	0,026	1	0,872	0,905
Tamaño	1,205	0,513	5,515	1	0,019	3,338
Matorral*Valla	0,851	0,555	2,352	1	0,125	2,343
<i>Quercus</i> *Matorral	-0,533	0,548	0,946	1	0,331	0,587
Matorral* Tamaño	-0,718	0,539	1,773	1	0,183	0,488
<i>Quercus</i> * Tamaño	-0,733	0,514	2,036	1	0,154	0,48
<i>Quercus</i> *Valla	0,392	0,554	0,501	1	0,479	1,48

Tabla 5.- Resultados del modelo de Cox con los factores e interacciones seleccionadas según el AIC.

2.2.- Supervivencia en fechas concretas

Los porcentajes de supervivencia obtenidos antes y después de los diferentes periodos secos y periodos invernales se pueden observar en la figura 3 y el análisis de ANOVA multifactorial realizado para cada fecha concreta en la tabla 6. En estos primeros análisis no se ha tenido en cuenta el tamaño de la bellota de procedencia. No se detectó ninguna diferencia significativa en la supervivencia en la primavera de 2011. Sin embargo, en todas las fechas posteriores al primer periodo seco, el matorral afectó significativamente a la supervivencia, así como la valla; por el contrario, no se detectan diferencias significativas para el factor Especie de *Quercus* ni para las interacciones entre factores (tabla 6).

	gl	JN11		OC11		JN12		OC12		JN13		OC13	
		F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Matorral (S)	1	0,482	0,526	42,576	0,003	53,498	0,002	127,00	0	19,32	0,012	19,329	0,012
Valla (F)	1	0,299	0,614	33,146	0,005	37,402	0,004	20,762	0,01	26,75	0,007	26,753	0,007
<i>Quercus (Q)</i>	1	0,629	0,472	0,223	0,661	0,182	0,692	0,276	0,627	1,072	0,359	1,072	0,359
S * F	1	2,529	0,187	1,489	0,289	1,571	0,278	0,517	0,512	0,007	0,936	0,007	0,936
S* Q	1	1,653	0,268	0,186	0,688	0,145	0,722	0,009	0,929	0,105	0,762	0,105	0,762
F*Q	1	1,975	0,233	0,945	0,386	0,794	0,423	2,004	0,23	1,632	0,271	1,632	0,271
S*F*Q	1	0,051	0,832	0	1	0,009	0,929	0,037	0,856	0,008	0,933	0,008	0,933

Tabla 6.- Resultados de los ANOVA multifactoriales en fechas concretas sin tener en cuenta el tamaño.

En el tratamiento sin ninguna protección, sin matorral ni valla (NO) los valores de supervivencia fueron menores en todas las fechas, excepto la inicial (primera primavera) (fig. 3). Para *Q. ilex* las diferencias con el resto de tratamientos eran significativas en todos los periodos, desde el primer otoño (NO: $65\% \pm 7.6\%$, NF: $97\% \pm 3.2\%$, SO: $90\% \pm 4.5\%$, SF: $89\% \pm 4.5\%$) hasta el final del estudio, el tercer otoño (NO: $60\% \pm 7.8\%$, NF: $90\% \pm 5.4\%$, SO: $85\% \pm 5.1\%$, SF: $89\% \pm 4.5\%$). Para *Q. pyrenaica* en el otoño de 2011 y en 2012 también se detectaron diferencias significativas entre NO ($43\% \pm 10.6\%$) y los tratamientos con matorral (octubre 2011: SO: $94\% \pm 4.3\%$, SF: $88\% \pm 5.1\%$), pero no con NF (octubre 2011: $71\% \pm 8.7\%$); en junio y octubre de 2013 únicamente se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos NO ($43\% \pm 10.6\%$) y SF ($86\% \pm 5.5\%$), no existiendo en el resto (NF: $71\% \pm 8.7\%$ y SO: $84\% \pm 6.5\%$). Al comparar las especies de *Quercus* no se detectaron diferencias significativas en la supervivencia de las plántulas en ninguna fecha ni dentro de ningún tratamiento, sin embargo, tras el primer periodo seco (octubre 2011) los valores medios fueron



bastante más bajos para *Q. pyrenaica* en los tratamientos sin matorral (NO: $43\% \pm 10.6\%$, NF: $71\% \pm 8.7\%$) con respecto a *Q. ilex* (NO: $65 \pm 7.6\%$, NF: $97\% \pm 3.2\%$) y esa diferencia se mantuvo en las fechas posteriores hasta octubre de 2013, aunque en menor grado (*Q. pyrenaica*: NO: $43\% \pm 10.6\%$, NF: $71\% \pm 8.7\%$ y *Q. ilex*: NO: $60\% \pm 7.8\%$, NF: $90\% \pm 5.4\%$) (figura 3).

Separando por especie, en otoño de 2011 y en 2012 la valla y el matorral fueron factores significativos en la supervivencia de las plántulas de *Q. ilex*, porque las plántulas sin matorral ni valla sobrevivieron significativamente menos que el resto de tratamientos (NO: $65\% \pm 7.6\%$, NF: $97\% \pm 3.2\%$, SO: $90\% \pm 4.5\%$, SF: $89\% \pm 4.5\%$). Por el otro lado, en *Q. pyrenaica* solo hubo diferencias significativas entre aquellas protegidas por matorral y aquellas sin matorral ni valla (NO: $43\% \pm 10.6\%$, NF: $71\% \pm 8.7\%$, SO: $94\% \pm 4.3\%$, SF: $88\% \pm 5.1\%$). En 2013 estas diferencias se mantienen en *Q. ilex*, pero en *Q. pyrenaica* hubo únicamente diferencias estadísticamente significativas entre aquellos sin valla ni matorral (NO: $43\% \pm 10.6\%$) y aquellos dentro de valla y bajo matorral (SF: $86\% \pm 5.5\%$). Al comparar las especies de *Quercus* no se detectaron diferencias significativas en la supervivencia de las plántulas en ninguna fecha ni dentro de ningún tratamiento, sin embargo, tras el primer periodo seco (octubre 2011) los valores medios fueron bastante más bajos para *Q. pyrenaica* en los tratamientos sin matorral (NO: $43\% \pm 10.6\%$, NF: $71\% \pm 8.7\%$) con respecto a *Q. ilex* (NO: $60\% \pm 7.8\%$, NF: $90\% \pm 5.4\%$) y esa diferencia se mantuvo en las fechas posteriores (figura 3).

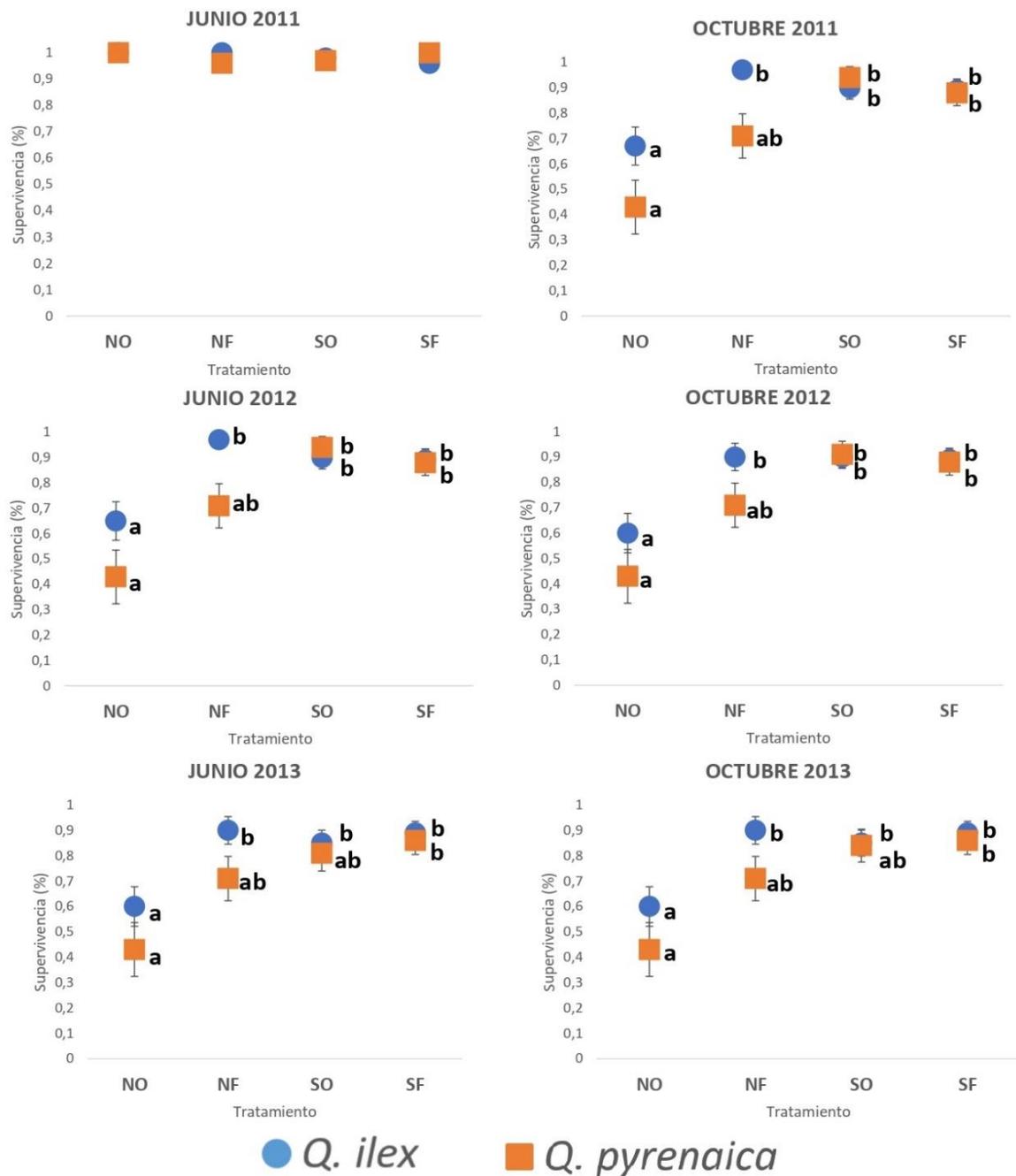


Fig. 3.- Tasas de supervivencia obtenidas hasta cada fecha indicada (antes y después de los periodos secos estivales), para cada especie en los diferentes tratamientos (valores medios \pm error estándar). Resultados del ANOVA (tres factores) seguidos de comparaciones con el test de Tukey. Diferentes letras indican diferencia ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de la misma especie.



Las tasas de supervivencia así como los resultados del ANOVA multifactorial teniendo en cuenta el tamaño de la bellota se pueden observar en la figura 4 y en la tabla 7. No se detectó ninguna diferencia significativa en la supervivencia en la primavera de 2011. Sin embargo, en las fechas posteriores al primer periodo seco, desde octubre del primer año hasta octubre del tercer año, se detectan como significativas las diferencias producidas por el factor matorral, el factor valla, y el factor tamaño y para las interacciones triples matorral*especie de *Quercus* *tamaño y Valla*especie de *Quercus** tamaño; esta última fue significativa salvo en octubre de 2012, fecha en que se detectó una interacción doble entre especie de *Quercus* * tamaño (df=1, F=8,687, p=0,042). También a partir de octubre de 2011 se detectó una triple interacción entre matorral* valla * tamaño, la cual perduraría hasta junio de 2012.

Al analizar en cada fecha las interacciones entre los factores se obtuvo lo incluido en la figura 4. No se detectaron diferencias significativas en la supervivencia en la primavera de 2011; los porcentajes de supervivencia medios obtenidos para cada especie-tamaño-ambiente eran todos superiores al 90%. En otoño de 2011, tras el primer periodo seco, se comenzó a observar diferencias significativas. Por una parte, para las plántulas provenientes de bellotas grandes de *Q. ilex*, hubo diferencias significativas entre los tratamientos sin matorral ni valla (NO: 57%±1.1%) y sin matorral con valla (NF: 100%±0%), las cuales desaparecieron a partir de octubre de 2012. Por otra parte, para las plántulas provenientes de bellota pequeña de *Q. pyrenaica*, hubo diferencias significativas entre los tratamientos sin matorral ni valla (NO: 33%±16.7%) y con matorral y valla (SF: 85%±8.2%), que se mantuvieron hasta el final del periodo de estudio. Como en el análisis sin el tamaño, no se detectaron diferencias significativas en la supervivencia de las plántulas entre las dos especies de *Quercus*, salvo en octubre de 2011 y junio de 2012, en el tratamiento dentro de valla sin matorral

(NF) entre las plántulas procedentes de bellotas grandes de *Q. ilex* (NF: 100%±0%) y las procedentes de bellotas pequeñas de *Q. pyrenaica* (NF: 45%±15.7%). Al final del periodo de estudio, los porcentajes de supervivencia obtenidos fueron muy parecidos a los registrados en octubre 2011. En octubre de 2013, para *Q. ilex* no se detecta ninguna diferencia significativa en relación con el tamaño de la bellota, los menores valores se obtuvieron en el tratamiento NO (68±11% y 52±11.2%, para plántulas procedentes de bellotas pequeñas y grandes, respectivamente), y en los otros tratamientos la supervivencia era mayor del 80% (para plántulas procedentes de bellotas pequeñas y grandes, respectivamente: NF 93±6.7%, 87±8.5%; SO 80±8.2%, 91±6%; SF 83±7.8%, 96±4.3%), obteniéndose el mejor resultado para plántulas procedentes de bellotas grandes en SF. En cuanto a *Q. pyrenaica*, para plántulas de bellotas pequeñas al final del estudio se obtuvo una supervivencia significativamente menor en el tratamiento sin matorral ni valla, que en el tratamiento con ambos factores de protección (NO: 33±16.7%; SF: 85±8.2%), mientras que no se detectó ninguna diferencia significativa entre tratamientos para las procedentes de bellotas grandes. En general, aunque sin significación estadística, para esta especie los valores medios de supervivencia de las plántulas procedentes de bellotas pequeñas fueron menores que los de las procedentes de bellotas grandes, sobre todo en los tratamientos sin matorral (para plántulas procedentes de bellotas pequeñas y grandes, respectivamente: NO 33±16.7%, 50±13.9%; NF 45±15.7%, 88±8.1%; SO 69±12.2, 89±7.2% ; SF 85±8.2%, 86±7.5%).

	gl	JN11		OC11		JN12		OC12		JN13		OC13
		F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F
Matorral (S)	1	0,482	0,526	42,576	0	53,498	0	127,004	0	19,329	0,01	19,329
Valla (F)	1	0,299	0,614	33,146	0,01	37,402	0	20,762	0,01	26,753	0,01	26,753
Quercus (Q)	1	0,629	0,472	0,223	0,661	0,182	0,692	0,276	0,627	1,072	0,359	1,072
Tamaño (T)	1	1,435	0,297	14,381	0,02	14,999	0,02	8,316	0,05	8,214	0,05	8,214
S * F	1	2,529	0,187	1,489	0,289	1,571	0,278	0,517	0,512	0,007	0,936	0,007
S * Q	1	1,653	0,268	0,186	0,688	0,145	0,722	0,009	0,929	0,105	0,762	0,105
S * T	1	0,482	0,526	0,452	0,538	0,297	0,615	1,206	0,334	0,776	0,428	0,776
F * Q	1	1,975	0,233	0,945	0,386	0,794	0,423	2,004	0,23	1,632	0,271	1,632
F * T	1	0,299	0,614	1,386	0,304	1,638	0,27	2,552	0,185	3,108	0,153	3,108
Q * T	1	0,629	0,472	5,541	0,08	4,935	0,09	8,687	0,04	3,052	0,16	3,052
S * F * Q	1	0,051	0,832	0	1	0,009	0,929	0,037	0,856	0,008	0,933	0,008
S * F * T	1	2,529	0,187	7,969	0,05	8,23	0,05	1,985	0,23	3,505	0,13	3,505
S * Q * T	1	1,653	0,268	9,457	0,04	8,372	0,04	7,965	0,05	33,633	0	33,633
F * Q * T	1	1,975	0,233	10,437	0,03	10,273	0,03	2,899	0,16	8,72	0,04	8,72
S * F * Q * T	1	0,051	0,832	0,387	0,568	0,434	0,546	0,975	0,379	0,613	0,477	0,613

Tabla 7.- Resultados de los ANOVA multifactoriales en fechas concretas teniendo en cuenta el tamaño.

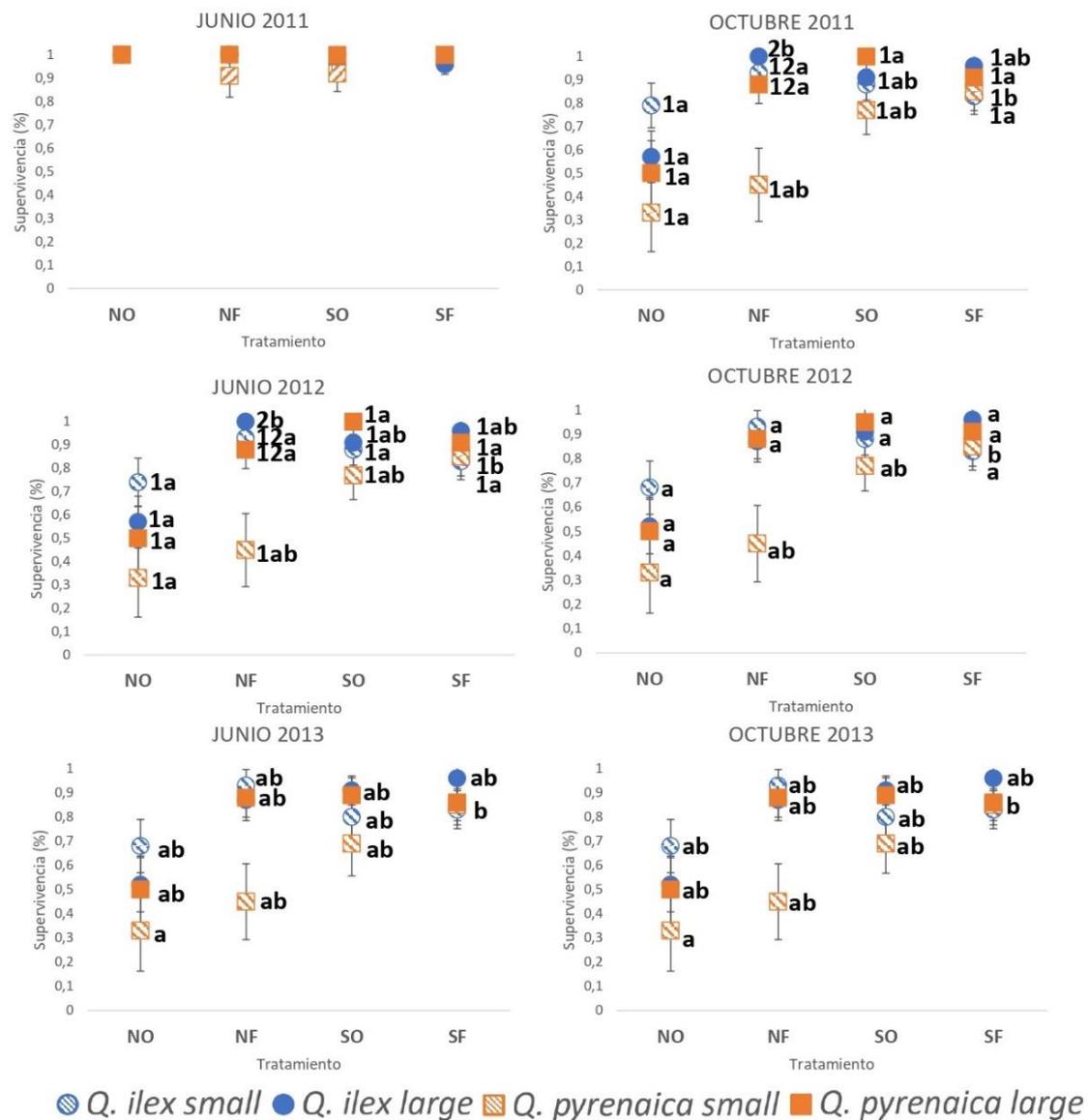


Fig. 4.- Tasas de supervivencia obtenidas para cada especie en los diferentes tratamientos (valores medios \pm error estándar). Resultados del ANOVA (cuatro factores) seguidos de comparaciones por pares con el test de Tukey. Diferentes números indican diferencia ($p < 0,05$) entre la combinación de especie y tamaño dentro de cada tratamiento, y diferentes letras indican diferencia ($p < 0,05$) entre tratamientos dentro de la misma especie y tamaño.



3.- DISCUSIÓN

En este estudio se ha puesto de manifiesto que, durante los tres primeros años, *Cytisus multiflorus* influye de forma significativa y positiva en la supervivencia de las plántulas de *Quercus* procedentes de la siembra en campo de bellotas de diferentes tamaños, tanto para *Q. ilex* como *Q. pyrenaica*, según la mayor parte de los análisis. El efecto positivo de *Cytisus multiflorus* había sido descrito con anterioridad al valorar la supervivencia y crecimiento tras plantar en campo plántulas de una savia (Costa *et al.*, 2017) y al valorar la emergencia de plántulas a partir de bellotas (Díaz Hernández *et al.*, 2021), pero no se han localizado estudios anteriores donde se valore lo incluido en el presente trabajo. También se ha descrito el efecto positivo de otras especies arbustivas leguminosas en la supervivencia de las plántulas de *Quercus*, como *Retama sphaerocarpa* (Rolo *et al.*, 2013), *Genista hirsuta* (Smit *et al.*, 2007; 2008), *G. florida* y *Cytisus scoparius* (Torroba-Balmori *et al.*, 2015; Martínez-Ruiz *et al.*, 2021).

Este efecto positivo probablemente es debido a la reducción del estrés por la mejora del microclima y la fotoprotección (se tratará en el capítulo 5), como también se ha señalado para otras especies de matorral (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; 2008; Smit *et al.*, 2008; Muhammed *et al.*, 2013), así como las mejoras en las condiciones edáficas (Costa *et al.*, 2017). Múltiples estudios en ecosistemas que experimentan estrés abiótico, en concreto, lumínico, térmico y de sequía, han descrito que el principal mecanismo que mejora la supervivencia de plantas leñosas es la sombra, aumentando la importancia de este efecto con el estrés abiótico (Castro *et al.*, 2004; Gómez-Aparicio *et al.*, 2004; 2008; Valladares *et al.*, 2005; Padilla y Pugnaire, 2006; Quero *et al.*, 2006; Sánchez-Gómez *et al.*, 2006; Puerta-Pinero *et al.*, 2007; Smit *et al.*, 2008; Badano *et al.*, 2011; Montes-Hernandez y López-Barrera, 2013; Caldeira *et al.*, 2014). Por ello, según Muhammed *et al.* (2013) el matorral tiene un mayor efecto en la supervivencia de

las plántulas en un lugar seco que en uno húmedo, siendo estos resultados coherentes con la “hipótesis del gradiente de estrés”, según la cual las interacciones positivas aumentan en condiciones de estrés (Bertness y Callaway, 1994).

Estas condiciones se mejoran mediante un doble efecto: interceptación de la luz evitando la fotoinhibición (Gómez-Aparicio *et al.*, 2006) y la reducción de la demanda de transpiración y marchitamiento durante la estación seca (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005). Aun así, hay estudios que demuestran que la luz afecta positivamente a la supervivencia total de las plántulas, pero no a la supervivencia de las plantas ya emergidas (García de Jalón *et al.*, 2020). Según estos autores, el efecto positivo de la luz tiene lugar en las primeras etapas de la vida, pero una vez los tallos emergen, estos tienen que hacer frente a la sequía estival y esta exposición a la luz puede aumentar el estrés hídrico de las plántulas.

En cuanto a la mejoría de las condiciones del suelo, Costa *et al.* (2017) analizaron los efectos de *C. multiflorus* en estas mismas zonas y vieron un significativo aumento de la materia orgánica y un porcentaje ligeramente mayor de arcilla bajo el dosel de *C. multiflorus*, lo que, puede dar lugar a un aumento de la capacidad de retención de agua del suelo, como se ha indicado para otras especies (Farnsworth, 2000; Joët *et al.*, 2013; Alday *et al.*, 2016; Gil-Pelegrín *et al.*, 2017; O’Donnell *et al.*, 2020). En otros estudios se ha observado que *C. multiflorus* evita la desecación de las bellotas, al igual que otras especies de matorrales (Smit *et al.*, 2008; Pugnaire *et al.*, 2011; Smit *et al.*, 2006), lo que es muy importante en zonas mediterráneas con una capacidad de retención de agua en el suelo muy baja. No obstante, Costa *et al.* (2017) señalan que *C. multiflorus* puede reducir significativamente la cantidad de K, a diferencia de otras especies de matorrales en los que la cantidad de K aumenta bajo su dosel (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; Smit *et al.*, 2008) lo cual parece aumentar la resistencia de la planta



a la sequía (Bradbury y Malcolm, 1977; Egilla *et al.*, 2001). Ahora bien, el efecto sobre las condiciones edáficas probablemente sea más secundario en comparación con la reducción de la radiación (ver capítulo 5), como también se ha indicado para otras especies (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005).

Característicos del clima mediterráneo, los episodios de sequía estival imponen un severo estrés hídrico que puede ser letal para las plántulas jóvenes (Gómez-Aparicio *et al.*, 2008). La facilitación del matorral a la supervivencia mediante la resistencia a la sequía puede ser importante en nuestro estudio, ya que la principal caída en la supervivencia tuvo lugar a mediados de junio, en el primer periodo seco, no existiendo diferencias entre los tratamientos antes de esta caída. Se ha detectado que bajo el matorral la caída es menor que en las zonas sin protección, y además esta caída se produce más tarde. Resultados similares se obtuvieron tras la plantación de plántulas de vivero en esta misma zona (Costa *et al.*, 2017), y también se han descrito para otras especies de matorral (García de Jalón *et al.*, 2020). Costa *et al.* (2017) vieron que la caída en la supervivencia se produjo el 1 de junio, mientras que bajo el matorral esta disminución ocurrió 1 o 2 meses después que en las áreas abiertas para *Q. pyrenaica*, mientras que 1 mes después para *Q. ilex*. Como con el estudio de Costa *et al.* (2017), en este estudio hubo una segunda disminución en la supervivencia para la segunda estación seca, mientras que no se observó un gran efecto del periodo frío. Estos resultados cuadran con el argumento de que la primera estación seca es el periodo más importante para la supervivencia de las plántulas (Navarro Cerrillo *et al.*, 2005; Quero *et al.*, 2006; Puerta-Piñeiro *et al.*, 2007; Torroba-Balmori *et al.*, 2015; Martínez-Ruiz *et al.*, 2021), aunque otros estudios a más largo plazo han visto que en otras zonas las plántulas de *Q. ilex* siguen muriendo más tarde (Núñez-Valero, 2013; Rolo *et al.*, 2013).

Por otro lado, según García de Jalón *et al.* (2020), aunque la sequía estival fuese la principal causa de mortalidad, la humedad del suelo puede tener un efecto negativo sobre la supervivencia de las plántulas, debido al anegamiento esporádico que dificulta el desarrollo de las radículas y la respiración (Urbieto *et al.*, 2008; Matías *et al.*, 2012). Además, esta humedad puede provocar una mayor mortalidad de plántulas debido a factores bióticos como patógenos del suelo, como mediante la infección por *Oomycetes*, siendo favorecida su esporulación y dispersión de zoosporas (Garret *et al.*, 2006). Sin embargo, se ha visto también que los hongos micorrícicos desempeñan un papel importante en la absorción y transporte de agua a cambio de carbono en forma de azúcares (Gorzalak *et al.*, 2015; Pickles y Simard, 2017), mejorando la salud de la planta y la susceptibilidad de esta a la sequía (Smith y Read, 2008; Ochoa-Hueso *et al.*, 2017; Pickles y Simard, 2017).

Aparte de la mejora de las condiciones abióticas, un efecto positivo del matorral puede ser debido a la protección frente a grandes herbívoros, efecto que se ha observado en estas zonas en la emergencia de plántulas a partir de bellotas (ver capítulo 3) y en la supervivencia tras plantar (Costa *et al.*, 2017), y también se ha descrito para otras especies nodrizas (García y Obeso, 2003; Torroba-Balmori *et al.*, 2015; Alday *et al.*, 2016; Martínez-Ruiz *et al.*, 2021). En el presente estudio, al analizar el efecto de grandes herbívoros (mediante el cercado) sobre la supervivencia de las plántulas procedentes de bellotas, se ha detectado un efecto significativo al comparar las curvas de supervivencia, pues en ambas especies de *Quercus* aquellos tratamientos sin matorral ni valla se diferenciaban de aquellos con cualquiera de los dos factores. Sin embargo, el efecto de la valla no es tan claro como el de *C. multiflorus*, sobre todo para las plántulas de *Q. pyrenaica*. Es decir, en el presente estudio se ha visto que para ambas especies de *Quercus* tener algún tipo de protección (matorral/valla) aumenta



significativamente su supervivencia; ahora bien, la presencia de matorral parece ser más importante para *Q. pyrenaica* que para *Q. ilex*, la valla para el roble no aumenta tanto su supervivencia como la presencia de matorral, sobretodo la combinación matorral-valla, mientras que para la encina matorral o valla parecen tener un efecto más parecido.

Por tanto, parece que para las plántulas de *Q. ilex* procedentes de la siembra de bellotas el principal papel del matorral es el de protección frente a los grandes herbívoros, ya que es equivalente a cercar sin presencia de leñosa. Sin embargo, para las de *Q. pyrenaica* el matorral tiene importancia por ambos papeles, mejora de las condiciones abióticas y protección, principalmente el primero en estas zonas. Nuestros resultados no coinciden del todo con lo detectado por Costa *et al.* (2017); en ese estudio los cercados no tuvieron un efecto positivo en la supervivencia, aunque si se encontró un efecto positivo en el crecimiento de los plantones, principalmente para *Q. pyrenaica*. Parece pues, que puede haber diferencias entre sembrar y poner planta de *Q. ilex* en cuanto a sus necesidades para la supervivencia, probablemente relacionado con el desarrollo radicular, tema que sería interesante analizar en futuros estudios. Ahora bien, para la supervivencia de *Q. pyrenaica* en estas zonas es esencial la presencia del matorral. Este resultado apoya la idea de que las interacciones positivas son relevantes para que las especies mesófilas persistan en los márgenes de su distribución (Choler *et al.*, 2001; Castro *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2008; Madrigal-González *et al.*, 2012; 2014). Esto puede ser debido a que las características morfológicas de las especies caducifolias las hacen ser más vulnerables a la escasez de agua que las especies esclerófilas (Acherar y Rambal, 1992; Costa *et al.*, 1997; Fotelli *et al.*, 2000), aunque tampoco puede olvidarse que en los bosques mediterráneos los herbívoros ejercen una mayor presión sobre las especies caducifolias que sobre las perennes (Cuartas y García-González, 1992).

En cuanto al efecto del tamaño de las bellotas en la supervivencia de las plántulas de *Quercus* en nuestro estudio se ha observado que, dependiendo de la especie de *Quercus*, el tamaño afecta de distinta manera a la supervivencia de las plántulas en los distintos tratamientos. En *Q. ilex* el tamaño no parece tener un efecto claro en la supervivencia de las plántulas durante los 3 primeros años, mientras que en *Q. pyrenaica* el tamaño de la bellota es más importante. Si la bellota de *Q. pyrenaica* es pequeña, el matorral es esencial para la supervivencia de las plántulas, la favorece significativamente, y no puede ser sustituido su efecto por el vallado. Sin embargo, si la bellota de *Q. pyrenaica* es grande la supervivencia de las plántulas mejora notablemente en presencia de algún factor de protección, bien sea matorral o valla; es decir, no es tan importante la presencia de matorral si hay valla. Estos resultados no apoyan la idea más generalizada de que la biomasa de la bellota es uno de los predictores más consistentes en la germinación, supervivencia y crecimiento de las plántulas de *Quercus* (Khan *et al.*, 2001; Quero *et al.*, 2007; González-Rodríguez *et al.*, 2011). Según bastantes autores el tamaño de la bellota es uno de los rasgos más importantes en las primeras fases del ciclo vital de la planta, pues durante el primer año las plántulas de *Quercus* dependen más de sus reservas de semillas que de las condiciones ambientales (González-Rodríguez *et al.*, 2011), ganando importancia las condiciones del microhábitat en las etapas posteriores, a medida que se agotan las reservas de las semillas (Gómez-Aparicio *et al.*, 2008; Pérez-Ramos *et al.*, 2010). Este aumento en la supervivencia podría darse al producir plántulas más grandes con mayores raíces, aumentando las probabilidades de sobrevivir a la sequía estival (Lloret *et al.*, 1999; Metcalfe y Grubb, 1997; Fernández-Santos *et al.*, 2013; Alonso-Crespo *et al.*, 2020) por favorecer el rebrote tras la acción de herbívoros (Green y Juniper, 2004), o por facilitar el establecimiento en ambientes en sombra, donde las bellotas se dispersan por arrendajos y roedores (Bossema, 1979; Gómez *et al.*, 2003). Ahora bien, la comparación e interpretación de los



resultados obtenidos en nuestro estudio no es fácil porque son muy escasos los estudios de campo con diseños parecidos. Sería de gran interés poder comparar en el futuro con otros estudios de campo, en otras zonas y con otras especies de matorral nodriza. Más aún si, como sugieren algunos investigadores, las especies de *Quercus* pueden peligrar debido a sequías más intensas que reduzcan la biomasa de la bellota al aumentar el estrés hídrico de los árboles portadores de bellotas (Pérez-Ramos *et al.*, 2010; Gavinet *et al.*, 2019; Sánchez-Humanes *et al.*, 2011).

El modelo de Cox mostró resultados diferentes al análisis de Kaplan-Meier, la prueba de rango logarítmico y los análisis en fechas concretas, detectando únicamente una significación en el tamaño y una casi significación en el factor matorral. Esto probablemente es debido a la naturaleza y objetivos de los propios análisis. La prueba de Kaplan-Meier estima la función de supervivencia, es decir, la probabilidad de sobrevivir más allá de un determinado punto de tiempo. Para comparar las curvas de supervivencia entre grupos se realiza la prueba de rango logarítmico, comprobando la hipótesis nula de que no hay diferencia entre las curvas de supervivencia de la población. Esta prueba evalúa la significación estadística, pero no estima el tamaño del efecto, ni tampoco permite tener en cuenta otras variables explicativas. Por otra parte, el modelo de riesgos proporcionales de Cox es análogo a un modelo de regresión múltiple, pero estudia la función de riesgo, no la de supervivencia, como en los análisis anteriores, y no compara entre las curvas de supervivencia concretas, sino que estima el efecto de las variables individuales e interacciones. Por tanto, esa diferencia de los distintos métodos hace posible esta diferencia en los resultados.





Capítulo 6

Análisis temporal del efecto de *Cytisus multiflorus* sobre las variables ambientales



1.- METODOLOGÍA

Para el estudio de los factores abióticos se colocaron una serie de sensores capaces de medir las condiciones abióticas del terreno, siendo estas la temperatura, la humedad relativa, la radiación y la cantidad de agua en el suelo. Se tomaron mediciones durante cada hora desde el 1 de enero de 2011 a las 0:00 hasta el 31 de diciembre de 2014 a las 23:00. Se ubicaron dos sensores para cada uno de los factores y 6 para el agua en el suelo, la mitad dentro del matorral y la otra mitad fuera. Por tanto, mediante el análisis de los sensores, aunque no seamos capaces de analizar el efecto que tiene *Cytisus* directamente sobre las especies de *Quercus*, lo cual se ha estudiado con los análisis previos, deberíamos ser capaces de ver el efecto que tiene el matorral sobre las variables ambientales, modificando el efecto abiótico sobre las plántulas de *Quercus*; así como analizar las posibles relaciones entre las variables ambientales. Para ello se llevó a cabo una serie temporal de la evolución de cada factor a lo largo del tiempo, tanto de los valores absolutos fuera y dentro del matorral como de la diferencia del valor del factor fuera del matorral menos el valor del factor dentro de este, tanto desde 2011 a 2014, como para el periodo crítico para la emergencia y supervivencia (de abril a octubre de 2011). Posteriormente se llevó a cabo un análisis mediante métodos Biplot, tanto a los valores absolutos como a los valores de las diferencias de este periodo concreto.

Se dispuso de una base de datos de variables ambientales con una medición de cada variable por cada hora durante cuatro años. Estas variables ambientales son la medición de la temperatura, la humedad relativa, la radiación y la cantidad de agua en los primeros 30cm del suelo, dentro y fuera del matorral. La humedad relativa consiste en la cantidad de vapor de agua que está presente en el aire. La radiación es la propagación de energía en forma de ondas electromagnéticas, midiendo mayoritariamente en este caso, aquella proporcionada por el sol, siendo un factor muy importante para el desarrollo de las plántulas.

Debido a la naturaleza de los datos, estos tendrán ruido debido al ser una serie temporal con ciclo día/noche y de estaciones. Sin embargo, este efecto se puede disminuir mediante el método de medias móviles. Este método consiste en crear una serie de medias partiendo de pequeños grupos de la base de datos. Las medias móviles se utilizan normalmente en las series temporales con el fin de suavizar las fluctuaciones a corto plazo y los ciclos repetitivos a largo plazo (Hyndman, 2009).

Hay distintas variaciones de este método: simple, acumulativa y ponderada, pero se utilizó únicamente la primera. Para crear las medias móviles se toma un intervalo de tiempo determinado de manera arbitraria, siendo en nuestro caso una semana en caso de todo el periodo de estudio y un día en el caso del estudio desde abril hasta octubre. Entonces, para obtener un valor a un determinado día, este será la media entre el día anterior y posterior al día que queremos obtener. Lo mismo se podría hacer con intervalos mayores como, por ejemplo, semanas o meses, aunque lo más probable es que se pierda mucha información en ese caso. Todos los procedimientos que se le realizaron a los datos se llevaron a cabo con el programa estadístico gratuito R.

2.- RESULTADOS

2.1- ANÁLISIS DE LOS SENSORES DE 2011 A 2014

2.1.1.- Análisis de serie temporal de las variables ambientales fuera y dentro del matorral

A continuación vamos a comparar las distintas series temporales fuera y dentro del matorral. Para la comparación estudiaremos las diferencias entre las variables fuera y dentro del matorral. Tenemos las diferencias para cada hora del día en los días de 4 años consecutivos.



Eliminando el ruido mediante el método de las medias móviles (tomando como referencia las semanas), se ha hecho una comparación de las variables fuera y dentro con el fin de percibir la evolución de las variables a lo largo de los cuatro años y de si existen diferencias visibles entre los tratamientos dentro y fuera del matorral. En los gráficos se representa en rojo la variable fuera del matorral y en azul la variable dentro de este.

2.1.1.1.- Análisis de la temperatura

Procederemos ahora a estudiar la estacionalidad de estas series temporales. En la temperatura fuera del matorral se advierte un efecto cíclico diario y estacional, aumentando la temperatura en los meses de verano y disminuyendo en los de invierno (figura 1A). Además, se observa según la tendencia de la serie que, en el primer año, las temperaturas han descendido mientras que se han mantenido estables en los siguientes, aunque hay un ligero aumento en 2013. Los patrones estacionales diarios son bastante irregulares ya que no tienen por qué ser similares en los distintos días. Además, es claro que presentan una variabilidad mayor en los días centrales del año. El patrón diario anual es el típico de un clima continental en el que tenemos inviernos fríos y veranos más cálidos. Por último, el error parece presentar patrones no detectados con las componentes anteriores. La temperatura dentro del matorral tiene un comportamiento muy similar a la temperatura fuera de este (fig. 1B):

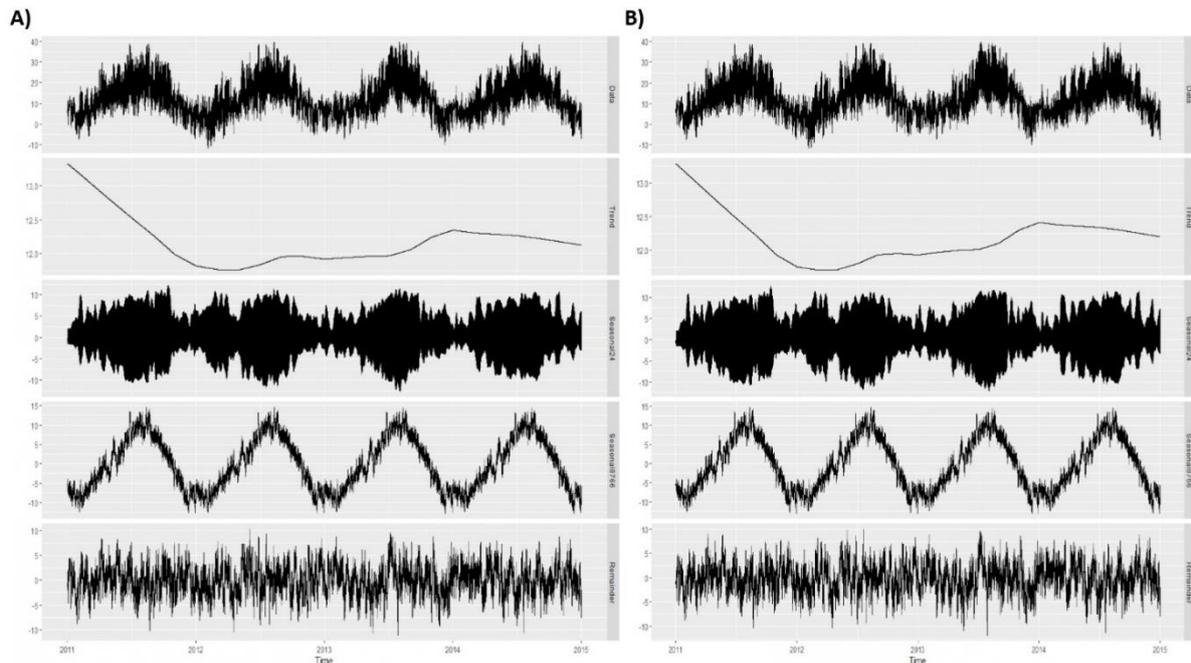


Figura 1. Descomposición de la serie temporal de la temperatura. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral.

Para el conjunto completo de los datos, se ha representado las horas 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 mostradas en el gráfico siguiente y representado para una mejor interpretación mediante las medias móviles por semana (fig. 2):

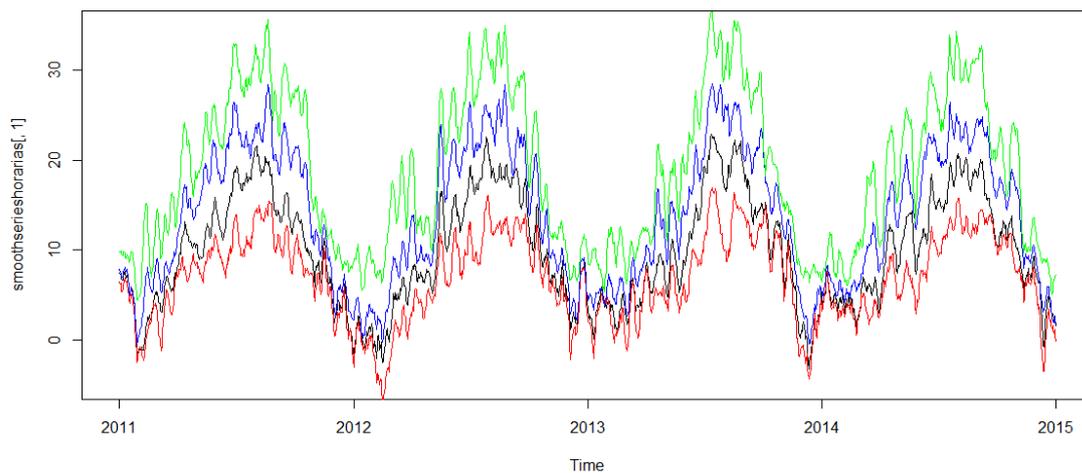


Figura 2. Representación de la temperatura fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.

Como se puede observar, de mayor a menor, las horas de más temperaturas son 18:00, 12:00, 00:00, y 06:00. Se sigue observando bastante variación en los distintos días. Parece claro que en esta serie de datos hay dos componentes estacionales: la horaria y la diaria. Como el principal objetivo es analizar la diferencia entre los sensores dentro y fuera del matorral, no realizaremos de momento más modelos para la temperatura, realizándola a continuación para el resto de variables ambientales.

2.1.1.2.- Análisis de la humedad relativa

En el caso de la humedad relativa se advierte también el efecto cíclico diario, con veranos más secos e inviernos más húmedos (fig. 3A). Se observa que la humedad relativa tiende a disminuir en el primer año, pero esta aumenta ligeramente y se mantiene estable hasta 2014, momento en el que esta vuelve a aumentar. Al observar la estacionalidad horaria, se ve que en los meses de invierno la variabilidad es menor, como en el caso de la temperatura. El patrón diario anual se mantiene constante, con veranos más secos e inviernos más húmedos. Para la humedad relativa dentro del matorral el comportamiento es similar, al igual que con la temperatura (fig. 3B):

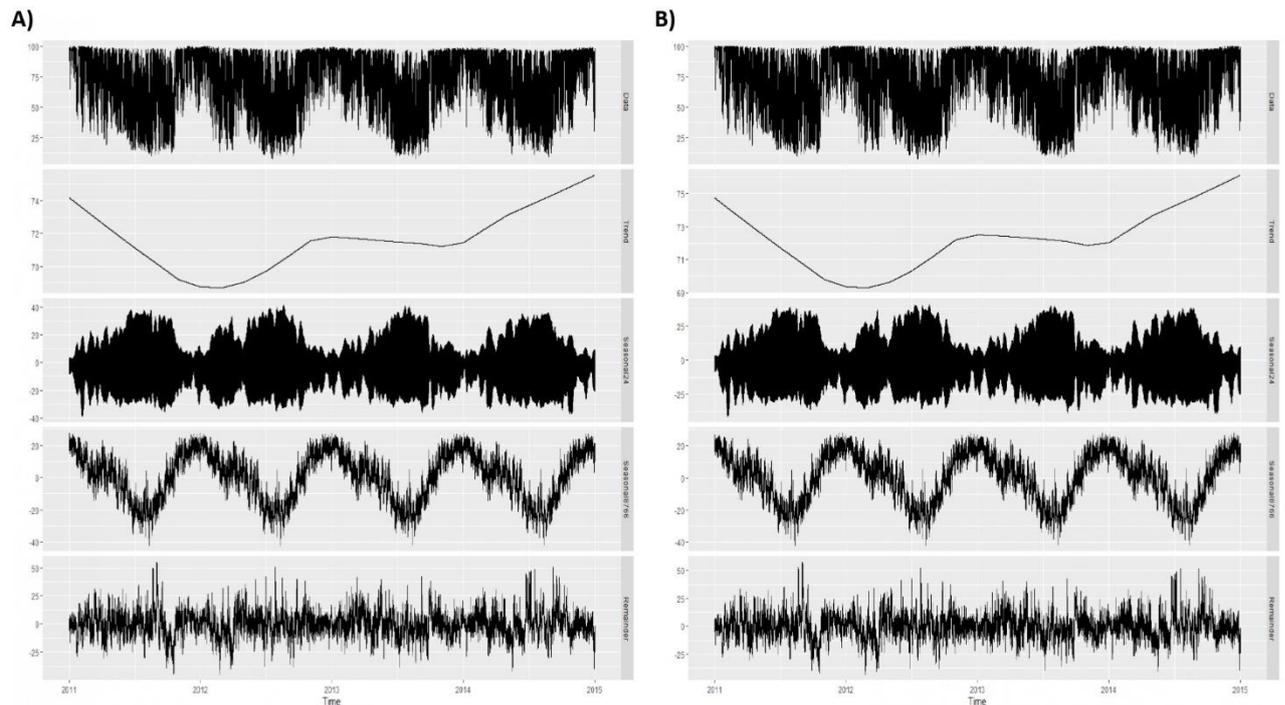


Figura 3. Descomposición de la serie temporal de la humedad relativa. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral.

Al representar a lo largo del tiempo mediante series móviles semanales las diferentes horas, se puede observar que las horas con mayor humedad, de mayor a menor son las 6 de la mañana, seguida de las 0:00, las 12:00 y finalmente las 18:00 de la tarde, viéndose para cada hora el ciclo estacional ya mencionado con anterioridad. La humedad, al contrario que la temperatura, aumenta en los meses fríos y disminuye en los cálidos, existiendo bastante variación en los distintos días (fig. 4). Las dos componentes estacionales que también se veían en la temperatura se mantienen (horaria y diaria).

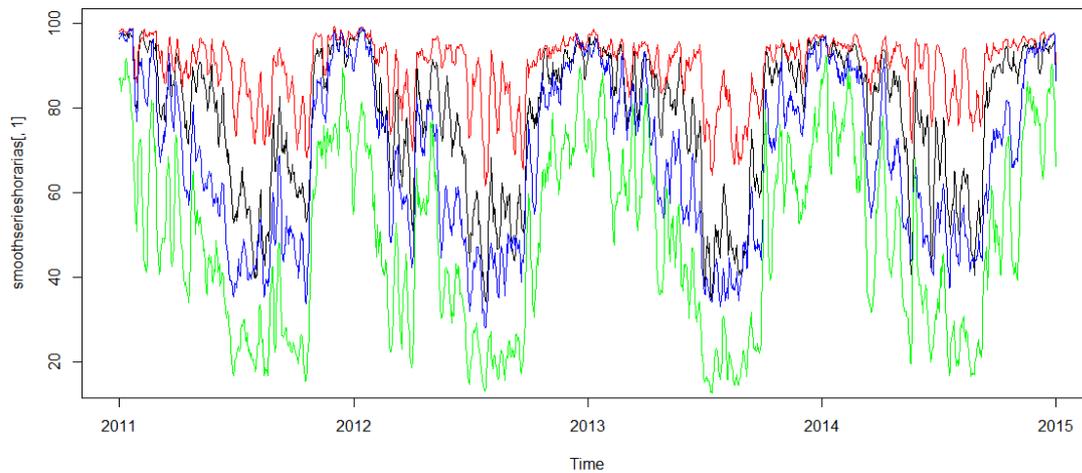


Figura 4. Representación de la humedad relativa fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.

2.1.1.3.- Análisis de la radiación

Representando las radiaciones fuera y dentro del matorral observamos en primer lugar una clara componente estacional que tiene que ver con las estaciones del año, pues existe una menor radiación en los meses de invierno y una mayor en los de verano. Se observa lo que parece una mayor radiación en el último año, aunque esto se advierte mejor al analizar la tendencia (fig. 5A). En esta se observa que la radiación fuera del matorral tiende a descender el primer año para aumentar ligeramente en el invierno de 2012, posteriormente descendiendo al principio de 2013 para volver a aumentar en el año 2014. Los patrones estacionales diarios son bastante irregulares y presentan una mayor variabilidad en los días centrales del año, cuando la magnitud es muy alta. El patrón diario anual coincide con el de la temperatura, con veranos con mayor radiación e inviernos con menos. El error parece presentar patrones no identificables, aunque se observa una menor variabilidad los meses con menor radiación. Para la radiación dentro del matorral

el comportamiento de la tendencia cambia (fig. 5B). Esta se mantiene estable y, posteriormente, tiende a aumentar a partir de finales de 2013, cuando el matorral comenzó a perder biomasa y, por tanto, este era incapaz de impedir el paso de la radiación. El análisis de las componentes estacionales y residuales es el mismo que en el caso de la radiación fuera.

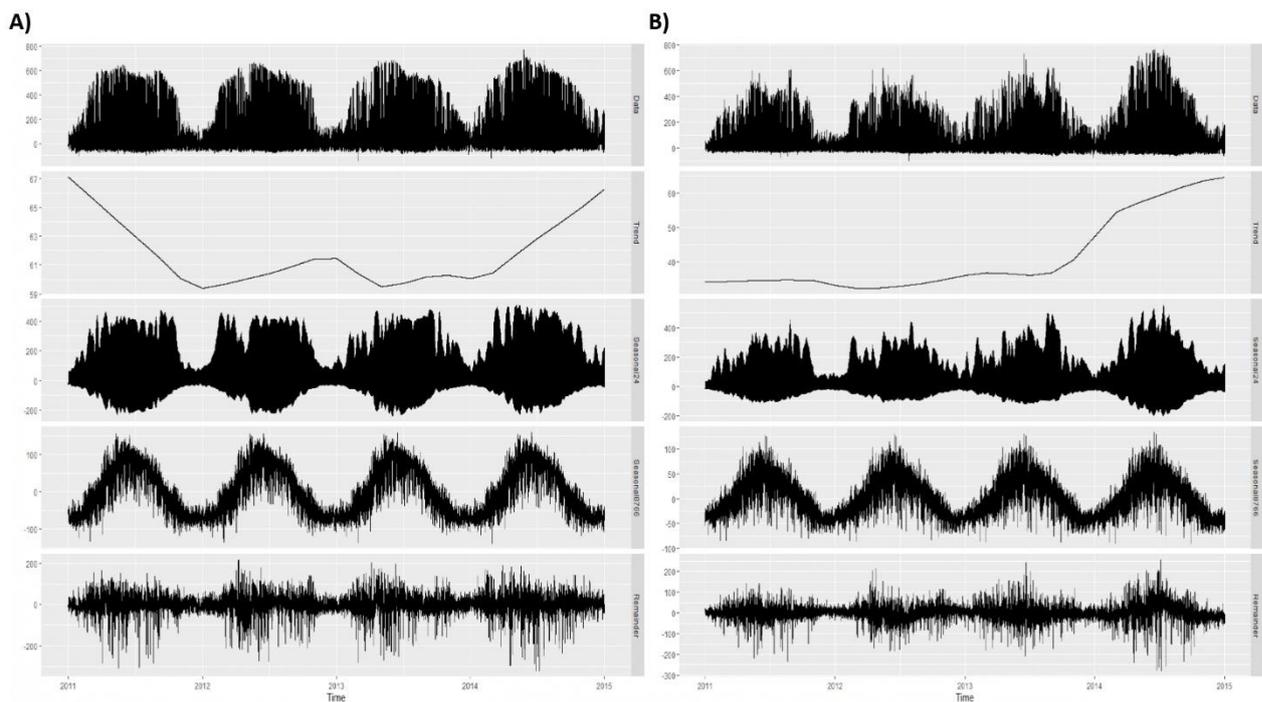


Figura 5. Descomposición de la serie temporal de la radiación. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral.

Para el conjunto completo de los datos con medias móviles por semana, la representación de las horas 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 se muestra en el gráfico siguiente:

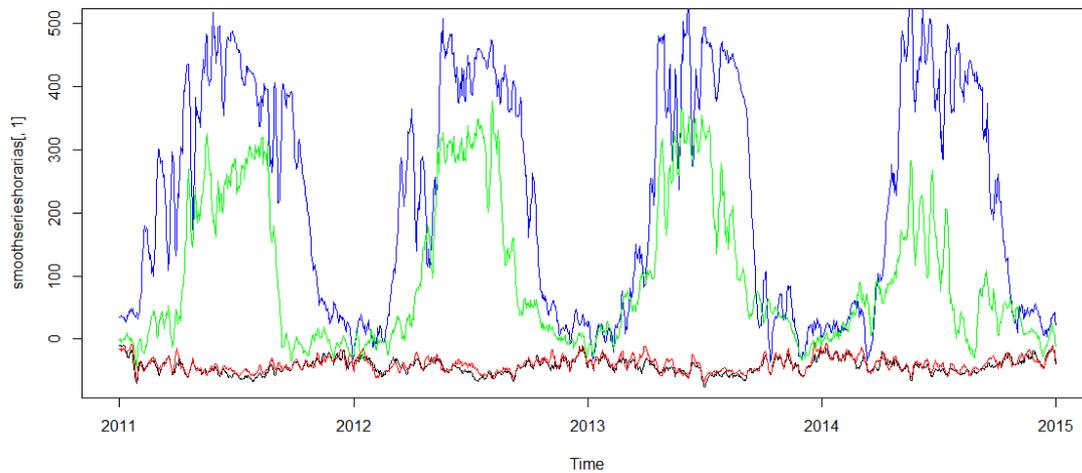


Figura 6. Representación de la radiación fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.

Observamos que hay una gran diferencia entre la radiación tomada a las 0:00 y 6:00 en comparación con las de las 12:00 y las 18:00. Curiosamente en las horas de noche la radiación parece que tiende a disminuir en los días de verano, mientras que en las horas de día es al contrario (fig. 6). Aunque a priori, pareciera que la situación sería la misma que la temperatura, la situación es diferente: en orden, las horas de mayor radiación a menor son las 12:00, las 18:00, las 6:00 y las 0:00. Se mantienen las dos componentes estacionales, la horaria y la diaria.

2.1.1.4.- Análisis de la cantidad de agua en el suelo

En la cantidad de agua, se observa que la evolución es mucho más desigual que en el resto de variables, pero a grandes rasgos se puede advertir que, como con la humedad relativa, la cantidad de agua disminuye en los meses centrales del año, mientras que esta aumenta en los meses de invierno. Se advierte que los aumentos en la cantidad de agua suelen ser abruptos, mientras que la disminución

es más gradual. Esto probablemente sea debido a que los aumentos se deben a las precipitaciones y la cantidad de agua va disminuyendo del suelo lentamente hasta la siguiente lluvia. La tendencia en la cantidad de agua es de disminuir durante el primer año, pero a partir de ahí se produce una subida lenta, sobre todo en los meses de otoño de 2012. Los patrones estacionales diarios son bastante irregulares y de pequeña magnitud. Se observa claramente el patrón diario anual, con mayor cantidad de agua en los meses de invierno y menor en los de verano. No se observa un patrón reconocible en los residuos (fig. 7A). Para la cantidad de agua dentro del matorral el comportamiento es similar, aunque el aumento en la cantidad de agua después de 2011 es mucho más rápida, alcanzando ya a mediados de 2013 casi la mayor cantidad de agua, para mantenerse a partir de mediados de 2013, aunque con una ligera disminución después de mediados de 2014 (fig. 7B).

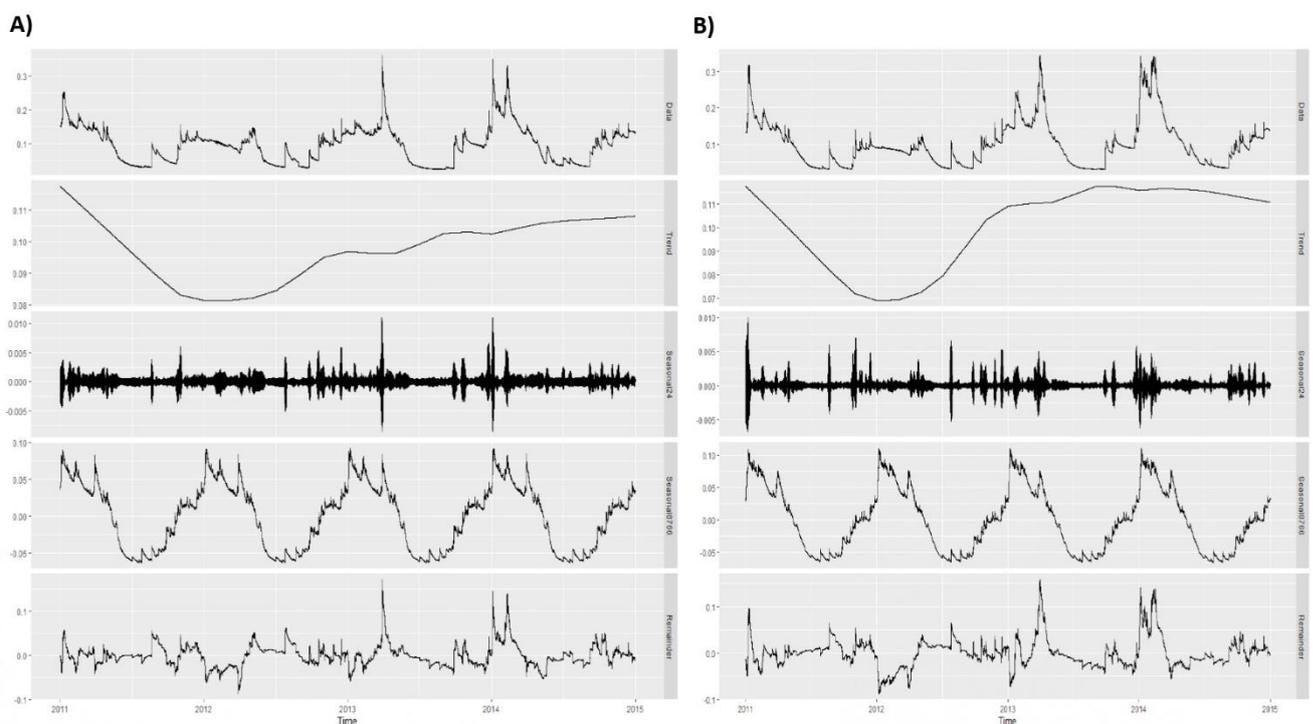


Figura 7. Descomposición de la serie temporal de la cantidad de agua. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral.

Representamos las distintas horas para el conjunto completo de los datos mediante las series de medias móviles para cada semana:

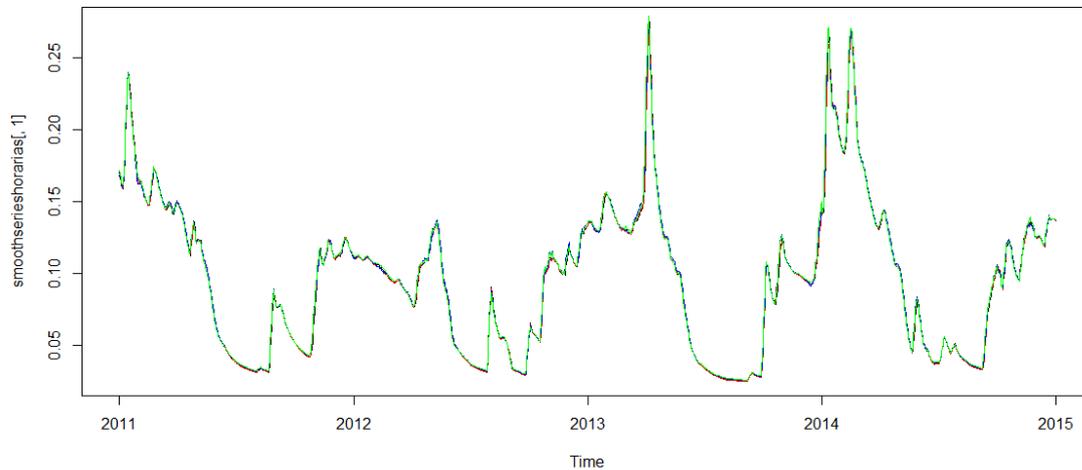


Figura 8. Representación de la cantidad de agua fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.

Se observa que la cantidad de agua es muy similar para las distintas horas del día. Por tanto, la hora no siendo esta un factor de importancia (fig. 8). La componente estacional principal es pues, la diaria, no la horaria.

2.1.2.-Análisis de las diferencias de las variables ambientales

Como se comentó con anterioridad, se llevó a cabo también un análisis de las diferencias fuera-dentro del matorral, con el fin de analizar como estas cambian a lo largo del tiempo.

2.1.2.1.-Análisis de la temperatura

Como en la representación de los valores absolutos, las diferencias son muy próximas a 0, existiendo muy poca diferencia entre la temperatura fuera y dentro

del matorral (figura 9). La tendencia en la diferencia de la temperatura es que esta alterna entre positiva y negativa, siendo a veces la temperatura exterior superior a la interior y viceversa. Parece que en las diferencias se muestra una tendencia decreciente si bien las diferencias tienen poca magnitud. Los patrones son difíciles de identificar, tanto los horarios, como diarios y residuales, aunque al ver la estacionalidad diaria, se puede intuir una menor variabilidad en los meses fríos.

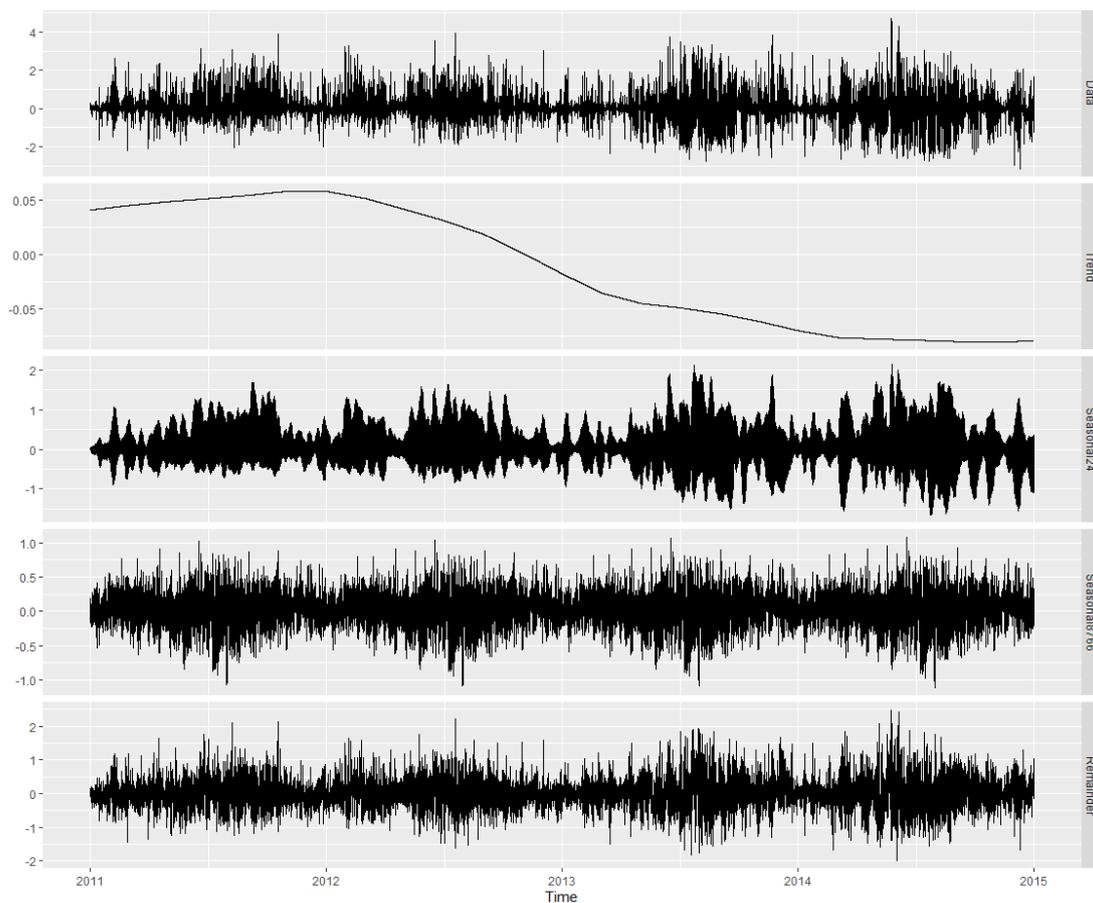


Figura 9. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la temperatura.

Al dividir las diferencias por horas y seleccionar algunas para ver el comportamiento, por ejemplo, las 00:00, las 6:00, las 12:00 y las 18:00, tenemos el gráfico siguiente:

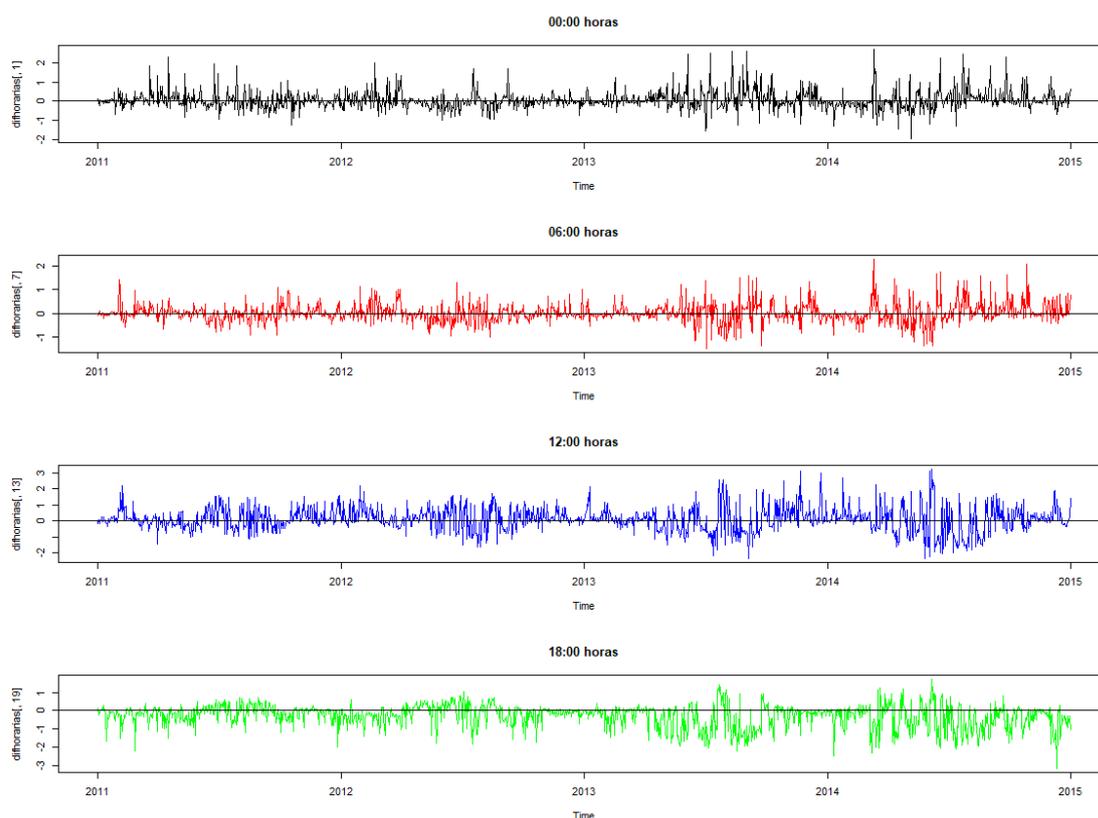


Figura 10. Representación de la diferencia de temperatura por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

Las diferencias a las 12:00 de la mañana son positivas (la temperatura fuera es, general, mayor), mientras que las 18:00 la temperatura fuera es en la mayor parte de los casos menor. Las otras dos horas seleccionadas parecen oscilar más alrededor del 0. Además de lo que ya mostrábamos, parece que tenemos un patrón dentro de cada año, especialmente en los primeros años, y un aumento de la dispersión en los años finales. Se observa a las 12:00 horas una cierta estacionalidad. En los meses más fríos la temperatura suele ser mayor fuera que dentro, mientras que en los calientes tiende ser al revés (fig. 10).

Colocando las diferencias para cada hora en forma de Box-Plot:

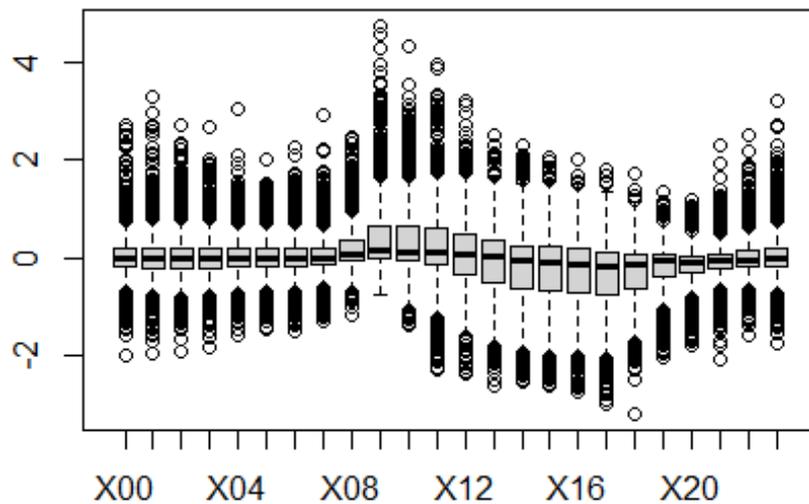


Figura 11. Representación box-plot de las diferencias de temperatura a las distintas horas del día.

Obsérvese que las medianas se encuentran alrededor del 0. Un test para comprobar si la mediana de las diferencias es cero probablemente dará no significativo ya que se compensan las diferencias positivas y las negativas. Se observa también que las diferencias son de mayor magnitud en las horas centrales del día (figura 11). Además, en las primeras horas de la mañana la temperatura es más alta fuera del matorral mientras que en las horas de la tarde es al contrario.

2.1.2.2.- Análisis de la humedad relativa

A diferencia de la temperatura, al analizar el gráfico de la humedad relativa, se observa que las diferencias tienden a estar debajo del cero y, por tanto, la humedad relativa dentro del matorral tiende a superar la de fuera de este (figura 12). Esto podría ser un indicio de que, aunque no haya diferencias significativas, el matorral conserva la humedad relativa del aire dentro del microambiente, pues

se mantiene este hecho a lo largo del tiempo. La tendencia disminuye con el paso del tiempo, aumentando las diferencias entre dentro y fuera del matorral, haciendo que la humedad dentro de este resulte ser mayor. La mayor diferencia se alcanza a mediados de 2013, pero esta diferencia vuelve a disminuir en el año 2014 hasta estar como en el principio. Los patrones estacionales y residuales son difíciles de identificar y analizar.

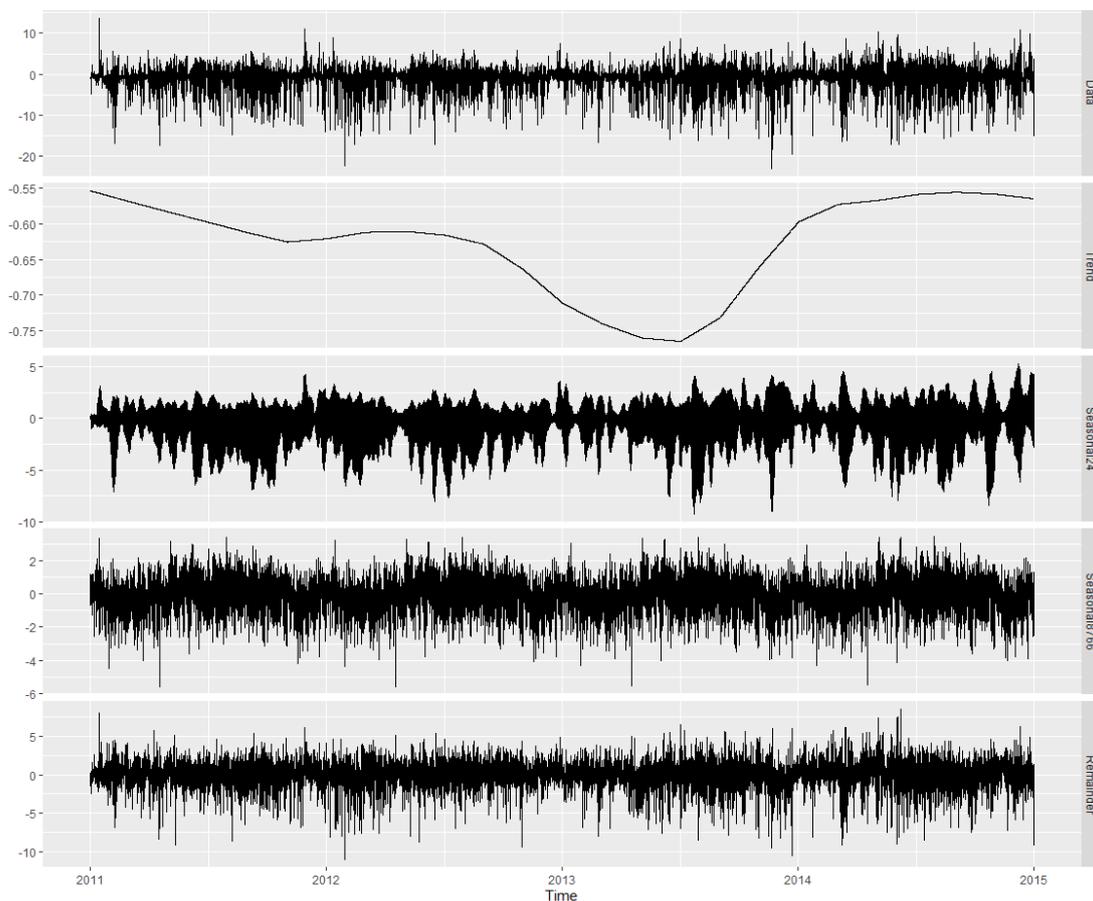


Figura 12. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la humedad relativa.

Volviendo a dividir la serie de las diferencias por horas y seleccionar algunas para ver el comportamiento:

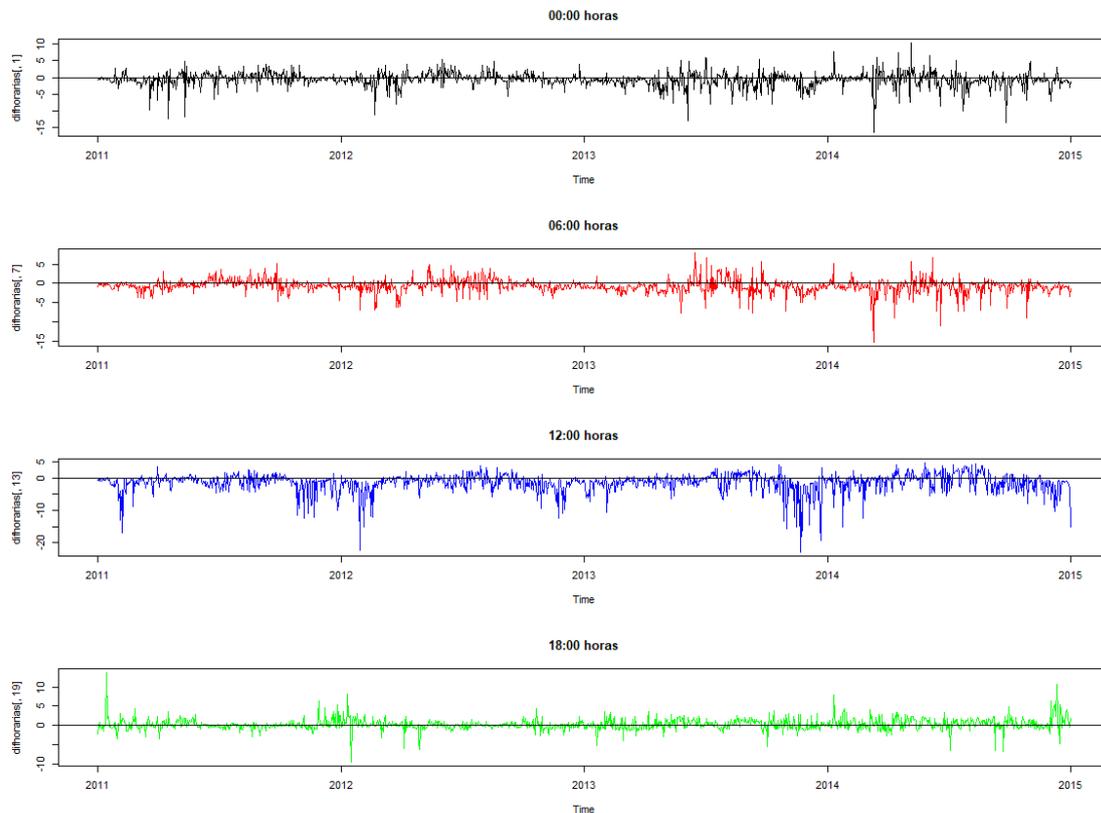


Figura 13. Representación de la diferencia de humedad relativa por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

Se observan pocas diferencias entre la humedad relativa fuera y dentro del matorral. Sin embargo, se observa cómo, salvo a las 18:00 la humedad dentro del matorral es mayor (fig. 13). Este fenómeno se identifica sobre todo a las 12:00, donde además la magnitud de las diferencias es mayor sobre todo a finales de 2011 y 2013.

Vamos a colocar las diferencias para cada hora en forma de Box-Plot.

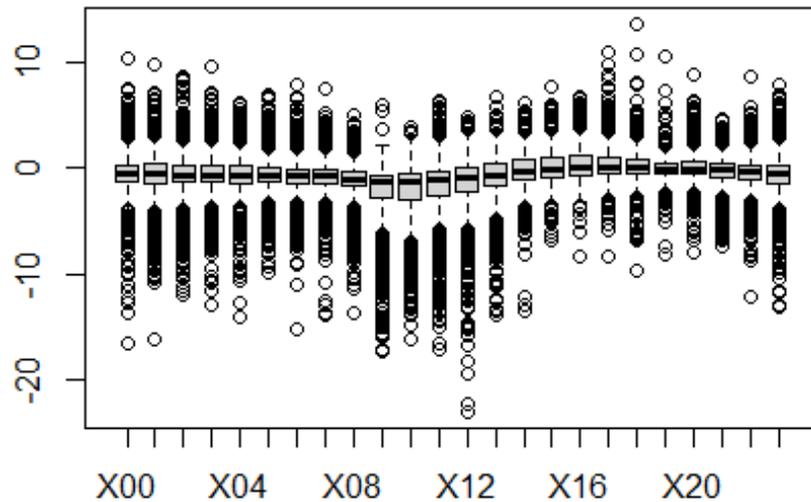


Figura 14. Representación box-plot de las diferencias de humedad relativa a las distintas horas del día.

Como con la temperatura, las medianas están cercanas al 0. En las horas diurnas estas tienden a estar por debajo de este (mayor humedad dentro del matorral), pero parece que a partir de las 17:00 aumentan un poco por encima del 0 (humedad mayor fuera del matorral), aunque probablemente estas diferencias no sean significativas (fig. 14). Las diferencias son mayores en las horas de la mañana, desde las 09:00 hasta las 14:00.

2.1.2.3.- Análisis de la radiación

En cambio, al analizar las diferencias en la radiación fuera y dentro del matorral, se observan diferencias claras entre la radiación que hay dentro y fuera del matorral, aunque sobre todo cuando esta tiende a subir, debido a los meses de verano (fig. 15). En verano, la radiación es mucho mayor fuera del matorral que



dentro de este, y se observa que también en invierno la radiación disminuye más fuera del matorral, aunque en menor medida. Estos indicios indican que el matorral es capaz de suavizar a esta variable, haciendo que la cantidad de radiación dentro de este sea menos extrema para las plántulas de *Quercus*. Por último, hay que resaltar que en el último ciclo las radiaciones dentro y fuera son muy similares. Esto ocurre porque, debido a la muerte del matorral, este ha ido perdiendo biomasa, protegiendo cada vez menos a las especies de *Quercus* y, por tanto, las condiciones dentro y fuera al final acaban siendo idénticas. Se observa como las diferencias son siempre positivas (radiación mayor fuera del matorral), pero esta desciende lentamente a lo largo de los años, manteniéndose estable en 2012, hasta que hay una disminución abrupta a finales de 2013 hasta llegar a existir apenas diferencias (cerca de 0) debido, como se comentó con anterioridad, a la pérdida de biomasa del matorral. Los patrones estacionales y residuales son parecidos a los de la radiación absoluta.

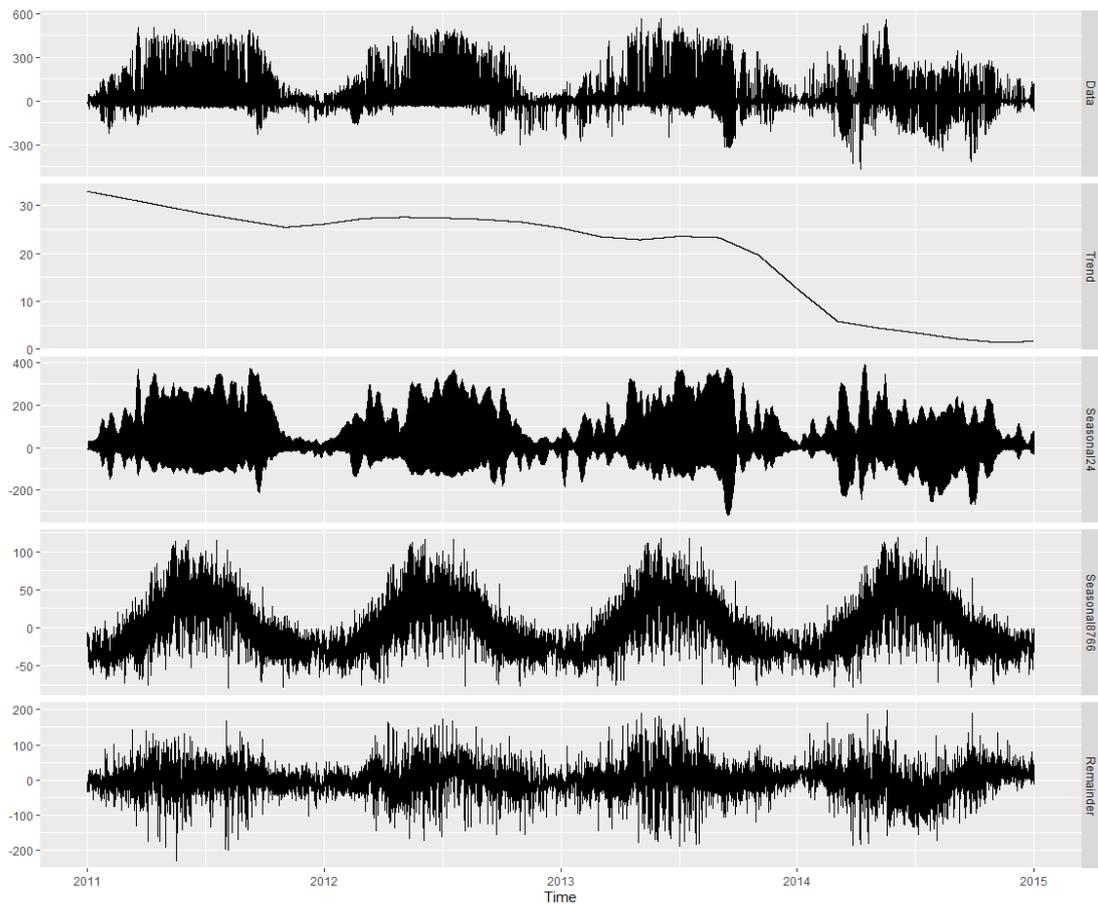


Figura 15. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la radiación.

Estudiando las diferencias en la radiación para las diferentes horas:

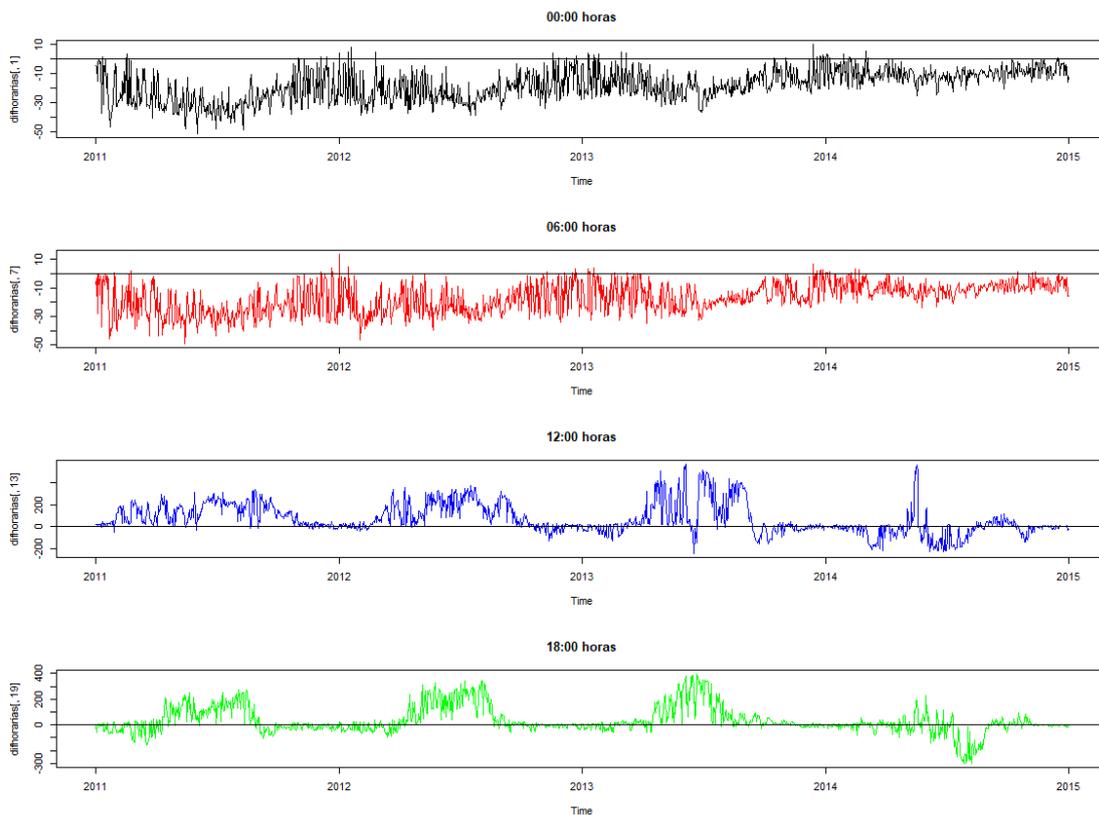


Figura 16. Representación de la diferencia de radiación por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

En las horas nocturnas, la radiación del interior del matorral es ligeramente superior a la de fuera de este a lo largo de todo el año. Sin embargo, en cuanto a las horas diurnas, vemos que la radiación en el exterior es casi siempre mayor fuera que dentro del matorral y en bastante mayor magnitud, salvo a partir del año 2014 y algún invierno, donde apenas existen diferencias (fig. 16).

Vamos a colocar las diferencias para cada hora en forma de Box-Plot:

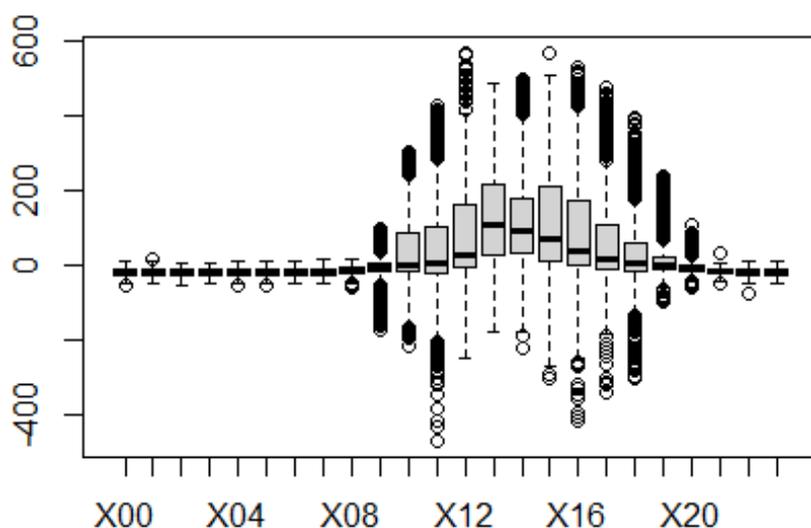


Figura 17. Representación box-plot de las diferencias de radiación a las distintas horas del día.

Confirmando lo visto en los otros gráficos, las medianas en las horas nocturnas se encuentran cerca del 0 aunque por debajo de este, sin apenas variación, indicando que en estas horas la radiación es mayor dentro del matorral (fig. 17). Sin embargo, en las horas diurnas, las medianas aumentan bastante, siendo la radiación mayor fuera del matorral que dentro, alcanzándose la mayor diferencia a las 13:00.

2.1.2.4.- Análisis de la cantidad de agua en el suelo

Al analizar las diferencias en la cantidad de agua en los primeros 30cm del suelo, parece haber dos épocas: Se ve que desde mediados de 2011 hasta mediados de 2012 la cantidad de agua tiende a ser mayor fuera del matorral que dentro, mientras que desde principios de 2013 hasta mediados de 2014 es al revés, para

posteriormente no observarse grandes diferencias en otoño y diciembre de 2014 (figura 18). Al analizar la tendencia, se puede ver lo que ya habíamos comentado. La diferencia va aumentando hasta el principio de 2012, cuando la cantidad de agua fuera del matorral es mayor que la de dentro, para posteriormente disminuir. A mediados de 2012 apenas hay diferencias entre fuera y dentro del matorral y en 2013 ya la cantidad de agua es mayor dentro del matorral que fuera de este. A partir de ahí, en 2014, las diferencias vuelven a acercarse lentamente a 0, aunque no llega a este. Los patrones diarios, así como los residuales son difíciles de identificar, aunque los estacionales anuales se observan claramente, no coinciden exactamente con los de la cantidad de agua absoluta. Desde que inicia el año se produce un aumento en la diferencia de la cantidad de agua, con una caída abrupta al comienzo del siguiente año, para posteriormente volver a aumentar.

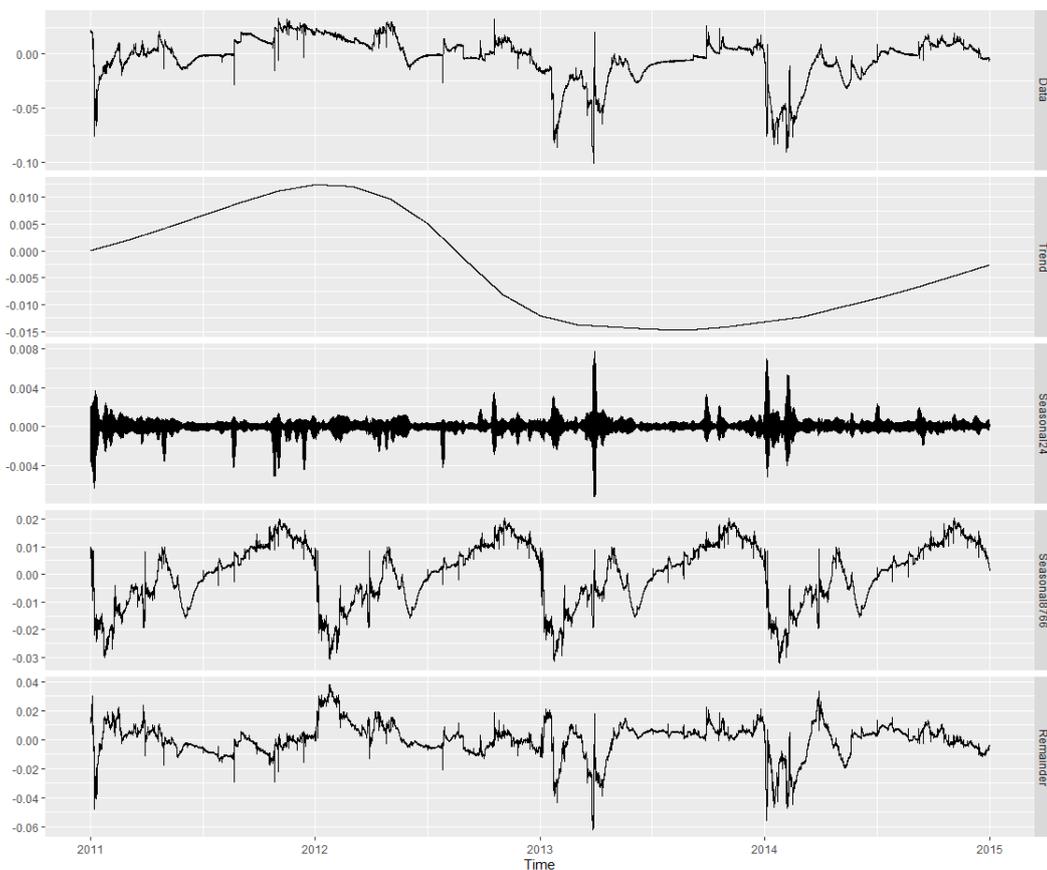


Figura 18. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la cantidad de agua.

Estudiamos ahora las diferencias en las cantidades de agua de los sensores dentro y fuera del matorral por horas estudiadas con anterioridad:

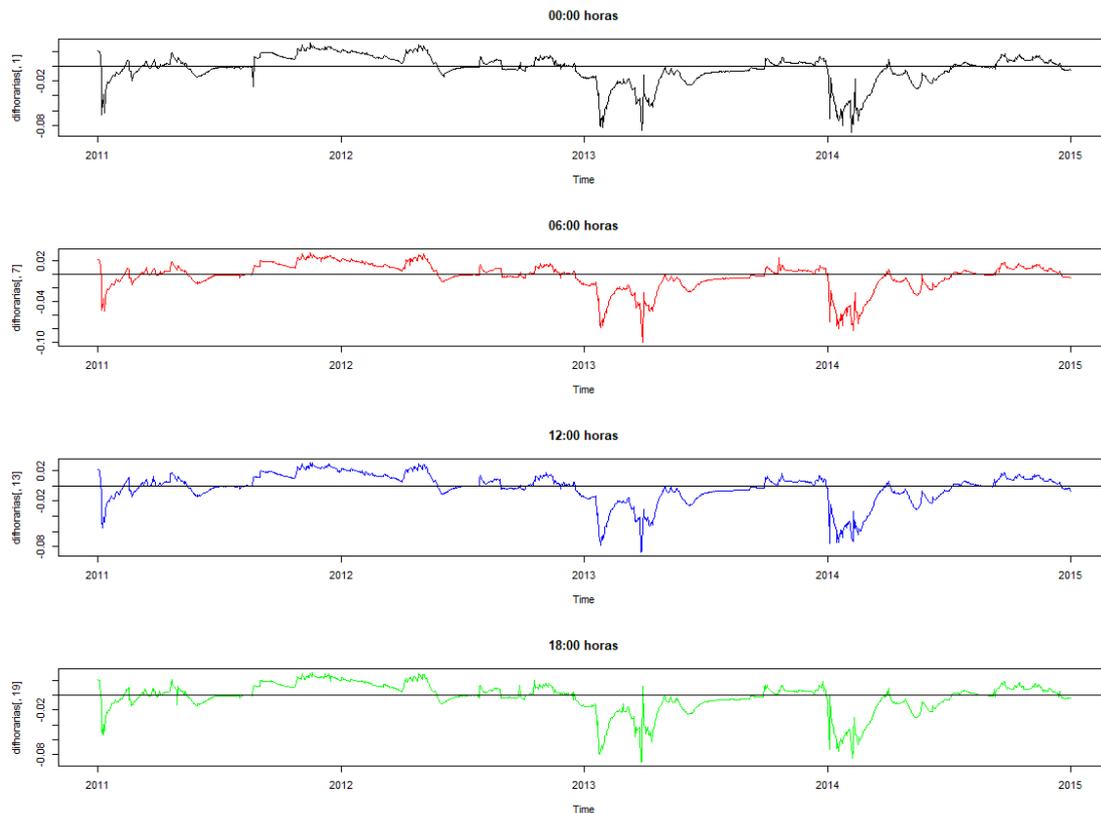


Figura 19. Representación de la diferencia de cantidad de agua por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

Separando por hora se pueden ver resultados de forma más clara. Las cuatro fechas tienen el mismo patrón y no parece que haya diferencias entre ellas (figura 19).

Colocando las diferencias para cada hora en forma de Box-Plot:

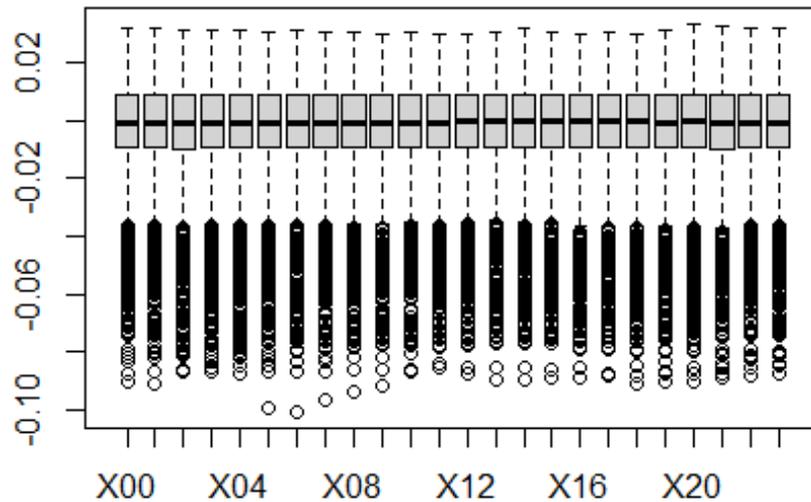


Figura 20. Representación box-plot de las diferencias de cantidad de agua a las distintas horas del día.

Se observa que las medianas tienden a estar alrededor del 0 en todas las horas con una dispersión parecida (fig. 20). Por tanto, como se comentó con anterioridad, apenas hay diferencias y estas se suelen mantener constantes a lo largo del día.

2.2.- ANÁLISIS DE LOS SENSORES DE ABRIL DE 2011 A OCTUBRE DE 2011

Al acotar y analizar las variables ambientales en un periodo más corto, en concreto el periodo donde ocurre la mayor parte de emergencias, que abarca desde abril de 2011 a octubre de 2011, se observan otros hallazgos de importancia.



2.2.1.- Análisis de serie temporal de las variables ambientales fuera y dentro del matorral

2.2.1.1.- Análisis de la temperatura

La temperatura va aumentando desde abril a medida que se acerca el verano, alcanzando la cúspide en todo julio y agosto (aunque disminuye un poco a principios de agosto), para luego volver a disminuir en los meses de septiembre y octubre (figura 21A). Se observa los ciclos del día y noche, así como una subida en la temperatura de los meses de verano y una ligera disminución en los meses de los extremos. Analizando la tendencia, se observa esta subida en la temperatura en los meses de verano, pero el hecho de que la tendencia no sea muy clara, parece indicar que hay otra componente estacional que no hemos sido capaces de identificar. Los patrones estacionales diarios se mantienen con cierta regularidad salvo en fechas concretas, sobre todo los primeros meses, cuando se reduce la variabilidad de la temperatura. No hay patrones residuales identificables. Para la temperatura dentro del matorral el comportamiento es similar al de la temperatura fuera del matorral (fig. 21B):

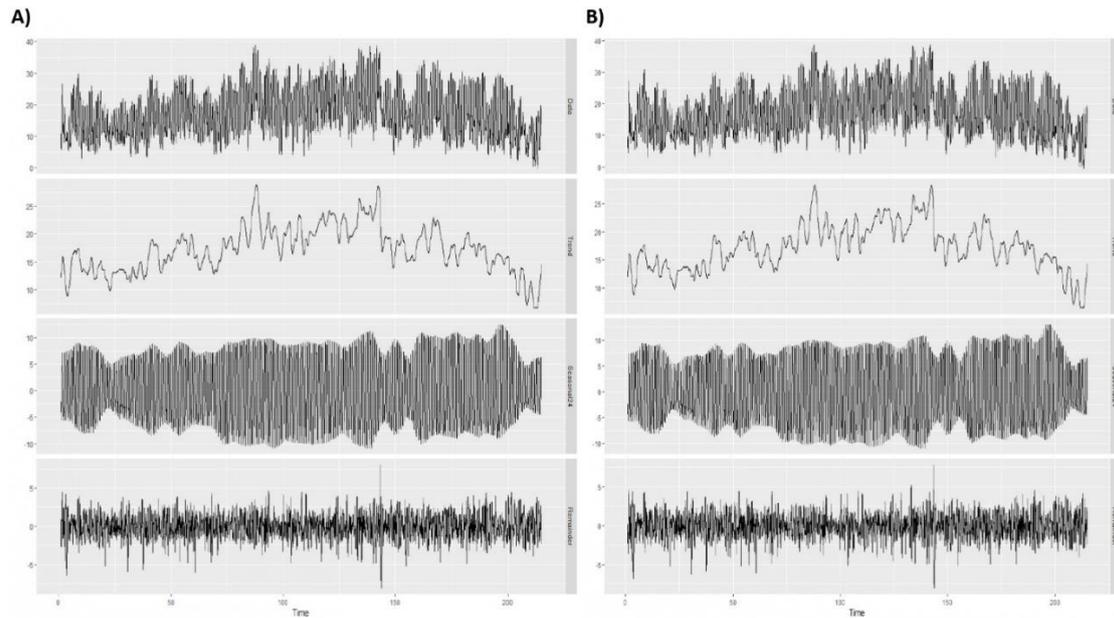


Figura 21. Descomposición de la serie temporal de la temperatura de abril a octubre de 2011. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral.

Para el conjunto completo de los datos, la representación de las horas 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 se muestra en el gráfico siguiente, con medias móviles por semana:

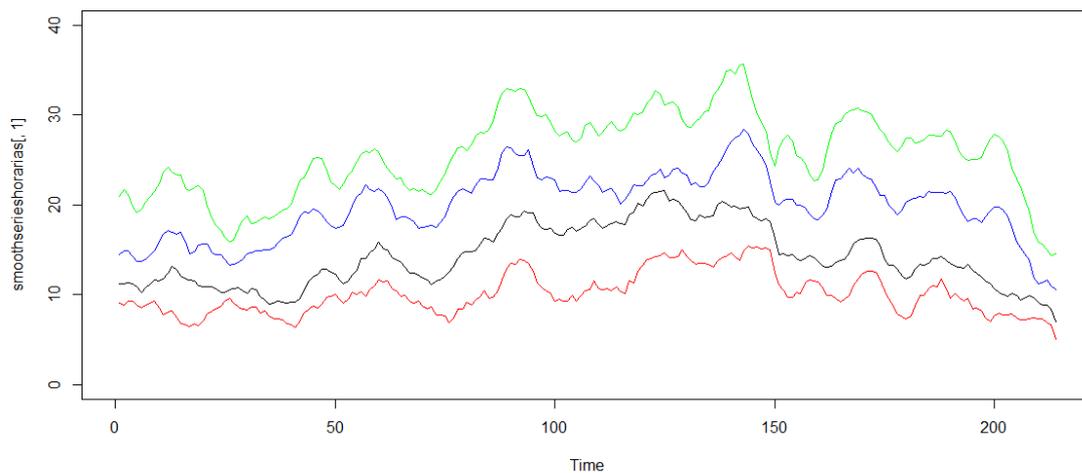


Figura 22. Representación de la temperatura fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 de abril a octubre de 2011. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.



Se observa que la temperatura a las 18:00 de la tarde es la mayor, seguida de las de la 12:00 de la tarde, las 0:00 de la noche y finalmente las 6:00 de la mañana, la hora con la temperatura más baja. Hay gran variación entre los distintos días. Hay mínimo una componente estacional, la horaria, pero es posible que haya más que no seamos capaces de identificar (fig. 22).

2.2.1.2.- Análisis de la humedad relativa

En el caso de la humedad relativa, esta tiene una tendencia opuesta a la temperatura. La humedad relativa se va reduciendo, alcanzando el mínimo en los meses de julio y agosto, para aumentar posteriormente, primero ligeramente en septiembre, y luego más a mediados de octubre (figura 23A). Se puede observar los ciclos día/noche de la humedad relativa. La componente estacional horaria se mantiene relativamente constante, salvo al inicio, que hay menor variabilidad, como en el caso de la temperatura. No se identifica un patrón claro en los residuos. Para la humedad relativa dentro del matorral el comportamiento es similar a la humedad relativa fuera de este (fig. 23B).

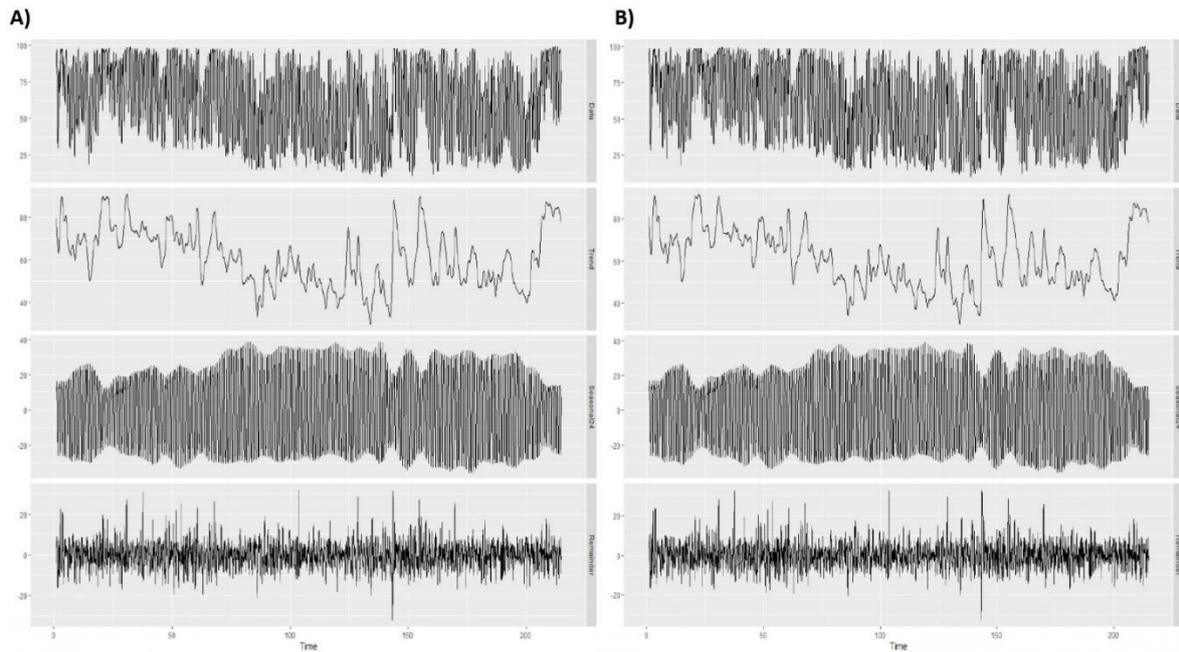


Figura 23. Descomposición de la serie temporal de la humedad relativa de abril a octubre de 2011. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral.

Para el conjunto completo de los datos, la representación de las horas 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 se muestra en el gráfico siguiente. Representamos las series de medias móviles para cada semana:

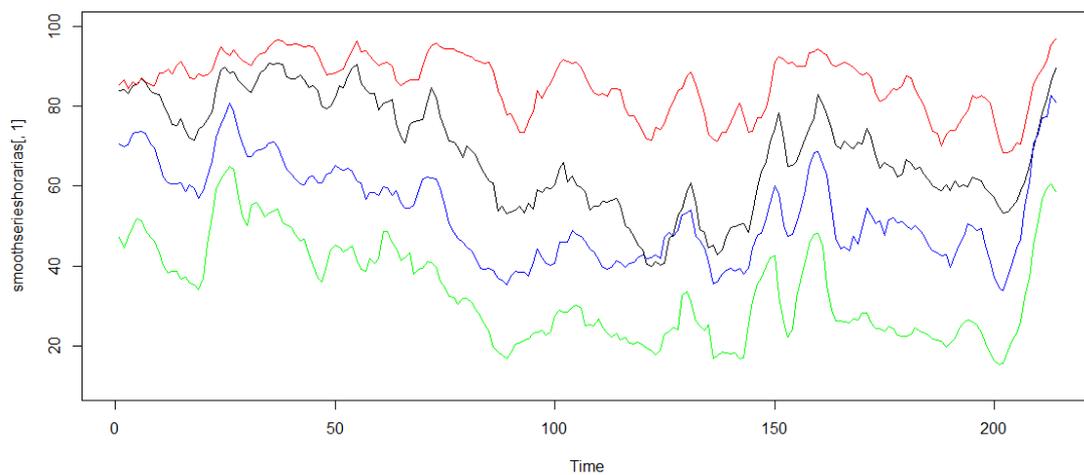


Figura 24. Representación de la humedad relativa fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 de abril a octubre de 2011. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.

Se observa que la humedad relativa a las 6:00 es la mayor, seguida de la de las 0:00, las 12:00 y, finalmente, las 18:00. Hay gran variación entre los distintos días. En los meses de verano la humedad relativa se reduce en todas las horas, mientras que en los extremos aumenta (fig. 24).

2.2.1.3.- Análisis de la radiación

Representando la radiación a lo largo del tiempo, se observan los ciclos del día, aunque no se consigue identificar ninguna tendencia clara ya que parece que permanece relativamente constante a lo largo del periodo de abril a octubre (figura 25A). En la tendencia se observa un aumento en la radiación en los meses de verano, disminuyendo esta a partir de septiembre. Los patrones estacionales diarios se mantienen relativamente constantes y además no se identifica un patrón residual claro. Para la radiación dentro del matorral el comportamiento es similar, aunque en menor magnitud (figura 25B). Se observa en la tendencia que la radiación dentro del matorral tiende a aumentar hasta junio y posteriormente disminuir con el paso del tiempo.

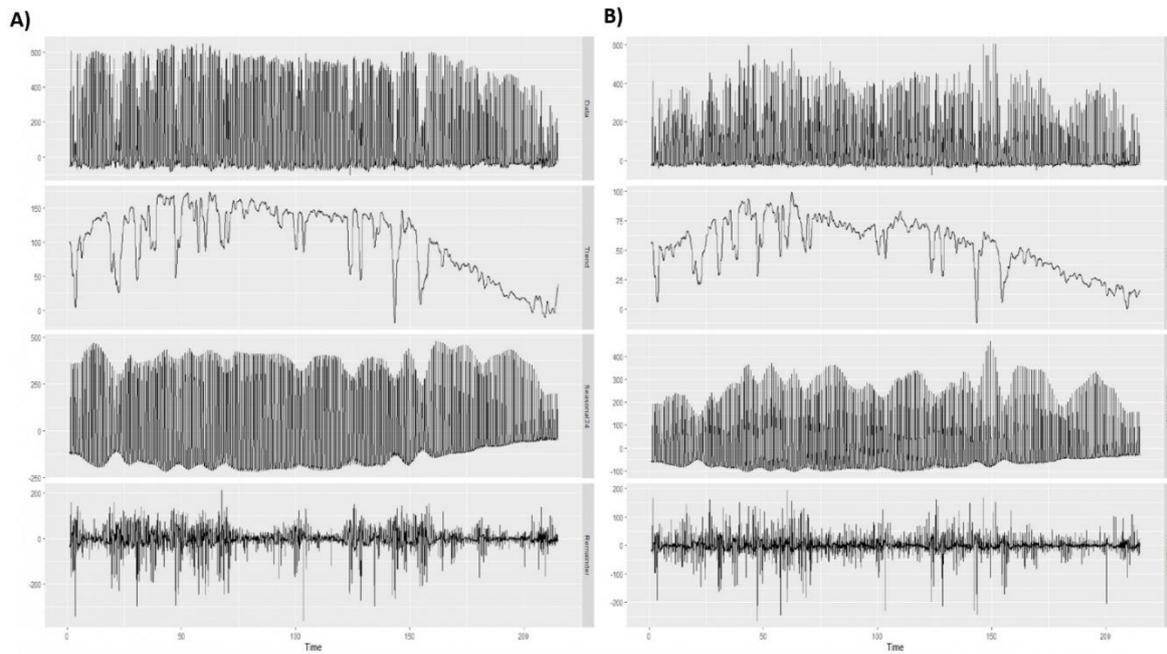


Figura 25. Descomposición de la serie temporal de la radiación de abril a octubre de 2011. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral

Para el conjunto completo de los datos, la representación de las diferentes horas se muestra en el gráfico siguiente, representando mediante medias móviles para cada semana:

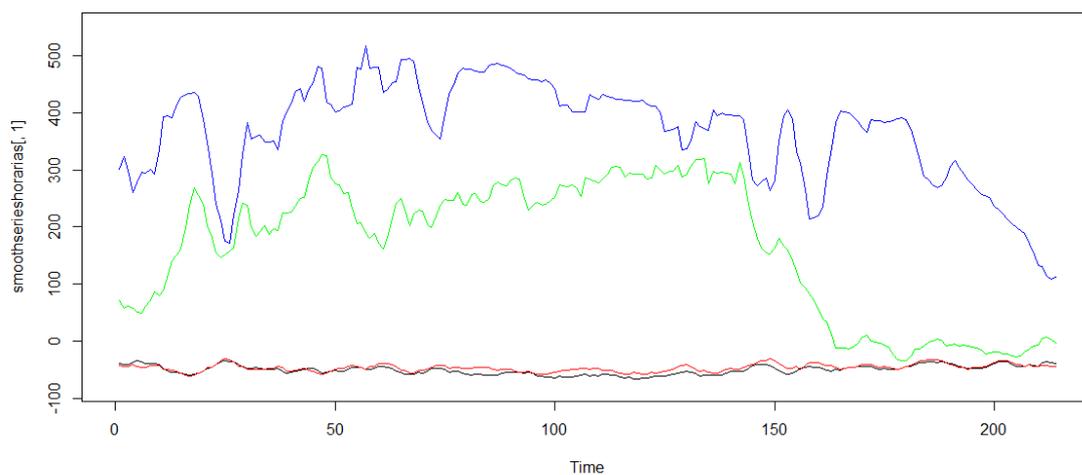


Figura 26. Representación de la radiación fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 de abril a octubre de 2011. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.



Se observa con facilidad la componente estacional diaria que diferencia la noche y el día. Además, las radiaciones diurnas son muy superiores a las nocturnas, que son muy parecidas entre sí. La radiación es mayor a las 12:00 (aunque cae rápidamente en septiembre), seguida de las 18:00, las 6:00 y las 0:00, aunque estas dos apenas se diferencian entre sí (fig. 26). Además, se observa ligeras oscilaciones a lo largo de tiempo entre los distintos días.

2.2.1.4.- Análisis de la cantidad de agua en el suelo

Examinando la cantidad de agua fuera del matorral en función del tiempo, los ciclos de día y noche no parecen ser demasiado influyentes, tal como se demostró con anterioridad. Hay una disminución en la cantidad de agua en los meses de verano, pero se produce un rápido aumento seguido de otra disminución sobre septiembre y octubre, respectivamente. Los rápidos aumentos en la cantidad de agua probablemente sean debidos a la lluvia. La tendencia es la misma que con los datos en bruto, pero más suavizados. Al realizar la descomposición por horas, se ve que hay una mayor variabilidad cuando hay grandes aumentos o disminuciones en la cantidad de agua. Lo mismo ocurre en la componente residual (fig. 27A). Para la cantidad de agua dentro del matorral el comportamiento es similar (fig. 27B).

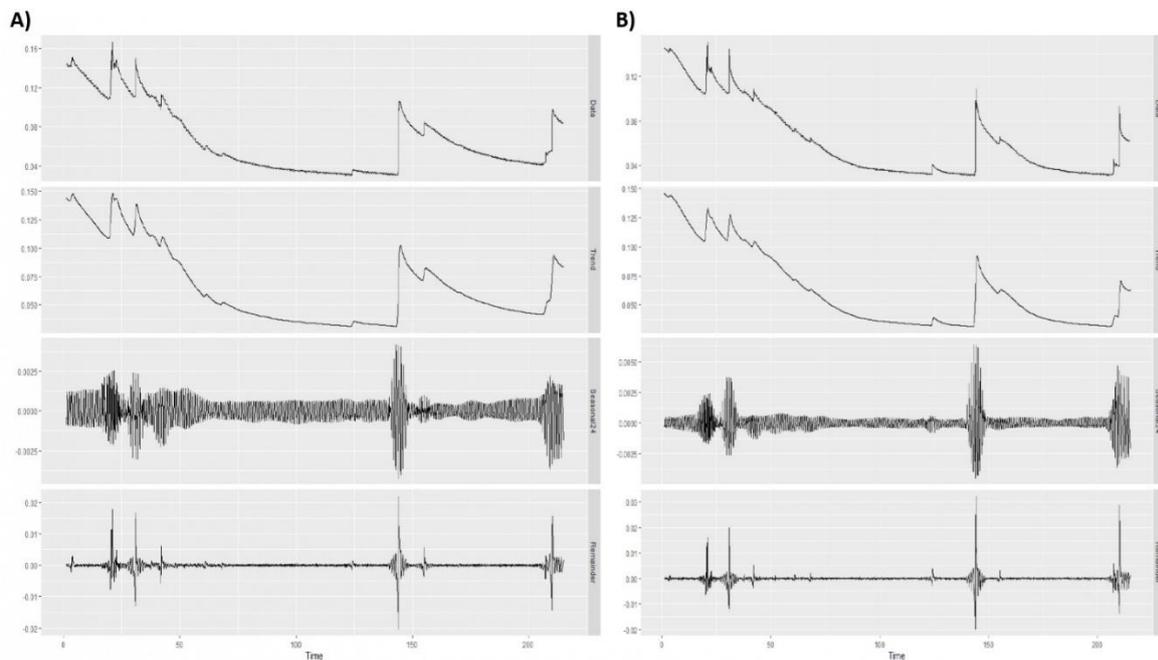


Figura 27. Descomposición de la serie temporal de la cantidad de agua de abril a octubre de 2011. A: fuera del matorral, B: dentro del matorral.

Representando la cantidad de agua a lo largo del tiempo separando por horas y medias móviles:

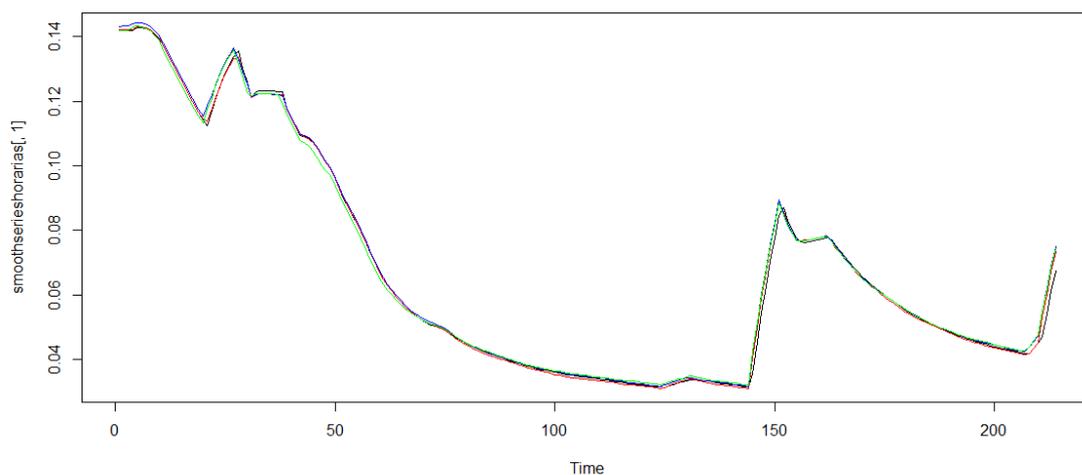


Figura 28. Representación de la cantidad de agua fuera del matorral por medias móviles por semana a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00 de abril a octubre de 2011. En negro, rojo, verde y azul, respectivamente.

Se puede observar en efecto que la componente estacional diaria no parece ser demasiado influyente. Se intuye que la cantidad de agua a las 6:00 de la mañana es menor, mientras que la de las 18:00 es mayor, pero probablemente en un análisis no existan diferencias significativas (fig. 28).

2.2.2.- Análisis multivariante de las variables ambientales

Al analizar los meses entre sí, abril y mayo se encuentran a la izquierda del gráfico, siendo los meses que más se diferencian más del resto (figura 29). A la derecha se observa una agrupación que consiste en los meses desde junio hasta septiembre. Octubre se diferencia del resto de meses, situándose en la parte superior del gráfico. Analizando los vectores de las variables, al comparar las variables dentro-fuera, estas son muy parecidas entre sí. Sin embargo, se observan ligeras diferencias tanto en la cantidad de agua como en la radiación. Existe correlación negativa entre la humedad relativa y la temperatura. Por otra parte, no hay correlación entre la cantidad de agua y la temperatura, así como tampoco existe entre la radiación y la humedad relativa. Por último, se perciben correlaciones positivas entre la cantidad de agua y la humedad relativa, así como entre la temperatura y la radiación.

Al estudiar la correlación de los meses con las variables, podemos observar las características de cada mes. Los meses de mayor temperatura son julio y agosto, mientras que los que menos abril y octubre. Como existe correlación negativa entre la humedad relativa y la temperatura, julio y agosto son los meses con una menor humedad relativa, mientras que abril y mayo son las que la tienen mayor. Estos meses además son los que tienen una cantidad de agua superior, así como una mayor radiación fuera del matorral. Los meses que tienen la mayor radiación dentro del matorral son abril y agosto. Por otra parte, octubre es el mes con menor radiación, pero como hay diferencias en la radiación dentro y fuera del

matorral, julio es el segundo mes con menor radiación fuera del matorral, mientras que junio es el segundo mes con menor radiación dentro de este. Algo parecido pasa con la cantidad de agua. Julio es el mes con menor cantidad de agua, pero fuera del matorral está seguido de agosto, mientras que dentro está seguido de octubre.

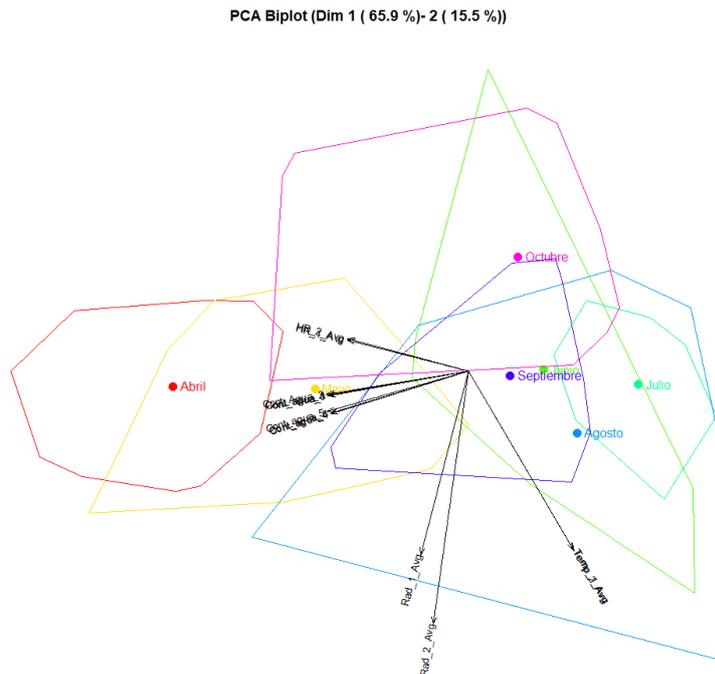


Figura 29. ACP-Biplot de las variables ambientales con clústers

Al analizar los resultados del HJ-Biplot, vemos que el análisis de los meses y de las variables es exactamente el mismo que en el ACP-Biplot, salvo que la humedad relativa tiene una mayor separación (aunque casi imperceptible) dentro y fuera del matorral (figura 30). Al correlacionar los meses y variables, los resultados son muy parecidos al ACP-Biplot. Las únicas diferencias se dan en el segundo mes con menor temperatura, siendo en este caso mayo, que es también el segundo mes con más radiación. El segundo mes con menor cantidad de agua dentro del matorral es agosto, que es ahora también el segundo mes con mayor temperatura seguido de julio.

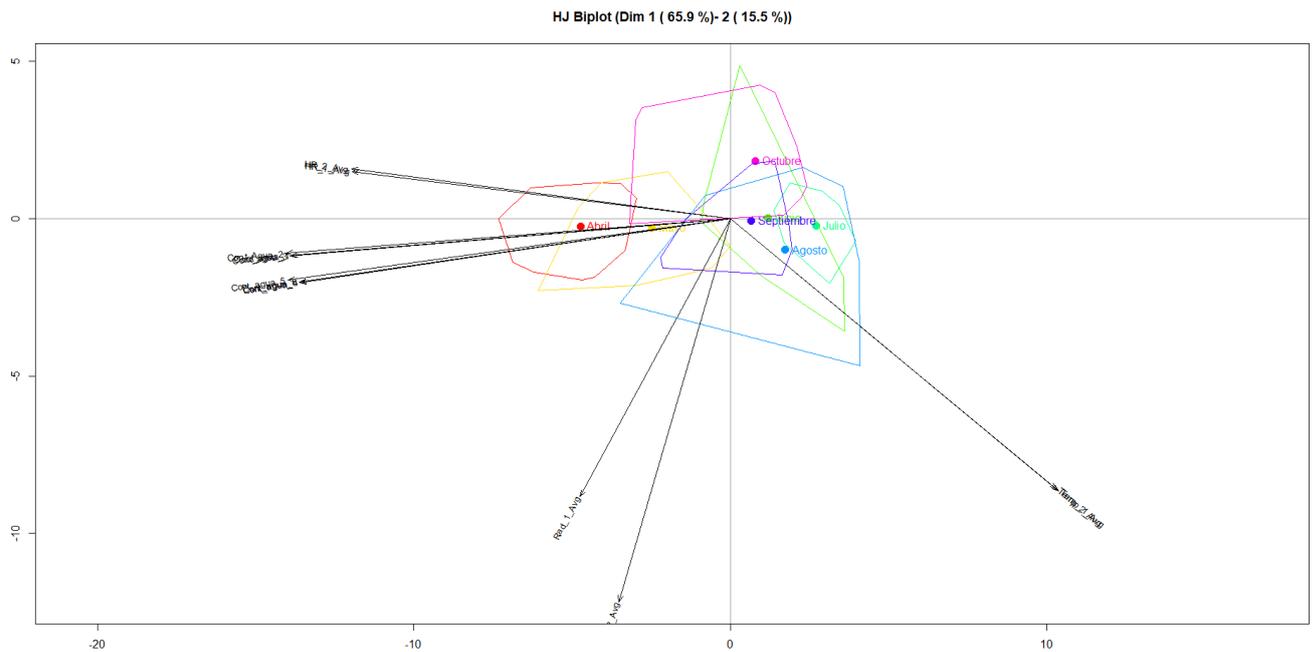


Figura 30. HJ-Biplot de las variables ambientales con clústers

2.2.3.- Análisis de las diferencias de las variables ambientales

2.2.3.1.- Análisis de la temperatura

Al llevar a cabo el análisis de las diferencias fuera-dentro del matorral, se observa que la temperatura se mantiene relativamente igual a lo largo del tiempo (figura 31). Esta se encuentra cerca de 0 salvo en junio y julio cuando hay una pequeña subida en la temperatura, existiendo posiblemente una mayor temperatura fuera que dentro de este. Los patrones estacionales y residuales son más difíciles de identificar que en el caso de la temperatura absoluta.

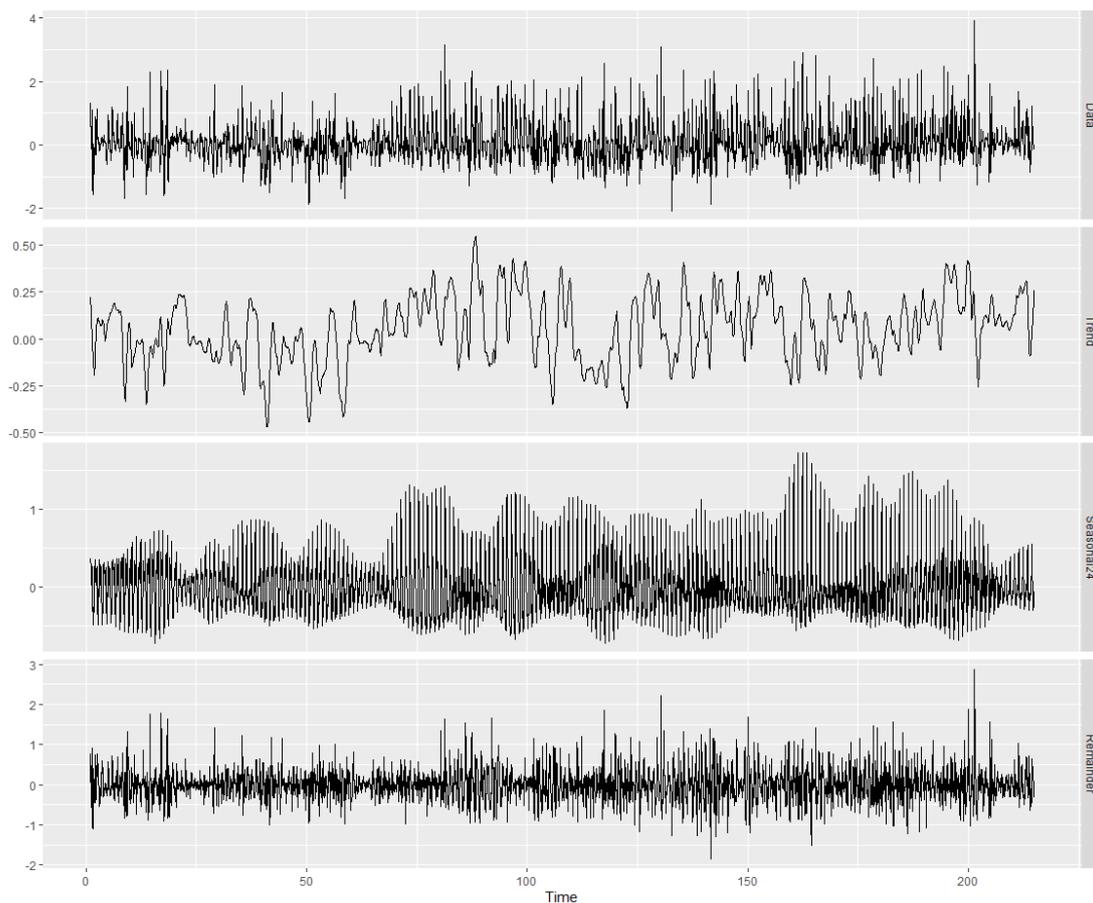


Figura 31. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la temperatura.

Estudiamos ahora las diferencias en las temperaturas de los sensores dentro y fuera del matorral. Observando por horas:

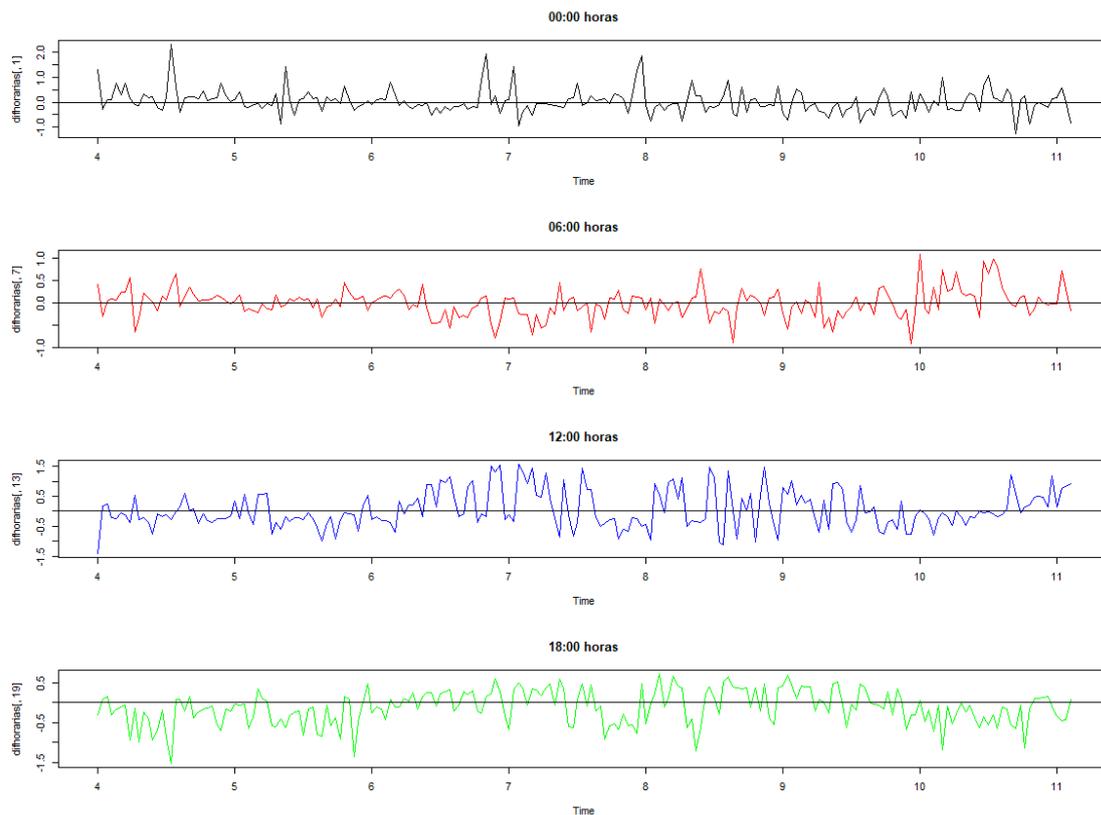


Figura 32. Representación de la diferencia de temperatura por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

Vemos que en la mayor parte de las horas apenas hay diferencias entre la temperatura fuera y dentro del matorral. Donde más se observan estas diferencias es a las 18:00, cuando se tiende a que exista una mayor temperatura dentro con respecto a fuera del matorral. Una explicación podría ser que el matorral conserva la temperatura a lo largo del día, lo cual parece que ocurre salvo en los meses de junio, julio y septiembre (fig. 32). A las 12:00 se observan las mayores diferencias, estando estas producidas en los meses de verano, cuando la temperatura fuera es mayor que la interior.

Realizando el Box-Plot de las diferencias por hora:

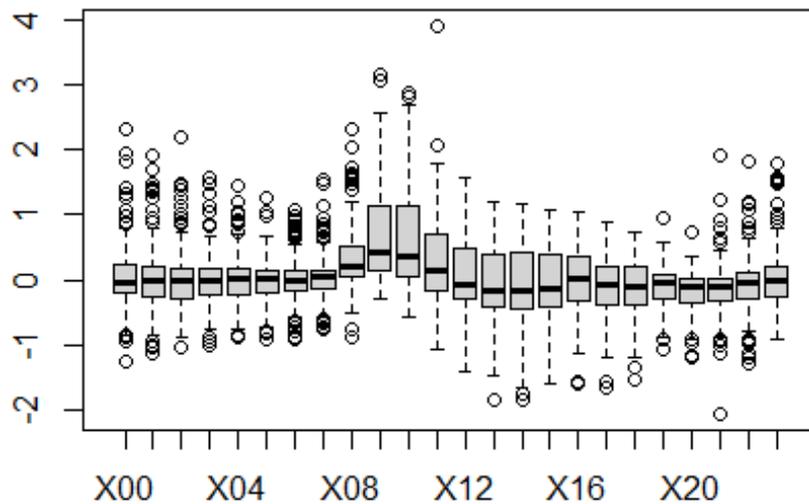


Figura 33. Representación box-plot de las diferencias de temperatura a las distintas horas del día.

Las medianas se encuentran alrededor del 0. Sin embargo, se puede observar como la temperatura tiende a ser mayor fuera que dentro desde las 08:00 a las 12:00, mientras que ocurre lo contrario, aunque en menor medida, desde las 12:00 hasta las 16:00 (fig. 33).

2.2.3.2.- Análisis de la humedad relativa

En cuanto a la humedad relativa, se observa que, aunque las diferencias sean muy pequeñas, siempre hay mayor humedad dentro del matorral que fuera de este (figura 34). Sin embargo, en el mes de mayo esto no es así, pues la humedad relativa tiende a ser ligeramente superior fuera o, al menos, similar. Los patrones son más difíciles de identificar que en el caso de las humedades relativas fuera y dentro del matorral, porque probablemente haya una componente que no hemos sabido identificar. Aun así, analizando la tendencia, parece que las

diferencias se mantienen relativamente constantes a lo largo del tiempo, oscilando levemente tanto en abril y mayo, así como en el mes de octubre.

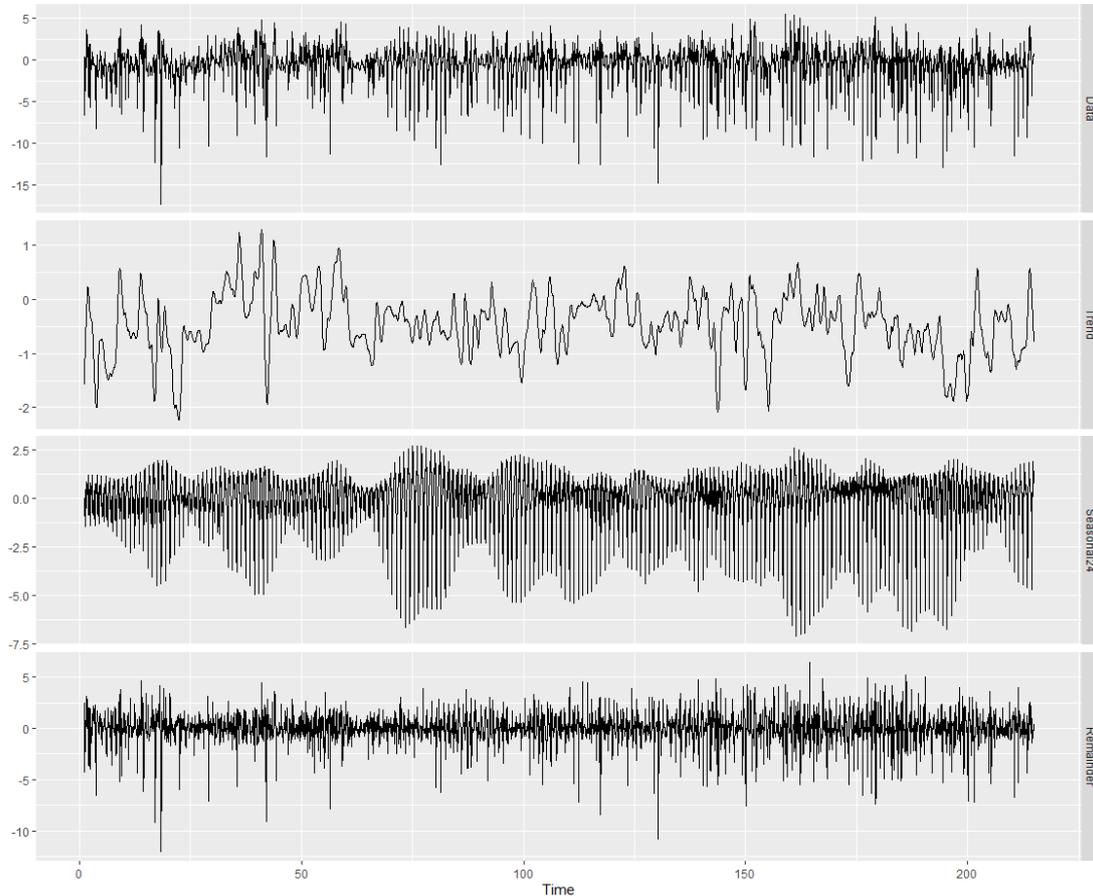


Figura 34. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la humedad relativa.

Estudiamos las diferencias en las humedades relativas de los sensores dentro y fuera del matorral por horas:

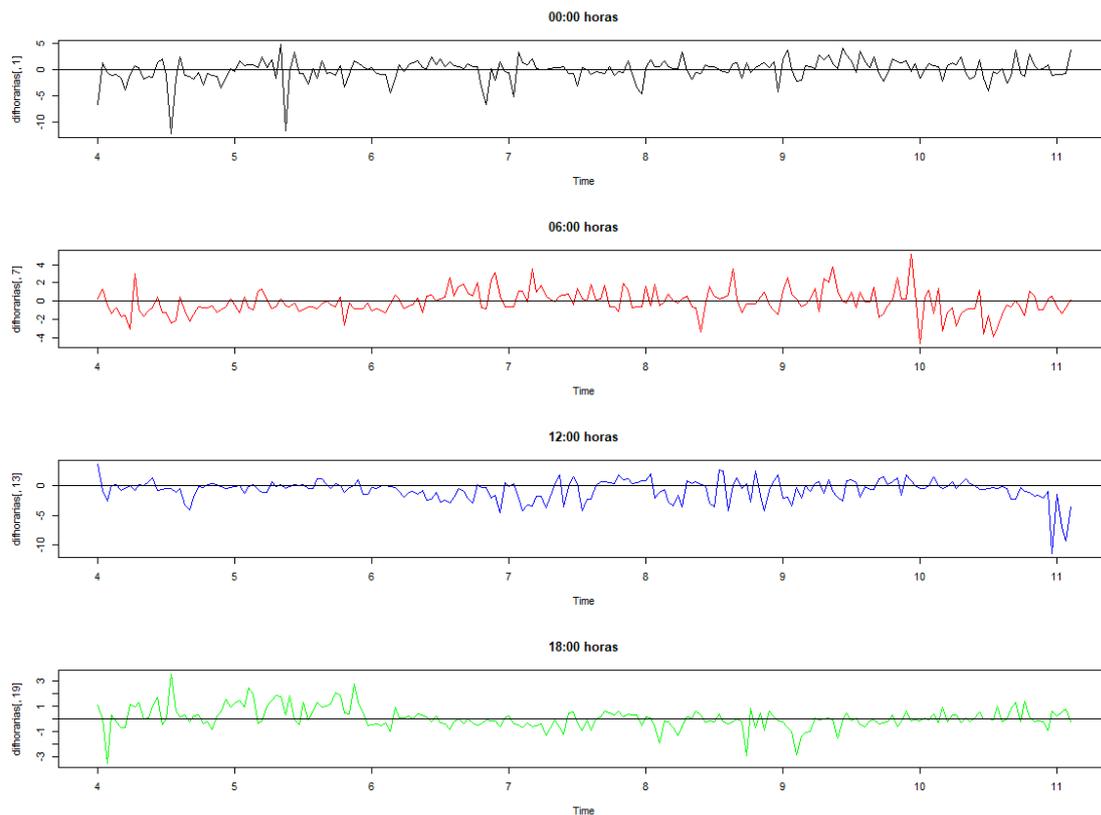


Figura 35. Representación de la diferencia de humedad relativa por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

Apenas hay diferencias entre la humedad relativa dentro y fuera en todas las horas, salvo a las 0:00 que hay dos picos donde la humedad relativa es mayor dentro del matorral y a las 12:00, donde la humedad relativa es mayor dentro del matorral salvo alguna excepción, aunque sigue siendo cercana a 0 (fig. 35).

Realizando el Box-Plot apenas se detectan diferencias y estas se encuentran muy próximas al 0. Se observa aun así que desde las 08:00 a las 12:00 la humedad relativa tiende a ser superior en el interior del matorral (fig. 36).

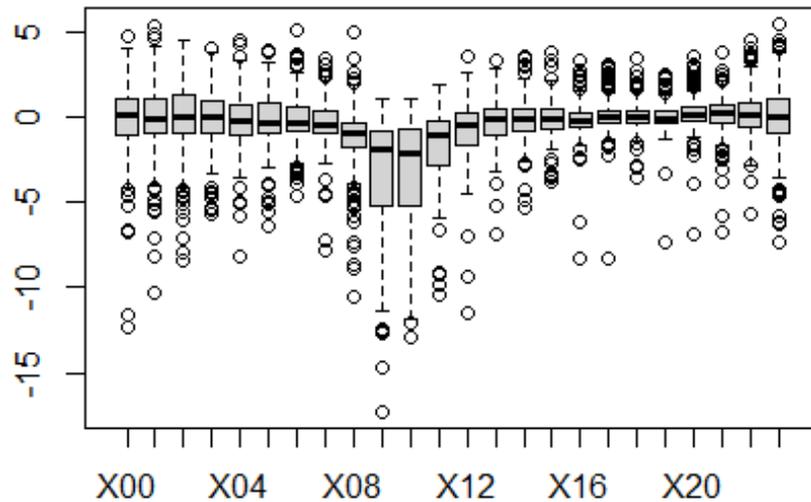


Figura 36. Representación box-plot de las diferencias de humedad relativa a las distintas horas del día.

2.2.3.3.- Análisis de la radiación

Las diferencias en la radiación son significativas y siempre esta es mayor fuera que dentro del matorral (figura 37). Al analizar la tendencia, parece que esta se mantiene relativamente constante hasta agosto (aunque aumenta en los meses de junio y julio, a partir de cuando la diferencia de la radiación disminuye con el paso del tiempo). Los patrones estacionales y residuales son difíciles de identificar.

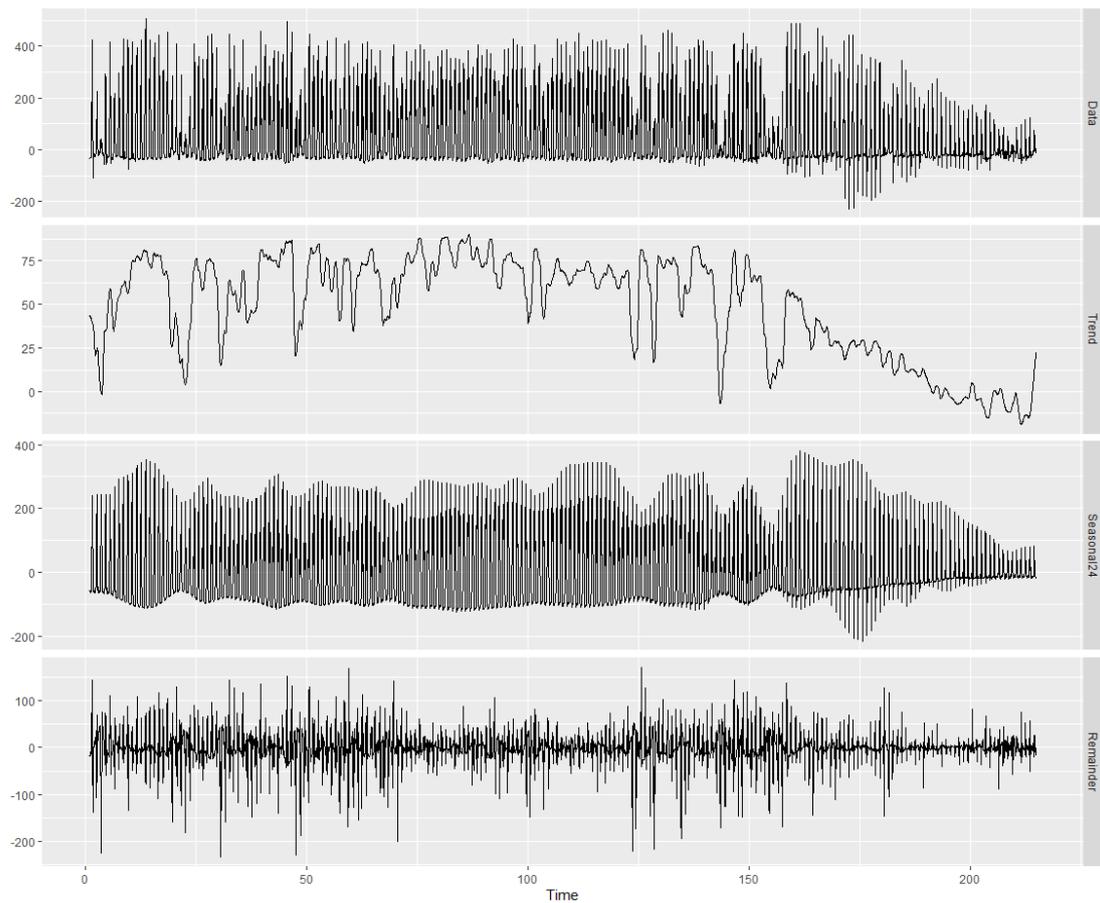


Figura 37. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la radiación.

Haciendo una exploración de las diferencias de las radiaciones dentro y fuera del matorral por horas:

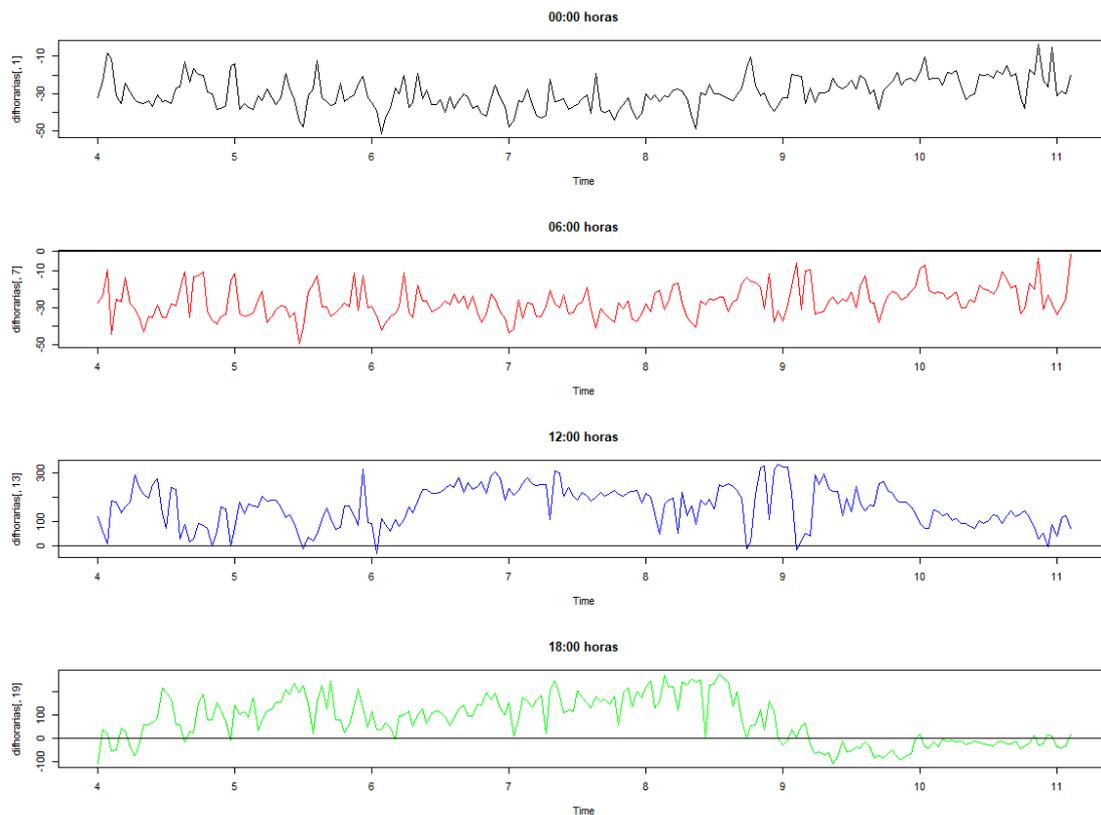


Figura 38. Representación de la diferencia de radiación por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

En las horas nocturnas, la radiación dentro del matorral es mayor que la exterior, aunque estas diferencia son de baja magnitud. En cambio, en las horas diurnas, la radiación es mayor fuera que dentro (y en mucha mayor magnitud), salvo en septiembre y octubre, que a las 18:00 la radiación es ligeramente menor (fig. 38).

Representando en el Box-plot las diferencias por hora:

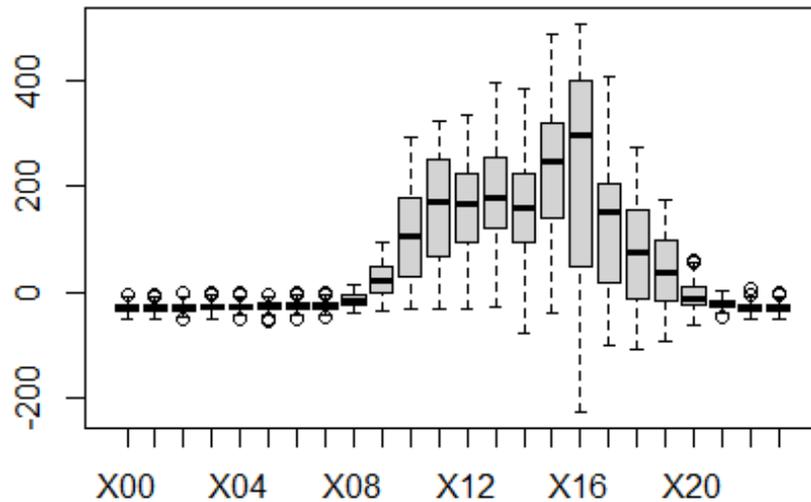


Figura 39. Representación box-plot de las diferencias de radiación a las distintas horas del día.

En las horas nocturnas las medianas se encuentran ligeramente por debajo del 0. En cambio desde las 08:00 hasta las 19:00, es decir, las horas de sol, hay mucha mayor radiación fuera del matorral que dentro (fig. 39).

2.2.3.4.- Análisis de la cantidad de agua en el suelo

Las diferencias en la cantidad de agua tienen una tendencia más irregular, sin observarse grandes diferencias. En abril y mediados de mayo el agua es mayor fuera que dentro del matorral (figura 40). A partir de entonces y hasta septiembre, esta es mayor dentro del matorral, aunque en los meses de julio y agosto casi no se observan diferencias. Después del verano, en otoño, la cantidad de agua fuera del matorral vuelve a ser mayor que dentro. Los patrones horarios son estables y de baja magnitud salvo en tres ocasiones, principios de mayo, finales de agosto y

finales de octubre, cuando hay grandes cambios en la tendencia de las diferencias, produciéndose una mayor variabilidad. Lo mismo ocurre con los residuos.

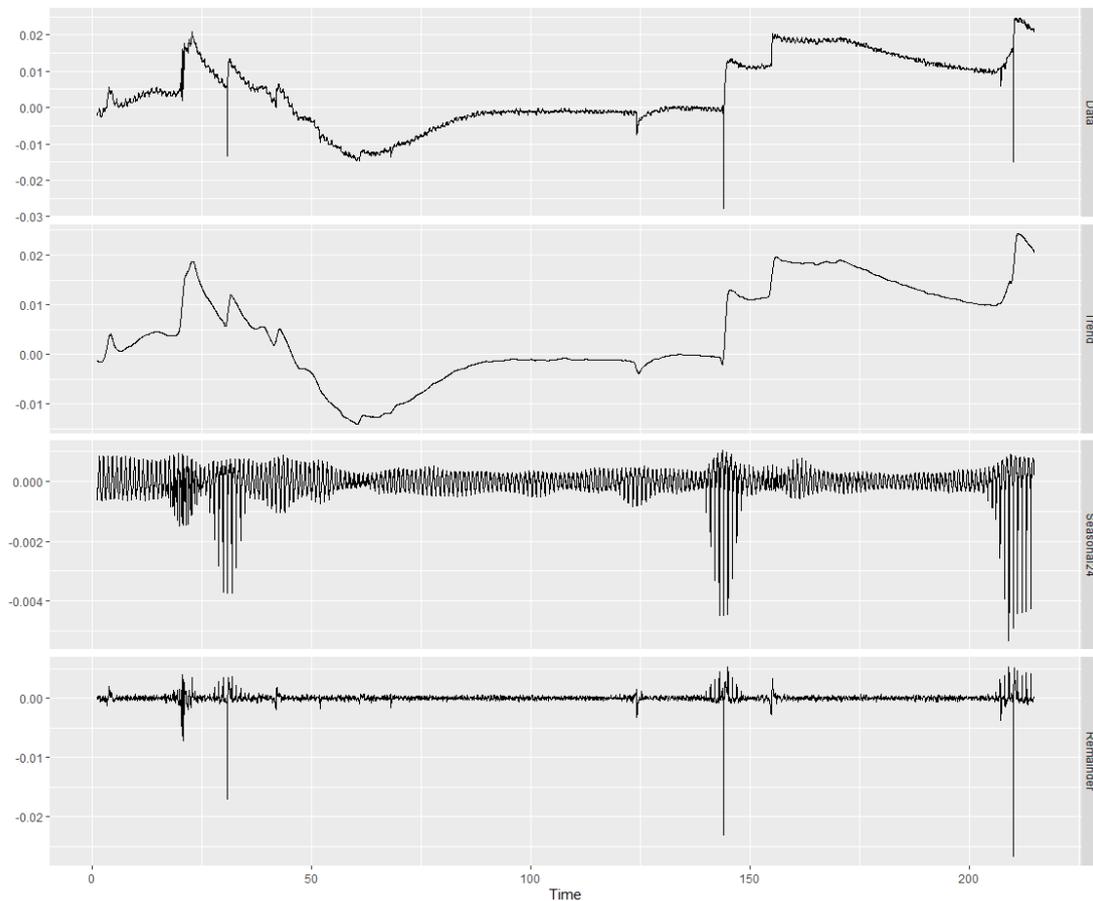


Figura 40. Descomposición de la serie temporal de las diferencias de la cantidad de agua.

Explorando las diferencias en la cantidad de agua dentro y fuera del matorral, representando las horas mencionadas con anterioridad:

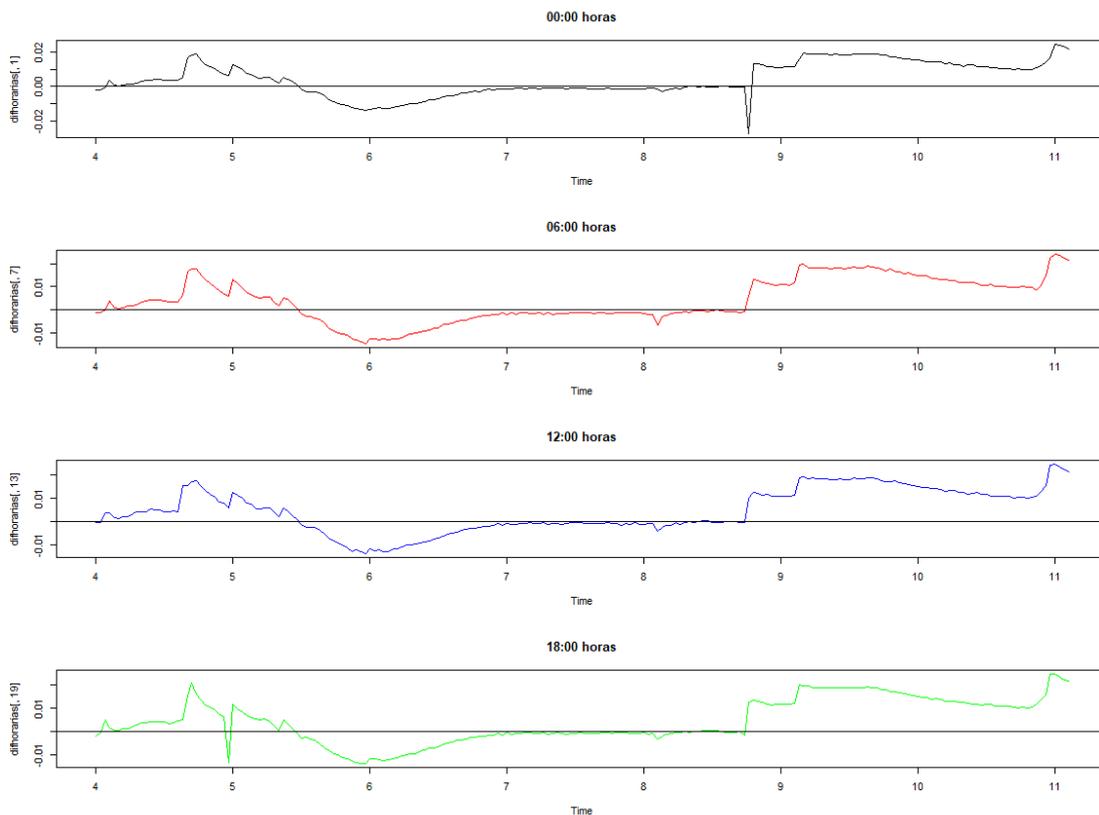


Figura 41. Representación de la diferencia de cantidad de agua por separado a las 00:00, 06:00, 12:00 y 18:00. En negro, rojo, azul y verde, respectivamente.

Las líneas temporales son exactamente igual entre sí y, por tanto, apenas existen diferencias entre horas (fig. 41).

Representando las diferencias para cada hora en forma de Box-Plot, se observa que las medianas se encuentran alrededor del 0 en todas las horas. Se detecta una ligera tendencia a ser positivas las diferencias desde las 9:00 hasta las 15:00, pero estas diferencias son muy pequeñas (fig. 42).

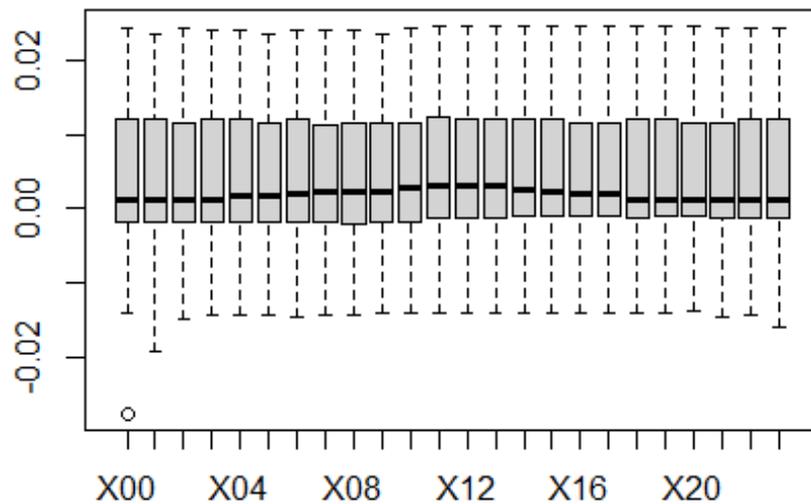


Figura 42. Representación box-plot de las diferencias de cantidad de agua a las distintas horas del día.

2.2.4.- Análisis multivariante de las variables ambientales

Al analizar el ACP Biplot, se observa que los meses se diferencian menos entre sí que en el análisis de los valores absolutos (figura 43). Las diferencias de las variables en abril y agosto son muy similares entre sí, y las mayores diferencias se obtienen entre los meses de mayo y junio por una parte y los de septiembre y octubre por la otra. Al analizar los vectores de variables se observa una correlación negativa clara entre la diferencia de la temperatura y la diferencia de la humedad relativa, mientras que se observa una positiva entre la diferencia de la radiación y de la cantidad de agua. Además, se perciben leves correlaciones positivas entre las diferencias de humedad relativa y de radiación, así como de las diferencias de la cantidad de agua y de la temperatura. No hay correlación entre

la diferencia de la humedad relativa y de la cantidad de agua, así como no existe entre la diferencia de la radiación y temperatura.

Al considerar la correlación entre meses y variables, se puede observar que los meses con mayor diferencia en la temperatura fuera-dentro son los de otoño (septiembre y octubre), mientras que los que tienen una mayor diferencia dentro fuera son mayo y julio. Estos dos meses son los que tienen una mayor diferencia en la humedad relativa de fuera respecto a dentro, mientras que en abril y octubre la humedad en el interior es mayor. Con respecto a la diferencia en la radiación y la cantidad de agua, mayo y junio son los meses con una menor diferencia fuera-dentro del matorral, mientras que septiembre es el mes con mayor diferencia, seguido por agosto en el caso de la radiación y por octubre en el caso de la cantidad de agua.

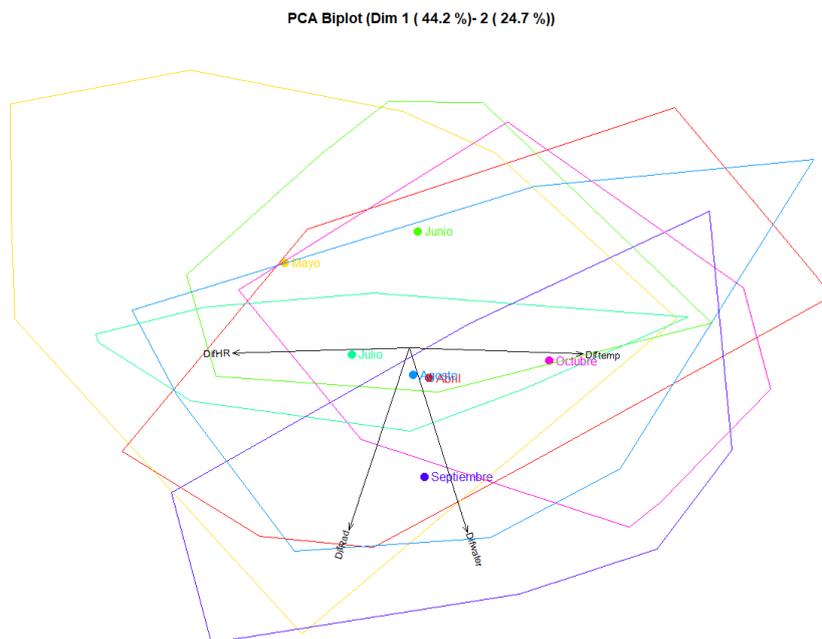


Figura 43. ACP-Biplot de las diferencias de variables ambientales con clústers

En el caso del análisis del HJ-Biplot el separado de los meses, así como la interpretación de las variables es exactamente igual que en el ACP Biplot (figura 44). Al observar la correlación entre los meses y las variables, los resultados

también son muy parecidos salvo en el caso de la diferencia en la radiación que el segundo mes con más diferencias fuera-dentro es julio en lugar de agosto, y el segundo mes con menos diferencias es octubre en vez de mayo.

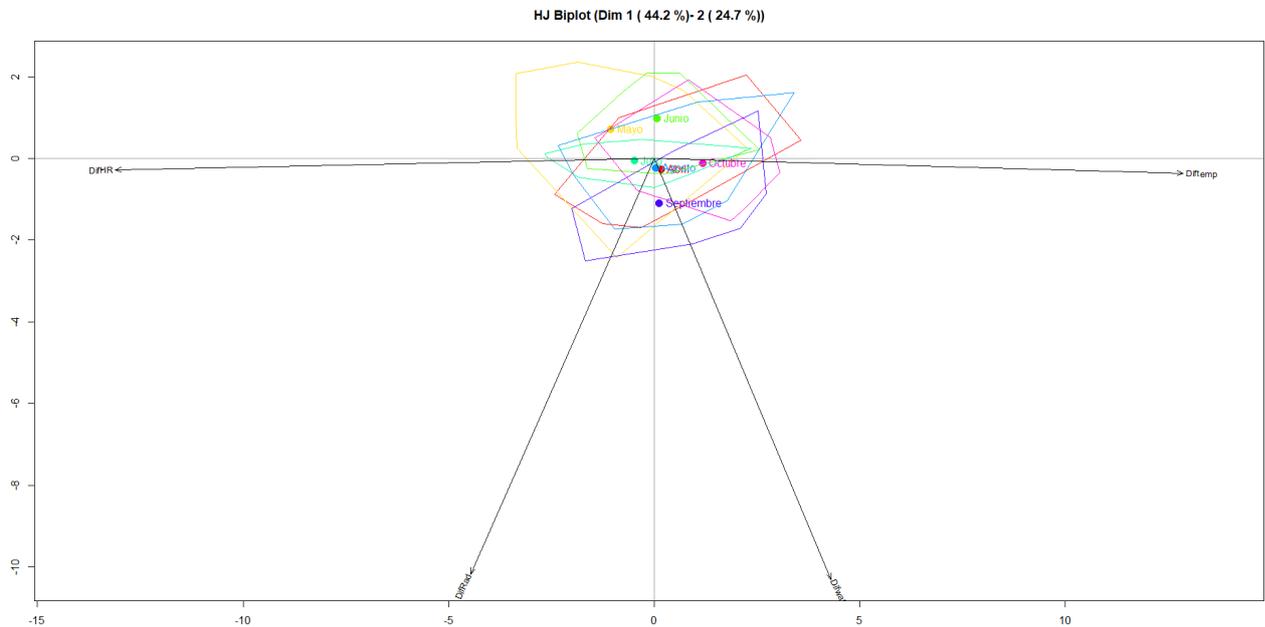


Figura 44. HJ-Biplot de las diferencias de las variables ambientales con clústers

2.3.- ANÁLISIS HORARIO DE LOS SENSORES DE ABRIL DE 2011 A OCTUBRE DE 2011

Para los meses de abril a octubre de 2011, se llevó a cabo un análisis exploratorio de las medias de las variables a lo largo de las horas, tanto para las variables dentro como fuera del matorral, así como para las diferencias. Posteriormente, se llevaron a cabo una serie de biplots, representando los días como puntos y las horas como vectores, en los que se realizó un centrado por filas y un centrado por columnas, con el fin de representar mejor filas y columnas, respectivamente. Esto, como los análisis exploratorios, se llevó a cabo para las

variables fuera del matorral, las variables dentro de este, y para las diferencias entre ambas.

2.3.1.- Análisis de la temperatura

2.3.1.1.- Análisis exploratorio por horas

Analizando la temperatura media fuera y dentro a lo largo de las horas, se observa que a lo largo de las horas la temperatura fuera y dentro son bastantes similares teniendo la misma tendencia, aunque hay una ligera separación en las horas matutinas, cuando la temperatura dentro del matorral es ligeramente menor dentro del matorral que fuera de este (fig. 45A). La temperatura media es de unos 15 grados, la cual disminuye hasta las 8 de la mañana aproximadamente. Entonces la temperatura media sube hasta las 18:00 donde alcanza los 25 grados, y posteriormente vuelve a disminuir acercándose la noche. Al analizar las diferencias medias de las temperaturas fuera y dentro, se observa claramente lo comentado con anterioridad. Apenas se observan diferencias en la temperatura salvo en las horas matutinas, llegando a ser estas de 0.6 grados a las 10:00 y 11:00 de la mañana, siendo la temperatura mayor fuera que dentro del matorral (fig. 45B).

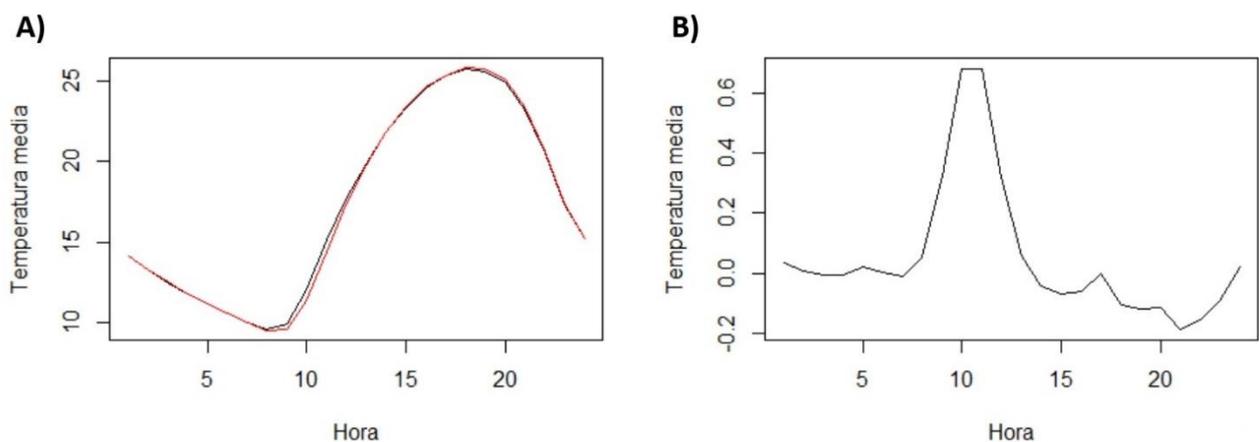


Figura 45. Temperatura media por horas. A: fuera (línea negra) y dentro (línea roja) del matorral, B: diferencias medias



2.3.1.2.- *Biplot de las temperaturas medias*

Al centrar el biplot por filas, para la temperatura fuera del matorral se observa que los meses están muy cercanos entre sí y no se observan grandes diferencias entre ellas. Sin embargo, en los vectores se observa que hay una correlación gradual entre las horas y correlación negativa entre las horas diurnas y nocturnas. Se obtienen las mismas conclusiones para la temperatura dentro del matorral.

Sin embargo, al centrar por columnas se puede sacar otra serie de conclusiones. En este caso, los vectores de las variables se dirigen todos hacia la derecha del gráfico, no existiendo correlaciones tan negativas como en el anterior biplot. En el caso de los meses se puede ver una separación clara, con los meses de julio y agosto con una mayor temperatura fuera del matorral, seguidos de septiembre y junio, mayo y, finalmente, octubre y abril. Se obtienen las mismas conclusiones para la temperatura dentro del matorral (fig. 46).

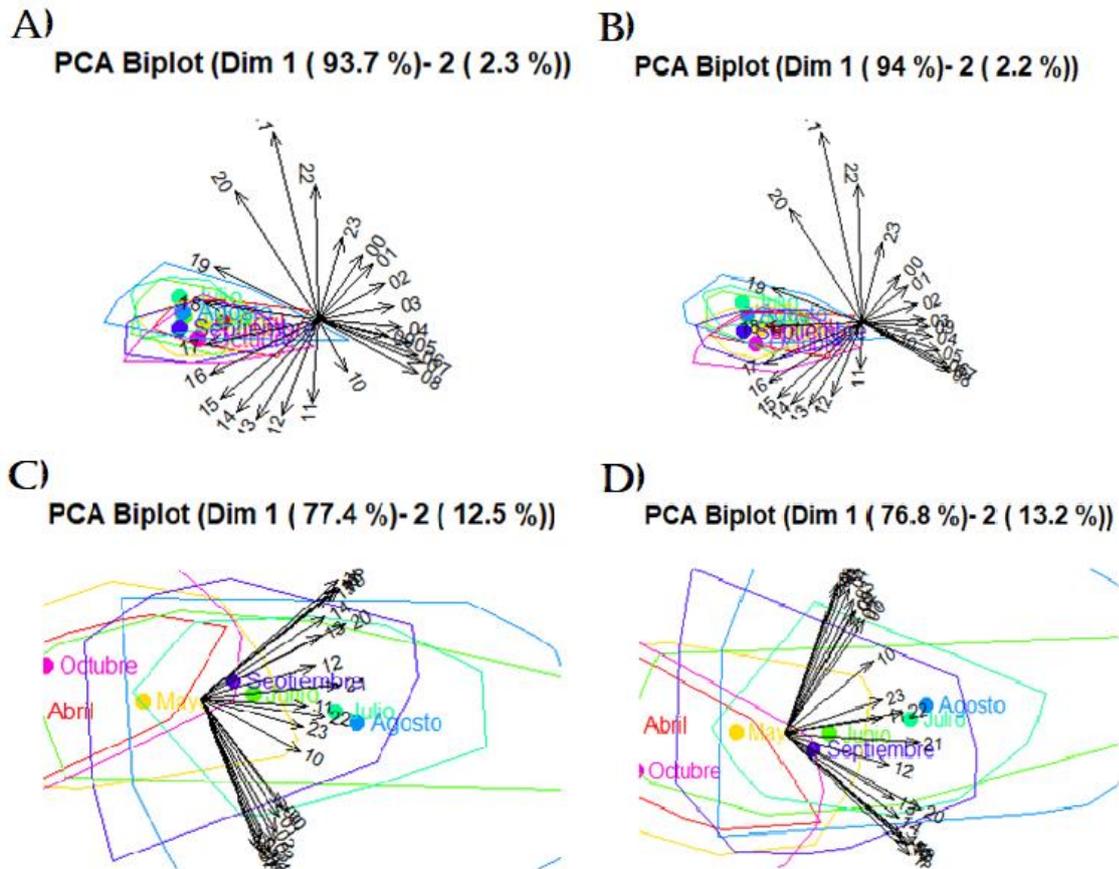


Figura 46. Biplots de las temperaturas medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Fuera y centrado por filas. B) Dentro y centrado por filas. C) Fuera y centrado por columnas. D) Dentro y centrado por columnas.

2.3.1.3.- Biplot de las diferencias

Como en el caso de las temperaturas absolutas, las horas están relacionadas entre sí gradualmente, correlacionándose negativamente las horas diurnas y nocturnas. Los meses tienden a acercarse a las horas de la mañana (08:00-12:00), demostrando lo dicho en análisis anteriores: las diferencias en la temperatura son mayor en las horas de la mañana, siendo esta temperatura mayor fuera que dentro del matorral. No se ven grandes diferencias entre los meses entre sí. En el centrado por columnas se observa una mayor separación entre las horas, con las 08:00,

09:00 y 10:00 diferenciándose del resto de horas. Se observa quizás en que abril hay mayores diferencias en las horas nocturnas, mientras que septiembre es donde existen más diferencias matutinas. No se ven diferencias identificables entre el resto de meses (fig. 47).

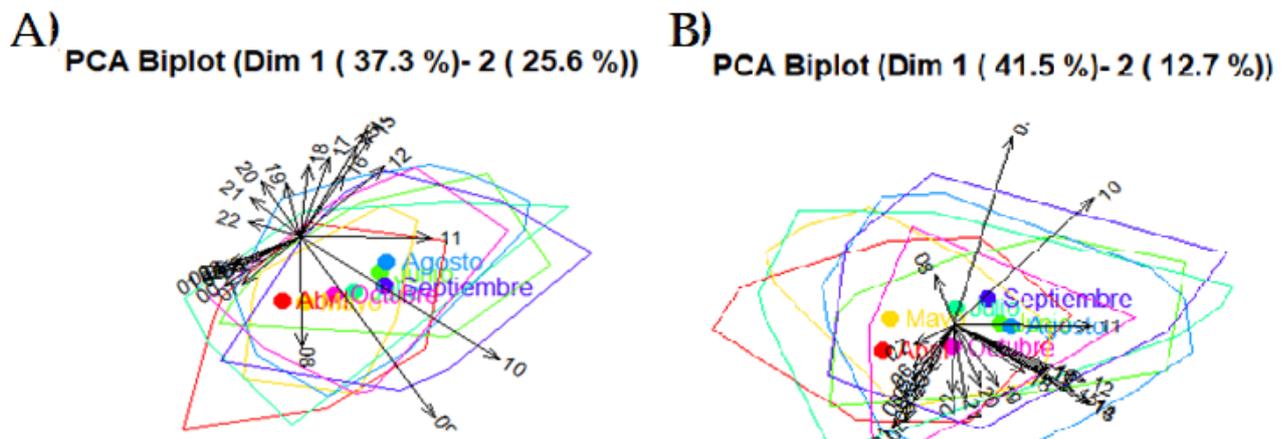


Figura 47. Biplots de las diferencias de temperaturas medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Centrado por filas. B) Centrado por columnas.

2.3.2.- Análisis de la humedad relativa

Procederemos ahora al mismo análisis con la humedad relativa:

2.3.2.1.- Análisis exploratorio por horas

Al analizar la humedad relativa media por hora, se observa como esta alcanza su mínimo a las 18:00 y, a partir de esta hora y hasta las 09:00 aumenta. Entonces, a partir de ahí vuelve a disminuir hasta las 18:00. Se observa que las humedades relativas dentro y fuera son muy similares entre sí, aunque hay ligeras diferencias en las horas matutinas, siendo la humedad relativa mayor dentro del matorral que fuera (fig. 48A). Al analizar a lo largo de las horas las diferencias en la humedad relativa, se puede observar que, en efecto, apenas hay diferencias en la humedad relativa dentro y fuera del matorral salvo en las horas matutinas, de las 09:00 a las 11:00, siendo la humedad relativa un 3% mayor en el interior del

matorral (fig. 48B).

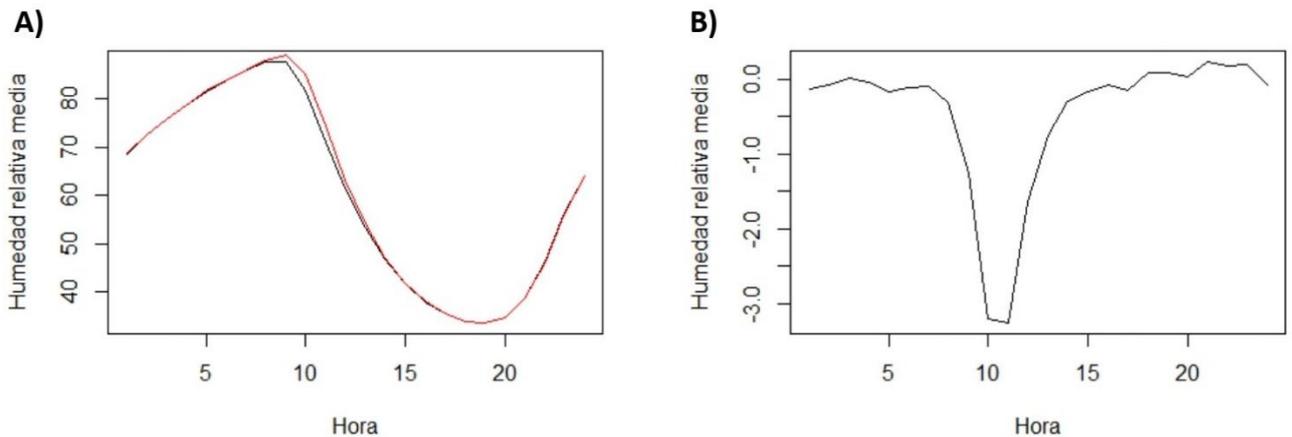


Figura 48. Humedad relativa media por horas. A: fuera (línea negra) y dentro (línea roja) del matorral, B: diferencias medias.

2.3.2.2.- Biplot de las humedades relativas medias

Al analizar la humedad relativa fuera del matorral centrada por filas, se observa que a los vectores de las horas le ocurren lo mismo que en la temperatura, estando las horas correlacionadas progresivamente. No se distinguen bien las diferencias entre los distintos meses, pero se ve que todos tienen una mayor humedad relativa en las horas nocturnas y una menor en las horas diurnas. Bajo el matorral se obtienen las mismas conclusiones. Al centrar por columnas, como con la temperatura, los vectores horarios tienden a la misma dirección, no existiendo correlación negativa entre ellos. Hay mayor distinción entre meses. Aquellos con mayor humedad relativa son abril y mayo, mientras que aquellos con menos son julio y agosto. Se obtienen las mismas conclusiones en la humedad relativa bajo el matorral (fig. 49).

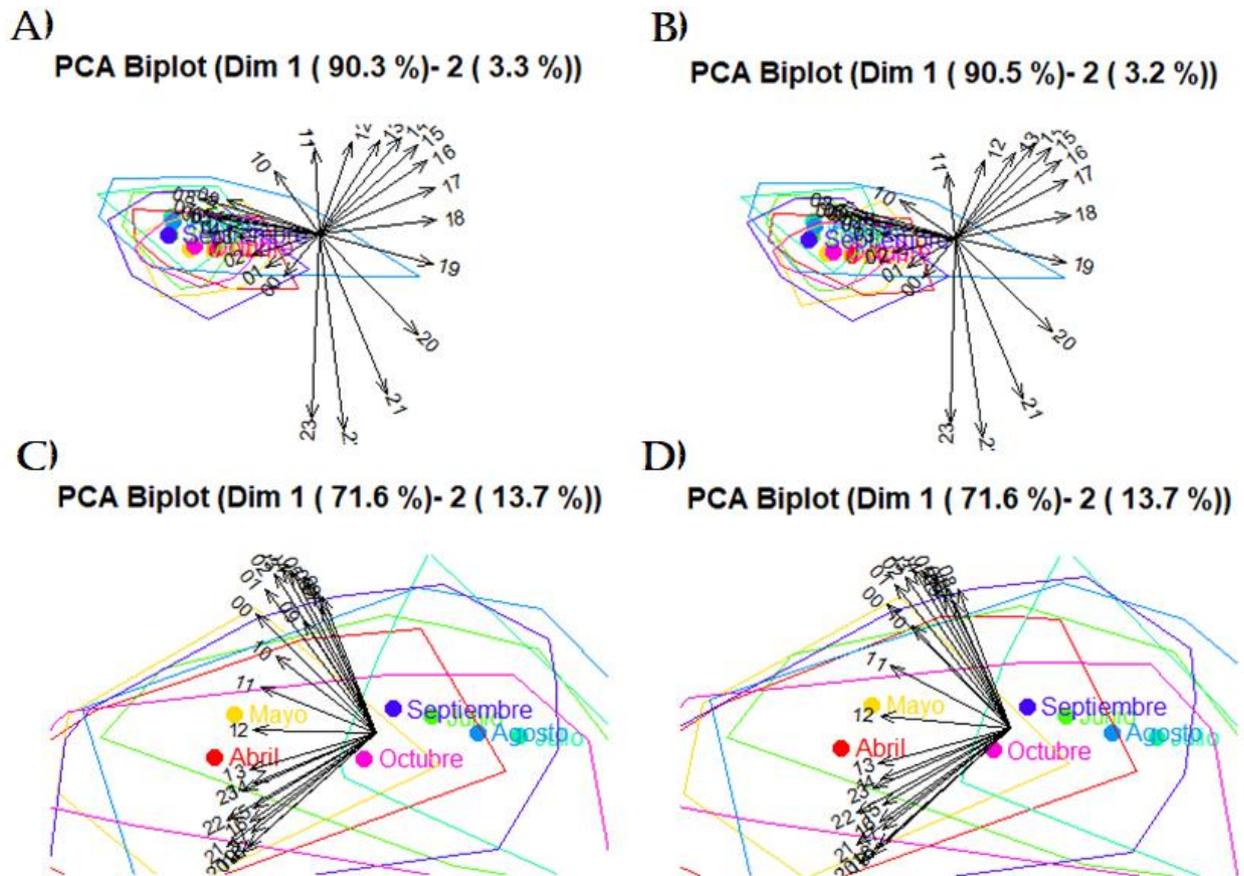


Figura 49. Biplots de las humedad relativa medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Fuera y centrado por filas. B) Dentro y centrado por filas. C) Fuera y centrado por columnas. D) Dentro y centrado por columnas.

2.3.2.3.- Biplot de las diferencias

En el caso de las diferencias, los vectores horarios están correlacionados positivamente entre si salvo las horas matutinas. Aunque no se observa gran diferencia entre meses, estos tienden a encontrarse en dirección contraria a estos vectores, indicando que las diferencias en esas horas son muy negativas, es decir, que la humedad relativa es mayor dentro del matorral que fuera. También se intuye que en los meses de agosto, septiembre, y octubre la humedad es mayor fuera del matorral que dentro, sobre todo a las 10:00 y 11:00. El centrar por columnas, toda la información está más próxima entre sí, así que no se observa

nada más de interés (fig. 50).

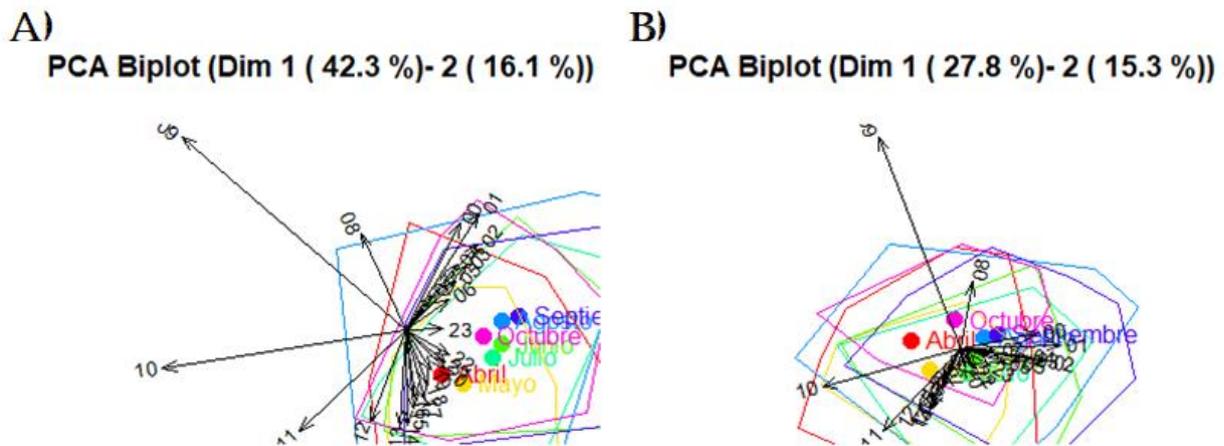


Figura 50. Biplots de las diferencias de humedades relativas medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Centrado por filas. B) Centrado por columnas.

2.3.3.- Análisis de la radiación

2.3.3.1.- Análisis exploratorio por horas

Al representar la radiación media a lo largo de las horas del día, se puede ver que las tendencias son similares tanto fuera como dentro del matorral. Como es obvio, esta es cercana a 0 en las horas nocturnas y comienza a crecer desde las primeras horas de la mañana llegando a su máximo sobre las 15:00 de la tarde, para posteriormente descender y mantenerse cercana a 0 a partir de las 22:00. Se observa que apenas hay diferencias dentro y fuera en las horas nocturnas, aunque en ellas la radiación es mayor dentro del matorral que fuera, como si el matorral conservase la radiación a esas horas (fig. 51A). En las horas diurnas la radiación crece bastante, siendo el aumento bastante superior fuera del matorral con respecto a dentro de este. Al representar las diferencias a lo largo de las horas, confirmamos lo mencionado antes. En horas nocturnas la radiación es ligeramente mayor en el interior del matorral con respecto al exterior, mientras que en las

diurnas hay grandes diferencias, siendo la radiación mucho mayor fuera que dentro del matorral (fig. 51B).

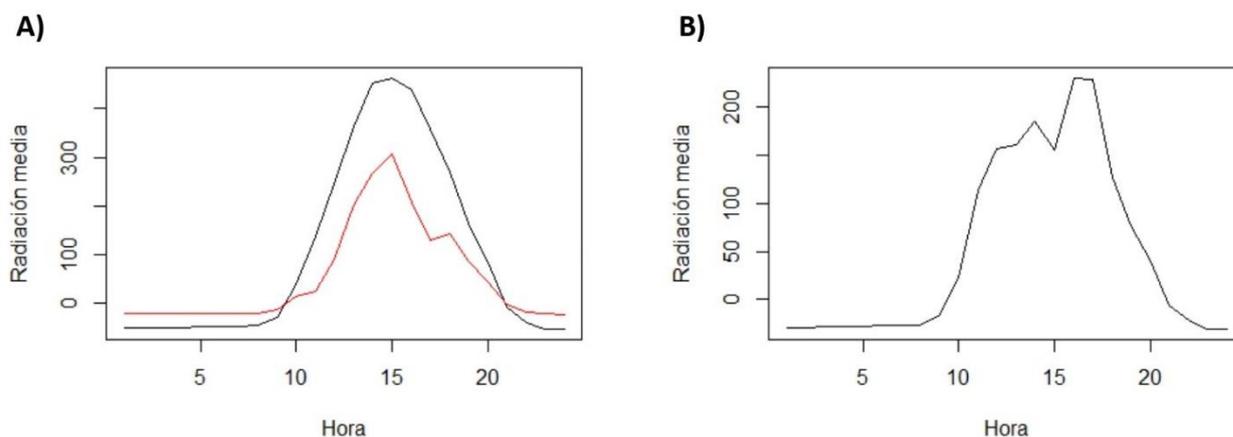


Figura 51. Radiación media por horas. A: fuera (línea negra) y dentro (línea roja) del matorral, B: diferencias medias

2.3.3.2.- Biplot de las radiaciones medias

Al centrar por filas se puede ver como los vectores de las horas nocturnas están muy juntos entre sí, mientras que los de las diurnas tienen una mayor diferencia. Los meses están correlacionados con las horas del mediodía indicando, como es obvio, una mayor radiación en las horas del día independientemente del mes. Además, estos meses están correlacionados negativamente con las horas nocturnas, indicando que en todos los meses las horas nocturnas tienen menor radiación. Dentro del matorral se obtienen las mismas conclusiones que fuera de este. Al centrar por columnas, se puede ver una mayor diferenciación entre meses. Sin embargo, no se observan grandes diferencias entre ellos, salvo que los meses más fríos, septiembre y octubre, son los que tienen mayor radiación en las horas nocturnas y menor radiación en las horas diurnas tardías, probablemente porque

anochezca antes. Dentro del matorral ocurre lo mismo, salvo que hay una mayor separación entre los vectores horarios, estando todos correlacionados positivamente entre sí salvo el de las 14:00 y el de las 16:00. Además, hay una mayor separación entre meses, con los meses de mayo, junio y julio por una parte, y abril y agosto por otra, con el primer grupo teniendo una mayor radiación en las horas diurnas salvo las 14:00 y las 16:00 que los otros meses. Mismas conclusiones que dentro (fig. 52).

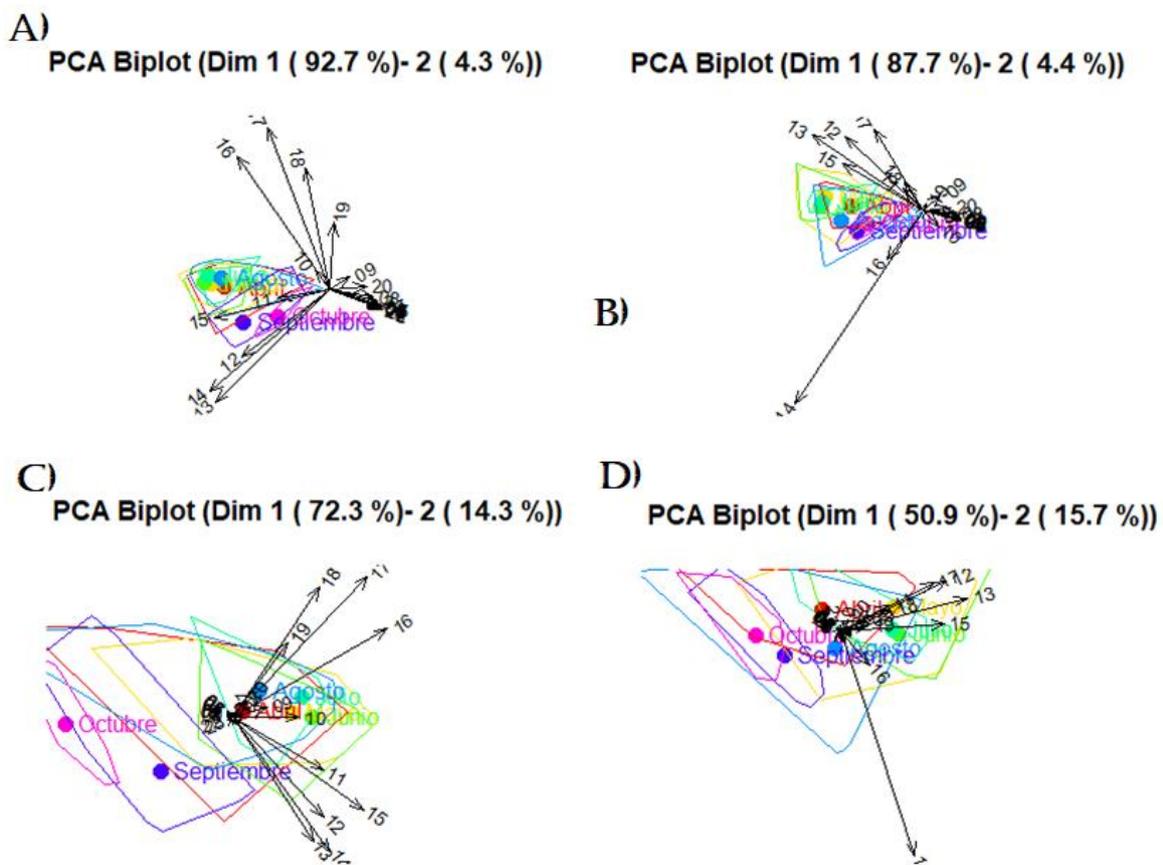


Figura 52. Biplots de las radiaciones medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Fuera y centrado por filas. B) Dentro y centrado por filas. C) Fuera y centrado por columnas. D) Dentro y centrado por columnas.

2.3.3.3.- Biplot de las diferencias

Analizando los vectores horarios, se observa que las horas nocturnas están muy correlacionadas entre sí, mientras que hay más diferencias entre las diurnas. Los meses tienden a estar juntos en la misma parte del gráfico, con septiembre y octubre agrupados por una parte y el resto de meses agrupados por la otra. En septiembre es cuando ocurren las mayores diferencias, desde las 12:00 a las 15:00, siendo la radiación mayor fuera que dentro. Por la otra parte, en los otros meses salvo octubre las mayores diferencias ocurren a las 10:00, 11:00 o a las 16:00. Al centrar por columnas, se obtienen las mismas conclusiones que en el centrado por filas, aunque hay una mayor diferenciación de los meses entre sí. Además se podría concluir que los meses de septiembre y octubre son aquellos en los cuales las diferencias en horas nocturnas son mayores, siendo la radiación mayor dentro que fuera, aunque los vectores de las horas nocturnas no son muy representativos (fig. 53).

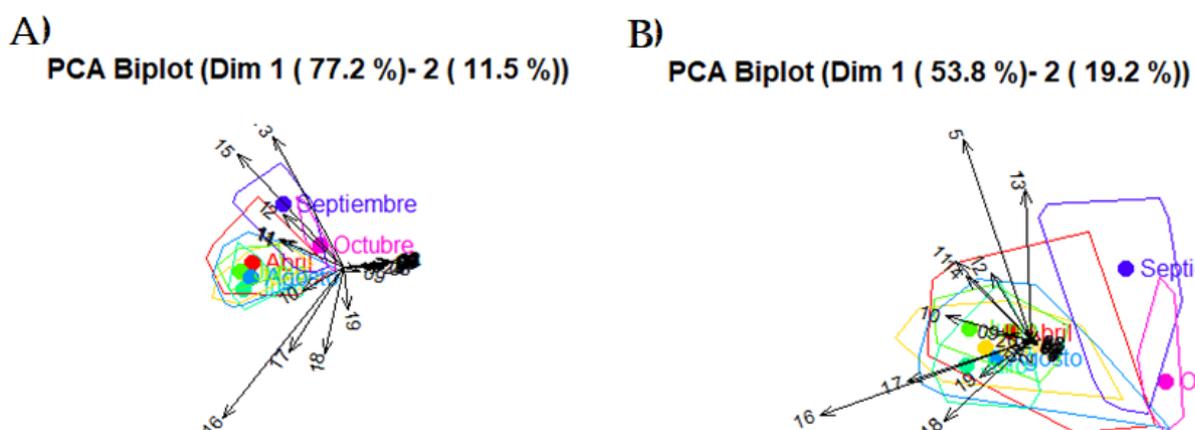


Figura 53. Biplots de las diferencias de radiaciones medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Centrado por filas. B) Centrado por columnas.

2.3.4.- Análisis de la cantidad de agua en el suelo

2.3.4.1.- Análisis exploratorio por horas

Analizando por horas se observa que apenas hay diferencias en la cantidad de agua entre horas, tanto dentro como fuera del matorral, aunque hay un ligero aumento en las horas diurnas fuera del matorral, así como una bajada en las nocturnas. Siempre la cantidad de agua es mayor fuera que dentro del matorral, aunque probablemente las diferencias son tan bajas que estas no son significativas (fig. 54A). Al analizar las diferencias medias en la cantidad de agua en función de la hora se observa que, aunque siempre sean pequeñas, las mayores diferencias ocurren a partir de las 15:00 de la tarde aproximadamente en horas diurnas, siendo siempre la cantidad de agua mayor fuera que dentro. Estas vuelven a disminuir a partir de las 17:00 (fig. 54B).

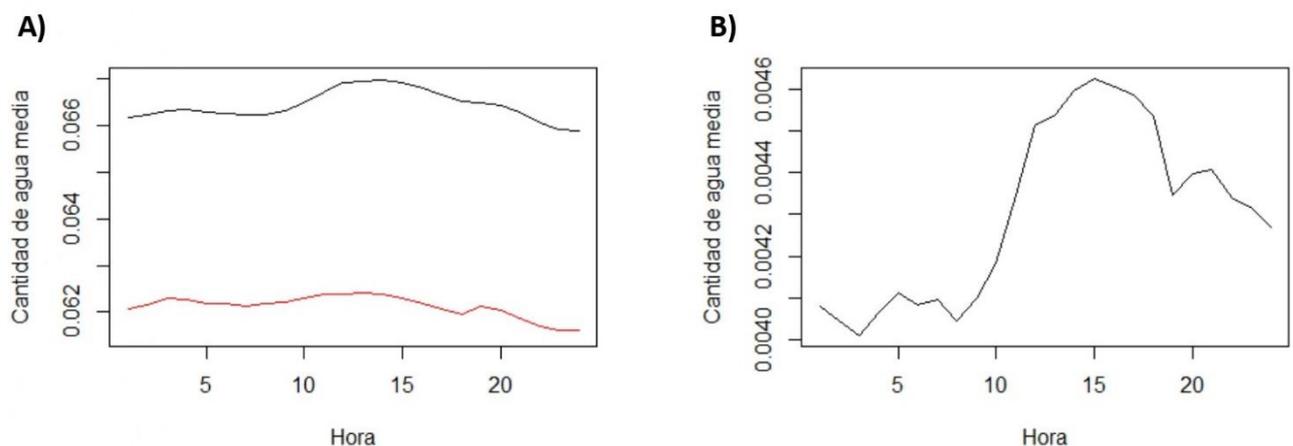


Figura 54. Cantidad de agua media por horas. A: fuera (línea negra) y dentro (línea roja) del matorral, B: diferencias medias

2.3.4.2.- Biplot de las cantidades de agua medias

Los vectores horarios están gradualmente correlacionados entre sí, con las primeras horas de la tarde siendo idénticas. Los meses son muy parecidos entre sí, salvo mayo, mes con una mayor cantidad de agua en las horas nocturnas con respecto al resto y una menor cantidad de agua en las últimas horas de la tarde. Al

llevar a cabo el biplot centrado por filas de la cantidad de agua dentro del matorral, se puede observar una gran diferencia del mes de abril con el resto, teniendo mayor cantidad de agua este mes en las primeras horas de la noche. Al centrar por columnas, todos los vectores horarios tienden hacia la izquierda del gráfico, ninguno correlacionándose negativamente entre sí. Además, la mayor parte de la variabilidad se recoge en esta primera componente. Podemos comprobar que los meses con mayor cantidad de agua son abril y mayo, mientras que el que menos cantidad de agua tiene es julio. Dentro del matorral se obtienen las mismas conclusiones que fuera del matorral, pero en este caso octubre y julio son los meses de menor cantidad de agua (fig. 55).

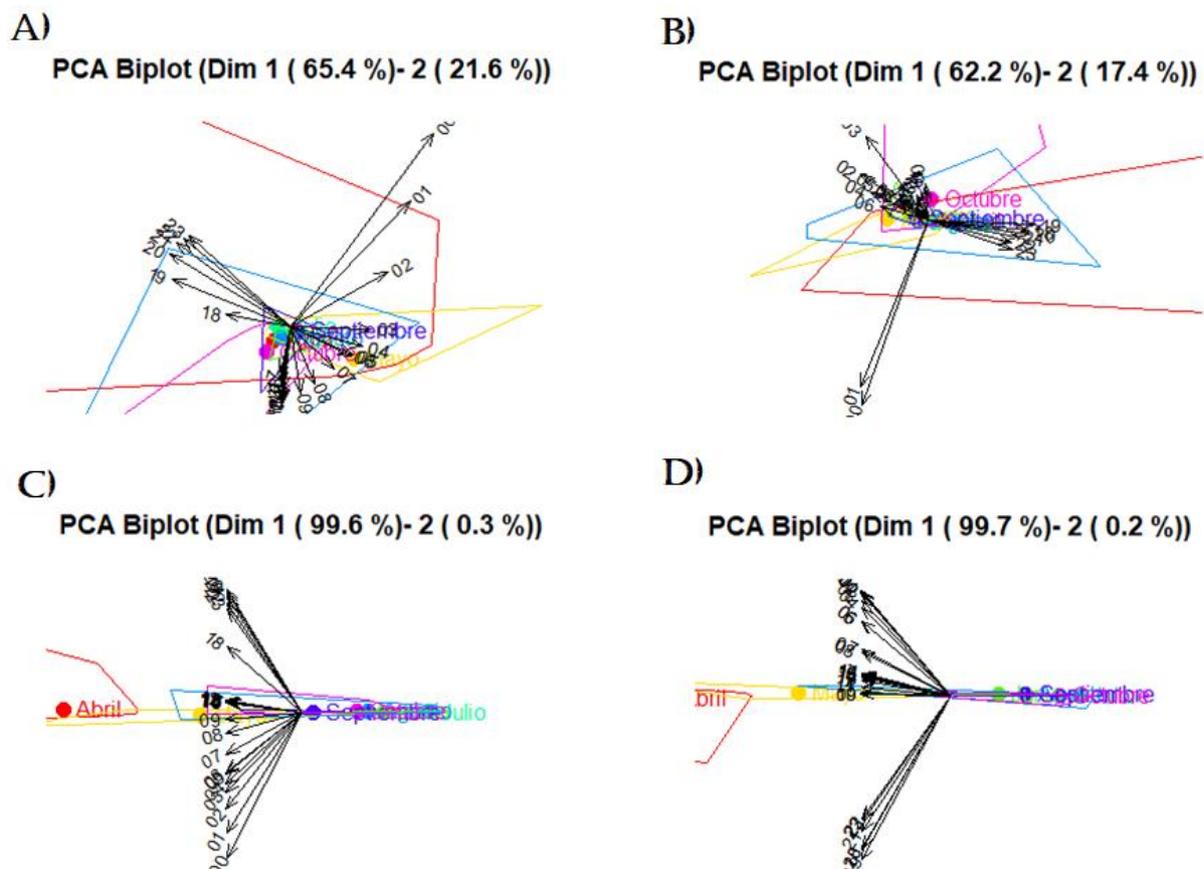


Figura 55. Biplots de las cantidades de agua medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Fuera y centrado por filas. B) Dentro y centrado por filas. C) Fuera y centrado por columnas. D) Dentro y centrado por columnas.

2.3.4.3.- Biplot de las diferencias

Al centrar las diferencias en la cantidad de agua en el suelo por filas no se observan grandes diferencias entre los meses. Los vectores horarios están muy correlacionados entre si salvo las primeras horas nocturnas. Debido a la proximidad, no se observan más conclusiones significativas. Al centrar por columnas, como en el caso de la cantidad de agua fuera y dentro, vemos que la mayor parte de la variabilidad la recoge la primera componente. En este caso, los vectores horarios tienden hacia la derecha, no estando ninguno correlacionado negativamente entre sí. Aquí podemos observar lo comentado al realizar el análisis exploratorio: los meses con mayores diferencias siendo la cantidad de agua mayor fuera que dentro son septiembre, seguido de octubre, mientras que aquellos con mayores diferencias pero mayor cantidad de agua dentro del matorral son junio, seguido de mayo y julio (fig. 56).

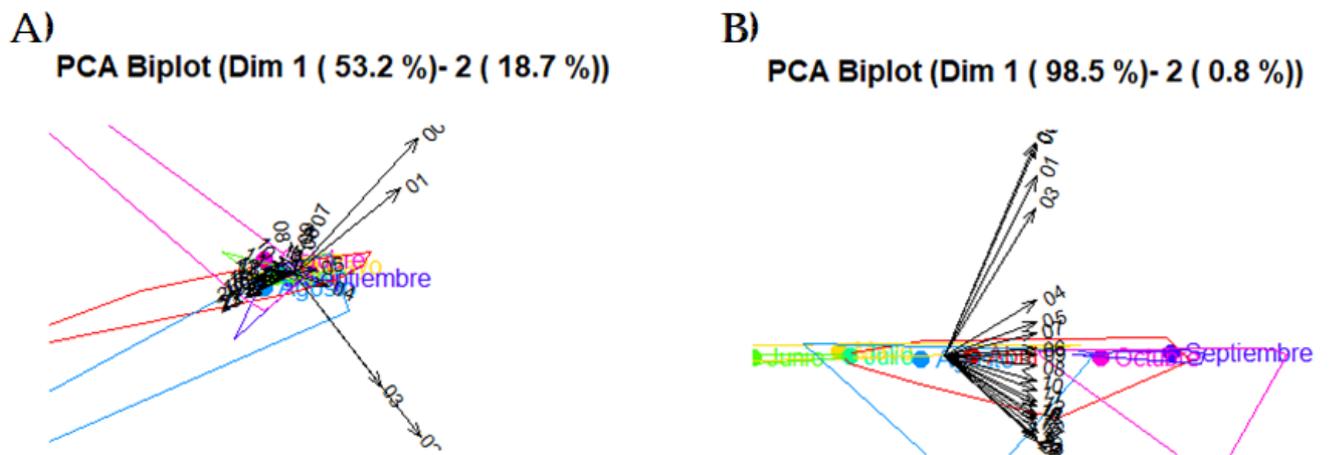


Figura 56. Biplots de las diferencias de cantidad de agua medias dentro y fuera del matorral y vectores horarios. A) Centrado por filas. B) Centrado por columnas.

3.- DISCUSIÓN

Aunque no se hayan podido realizar análisis mediante los cuales obtener diferencias significativas debido a la naturaleza de los datos ambientales que poseemos, el análisis de descomposición de series temporales y otros métodos multivariantes nos ofrecen posibles conclusiones de importancia. El patrón estacional del lugar de estudio cuadra con el típico de un clima continental mediterráneo, con inviernos fríos y más húmedos, veranos más cálidos y secos, debido a que son meses más soleados y con escasas precipitaciones, mencionando el hecho de que todas las diferencias en las variables ambientales disminuyeron el último año debido a la pérdida de biomasa del matorral.

Hay estudios que han demostrado que el verano ha sido un periodo crítico para la supervivencia de las plántulas, debido a las altas temperaturas, obteniéndose temperaturas significativamente más bajas bajo el dosel vivo (O'Donnell *et al.*, 2020). Aun no obteniendo resultados conclusivos sobre la diferencia de temperatura, hay estudios que indican la importancia de la reducción de la temperatura en la facilitación de las plántulas para mejorar condiciones estresantes (Puerta-Piñero *et al.*, 2007). Esta importancia se debe a que las altas temperaturas pueden infligir directamente daños fisiológicos a las plántulas (como la desnaturalización de proteínas), pero aumentando también la necesidad de disipar energía térmica a través de la transpiración (Kolb y Robberecht, 1996). Además, bajo altas temperaturas se ha demostrado que las pérdidas de carbono respiratorio son grandes en los robles mediterráneos (Reichstein *et al.*, 2002; Valladares, 2004). Esta modificación de la temperatura, puede facilitar el establecimiento de las plántulas leñosas (Callaway, 1992; Rey-Benayas, 1998; Maestre *et al.*, 2001; Rey-Benayas *et al.*, 2002), ya sea por una reducción de la temperatura o por sufrir menos fluctuaciones extremas de esta en comparación con las plántulas al aire libre (Montes Hernández y López-Barrera, 2013). Aun

así, hay otros estudios realizados en climas mediterráneos que indican lo contrario, existiendo temperaturas más altas en el interior del matorral (Pérula *et al.*, 2001; Navarro Cerrillo *et al.*, 2005).

En nuestro estudio, las temperaturas dentro y fuera del matorral fueron muy similares entre sí, aunque las diferencias fueron distintas en función del mes o de la hora. En horas diurnas, al existir una mayor temperatura, dentro del matorral la temperatura es inferior con respecto a fuera, ocurriendo lo contrario en horas más frías. Sin embargo, no se observa ninguna estacionalidad al analizar la diferencia en la temperatura a lo largo de los meses salvo una posible a las 12:00 (momento en el que ocurren las mayores diferencias), siendo la temperatura superior fuera del matorral en los meses más fríos, probablemente debido a que reciben una mayor radiación solar. Los meses con mayor diferencia en el primer año son septiembre y octubre (siendo la temperatura mayor fuera que dentro) y, por otra parte, mayo y julio (mayor dentro que fuera), aunque no llegaron a observarse grandes diferencias. Por eso no creemos que la temperatura haya tenido una gran influencia en la emergencia o supervivencia de nuestro estudio.

Un factor que puede condicionar la emergencia y supervivencia de las bellotas de *Quercus*, y que creemos que ha influido más puede ser la humedad del suelo (Pérez-Ramos *et al.*, 2013). La capacidad de retención de agua del suelo se sabe que es muy importante para la germinación y emergencia de las especies de *Quercus* (Farnsworth, 2000; Jöet *et al.*, 2013; Gil-Pelegrín *et al.*, 2017). De hecho, es bien sabido que las bellotas son recalcitrantes, y estas disminuyen su viabilidad cuando están a la intemperie durante algún tiempo debido a la deshidratación (Jöet *et al.*, 2013). Por el otro lado, se ha descrito que existen efectos negativos de condiciones de mayor humedad del suelo sobre la supervivencia de las plántulas, explicados por el anegamiento esporádico que dificulta el desarrollo de las radículas y la respiración (Urbietta *et al.*, 2008; Matías *et al.*, 2012). También existe un factor biótico relacionado con la



humedad que perjudica a las plántulas, en particular la infección de las raíces por *Oomycetes*, que se ve favorecida por la alta humedad del suelo necesaria para la esporulación y la dispersión de zoosporas (Garrett *et al.*, 2006). Sin embargo, tal como se mencionó en el capítulo 5, el matorral facilitó la supervivencia de las plántulas de *Quercus* a partir de la primera estación seca, por lo que no parece que este efecto negativo haya tenido una gran relevancia con respecto a los positivos.

Se han observado diferencias dentro y fuera del matorral en la humedad relativa, siendo normalmente esta mayor dentro del matorral que fuera en las horas diurnas, y la cantidad de agua en el suelo, que varía en función del mes (siendo mayor dentro del matorral en los meses de verano), pero no de la hora. Se ha descrito el efecto positivo del dosel de matorral sobre las propiedades del suelo, como el efecto que tiene sobre la materia orgánica que, a su vez, contribuye a un aumento de la capacidad de retención del agua del suelo (Costa *et al.*, 2017). La mayoría de los estudios sobre facilitación sugieren efectos positivos en las plántulas de especies leñosas debido a la mejora de condiciones estresantes, mediante el aumento de los recursos como el agua (Brooker *et al.*, 2007) o creando un microambiente favorable (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; Nuñez-Valero, 2013; Torroba-Balmori *et al.*, 2015). Tal como se comentó en el capítulo 4, el matorral favoreció la emergencia de las especies de *Quercus*, un efecto que anteriormente Pérez-Ramos *et al.* (2012) atribuyeron a una mayor humedad dentro del matorral, hecho que, aunque con escasas diferencias, se ha observado en este estudio. Así, *C. multiflorus* se ha descrito que mejora la emergencia de *Quercus* evitando la desecación de las bellotas, al igual que otras especies de matorral (Smit *et al.*, 2006; Smit *et al.*, 2008; Pugnaire *et al.*, 2011), mediante la conservación de la humedad del suelo (Gómez *et al.*, 2001; Castro *et al.*, 2002), lo que es muy importante en zonas mediterráneas con muy baja capacidad de retención de agua en el suelo.

La cantidad de agua en el suelo no varió con el paso de las horas y, aunque hubo meses en que esta era mayor fuera del matorral y otros dentro, la media es que esta es mayor siempre fuera del matorral, aunque apenas existen diferencias. Por el otro lado, la humedad relativa alcanza su máximo a horas matutinas, cuando las diferencias son mayores siendo la humedad superior dentro del matorral, mientras que el mínimo se produce en las primeras horas de la noche, cuando la humedad deja de ser mayor dentro. A lo largo de los meses, la humedad relativa dentro del matorral tiende a superar la de fuera de este. Esto podría ser un indicio de que, aunque sin grandes diferencias, el matorral conserva la humedad relativa del aire dentro del microambiente. Aquellos meses con mayor humedad relativa y cantidad de agua son abril y mayo, produciéndose las mayores diferencias en mayo y junio. Sin embargo, hasta septiembre (en la estación seca), la humedad relativa es mayor dentro del matorral, aunque con muy pocas diferencias en julio y agosto, cuando existe una menor humedad relativa y cantidad de agua, debido a la sequía estival característica del clima mediterráneo, la cual impone un severo estrés hídrico a las plantas, lo cual puede ser fácilmente letal para las plántulas jóvenes (Gómez-Aparicio *et al.*, 2008). Experimentos mostraron que la sequía de verano fue la causa más importante de la mortalidad, confirmando el papel crítico del estrés hídrico en la determinación del éxito del establecimiento de las plántulas (García de Jalón *et al.*, 2020). Esta disminución se ha descrito en estas zonas mediterráneas, debido a su escasez de precipitaciones y a la textura del suelo (muy arenosos), con una capacidad de retención de agua muy baja (Costa *et al.*, 2017), aunque algunos estudios han indicado que este periodo no es importante para la mortalidad en comparación con el pisoteo de ungulados (Gómez *et al.*, 2003). En estos meses se producen las mayores diferencias en la cantidad de agua, lo que podría indicar un efecto facilitador del matorral en momentos de un mayor estrés hídrico. Cuando este periodo seco termina, la humedad y la



cantidad de agua pasan a ser ligeramente mayor fuera del matorral con respecto a dentro de este. Por tanto, esta disponibilidad de agua en el suelo, aunque limitada, podría aliviar a las plantas ayudándolas a sobrevivir hasta la llegada de las lluvias de otoño, como sugieren otros autores en sus zonas de estudio (Gómez-Aparicio *et al.*, 2004).

También se ha demostrado que la luz afecta positivamente a la supervivencia de las plántulas desde la germinación hasta la recogida de las plántulas, pero no afecta positivamente a la supervivencia de las plántulas ya emergidas (García de Jalón *et al.*, 2020). En cambio, por el otro lado, la escasez de luz se ha demostrado no tener consecuencias negativas para las especies caducifolias, debido a su alta tolerancia a la sombra durante las primeras etapas de la vida (Gómez-Aparicio *et al.*, 2006; Quero *et al.*, 2006; Gómez-Aparicio *et al.*, 2008), aunque se ha demostrado también que *Q. ilex* es una especie tolerante a la sombra con un reclutamiento más exitoso para valores intermedios de irradiancia (Espelta *et al.*, 1995; Retana *et al.*, 1999; Puerta-Pinero *et al.*, 2007). Como se ha comentado, el efecto positivo de la luz tiene lugar en las primeras etapas de vida pero, una vez emergen los tallos, las plántulas tienen que hacer frente a la sequía estival, y en este momento una mayor exposición a la luz puede ser perjudicial al provocar un mayor estrés hídrico (Gómez-Aparicio *et al.*, 2008; Pérez-Ramos *et al.*, 2013). Múltiples estudios en formaciones que experimentan estrés por luz, calor y sequía han señalado que la sombra es el principal mecanismo que mejora la supervivencia de plántulas de las especies leñosas (O'Donnell *et al.*, 2020), teniendo un mayor efecto que otros tipos de estrés abiótico en la emergencia y crecimiento (Long y Jones, 1996; Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; Pérez-Ramos *et al.*, 2010), ya que un exceso de radiación podría causar una fotoinhibición de la fotosíntesis y un sobrecalentamiento de las hojas (Valladares, 2003).

En nuestro estudio se han observado diferencias claras entre la radiación que hay dentro y fuera del matorral, aunque estas son dependientes de la hora y el mes del año. En función de las horas, en las horas diurnas existen grandes diferencias, siendo la radiación mayor fuera que dentro, aunque en los meses más fríos esta diferencia se reduce. En horas nocturnas, la radiación dentro del matorral es ligeramente superior a la del interior de este, aunque las diferencias son muy reducidas, habiendo una mayor radiación en los meses más fríos, probablemente al producirse antes el anochecer. La sombra, proporcionada por el dosel de los matorrales mediante la atenuación de la fotoinhibición diurna causada por las altas intensidades de luz (Long *et al.*, 1994), se ha descrito como el principal factor que favorece la supervivencia de las plántulas (Callaway, 1992; Rey-Benayas, 1998; Dunne y Parker, 1999; Weltzin y McPherson, 1999; Shumway, 2000; Gómez *et al.*, 2001; Rey-Benayas *et al.*, 2002), así como se ha visto que produce un alargamiento de las plántulas de *Quercus* a través del sombreado lateral, el cambio en la calidad de luz y/o las barreras físicas a la expansión lateral (Franklin, 2008). Con esta información y teniendo que la radiación es el factor en el cual se observan mayores diferencias de los estudiados en este capítulo, parece que la fotoprotección es el factor que más ha influido positivamente en los valores de supervivencia bajo el matorral, hipótesis que se mencionó en el capítulo 5. Aun así, haría falta más estudios para relacionar esta diferencia en la radiación con los mayores valores de emergencia bajo el matorral.

Con respecto a los meses, como en los climas mediterráneos, en los meses de verano la radiación aumenta mientras que esta disminuye a medida que se acerca el invierno. La radiación durante el verano en ambientes mediterráneos suele ser excesiva, provocando la fotoinhibición de la fotosíntesis en muchas especies vegetales (Valladares, 2003). Las diferencias se mantienen constantes hasta que aumentan sobre todo en los meses centrales en verano, con las mayores



diferencias en septiembre desde las 12:00 a las 15:00, disminuyendo estas diferencias a medida que se acerca el invierno, aunque hay un aumento en abril. En los meses de los extremos del estudio (abril y octubre) la radiación llega a ser mayor dentro del matorral con respecto a fuera. Esto puede indicar que el matorral provoca que la radiación dentro del matorral sea menos extrema para las plántulas de *Quercus*. El efecto positivo de los matorrales sobre la supervivencia se debe probablemente tanto al alivio directo del estrés por la mejora del microclima y la fotoprotección (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; Gavinet *et al.*, 2016), interceptando la luz evitando la fotoinhibición y la reducción de la demanda de transpiración y marchitamiento de la planta durante la estación seca (Gómez-Aparicio *et al.*, 2005; 2006). De hecho, se ha descrito que la importancia del efecto facilitador del matorral con respecto a la radiación aumenta con el estrés abiótico (Castro *et al.*, 2004; Gómez-Aparicio *et al.*, 2004; 2008; Valladares *et al.*, 2004; Padilla y Pugnaire, 2006; Quero *et al.*, 2006; Sánchez-Gómez *et al.*, 2006; Puerta-Pinero *et al.*, 2007; Smit *et al.*, 2008; Badano *et al.*, 2011; Montes-Hernandez y López-Barrera, 2013; Caldeira *et al.*, 2014), dado sobre todo en verano, pero hay estudios que sugieren que la sombra tiene también un papel importante en la supervivencia de las semillas de *Q. ilex* en invierno (Callaway, 1992; Smit *et al.*, 2008).

La cantidad de agua y la humedad relativa estuvieron relacionadas positivamente, aunque las diferencias de ambas variables ambientales estuvieron correlacionadas negativamente. También existió una correlación positiva entre la temperatura y la radiación. Esto se ha demostrado con anterioridad, pues se ha descrito que el sombreado de los matorrales reduce significativamente la temperatura del suelo, lo cual tiene una importante relación con el estado hídrico de la planta (Maestre *et al.*, 2001).

Por el otro lado, se detectó una correlación negativa entre la humedad relativa y la temperatura y se ha descrito anteriormente relaciones entre estas

variables, como estudios han descrito que la supervivencia de las especies de *Quercus* fue facilitada mediante la disminución de las altas temperaturas, sobre todo cuando la humedad estuvo por debajo de los valores promedios (Caldeira *et al.*, 2014). Además, aunque no se detectó una correlación negativa entre la radiación y la cantidad de agua (pero si una positiva en sus diferencias), se ha observado un efecto negativo de la alta radiación (la cual influye en la temperatura) en la sequía estival, lo cual agrava el riesgo de mortalidad debido a un peor estado hídrico de la planta (Valladares, 2003).

Como hemos comentado con anterioridad, la sequía estival y las temperaturas extremas se han señalado como factores importantes que modelan el reclutamiento de plantas mediterráneas (Blondel y Aronson, 1999), estando la irradiación está muy correlacionada con la temperatura y el contenido de agua (Clark *et al.*, 2003). De hecho, ha sido descrito el alivio del impacto de la sequía para las plántulas que crecen en la sombra, aumentando la supervivencia de las plántulas bajo los matorrales (Castro *et al.*, 2004; Gómez-Aparicio *et al.*, 2004; Marañón *et al.*, 2004). Por el contrario, las plantas sometidas a una alta irradiación, al someterse a un mayor estrés hídrico, sufren una reducción más drástica de la fotosíntesis neta y pueden estar más predispuestas a la fotoinhibición, en comparación con las plantas a la sombra (Valladares y Pearcy, 2002). De hecho, se ha propuesto varias hipótesis para explicar los efectos de la sequía a lo largo de gradientes de irradiación. Por una parte, se afirma que la sequía será más perjudicial bajo condiciones de sombra por conflictos entre demandas de asignación de recursos (Kubiske *et al.*, 1996) pero, por otra parte, se sugiere que los efectos de la limitación de la luz pueden ser compensados por los beneficios en el estado hídrico de la planta (Callaway, 1995; Holmgren, 2000; Flores y Jurado, 2003; Prider y Facelli, 2004). En resumen, hay varios tipos de



correlaciones, tanto positivas como negativas, entre las distintas variables ambientales.



Capítulo 7

Conclusiones

1. En zonas de pastoreo mediterráneas donde coexisten *Quercus pyrenaica* y *Q. ilex*, aunque con el dominio del dosel arbóreo de *Q. pyrenaica*, *C. multiflorus* tiene un claro efecto facilitador en la emergencia y en la supervivencia de las plántulas de esas dos especies de *Quercus* ecológicamente contrastadas.
2. La presencia del matorral tiene un efecto mucho mayor que la exclusión física de los grandes herbívoros (valla). Inicialmente parece desempeñar un papel protector contra los grandes herbívoros pero, después del primer mes, *C. multiflorus* parece desempeñar un papel más importante en la modificación de los factores abióticos.
3. Los principales cambios abióticos que introducen las plantas de *C. multiflorus* tiene que ver con mejoras en los factores microclimáticos aéreos (reducción de la radiación y mayor humedad relativa) en la estación seca sobre todo, así como con la mejora de las condiciones hídricas del suelo. La humedad parece ser el efecto que más facilita la emergencia, mientras que la fotoprotección es el factor que más ha influido positivamente en la supervivencia. La temperatura no parece tener un efecto notable en ninguna de ambas fases.
4. En cuanto a la emergencia, en estas zonas de pastoreo mediterráneas con el dominio del dosel arbóreo de *Q. pyrenaica*, actualmente la emergencia de *Q. ilex* es mayor que la de *Q. pyrenaica*. En ausencia de matorral, la emergencia de *Q. pyrenaica* se ve afectada negativamente si no está protegida contra los grandes herbívoros y si las bellotas son pequeñas, lo que no ocurre con *Q. ilex*.
5. La supervivencia de *Q. ilex* es también mayor que la de *Q. pyrenaica*, sobre todo en tratamientos sin matorral, aunque no llegaron a encontrarse diferencias significativas.

6. En general, el tamaño de la bellota tiene mayor importancia para *Q. pyrenaica* que para *Q. ilex* en estas fases iniciales del establecimiento; no obstante, es menos importante en presencia del matorral.
7. Los puntos anteriores parecen indicar que *C. multiflorus* puede tener un papel clave en la regeneración, y por tanto persistencia a largo plazo, de *Q. pyrenaica* en estas zonas mediterráneas, aunque actualmente ella sea la especie dominante en el dosel arbóreo.
8. Estos indicios podrían ser indicativos de un cambio hacia condiciones climáticas más xéricas en estas zonas, lo que podría llevar a un cambio en la especie arbórea dominante en el futuro, de marcescente a esclerófila. Este cambio podría estar favorecido por la presión de los grandes herbívoros pero, por otro lado, si hay plantas de matorral de *C. multiflorus*, el cambio podría ser más lento. Ahora bien, serían necesarios más estudios para evaluar el proceso de interacciones entre estas especies de *Quercus* y el matorral a medio y largo plazo.





BIBLIOGRAFÍA

1.

Abdi H. Singular Value Decomposition (SVD) and Generalized Singular Value Decomposition (GSVD). En: *Encyclopedia of Measurement and Statistics*. Neil Salkind; 2007. p. 14.

2.

Abdi H, Williams LJ. Principal component analysis. *WIREs Computational Statistics*. 2010; 2:433-59.

3.

Acacio V, Holmgren M, Jansen PA, Schrotter O. Multiple recruitment limitation causes arrested succession in Mediterranean cork oak systems. *Ecosystems*. 2007; 10:1220-30.

4.

Acherar M, Rambal S. Comparative water relations of four Mediterranean oak species. *Vegetatio*. 1992;99-100(1):177-84.

5.

Alday JG, Zaldívar P, Torroba-Balmori P, Fernández-Santos B, Martínez-Ruiz C. Natural Forest expansion on reclaimed coal mines in Northern Spain: the role of native shrubs as suitable microsites. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016; 23:13606-16.

6.

Alonso-Crespo IM, Silla F, Jiménez del Nogal P, Fernández MJ, Martínez-Ruiz C, Fernández-Santos B. Effect of the mother tree age and acorn weight in the regenerative characteristics of *Quercus faginea*. *Eur J Forest Res*. 2020;139(4):513-23.

7.

Badano EI, Samour-Nieva OR, Flores J. Emulating nurse plants to restore oak forests. *Ecological Engineering*. 2011;37(8):1244-8.

8.

Bandara K, Hewamalage H, Liu YH, Kang Y, Bergmeir C. Improving the Accuracy of Global Forecasting Models using Time Series Data Augmentation. Elsevier; 2020.

9.

Baraloto C, Forget PM, Goldberd DE. Seed mass, seedling size and neotropical tree seedling establishment. *Journal of Ecology*. 2005; 93:1156-66.

10.

Baraza E, Zamora R, Hodar JA. Á Conditional outcomes in plant /herbivore interactions: neighbours matter. *OIKOS*. 2006; 113:148-56.

11.

Beniston M, Diaz HF, Bradley RS. Climatic Change at High Elevation Sites: An Overview. Diaz HF, Beniston M, Bradley RS, editores. *Climatic Change*. 1997; 36:233-51.

12.

Bergmeier E, Petermann J, Schröder E. Geobotanical survey of wood-pasture habitats in Europe: diversity, threats and conservation. *Biodivers Conserv*. 2010;19(11):2995-3014.

13.

Bertness MD, Callaway R. Positive interactions in communities. *Trends in Ecology & Evolution*. 1994;9(5):191-3.

14.

Bland JM, Altman DG. Statistics Notes: Survival probabilities (the Kaplan-Meier method). *BMJ*. 1998;317(7172):1572-80.

15.

Bland JM, Altman DG. The logrank test. *BMJ*. 2004;328(7447):1073.

16.

Blondel J, Aronson J. *Biology and Wildlife of the Mediterranean Region*. Montpellier, France: CNRS; 1999.

17.

Bonfil C. The effects of seed size, cotyledon reserves, and herbivory on seedling survival and growth in *Quercus rugosa* and *Q. laurina*. *American Journal of Botany*. 1998;85(1):79-87.

18.

Bonner FT. *Woody Plant Seed Manual*. Forest Service. Washington, D. C, USA.: Department of Agriculture, USDA; 2003.

19.

Bossema I. *Jays and oaks: An eco-ethological study of a symbiosis*. Martinus Nijhoff/Brill; 1979.

20.

Bradbury IK, Malcolm DC. The Effect of Phosphorus and Potassium on Transpiration, Leaf Diffusive Resistance and Water-Use Efficiency in Sitka Spruce (*Picea sitchensis*) Seedlings. *The Journal of Applied Ecology*. 1977;14(2):631.

21.

Breslow NE. Analysis of Survival Data under the Proportional Hazards Model. *International Statistical Review / Revue Internationale de Statistique*. 1975;43(1):45.

22.

Brooker RW, Maestre FT, Callaway RM, Lortie CL, Cavieres LA, Kunstler G, et al. Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *J Ecology*. 2007;96(1):18-34.

23.

Bruschi P, Grossoni P, Bussotti F. Within- and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. natural populations. *Trees*. 2003;17:164-72.

24.

Calabuig LE, Montserrat E. Mapa fitoclimático de la provincia de Salamanca. En: Estudio Integrado y Multidisciplinario de la Dehesa Salmantina. *Centro Pirenaico de Biología Experimental: Salamanca, España; 1979. p. 157-81.*

25.

Caldeira MC, Ibáñez I, Nogueira C, Bugalho MN, Lecomte X, Moreira A, et al. Direct and indirect effects of tree canopy facilitation in the recruitment of Mediterranean oaks. Brando P, editor. *J Appl Ecol*. 2014;51(2):349-58.

26.

Callaway RM. Positive interactions in plant communities and the individualistic – continuum concept. *Oecologia*. 1997; 112:143-9.

27.

Callaway RM, Brooker RW, Choler P, Kikvidze Z, Lortie C, Michalet R, et al. Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature*. 2002; 417:844-8.

28.

Callaway RM. Effect of Shrubs on Recruitment of *Quercus Douglasii* and *Quercus Lobata* in California. *Ecology*. 1992;73(6):2118-28.

29.

Callaway RM. Positive interactions among plants. *Bot Rev*. 1995;61(4):306-49.

30.

Campos Palacín P. Reunión internacional sobre sistemas agroforestales de dehesas y de montados. Sec. CEE/CSIC/SIA Extremadura/Ayuntamiento Jerez de la Frontera, 62 Badajoz-Jerez de la Frontera: *Agricultura y Sociedad*; 1992 p. 197-202.

31.

Castri D, Mooney H. Mediterranean type ecosystems. New York: Springer-Verlag; 1973.

32.

Castro J, Zamora R, Hódar JA. Restoring *Quercus pyrenaica* forests using pioneer shrubs as nurse plants. *Applied Vegetation Science*. 2006; 9:137-42.

33.

Castro J, Zamora R, Hódar JA, Gómez JM. Use of Shrubs as Nurse Plants: A New Technique for Reforestation in Mediterranean Mountains. *Restor Ecology*. 2002;10(2):297-305.

34.

Castro J, Zamora R, Hodar JA, Gomez JM, Gomez-Aparicio L. Benefits of Using Shrubs as Nurse Plants for Reforestation in Mediterranean Mountains: A 4-Year Study. *Restor Ecology*. 2004;12(3):352-8.

35.

Castro-Díez P, Puyravaud JP, Cornelissen JHC. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia*. 2000;124(4):476-86.

36.

Castroviejo S. Iberian Flora. En Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid ES; 1986. p. 1-8, 10-5, 17-8, 21.

37.

Chaichi MR, Saravi MM, Malekian A. Effects of Livestock Trampling on Soil Physical Properties and Vegetation Cover (Case Study: Lar Rangeland, Iran). *International Journal of Agriculture and Biology*. 2005;7(6):904-8.

38.

Choler P, Michalet R, Callaway RM. Facilitation and Competition on Gradients in Alpine Plant Communities. *Ecological Society of America*. 2001;82(12):3295-308.

39.

Ciapała S, Adamski P, Zielonka T. Tree ring analysis as an indicator of environmental changes caused by tourist trampling — A potential method for the assessment of the impact of tourists. *Geochronometria*. 2014;41(4):392-9.

40.

Clark DA, Piper SC, Keeling CD, Clark DB. Tropical rain forest tree growth and atmospheric carbon dynamics linked to interannual temperature variation during 1984–2000. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(10):5852-7.

41.

Clark JS, Beckage B, Camill P, Cleveland B, Hillerislammers J, Lichter J, et al. Interpreting recruitment limitation in forests. *American Journal of Botany*. 1999;86(1):1-16.

42.

Cleveland RB, Cleveland WS, McRae JE, Terpenning I. STL: A Seasonal-Trend Decomposition Procedure Based on Loess. *Journal of Official Statistics*. 1990;6(1):3-73.

43.

Costa A, Villa S, Alonso P, García-Rodríguez JA, Martín FJ, Martínez-Ruiz C, et al. Can native shrubs facilitate the early establishment of contrasted co-occurring oaks in Mediterranean grazed areas? Collins B, editor. *J Veg Sci*. 2017;28(5):1047-56.

44.

Costa JC. Dehesas de Andalucía. Caracterización ambiental. Sevilla (Spain): Junta de Andalucía; 2006. 289 p.

45.

Costa M, Morla C, Sainz H. The iberian forests. A geobotanical interpretation. Barcelona, Spain: Planeta; 1997.

46.

Cuadras CM. NUEVOS MÉTODOS DE ANÁLISIS MULTIVARIANTE. Barcelona, Spain: CMC Editions; 2014. 304 p.

47.

Cuartas P, García-González R. *Quercus ilex* browse utilization by Caprini in Sierra de Cazorla and Segura (Spain). *Vegetatio*. 1992;(99-100):317-30.

48.

Cubera E, Moreno G. Effect of land-use on soil water dynamic in dehesas of Central–Western Spain. *CATENA*. 2007;71(2):298-308.

49.

del Arco Aguilar MJ, Rodríguez Delgado O. Vegetation of the Canary Islands. Switzerland: Springer International Publishing; 2018. (Plant and Vegetation).

50.

Demey JR, Vicente-Villardón JL, Galindo-Villardón MP, Zambrano AY. Identifying molecular markers associated with classification of genotypes by External Logistic Biplots. *Bioinformatics*. 2008;24(24):2832-8.

51.

Díaz-Hernández R, Vicente Villardón JL, Martínez-Ruiz C, Fernández-Santos B. The Effects of Native Shrub, Fencing, and Acorn Size on the Emergence of Contrasting Co-Occurring Oak in Mediterranean Grazed Areas. *Forests*. 2021;12(307):14.

52.

Dokumentov A, Hyndman RJ. STR: Seasonal-Trend Decomposition Using Regression. *INFORMS Journal on Data Science*. 2021;1-13.

53.

Dorronsoro D. Suelos. En: El libro de las dehesas salmantinas. Junta de Castilla y León: Salamanca: JM Gómez; 1992. p. 71-124.

54.

Ducouso A, Michaud H, Lumaret R. Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Annals of Forest Sciences*. 1993;50(1):91-106.

55.

Dunne JA, Parker VT. Species-mediated soil moisture availability and patchy establishment of *Pseudotsuga menziesii* in chaparral. *Oecologia*. 1999;119(1):36-45.

56.

Egilla JN, Davies FT, Drew MC. Effect of potassium on drought resistance of *Hibiscus rosa-sinensis* cv. Leprechaun: Plant growth, leaf macro- and micronutrient content and root longevity. *Plant and Soil*. 2001; 229:213-24.

57.

Espelta JM, Riba M, Javier R. Patterns of seedling recruitment in West-Mediterranean *Quercus ilex* forest influenced by canopy development. *Journal of Vegetation Science*. 1995;6(4):465-72.

58.

Fady B, Médail F. TEMPERATE AND MEDITERRANEAN FORESTS | Mediterranean Forest Ecosystems. En: *Encyclopedia of Forest Sciences* [Internet]. Elsevier; 2004. p. 1403-14.

59.

Farnsworth E. The Ecology and Physiology of Viviparous and Recalcitrant Seeds. *Annu Rev Ecol Syst*. 2000;31(1):107-38.

60.

Fernández-Rebollo P, Carbonero MD, Blázquez A. La dehesa en el Norte de Córdoba. Perspectivas futuras para su conservación. Córdoba, Spain: *Servicio de publicaciones Universidad de Córdoba.*; 2008.

61.

Fernández-Santos B, Gómez-Gutiérrez JM, Moreno-Marcos G. Effects of disturbance caused by traditional Spanish rural land use on the regeneration of *Cytisus multiflorus*. *Applied Vegetation Science*. 1999;2(2):239-50.

62.

Fernández-Santos B, Moro D, Martínez-Ruiz C, Fernández MJ. EFECTOS DEL PESO DE LA BELLOTA Y DE LA EDAD DEL ÁRBOL PRODUCTOR EN LAS CARACTERÍSTICAS REGENERATIVAS DE *Quercus ilex*. En: *Avances en la restauración de sistemas forestales Técnicas de implantación*: Madrid, Spain: SECF-AEET; 2013. p. 197-202.

63.

Flores J, Jurado E. Are nurse-protégé interactions more common among plants from arid environments? *Journal of Vegetation Science*. 2003;14(6):911-6.

64.

Fotelli MN, Radoglou KM, Constantinidou HIA. Water stress responses of seedlings of four Mediterranean oak species. *Tree Physiology*. 2000;20(16):1065-75.

65.

Franklin JF. Preserving biodiversity: species, ecosystems, or landscapes? *Ecological Applications*. 1993; 3:202-5.

66.

Franklin KA. Shade avoidance. *New Phytologist*. 2008;179(4):930-44.

67.

Gabriel KR. The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis. *Biometrika*. 1971;58(3):453-67.

68.

Galindo-Villardón MP. Una Alternativa de Representación Simultánea: HJ-Biplot. *Questiío*. 1985;10(1):13-23.

69.

Gallardo A. Effect of tree canopy on the spatial distribution of soil nutrients in a Mediterranean Dehesa. *Pedobiologia*. 2003;47:117-25.

70.

Gallardo A, Rodríguez-Saucedo JJ, Covelo F, Fernández-Alés R. Soil nitrogen heterogeneity in a Dehesa ecosystem. *Plant and Soil*. 2000; 222:71-82.

71.

García D, Ramón Obeso J. Facilitation by herbivore-mediated nurse plants in a threatened tree, *Taxus baccata*: local effects and landscape level consistency. *Ecography*. 2003;26(6):739-50.

72.

García de Jalón L, Limousin JM, Richard F, Gessler A, Peter M, Hättenschwiler S, et al. Microhabitat and ectomycorrhizal effects on the establishment, growth and survival of *Quercus ilex L.* seedlings under drought. Ibáñez I, editor. *PLoS ONE*. 2020;15(6):1-18.

73.

Garrett KA, Dendy SP, Frank EE, Rouse MN, Travers SE. Climate Change Effects on Plant Disease: Genomes to Ecosystems. *Annu Rev Phytopathol.* 2006;44(1):489-509.

74.

Gavinet J, Ourcival J, Limousin J. Rainfall exclusion and thinning can alter the relationships between forest functioning and drought. *New Phytol.* 2019;223(3):1267-79.

75.

Gavinet J, Prévosto B, Fernandez C. Do shrubs facilitate oak seedling establishment in Mediterranean pine forest understory? *Forest Ecology and Management.* 2016; 381:289-96.

76.

Gil-Peegrín E, Peguero-Pina JJ, Sancho-Knapik D, editores. Oaks Physiological Ecology. Exploring the Functional Diversity of Genus *Quercus* L. Cham: *Springer International Publishing*; 2017. (Tree Physiology; vol. 7).

77.

Golub GH, Reinsch C. Singular Value Decomposition and Least Squares Solutions. *Numerische Mathematik.* 1970; 14:403-20.

78.

Gómez J. Impact of vertebrate acorn- and seedling-predators on a Mediterranean *Quercus pyrenaica* forest. *Forest Ecology and Management.* 2003;180:125-34.

79.

Gómez JM, Gómez L, Zamora R, Montes J. PROBLEMAS DE REGENERACION DE ESPECIES FORESTALES AUTOCTONAS EN EL ESPACIO NATURAL PROTEGIDO DE SIERRA NEVADA. Sec. III *Congreso Forestal Español* 2001 p. 7.

80.

Gómez JM. Importance of microhabitat and acorn burial on *Quercus ilex* early recruitment: non-additive effects on multiple demographic processes. *Plant Ecology*. 2004;172(2):287-97.

81.

Gómez JM, Puerta-Piñero C, Schupp EW. Effectiveness of rodents as local seed dispersers of Holm oaks. *Oecologia*. 2008;155(3):529-37.

82.

Gómez-Aparicio L, Zamora R, Gómez JM, Hódar JA, Castro J, Baraza E. APPLYING PLANT FACILITATION TO FOREST RESTORATION: A META-ANALYSIS OF THE USE OF SHRUBS AS NURSE PLANTS. *Ecological Applications*. 2004;14(4):1128-38.

83.

Gomez-Aparicio L, Valladares F, Zamora R. Differential light responses of Mediterranean tree saplings: linking ecophysiology with regeneration niche in four co-occurring species. *Tree Physiology*. 2006;26(7):947-58.

84.

Gómez-Aparicio L, Gómez JM, Zamora R, Boettinger JL. Canopy vs. soil effects of shrubs facilitating tree seedlings in Mediterranean montane ecosystems. *Journal of Vegetation Science*. 2005; 16:191-8.

85.

Gómez-Gutiérrez JM, Pérez-Fernández M. The «dehesas»: silvopastoral systems in semiarid Mediterranean regions with poor soils, seasonal climate and extensive utilisation. En: *Western European Silvopastoral Systems*. France: M. ÉTIENNE; 1996. p. 55-70.

86.

Gómez-Aparicio L, Zamora R, Castro J, Hódar JA. Facilitation of tree saplings by nurse plants: Microhabitat amelioration or protection against herbivores? *Journal of Vegetation Science*. 2008;19(2):161-72.

87.

González-Rodríguez A, Oyama K. Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2005; 147:427-35.

88.

González-Rodríguez H, Domínguez-Gómez TG, Cantú-Silva I, Gómez-Meza MV, Ramírez-Lozano RG, Pando-Moreno M, et al. Litterfall deposition and leaf litter nutrient return in different locations at Northeastern Mexico. *Plant Ecol*. 2011;212(10):1747-57.

89.

González-Rodríguez MV. Establecimiento de cuatro especies de *Quercus* en el sur de la Península Ibérica. Factores limitantes. Universidad de Córdoba; 2010.

90.

González-Rodríguez V, Barrio IC, Villar R. Within-population variability influences early seedling establishment in four Mediterranean oaks. *Acta Oecologica*. 2012; 41:82-9.

91.

González-Rodríguez V, Villar R. Post-dispersal seed removal in four Mediterranean oaks: species and microhabitat selection differ depending on large herbivore activity. *Ecol Res*. 2012;27(3):587-94.

92.

Gorzelak MA, Asay AK, Pickles BJ, Simard SW. Inter-plant communication through mycorrhizal networks mediates complex adaptive behaviour in plant communities. *AoB PLANTS*. 2015; 7:1-13.

93.

Green PT, Juniper PA. Seed-seedling allometry in tropical rain forest trees: seed mass-related patterns of resource allocation and the 'reserve effect': Seed mass variation and the reserve effect. *Journal of Ecology*. 2004;92(3):397-408.

94.

Grubb PJ. The maintenance of species–richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biological Review*. 1977; 52:107-45.

95.

Harper JL. *Population Biology of Plants*. London: Academic Press; 1977.

96.

Herrero A, Quero JL, Zamora R. Heterogeneidad ambiental a pequeña escala y patrones espaciales de supervivencia de especies leñosas en áreas de



montaña mediterránea (Sierra Nevada, Granada). En: *Introducción al análisis espacial de datos en ecología y ciencias ambientales: métodos y aplicaciones*. Madrid: Universidad Rey Juan Carlos; 2008. p. 637-48.

97.

Holmgren M. Combined effects of shade and drought on tulip poplar seedlings: trade-off in tolerance or facilitation? *Oikos*. 2000;90(1):67-78.

98.

Hotelling H. Simplified Calculation of Principal Components. *Psychometrika*. 1936;1(1):27-35.

99.

Hyndman RJ, Shang HL. Forecasting functional time series. *Journal of the Korean Statistical Society*. 2009;38(3):199-211.

100.

Hyndman RJ, Athanasopoulos G. Forecasting: Principles and Practice. 2.^a ed. *OTexts*; 2018. 380 p.

101.

J.L. Vicente-Villardón, Galindo-Villardón MP, Blázquez-Zaballos A. Logistic Biplots. En: *Multiple Correspondence Analysis and Related Methods*. Chapman and Hall; 2006. p. 503-21.

102.

Jager KJ, van Dijk PC, Zoccali C, Dekker FW. The analysis of survival data: the Kaplan–Meier method. *Kidney International*. 2008;74(5):560-5.

103.

Joët T, Ourcival JM, Dussert S. Ecological significance of seed desiccation sensitivity in *Quercus ilex*. *Annals of Botany*. 2013;111(4):693-701.

104.

Joffre R, Rambal S, Ratte JP. The dehesa system of southern Spain and Portugal as a natural ecosystem mimic. *Agroforestry Systems*. 1999;45(1/3):57-79.

105.

Joffre R, Rambal S. How Tree Cover Influences the Water Balance of Mediterranean Rangelands. *Ecology*. 1993;74(2):570-82.

106.

Joffre R, Vacher J, De los Llanos C, Long G. The dehesa: an agrosilvopastoral system of the Mediterranean region with special reference to the Sierra Morena area of Spain. *Agroforestry Systems*. 1988; 6:71-96.

107.

Jolliffe IT. ROTATION OF PRINCIPAL COMPONENTS: SOME COMMENTS. *Journal of Climatology*. 1986;7:507-10.

108.

Jordano P, Pulido F, Arroyo J, García-Castaño JL, García-Favos P. Procesos de limitación demográfica. En: *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente; 2008. p. 229-48.

109.

Kaplan EL, Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*. 1958;53(282):457-81.

110.

Khan ML, Shankar U. Effect of seed weight, light regime and substratum microsite on germination and seedling growth of *Quercus semiserrata* Roxb. *Tropical Ecology*. 2001;42(1):117-25.

111.

Kitajima K, Fenner M. Ecology of seedling regeneration. En: *Seeds The ecology of regeneration in plant communities*. 2.^a ed. Wallingford, UK: CABI Publishing; 2000. p. 331-60.

112.

Kolb PF, Robberecht R. High temperature and drought stress effects on survival of *Pinus ponderosa* seedlings. *Tree Physiology*. 1996;16(8):665-72.

113.

Komatsu H, Katayama A, Hirose S, Kume A, Higashi N, Ogawa S, et al. Reduction in soil water availability and tree transpiration in a forest with pedestrian trampling. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2007;146(1-2):107-14.

114.

Kubiske ME, Abrams MD, Mostoller SA. Stomatal and nonstomatal limitations of photosynthesis in relation to the drought and shade tolerance of tree species in open and understory environments. *Trees*. 1996; 11:76-82.

115.

Laliberté E, Bouchard A, Cogliastro A. Optimizing Hardwood Reforestation in Old Fields: The Effects of Treeshelters and Environmental Factors on Tree Seedling Growth and Physiology. *Restor Ecology*. 2008;16(2):270-80.

116.

Leishman MR, Westoby M. The role of large size in shaded conditions: experimental evidence. *Functional Ecology*. 1994; 8:205-14.

117.

Leiva MJ, Fernández-Alés R. Variability in seedling water status during drought within a *Quercus ilex subsp. ballota* population, and its relation to seedling morphology. *Forest Ecology and Management*. 1998; 111:147-56.

118.

Leiva MJ, Fernández-Alés R. Holm-oak (*Quercus ilex subsp. Ballota*) acorns infestation by insects in Mediterranean dehesas and shrublands. *Forest Ecology and Management*. 2005;212(1-3):221-9.

119.

Lionello P, Malanotte-Rizzoli P, Boscolo R, Alpert P, Artale V, Li L, et al. The Mediterranean climate: An overview of the main characteristics and issues. *Developments in Earth and Environmental Sciences*. 2006; 4:1-26.

120.

Lloret F, Casanovas C, Peñuelas J. Seedling survival of Mediterranean shrubland species in relation to root:shoot ratio, seed size and water and nitrogen use. *Functional Ecology*. 1999;13(2):210-6.

121.

Long JS. Regression Models for Categorical and Limited Dependent Variables. Advanced Quantitative Techniques in the Social Sciences Number 7. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 1997.

122.

Long SP, Humphries S, Falkowski PG. Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 1994;45(1):633-62.

123.

Long TJ, Jones RH. Seedling growth strategies and seed size effects in fourteen oak species native to different soil moisture habitats. *Trees*. 1996;11(1):1.

124.

López de Hedería U, Gil L. La diversidad en las especies forestales: un cambio de escala. El ejemplo del alcornoque. *Ecosistemas*; 2006.

125.

López Pintor A, Espigares T, Rey Benayas JM, Gómez Sal A. Effect of simulated parent-created microenvironmental conditions on germination of *Retama sphaerocarpa* (L.) Boiss. Seeds. *Journal of Mediterranean Ecology*. 2000; 1:219-26.

126.

Madrigal-González J, García-Rodríguez JA, Alarcos-Izquierdo G. Testing general predictions of the stress gradient hypothesis under high inter- and intra-specific nurse shrub variability along a climatic gradient. Prober S, editor. *J Veg Sci*. 2012;23(1):52-61.

127.

Madrigal-González J, García-Rodríguez JA, Zavala MA. Shrub encroachment shifts the bioclimatic limit between marcescent and

sclerophyllous oaks along an elevation gradient in west-central Spain.

Pugnaire F, editor. *J Veg Sci.* 2014;25(2):514-24.

128.

Maestre FT, Bradford M, Reynolds JF. Soil heterogeneity and community composition jointly influence grassland biomass. *Journal of Vegetation Science.* 2006; 17:261-70.

129.

Maestre FT, Bautista S, Cortina J, Bellot J. POTENTIAL FOR USING FACILITATION BY GRASSES TO ESTABLISH SHRUBS ON A SEMIARID DEGRADED STEPPE. *Ecological Applications.* 2001;11(6):1641-55.

130.

Maestre FT, Bowker MA, Puche MD, Hinojosa MB, Martinez I, García-Palacios P, et al. Shrub encroachment can reverse desertification in semi-arid Mediterranean grasslands. *Ecology Letters.* 2009;12:930-41.

131.

Marañón T, Zamora R, Villar R, Zavala MA, Quero JL, Pérez-Ramos IM, et al. Regeneration of tree species and restoration under contrasted mediterranean habitats: field and glasshouse experiments. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences.* 2004;30(3):187-96.

132.

Marañón T, Pugnaire FI, Callaway RM. Mediterranean-climate oak savannas: the interplay between abiotic environment and species interactions. *Web Ecol.* 2009;9(1):30-43.

133.

Mardia KV, Kent JT, Bibby JM. *Multivariate Analysis*. New York: Academic Press; 1979.

134.

Martínez-Ruiz C, Zaldívar P, Fernández-Santos B, López-Marcos D, Alday JG. Los arbustos nodriza en la restauración forestal de minas de carbón del noroeste de Palencia. Caso práctico IV. En: *Bases técnicas y ecológicas del proyecto de repoblación forestal*. Madrid: Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITECO); 2021. p. 317-36.

135.

Matías L, Zamora R, Castro J. Sporadic rainy events are more critical than increasing of drought intensity for woody species recruitment in a Mediterranean community. *Oecologia*. 2012;169(3):833-44.

136.

McCreary D. Managing and restoring California's oak woodlands. *Natural Areas Journal*. 2004;3(24):269-75.

137.

Mendoza E, Dirzo R. Seed tolerance to predation: Evidence from the toxic seeds of the buckeye tree (*Aesculus californica*; *Sapindaceae*). *American Journal of Botany*. 2009;96(7):1255-61.

138.

Metcalf DJ, Grubb PJ. The responses to shade of seedlings of very small-seeded tree and shrub species from tropical rain forest in Singapore. *Functional Ecology*. 1997;11(2):215-21.

139.

Milberg P, Lamont BB. Seed/cotyledon size and nutrient content play a major role in early performance of species on nutrient-poor soils. *New Phytologist*. 1997; 137:665-72.

140.

Milton SJ. Spatial and temporal patterns in the emergence and survival of seedlings in arid Karoo shrubland. *Journal of Applied Ecology*. 1995; 32:145-56.

141.

Moles AT, Westoby M. Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *Journal of Ecology*. 2004; 92:372-83.

142.

Montes-Hernández B, López-Barrera F. Seedling establishment of *Quercus insignis*: A critically endangered oak tree species in southern Mexico. *Forest Ecology and Management*. 2013;310:927-34.

143.

Moreno-Rodríguez JM. Principales Conclusiones de la Evaluación Preliminar de los Impactos en España Por Efecto del Cambio Climático. Toledo, España: Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM); 2005. 1-35 p.

144.

Moro MJ, Pugnaire FI, Haase P, Puigdefábregas J. Effect of the canopy of *Retama sphaerocarpa* on its understorey in a semiarid environment. *Functional Ecology*. 1997; 11:425-31.

145.

Muhamed H, Touzard B, Le Bagousse-Pinguet Y, Michalet R. The role of biotic interactions for the early establishment of oak seedlings in coastal dune forest communities. *Forest Ecology and Management*. 2013;297:67-74.

146.

Navarro Cerrillo RM, Fragueiro B, Ceaceros C, del Campo A, de Prado R. Establishment of *Quercus ilex L. subsp. ballota [Desf.] Samp.* using different weed control strategies in southern Spain. *Ecological Engineering*. 2005;25(4):332-42.

147.

Nias RC, Mooney JR. ENDANGERED ECOSYSTEMS. En: *Encyclopedia of Biodiversity*. 2007. p. 1-15.

148.

Noss RF. Indicators for monitoring biodiversity: A hierarchical approach. *Conservation Biology*. 1990; 4:355-64.

149.

Núñez-Valero JJ. Ecophysiological and demographic responses of *Quercus ilex L.* to alterations of the facilitation/competition shrub balance in a semi-arid environment. [Ph.D. thesis]. [Extremadura]: Universidad de Extremadura; 2013.

150.

O'Donnell L, Pickles BJ, Campbell CM, Moulton LL, Hauwert NM, Gorzelak MA. Native tree and shrub canopy facilitates oak seedling regeneration in semiarid woodland. *Ecosphere*. 2020;11(2).

151.

O'Rourke N, Hatcher L. Chapter 1: Principal component analysis. En: A Step-by-Step Approach to Using SAS for Factor Analysis and Structural Equation Modelling. 2.^a ed. Cary, North Carolina: SAS Institute Inc.; 2013.

152.

Ochoa-Hueso R, Munzi S, Alonso R, Arróniz-Crespo M, Avila A, Bermejo V, et al. Ecological impacts of atmospheric pollution and interactions with climate change in terrestrial ecosystems of the Mediterranean Basin: Current research and future directions. *Environmental Pollution*. 2017; 227:194-206.

153.

Padilla FM, Pugnaire FI. The role of nurse plants in the restoration of degraded environments. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 2006;4(4):196-202.

154.

Pascual H. Leguminosas de la Península Ibérica y Baleares. En: Flora Europea. Ministerio de Agricultura. Madrid.: Inst.Nac. de Inv. Agrarias.; 1978.

155.

Paula S, Arianoutsou M, Kazanis D, Tavsanoglu Ç, Lloret F, Buhk C, et al. Fire-related traits for plant species of the Mediterranean Basin: *Ecological Archives* E090-094. Michener WK, editor. *Ecology*. 2009;90(5):1420-1420.

156.

Paynter Q, Fowler SV, Memmott J, Sheppard AW. Factors affecting the establishment of *Cytisus scoparius* in southern France: implications for

managing both native and exotic populations. *Journal of Applied Ecology*. 1998; 35:582-95.

157.

Pearson K. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*. 1901;6(2):559-72.

158.

Perea R, San Miguel A, Gil L. Leftovers in seed dispersal: ecological implications of partial seed consumption for oak regeneration: Leftovers in seed dispersal. *Journal of Ecology*. 2011;99(1):194-201.

159.

Perea R, San Miguel A, Martínez-Jauregui M, Valbuena-Carabaña M, Gil L. Effects of seed quality and seed location on the removal of acorns and beechnuts. *Eur J Forest Res*. 2012;131(3):623-31.

160.

Perez-Ramos IM, Marañón T. Factors affecting post-dispersal seed predation in two coexisting oak species: Microhabitat, burial and exclusion of large herbivores. *Forest Ecology and Management*. 2008; 255:3506-14.

161.

Pérez-Ramos IM, Gómez-Aparicio L, Villar R, García LV, Marañón T. Seedling growth and morphology of three oak species along field resource gradients and seed mass variation: a seedling age-dependent response. *Journal of Vegetation Science*. 2010;21(3):419-37.

162.

Pérez-Ramos IM, Marañón T, Lobo JM, Verdú JR. Acorn removal and dispersal by the dung beetle *Thorectes lusitanicus*: ecological implications. *Ecol Entomol.* 2007;32(4):349-56.

163.

Pérez-Ramos IM, Rodríguez-Calcerrada J, Ourcival JM, Rambal S. *Quercus ilex* recruitment in a drier world: A multi-stage demographic approach. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics.* 2013;15(2):106-17.

164.

Pérez-Ramos IM, Roumet C, Cruz P, Blanchard A, Autran P, Garnier E. Evidence for a 'plant community economics spectrum' driven by nutrient and water limitations in a Mediterranean rangeland of southern France. Aerts R, editor. *J Ecol.* 2012;100(6):1315-27.

165.

Pérula VG, Cerrillo RMN, Vara EA. Deficiencias nutritivas en plantas de una savia de tres especies del género *Pinus sp.* en cultivo hidropónico. *Investigación agraria Sistemas y recursos forestales.* 2001;10(1):17.

166.

Pickles BJ, Simard SW. Mycorrhizal Networks and Forest Resilience to Drought. En: *Mycorrhizal Mediation of Soil* [Internet]. Elsevier; 2017. p. 319-39.

167.

Pigott CD, Pigott S. Water as a Determinant of the Distribution of Trees at the Boundary of the Mediterranean Zone. *The Journal of Ecology*. 1993;81(3):557-66.

168.

Plieninger T, Bieling C. Resilience-Based Perspectives to Guiding High-Nature-Value Farmland through Socioeconomic Change. *E&S*. 2013;18(4):16.

169.

Plieninger T, Rolo V, Moreno G. Large-Scale Patterns of *Quercus ilex*, *Quercus suber*, and *Quercus pyrenaica* Regeneration in Central-Western Spain. *Ecosystems*. 2010;13(5):644-60.

170.

Pons J, Pausas J. Acorn dispersal estimated by radio-tracking. *Oecologia*. 2007;153:903-11.

171.

Porta J, López-Acevedo M, Roquero de Laburu C. Edafología Para la Agricultura y el Medio Ambiente. 3.^a ed. Madrid, Spain: Mundi-Prensa; 2003.

172.

Prider JN, Facelli JM. Interactive Effects of Drought and Shade on Three Arid Zone Chenopod Shrubs with Contrasting Distributions in Relation to Tree Canopies. *Functional Ecology*. 2004;18(1):67-76.

173.

Puerta-Piñero C, Gómez JM, Valladares F. Irradiance and oak seedling survival and growth in a heterogeneous environment. *Forest Ecology and Management*. 2007;242(2-3):462-9.

174.

Puerta-Piñero C, Gómez JM, Zamora R. Species-specific effects on topsoil development affect *Quercus ilex* seedling performance. *Acta Oecologica*. 2006;29(1):65-71.

175.

Pugnaire FI, Haase P, Puigdefábregas J, Cueto M, Incoll LD, Clark YSC. Facilitation and succession under the canopy of the leguminous shrub, *Retama sphaerocarpa*, in a semiarid environment en south-east Spain. *Oikos*. 1996; 76:455-64.

176.

Pugnaire FI, Armas C, Maestre FT. Positive plant interactions in the Iberian Southeast: Mechanisms, environmental gradients, and ecosystem function. *Journal of Arid Environments*. 2011;75(12):1310-20.

177.

Pugnaire FI, Haase P, Puigdefábregas J. Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology*. 1996;77:1420-6.

178.

Pulido F. Plant reproductive biology and conservation: the case of temperate and subtropical oak forest regeneration (*Quercus* spp.). *Revista Chilena de Historia Natural*. 2002; 75:5-15.

179.

Pulido F, García E, Obrador JJ, Moreno G. Multiple pathways for tree regeneration in anthropogenic savannas: incorporating biotic and abiotic drivers into management schemes: Pathways for oak recruitment in savannas. *Journal of Applied Ecology*. 2010;47(6):1272-81.

180.

Pulido FJ, Díaz M. Regeneration of a Mediterranean oak: A whole-cycle approach. *Écoscience*. 2005;12(1):92-102.

181.

Quero JL, Villar R, Maranon T, Zamora R, Poorter L. Seed-mass effects in four Mediterranean *Quercus* species (Fagaceae) growing in contrasting light environments. *American Journal of Botany*. 2007;94(11):1795-803.

182.

Quero JL, Villar R, Perez-Ramos IM, González-Rodríguez V, Urbieta IR, Gómez-Aparicio L. Implicaciones ecológicas del peso de semilla en especies del género *Quercus*. Evidencias en condiciones controladas y experimentos de campo. Ávila, España; S.E.C.F.-Junta de Castilla y León: Proceedings of the 5º Congreso Forestal Español; 2009.

183.

Quero JL, Villar R, Marañón T, Zamora R. Interactions of drought and shade effects on seedlings of four *Quercus* species: physiological and structural leaf responses. *New Phytologist*. 2006;170(4):819-34.

184.

Ramírez FB, Gómez G. Nota sobre algunas características de frutos de *Quercus ilex* L. *Archivos de Zootecnia*. 1982; 120:187-92.

185.

Ramírez-Valiente JA, Valladares F, Gil L, Aranda I. Population differences in juvenile survival under increasing drought are mediated by seed size in Cork oak (*Quercus suber*, L.). *Forest Ecology and Management*. 2009; 257:1676-83.

186.

Reichstein M, Tenhunen JD, Rouspard O, Ourcival JM, Rambal S, Dore S, et al. Ecosystem respiration in two Mediterranean evergreen Holm Oak forests: drought effects and decomposition dynamics: *Analysis of ecosystem respiration*. *Functional Ecology*. 2002;16(1):27-39.

187.

Retana J, Espelta JM, Garcia M, Riba M. Seedling Recruitment. En: *Ecology of Mediterranean Evergreen Oak Forests*. Berlin: Springer; 1999. p. 89-103. (Ecological Studies; vol. 137).

188.

Rey Benayas JM. Growth and survival in *Quercus ilex* L. seedlings after irrigation and artificial shading on Mediterranean set-aside agricultural land. *Ann For Sci*. 1998;55(7):801-7.

189.

Rey Benayas JM, Scheiner SM. Plant diversity, biogeography and environment in Iberia: Patterns and possible causal factors. *Journal of Vegetation Science*. 2002;13:245-58.

190.

Rivas-Martínez S, Belmonte D, Canto P, Fernández-González F, de la Fuente V, Moreno JM, et al. Piornales, enebrales y pinares oromediterráneos



(Pino-Cytision oromediterranei) en el Sistema Central. *Lazaroa*. 1987; 7:93-124.

191.

Rolo V, Plieninger T, Moreno G. Facilitation of holm oak recruitment through two contrasted shrubs species in Mediterranean grazed woodlands. Zobel M, editor. *J Veg Sci*. 2013;24(2):344-55.

192.

Rousset O, Lepart J. Shrub facilitation of *Quercus humilis* regeneration in succession on calcareous grasslands. *Journal of Vegetation Science*. 1999;10(4):493-502.

193.

Sack L, Grubb PJ. The combined impacts of deep shade and drought on the growth and biomass allocation of shade-tolerant woody seedlings. *Oecologia*. 2002; 131:175-85.

194.

Salkind NJ. Repeated Measures Design. *SAGE Research Methods*. 2019;

195.

Salomón R, Lorenzo Z, Valbuena-Carabaña M, Nicolás JL, Gil L. Seed recalcitrant behavior of Iberian *Quercus*: A multispecies comparison. *Austrian J For Sci*. 2012;129:182-201.

196.

San Miguel Ayanz A. La dehesa española origen, tipología, características y gestión. España: Madrid : Fundación Conde del Valle de Salazar; 1994.

197.

Sanchez-Humanes B, Espelta JM. Increased drought reduces acorn production in *Quercus ilex* coppices: thinning mitigates this effect but only in the short term. *Forestry*. 2011;84(1):73-82.

198.

Sánchez-Vilas J, Retuerto R. *Quercus ilex* shows significant among-population variability in functional and growth traits but maintains invariant scaling relations in biomass allocation. *International Journal of Plant Sciences*. 2007;168(7):973-83.

199.

Sánchez-Gómez D, Valladares F, Zavala MA. Performance of seedlings of Mediterranean woody species under experimental gradients of irradiance and water availability: trade-offs and evidence for niche differentiation. *New Phytologist*. 2006;170(4):795-806.

200.

Saverimuttu T, Westoby M. Seedling longevity under deep shade in relation to seed size. *Journal of Ecology*. 1996;84:681-9.

201.

Shumway SW. Facilitative Effects of a Sand Dune Shrub on Species Growing beneath the Shrub Canopy. *Oecologia*. 2000;124(1):138-48.

202.

Sigcha F, Pallavicini Y, Camino MJ, Martínez-Ruiz C. Effects of short-term grazing exclusion on vegetation and soil in early succession of a Subhumid Mediterranean reclaimed coal mine. *Plant Soil*. 2018;426(1-2):197-209.

203.

Smit C, Den Ouden J, Müller-Schärer H. Unpalatable plants facilitate tree sapling survival in wooded pastures: Unpalatable plants facilitate tree saplings survival. *Journal of Applied Ecology*. 2006;43(2):305-12.

204.

Smit C, Ouden J, Díaz M. Facilitation of *Quercus ilex* recruitment by shrubs in Mediterranean open woodlands. *Journal of Vegetation Science*. 2008;19(2):193-200.

205.

Smit C, Vandenberghe C, den Ouden J, Müller-Schärer H. Nurse plants, tree saplings and grazing pressure: changes in facilitation along a biotic environmental gradient. *Oecologia*. 2007;152(2):265-73.

206.

Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal symbiosis. 3.^a ed. London, UK: Academic Press; 2008.

207.

Spiegel MR, Schiller J, Srinivasan RA. 9. Análisis de la varianza. En: Probabilidad y Estadística. 2.^a ed. México D.F.: McGraw-Hill; 2007. p. 335-71.

208.

Tejedor Tejedor FJ. Análisis de varianza. Madrid: La Muralla S.A.; 1999.

209.

Tenenhaus M, Young FW. An analysis and synthesis of multiple correspondence analysis, optimal scaling, dual scaling, homogeneity

analysis and other methods for quantifying categorical multivariate data. *Psychometrika*. 1985;50(1):91-119.

210.

Terradas J. Holm oak and holm oak forests: an introduction. En: Ecology of Mediterranean evergreen oak forests. Berlín, Heidelberg: Springer; 1999. p. 3-14.

211.

Terradas J. Hacia una nueva ecología. En: Ecología de la Vegetación: De la ecofisiología de las plantas a la dinámica de comunidades y paisaje. Barcelona: Omega; 2001. p. 81-119.

212.

Tielborger K, Kadmon R. Temporal environmental variation tips the balance between facilitation and interference in desert plants. *Ecology*. 2000;81(6):1544-53.

213.

Tilki F, Alptekin CU. Variation in acorn characteristics in three provenances of *Quercus aucheri* Jaub. et Spach and provenance, temperature and storage effects on acorn germination. *Seed Science and Technology*. 2005; 33:441-7.

214.

Torroba-Balmori P, Zaldívar P, Alday JG, Fernández-Santos B, Martínez-Ruiz C. Recovering *Quercus* species on reclaimed coal wastes using native shrubs as restoration nurse plants. *Ecological Engineering*. 2015; 77:146-53.

215.

Tyler CM, Davis FW, Mahall BE. The relative importance of factors affecting age-specific seedling survival of two co-occurring oak species in southern California. *Forest Ecology and Management*. 2008;255(7):3063-74.

216.

Urbieta IR, Pérez-Ramos IM, Zavala MA, Marañón T, Kobe RK. Soil water content and emergence time control seedling establishment in three co-occurring Mediterranean oak species. *Can J For Res*. 2008;38(9):2382-93.

217.

Valdés B, Talavera S, Fernández Galiano E. Flora Vascular de Andalucía Occidental. Vol. 1. Barcelona, España: Ketres; 1987. 1680 p.

218.

Valladares F. Photoinhibition and drought in Mediterranean woody saplings: scaling effects and interactions in sun and shade phenotypes. *Journal of Experimental Botany*. 2004;56(411):483-94.

219.

Valladares F, Gianoli E. How much ecology do we need to know how to restore mediterranean ecosystems? *Restoration Ecology*. 2007;15(3):363-8.

220.

Valladares F, Arrieta S, Aranda I, Lorenzo D, Sanchez-Gómez D, Tena D, et al. Shade tolerance, photoinhibition sensitivity and phenotypic plasticity of *Ilex aquifolium* in continental Mediterranean sites. *Tree Physiology*. 2005;25(8):1041-52.

221.

Valladares F, Pearcy RW. Drought can be more critical in the shade than in the sun: a field study of carbon gain and photo-inhibition in a Californian shrub during a dry El Niño year: Field responses to drought in sun and shade shrubs. *Plant, Cell & Environment*. 2002;25(6):749-59.

222.

Valladares F. Light Heterogeneity and Plants: from Ecophysiology to Species Coexistence and Biodiversity. En: Esser K, Lüttge U, Beyschlag W, Hellwig F, editores. *Progress in Botany*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2003. p. 439-71. (Progress in Botany; vol. 64).

223.

Valladares F, Niinemets Ü. Shade Tolerance, a Key Plant Feature of Complex Nature and Consequences. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 2008;39(1):237-57.

224.

Vázquez FM. Semillas del género *Quercus L.* (Biología, ecología y manejo). Badajoz, Spain: Consejería de Agricultura y comercio, Junta de Extremadura; 1998.

225.

Vicente-Villardón JL, Hernández-Sánchez JC. External Logistic Biplots for Mixed Types of Data. En: *Advanced Studies in Classification and Data Science*. Singapore: Springer; 2020. p. 169-83.

226.

Vicioso CA. Genisteas españolas. *Bol Inst Forest Invest Exp*. 56 de 1953;1, 2(67,72).



227.

Villar R, Ruiz-Robledo J, Quero J, Poorter H, Valladares F, Marañón T. Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. En: Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A; 2008. p. 193-230.

228.

Villardón JLV. LOS METODOS BILOT (Teoría).

229.

Wang D, Ba L. Ecology of meadow steppe in northeast China. *Rangel J.* 2008;30(2):247.

230.

Weltzin JF, McPherson GR. FACILITATION OF CONSPECIFIC SEEDLING RECRUITMENT AND SHIFTS IN TEMPERATE SAVANNA ECOTONES. *Ecological Monographs.* 1999;69(4):513-34.

231.

Wen Q, Zhang Z, Li Y, Sun L. Fast RobustSTL: Efficient and Robust Seasonal-Trend Decomposition for Time Series with Complex Patterns. En: Proceedings of the 26th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery & Data Mining. Virtual Event CA USA: ACM; 2020. p. 2203-13.

232.

Yates F. The analysis of multiple classifications with unequal numbers in the different classes. *Journal of the American Statistical Association.* 1934;29(185):51-66.



233.

Zamora R. La restauración ecológica, una asignatura pendiente.
Ecosistemas. 2002;11:(enero-abril).



Apéndice A. Artículo enviado a “Forests”

The Effects of Native Shrub, Fencing, and Acorn Size on the Emergence of Contrasting Co-Occurring Oak in Mediterranean Grazed Areas

Roberto Díaz Hernández, José Luis Vicente Villardón, Carolina Martínez-Ruiz
and Belén Fernández-Santos

Abstract: Research Highlights: The regeneration of *Quercus* species is usually very difficult in many oak woodlands transformed by livestock farming. Some studies have reported that shrubs can facilitate regeneration. However, the strength of interaction may vary depending on, among other factors, the shrub species and the stress tolerance of the oak species. Moreover, further studies are necessary to clarify the relative importance of the two facilitation mechanisms in the same community. Background and Objectives: *Cytisus multiflorus* is a predominant shrub species in the Mediterranean grazed open-oak-woodlands found in the central west of the Iberian Peninsula (bioclimatic limit) and is present with *Q. pyrenaica* and *Q. ilex* trees. Thus, we assessed the effect of these native shrubs and acorn size, and the effect of excluding large herbivores, on the seedling emergence of two contrasting co-occurring *Quercus* species under a bioclimatic limit. Materials and Methods: A manipulative field experiment was carried out considering four treatments as a combination of shrubs (shrub/no-shrub) and fence (fenced/open) factors. A total of twenty plots, five replicates for each treatment were available. In each plot, 20 acorns were sown: 10 acorns (5 small and 5 large) for each *Quercus* species. Acorn emergence was recorded during the first four years following the sowing. Results: Seedling emergence took place mostly in the spring of the first year after sowing. The presence of shrub was the main significant factor and incremented the emergence of both *Q. ilex* and *Q. pyrenaica*. The effect of the fence depended on the *Quercus* species considered, improving only the emergence of *Q. pyrenaica*. A negative effect with the small acorns was detected but only for *Q. pyrenaica*. In all treatments, *Q. ilex* emerged more than *Q. pyrenaica*. Conclusions: *C. multiflorus* had a clear facilitative effect on the seedling emergence of *Q. ilex* and *Q. pyrenaica*, which was much greater than the physical effect that acorn size and excluding large herbivores had. As such, this native shrub may have a key role in oak regeneration in Mediterranean grazed areas. Furthermore, in these areas of contact between marcescent and sclerophyllous *Quercus* species, *Q. ilex* currently emerges more than *Q. pyrenaica*. This could be indicative of a

shift towards more xeric climatic conditions, which could lead to a change in the dominant tree species in the future. However, this change could be modulated by the effects of native shrub and large herbivores.

Keywords: shrub cover; *Quercus ilex*; *Quercus pyrenaica*; *Cytisus multiflorus*; emergence; abiotic stress; facilitation; herbivory; Mediterranean environment

1. Introduction

Many oak woodlands worldwide have been transformed by livestock farming, giving rise to savanna-like landscapes [1,2] with a predominant pasture matrix of isolated oak trees and shrubs. These landscapes have a high biological diversity that is associated with a high structural diversity [3,4] and oak trees are essential for the maintenance of ecosystem services [5]. The largest example of this landscape in Europe is the pastureland in the southwest of the Iberian Peninsula, covering almost 3.5 million hectares [6].

However, these woodlands are suffering dieback of adult trees [7] and the regeneration of *Quercus* species is found to be generally very difficult [8]. Studies regarding the demographic structures of *Quercus* populations have confirmed the almost complete lack of juvenile classes. The insufficient regeneration of oak trees has been explained mainly as a consequence of deficient seed dispersal to suitable sites for seedling establishment [6,8]. Moreover, reforestation is difficult because of their low rates of survival and growth, especially in the first dry season [9]. Therefore, it is of great interest to identify effective “safe sites” for *Quercus* regeneration to maintain the stability of these systems.

In the last decades, several studies have concluded that shrubs could play a role in oak regeneration [3,10,11]. The positive interaction of these shrubs should be dominant over the competition in communities under high abiotic stress or high consumer pressure [12]. Temporary abandonment and subsequent encroachment by shrubs have been proposed as useful tools to

improve tree growth [13]. Numerous empirical studies have reported that shrubs can facilitate regeneration by improving abiotic conditions [14], reducing water stress and positively influencing the emergence and growth [6], or by protecting against herbivores [15–17]. However, few studies have tried to clarify the relative importance of these two mechanisms of facilitation acting simultaneously in the same community [18–20]. Research has also shown that the strength of the interactions may vary depending on other aspects, such as the potential facilitating species [4,21,22], the stress tolerance of these species [22,23], the levels of extreme stress [24], the abiotic stress factor [22], or the performance measure considered [20,25]. Therefore, more studies on these aspects are necessary.

Quercus ilex subsp. *ballota* Samp (sclerophyll; hereafter *Q. ilex*) and *Q. pyrenaica* Willd (marcescent) are two species of *Quercus* frequent in the Iberian Peninsula and their distribution has traditionally been explained by interspecific differences in drought/shade tolerance [26,27]. *Q. ilex* is well adapted to the Mediterranean subhumid or semiarid conditions, whilst *Q. pyrenaica* is a typical tree species of the Mediterranean-temperate transition in Iberian areas, which occasionally coexists with *Q. ilex*, but it is more moisture-demanding and prefers subhumid and humid Mediterranean conditions [28]. Moreover, in areas with more gentle relief, these forests have frequently been transformed through livestock farming, giving rise to savanna-like landscapes. Therefore, an ideal system to simultaneously test the importance of abiotic/biotic facilitation mechanisms for species with contrasting traits of tolerance to stress under a bioclimatic limit can be found in the Iberian Peninsula. *Cytisus multiflorus* (L’Her.) Sweet is a dominant shrub species in these systems, whose role in the establishment of *Quercus* species is not very well known [23]. A positive effect of this shrub species on the initial survival and growth of *Quercus* seedlings was shown in a planting experiment [20]. However, its effect on the emergence from acorns

is unknown (there are no previous studies). On the other hand, it may also be of interest to analyze whether the size of the acorns can influence the emergence. The size of the acorns varies widely both within the same species and among species of *Quercus* [29], but in general, the acorns mass of *Q. pyrenaica* is higher than that of *Q. ilex* [29,30]. The seed mass determines the nutrients that the seedling will have when it germinates and some studies have shown that large seed mass has certain advantages during the early stages of the seedling since it aids in the survival of situations with a low carbon gain, such as shade conditions [29]. Furthermore, large seeds can confer a competitive advantage because they allow access to limited resources, like water, nutrients, or light, and it will promote higher survival [31].

In this study a manipulative experiment was carried out in a Mediterranean grazed area with *Q. pyrenaica* and *Q. ilex* trees, in the domain of the *Q. pyrenaica* tree canopy, to assess the role of the native shrub (*C. multiflorus*), the acorn size, and the exclusion of large herbivore on the seedling emergence of two contrasting co-occurring *Quercus* species. We predicted that: 1—This native shrub may increase the emergence rates of *Quercus* species, but this effect may (a) vary with *Quercus* species; (b) be more pronounced than that of only excluding large herbivores; and (c) be more or less significant depending on the acorn size. 2—There are different patterns between *Quercus* species for the studied parameters under a bioclimatic limit in Mediterranean grazed areas.

2. Materials and Methods

2.1. Study Site and Species Description

The field experiment was located in the northwest of the Salamanca region, central west Spain (41°13' N, 6°24' W; 740–750 m a.s.l.). The climate

is Mediterranean, with 550–650 mm of mean annual rainfall and 12.4 °C of mean annual temperature. Rainfall is not distributed evenly throughout the year with pronounced summer drought and great variation between years. The soils are very oligotrophic, acidic, and sandy, with low water holding capacity [20].

The study site was in a transitional area between the *Q. ilex* domain in the east (drier climate) and the *Q. pyrenaica* domain in the west (more humid climate) [32]. The vegetation consisted of low-density open stand formations of both *Quercus* species, trees over 60 years old mainly *Q. pyrenaica*, and an herbaceous layer encroached by shrubs, with the leguminous *Cytisus multiflorus* being the dominant shrub species. These areas are traditionally used as pasture for cattle and sheep under extensive livestock farming; currently, mainly cattle with a high livestock load. Shrubs are frequently burned in small patches and *C. multiflorus* regenerates well after disturbances and can be classified as a facultative resprouter [33,34]. There are also wild species that consume acorns, such as wild boars, jays, and several species of small rodents.

2.2. Experimental Design

A field experiment was carried out to analyze the influence of shrub and large herbivore exclusion on *Quercus* emergence, considering also the size of the acorns. In a Dehesa of 800 ha, five sites (300 m apart) were randomly selected. At each site, four treatments were tested: (1) shrub—fenced (SF), (2) shrub—open (SO), (3) no-shrub—fenced (NF), and (4) no-shrub—open (NO) (see Figure A1 in Appendix A). Then in each treatment one plot of acorns was sown containing 10 large and 10 small acorns of both *Q. ilex* and *Q. pyrenaica* (total 100 acorns per treatment).

Large *C. multiflorus* shrubs, more than 1.5 m of crown diameter and around 10–15 years old, were selected as nurse plants. Enclosures (3.5 m ×

3.5 m) were mobile construction fences (2 m high \times 3.5 m long, mesh hole: 12 cm width \times 22 cm length) fixed to concrete bases to protect against large herbivores. Open plots had similar dimensions to enclosures.

In October–November 2010, *Q. pyrenaica* and *Q. ilex* acorns were collected from nearby forests and stored at 4 °C until sowed in December 2010. Non-viable acorns (empty or preyed upon by insects) were excluded by floating them in water [35]. The wet weights of acorns were respectively: 3.28 ± 0.07 g and 5.50 ± 0.10 g for small and large *Q. ilex* acorns, and 5.19 ± 0.14 g and 7.94 ± 0.33 g for small and large *Q. pyrenaica* acorns.

In each plot, 10 acorns for each *Quercus* species (5 small and 5 large ones) were sown in an area of 60 cm \times 50 cm, 4 rows \times 5 columns. Acorn size and species were systematically alternated to avoid the possible edge effect and also to favor the identification of the species in the early stages of the seedlings (see Figure A2 in Appendix A). Acorns were buried into the soil at 2–3 cm, and holes were systematically separated from each other by 8–10 cm, with the surface being protected against rodents with a labeled wire mesh (1.2 cm mesh width) fixed by nails [19,36].

Acorn emergence was recorded during the first four years following the sowing. Seedling emergence of each species was checked on 19 different dates, every fifteen days during the first six months after they began to emerge (in April) to the end of the first dry season (October) and, afterward, in spring and autumn to complete three more years.

2.3. Statistical Methods

A multifactorial analysis of variance (ANOVA) was done with the emergence values (percentage) obtained at the end of the period of study. The four factors whose effects we wanted to analyze were: factor 1: shrub (levels: shrub/no-shrub); factor 2: fence (fenced/open); factor 3: *Quercus*

species (*Q. pyrenaica* and *Q. ilex*); and factor 4: size (acorn size: small/large). The site was added as a random factor. All three-way and four-way interactions were eliminated from the model to avoid overfitting.

For the emergence analysis through the time, a four-way repeated-measures ANOVA was done. Data until June of the second year were included. Only one more emergence was later recorded and the repeated dates with the same frequency of emergence could result in a mask of the significance of the results. All four-way and five-way interactions were eliminated from the model to avoid over-fitting.

Since the assumptions of normality (Shapiro–Wilk’s test) and homoscedasticity were not met, data were arcsine transformed. When the ANOVA was significant, pairwise comparisons of means were calculated with Tukey’s test. SPSS 25.0 was used for the analyses.

3. Results

3.1. Emergence at the End of the Study Period

At the end of the study period, the overall percentage of emergence was 77%; the most contrasting average values were $36\% \pm 13\%$ for small *Q. pyrenaica* acorns in the no-shrub—open (NO) treatment, and $100\% \pm 0\%$ for large *Q. ilex* acorns in the shrub—open (SO) treatment.

The multifactorial ANOVA (Table 1) showed significant differences in emergence for the main effect of the shrub factor but without significant interaction with any other factors. The *Quercus* species factor and the interaction between fence and *Quercus* species factors were also significant. Therefore, the emergence was significantly higher in the Shrub treatment ($87\% \pm 3\%$) than in the No-shrub treatment ($67\% \pm 4\%$) (Figure 1A). This positive shrub effect was detected for both *Q. ilex* ($97\% \pm 2\%$ vs. $79\% \pm 5\%$) and *Q. pyrenaica* ($76\% \pm 5\%$ vs. $55\% \pm 6\%$) (Figure 1B). Nevertheless, the emergence increases in the shrub compared to the non-shrub treatment was

somewhat higher for *Q. pyrenaica* than for *Q. ilex*; the increase ratio was 0.382 and 0.228, respectively. Moreover, *Q. ilex* emergence was greater than for *Q. pyrenaica* ($88\% \pm 3\%$ vs. $66\% \pm 4\%$) in both Shrub and No-shrub treatments (Figure 1B), and in open treatments ($93\% \pm 4\%$ vs. $58\% \pm 6\%$) (Figure 1C). There was no main effect of the fence factor on emergence when considering both *Quercus* species together ($78\% \pm 4\%$ and $75\% \pm 4\%$ in fenced and open treatments, respectively). However, when analyzing the fence \times *Quercus* species interaction, greater differences between fence and open treatments were observed for *Q. pyrenaica* ($73\% \pm 5\%$ vs. $58\% \pm 6\%$) than for *Q. ilex* ($83\% \pm 5\%$ vs. $93\% \pm 4\%$), with the balance being positive for the first species (Figure 1C). No main effect of the acorn size factor on emergence was detected but in interaction with *Quercus* species, being significant the differences between small and large *Q. pyrenaica* acorns ($54\% \pm 5\%$ vs. $78\% \pm 5\%$) but not for *Q. ilex* ($86\% \pm 5\%$ vs. $90\% \pm 3\%$) (Figure 1D). The interaction between acorn size and shrub showed that in open treatments the mean emergence values differed more between small and large acorns ($59\% \pm 7\%$ vs. $75\% \pm 5\%$) than in Shrub treatments ($87\% \pm 4\%$ vs. $86\% \pm 5\%$), although the differences were not significant.

Table 1. Results of the multifactorial ANOVA for emergence percentage data (arcsine transformed) obtained at the end of the study period.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Shrub	1.681	1	1.681	20.016	<0.001
Fence	0.001	1	0.001	0.012	0.915
<i>Quercus</i> species	2.585	1	2.585	30.770	<0.001
Size	0.195	1	0.195	2.316	0.133
Site	0.691	4	0.173	2.056	0.097
Shrub \times Fence	0.211	1	0.211	2.509	0.118
Shrub \times <i>Quercus</i>	0	1	0	0.004	0.950
Shrub \times Size	0.183	1	0.183	2.175	0.145
Fence \times <i>Quercus</i>	0.724	1	0.724	8.621	0.005
Fence \times Size	0.008	1	0.008	0.096	0.758
<i>Quercus</i> \times Size	0.064	1	0.064	0.757	0.387
Error	5.460	65	0.084		

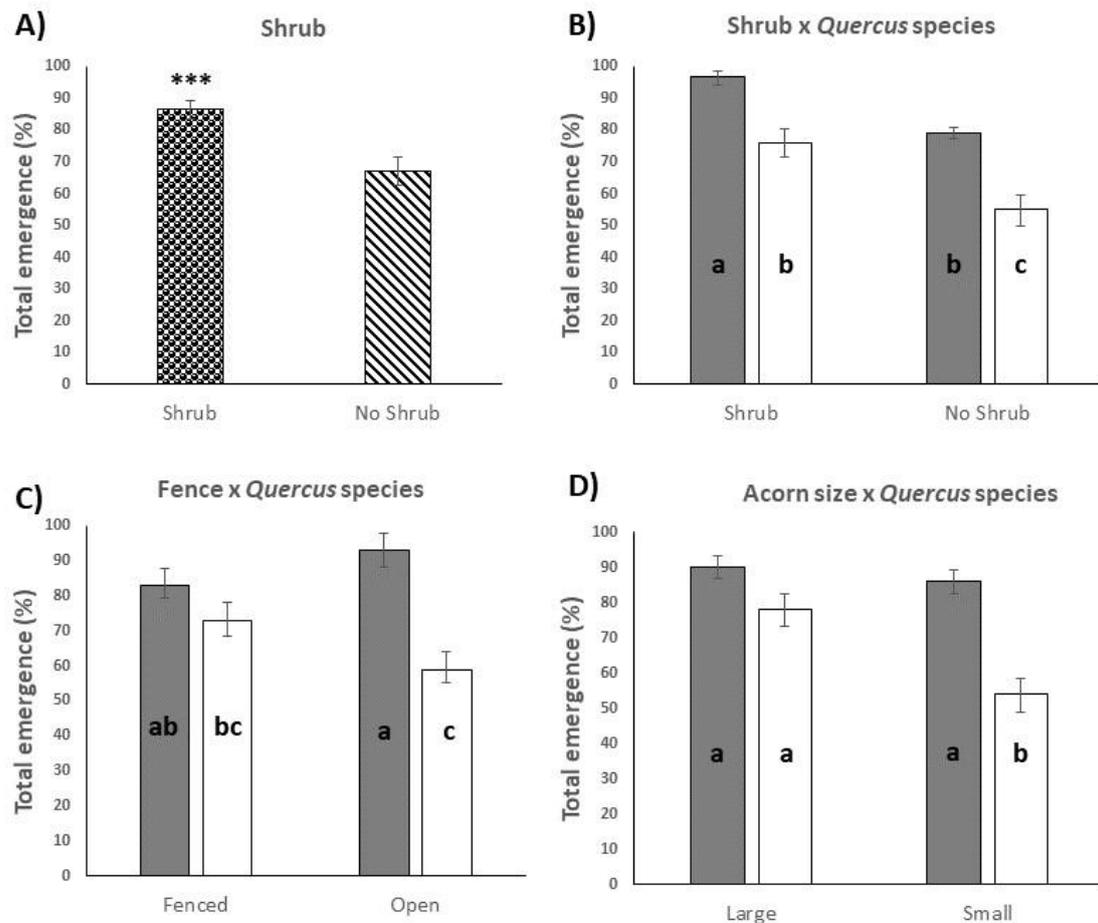


Figure 1. Emergence percentage (mean \pm SE) obtained in each treatment at the end of the study period, for both *Quercus* species together (A) and each *Quercus* species (B–D). Grey bars for *Q. ilex* and white bars for *Q. pyrenaica*. Results after Multifactorial ANOVA, are shown. *** indicate highly significant differences (Tukey test; $p < 0.001$). With letters results of pairwise comparisons between two-factor interactions; different letters indicate significant differences (Tukey test; $p < 0.05$).

3.2. Emergence through the Time

Seedling emergence began 3.5 months after sowing and 98.4% of the total emergence taking place from April to October of the first-year. In the following 3 years, only 5 more seedlings emerged, four of them in the spring of the second year and one in the third year (1.3 and 0.3% of total emergence, respectively).

The repeated-measures ANOVA provided the following results. In the between-subject effects test (without analyzing the interaction with time), significant differences in emergence were only detected for the shrub ($df = 1, F = 19.471, p < 0.001$) and *Quercus* species factors ($df = 1, F = 27.443, p < 0.001$), and for the fence \times *Quercus* species interaction ($df = 1, F = 6.264, p = 0.015$). These results, considering the whole temporal process, were like those obtained in the multifactorial ANOVA that used the accumulated emergence data obtained at the end of the study period, which is set out in the previous section (Table 1). In the tests of within-subject effects (Table 2), time was significant, and the two-way interactions of time with shrub, *Quercus* species, and acorn size. Additionally, two three-way interactions were significant: time \times shrub \times fence, and time \times shrub \times *Quercus* species.

Table 2. Results of the repeated measures analyses of accumulated emergence values (arcsine transformed) obtained through time.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	P
Time	85.208	13	6.554	236.622	<0.001
Time * Shrub	2.007	13	0.154	5.574	<0.001
Time * Fence	0.342	13	0.026	0.95	0.5
Time * <i>Quercus</i>	1.214	13	0.093	3.37	<0.001
Time * Size	0.672	13	0.052	1.867	0.03
Time * Shrub * Fence	1.824	13	0.14	5.066	<0.001
Time * Shrub * <i>Quercus</i>	0.791	13	0.061	2.196	0.008
Time * Shrub * Size	0.188	13	0.014	0.523	0.912
Time * Fence * <i>Quercus</i>	0.529	13	0.041	1.469	0.123
Time * Fence * Size	0.054	13	0.004	0.149	0.999
Time * <i>Quercus</i> * Size	0.51	13	0.039	1.415	0.146
Error (Time)	24.847	897	0.028		

The three-way interaction time \times shrub \times *Quercus* species (Figure 2A) showed that for both *Quercus* species emergence took place entirely in the spring with only 1.65% in September of the first year. *Q. ilex* had greater and faster emergence in the shrub relative to the no-shrub treatment. *Q. ilex*

emergence was greater than for *Q. pyrenaica* but in no-shrub treatment the significant differences were detected one month later than in the shrub treatments. *Q. pyrenaica* showed significantly greater emergence in shrub than non-shrub treatments by 15 May. For *Q. ilex* the shrub promoted faster emergence and earlier in the spring than for *Q. pyrenaica*.

The three-way interaction time \times shrub \times fence (Figure 2B) showed that 15 days after the start of the emergence, there were already significant differences between open treatments, with shrubs (SO: 44% \pm 6.2%) and without shrubs (NO: 25% \pm 6.3%), while no differences were detected between the fenced treatments (SF and NF) during the first month. From 15 May, significant differences appeared between shrub (SF: 86% \pm 4.1% and SO: 78% \pm 5.9%) and no-shrub treatments (NF: 54% \pm 4.8% and NO: 53% \pm 6.7%), with no significant fence effect. The emergence stabilized in July and since then, the greatest emergence was found in the SF treatment (91% \pm 3%), significantly higher than in the no-shrub treatments (NF and NO), followed by the SO treatment (82% \pm 5%) that significantly differed to NF, and finally, the no-shrub treatments (65% \pm 5% NF and 69% \pm 7% NO) that did not differ from each other.

The three-way interaction time \times size \times *Quercus* species (Figure 2C) showed that the acorn size did not have a significant effect on the emergence of *Q. ilex* over time but did for *Q. pyrenaica*. For *Q. ilex*, the emergence for large and small acorns was similar on each date, and the accumulated emergence increased until 15 May and then stabilized. For *Q. pyrenaica*, the emergence was significantly greater for large acorns than for small ones from 1 June. Regardless of the acorn size, the emergence for *Q. ilex* was significantly higher than for *Q. pyrenaica* from mid-April.

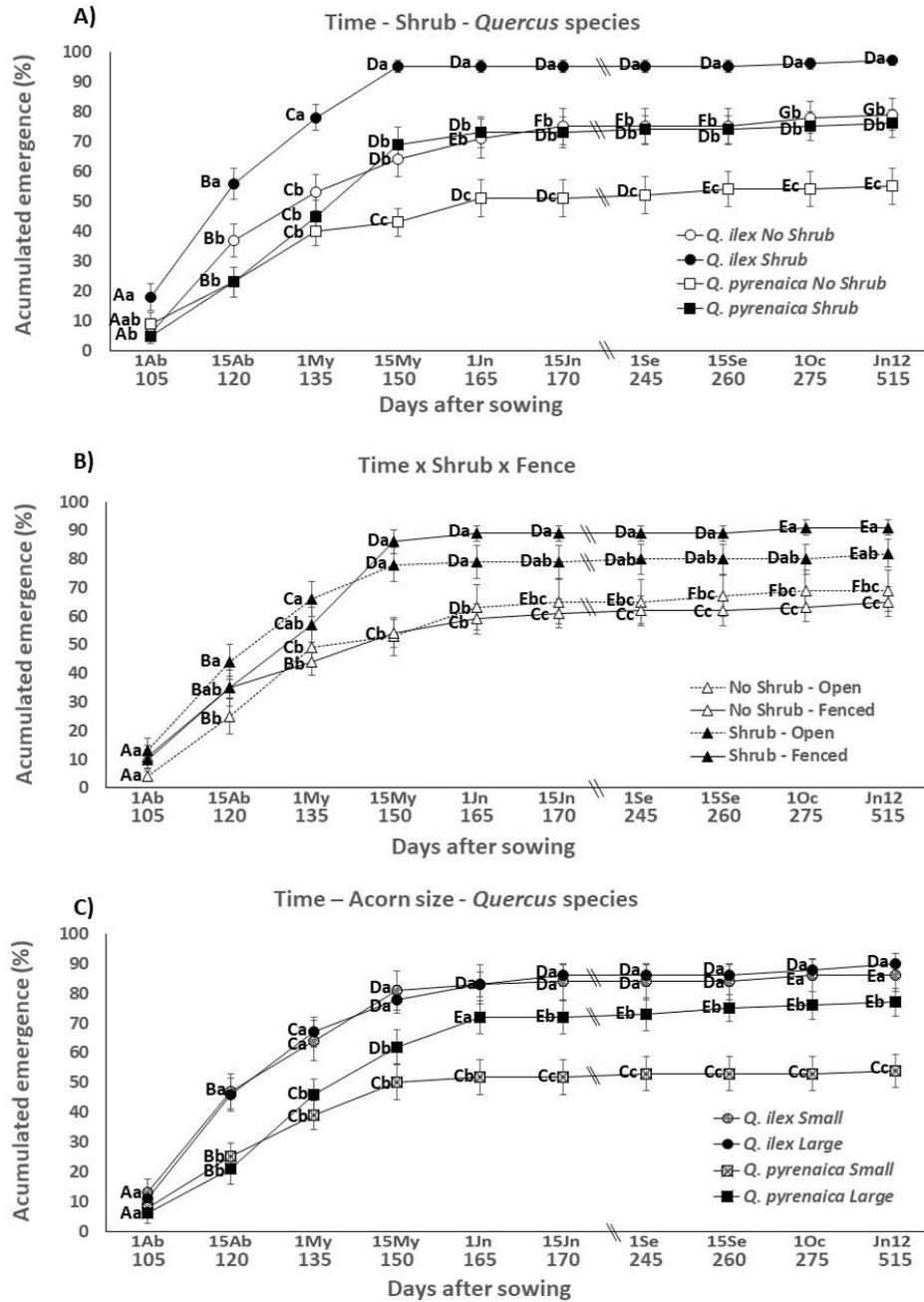


Figure 2. Accumulated emergence values (mean \pm SE) for each *Quercus* species and treatment on different dates throughout the first year and a half after sowing.

Results after repeated measures analyses are shown. With letters and numbers results of pairwise comparisons between three-factor interactions. Different capital letters indicate significant differences (Tukey test; $p < 0.05$) between dates within the same *Quercus*-species (A,C) or treatments (B). Different lower-letters indicate significant differences (Tukey test; $p < 0.05$) between *Quercus*-species (A,C) or treatments (B) at the same date.

4. Discussion

Cytisus multiflorus facilitated the emergence of *Quercus ilex* and *Q. pyrenaica* in comparison with non-shrub areas. The positive effect of this shrub species on the acorn emergence of *Quercus* species has not been published before but on the survival and growth of seedlings of both target *Quercus* species [20]. The positive effect of other leguminous shrub species on *Quercus* emergence has also been described in the last decades: *Genista hirsuta* [37], *Retama sphaerocarpa* [4], *Genista florida*, and *Cytisus scoparius* [19]. However, other interesting results are found when evaluating the effect of excluding large herbivores, the acorn size, and the species of *Quercus* considered.

Regardless of treatment, *Quercus* emergence in the study area was much higher than in other areas for *Q. ilex* [4,37] and for *Q. pyrenaica* [19]. However, similar emergence values were obtained for *Q. pyrenaica* in other studies that used mesh protection to prevent acorn predation by small mammals [36]. Mesh protection has proved to be very effective in our study area because the removal of acorns by small mammals was near 100% when mainly under shrub cover (unpublished data), while high emergence values were obtained using a mesh. Acorn predation by small mammals is a common problem for *Quercus* regeneration even if acorns are buried [38,39], and mesh protection was also effective in improving acorn emergence [18,19,36]. Here, emergence took place mainly during the first spring, and only a minimum percentage of acorns emerged later. It is well known that acorns are recalcitrant and their viability decreases because of dehydration when outdoors for some time [40]. As such, the emergence of *Quercus* acorns is conditioned by soil moisture [41]. In these Mediterranean areas, soil moisture decreased significantly during the dry summer period because precipitation is very scarce then and the soil is very sandy, with a very low water-holding capacity [20]. We also found that some acorns presented a

delayed emergence, as found in other studies [19,36], which happens when germination occurs late due to the summer drought inhibiting their growth until the moisture conditions become optimal again [36].

When analyzing the effect of the different factors, the clearest result was the positive effect of the native shrub, *Cytisus multiflorus*, on the emergence of both *Quercus* species, which was higher from the beginning and faster in shrub areas. Other leguminous shrubs have also shown a facilitating effect on the emergence of *Q. pyrenaica* [19] or *Q. ilex* [4,39], or on the survival and growth of *Quercus* seedlings [4,19,20]. Our results are most likely due to the significant increase in organic matter and a slightly higher percentage of clay under the *C. multiflorus* canopy [20], which, in turn, contributed to an increase in soil water-holding capacity that is known to be very important for the germination and emergence of *Quercus* species [40,42,43]. As such, *C. multiflorus* improves the emergence of *Quercus* by preventing the drying out of the acorns, like other shrub species [39,44,45], which is very important in Mediterranean areas with a very low water-holding capacity in the soil. *C. multiflorus* may also have a significant effect by improving other abiotic (microclimatic) conditions, as described for other shrub species [18,39,46,47], or through protection against herbivores, as also mentioned for other species [15–17].

Regarding the use of the fence to exclude large herbivores, interesting interactions were found. The fence favored the emergence of *Q. pyrenaica* but not that of *Q. ilex* and reduced the differences in emergence between the two species of *Quercus*. On the other hand, the fence delays emergence differences detection between shrub and non-shrub areas compared to open areas, being higher the emergence under shrubs. This indicates that the shrub had initially (first month since the beginning of the emergence) a protective role against large herbivores. However, later (after the first month), the main effect of *C. multiflorus* was rather the improvement of abiotic conditions,

since the fence no longer affects the emergence. Studies in the same area concluded that the main facilitating effect of *C. multiflorus* on *Q. ilex* and *Q. pyrenaica* seedling survival was the improvement of abiotic conditions, whereas the fence also affected seedling growth, mainly for *Q. pyrenaica* [20]. In other areas, no significant effect of the fence was detected on the emergence of *Q. pyrenaica* and *Q. petraea* seedlings [19]. Many studies show an important effect of rodents, jays, and large herbivores on acorn consumption [8,38,48–52]. However, no evidence of acorn predation was found in our study as the protective meshes were not altered and no nearby rodent burrows were observed. The effect of herbivores in the study area is more likely to be caused by trampling, as domestic livestock are very abundant and tend to graze more in areas without shrub. We did not find studies on the effect of trampling on the comparative emergence of these two *Quercus* species, however, the trampling can compact the soil and alter its ability to absorb or retain moisture [53,54] or may also reduce tree transpiration and growth [55,56]. These soil modifications may affect the germination and emergence of *Q. pyrenaica* more than *Q. ilex*, as *Q. pyrenaica* is less tolerant to the dehydration of its acorns [57] and a water deficit in the development of seedlings [20]. Future studies to shed more light on this topic would be welcome.

By studying the effect of acorn size on emergence, different behaviors were shown in both species. Large acorns of *Q. pyrenaica* showed a higher emergence rate, while for *Q. ilex* no significant effect of acorn size on emergence was found. Other studies also find that acorn size can benefit the emergence of *Quercus* species [29], specifically *Q. pyrenaica* [36,58,59], whereas for *Q. ilex*, this does not always happen [60] and the relationship may only hold for some maternal plants [36,61]. On the other hand, the positive relationship between acorn size and emergence for *Q. pyrenaica* only occurs in open areas. It seems that a shrub provides more favorable

conditions for the emergence of both species and, in such conditions, the acorn size loses importance. Some studies describe the effects of environmental factors on acorn emergence [62,63] and the positive effect of acorn size on the emergence and establishment in soils with low fertility or other adverse characteristics [64]. However, despite no major advantages of acorn size being observed in this study, especially for *Q. ilex*, it may be important for other aspects of *Quercus* establishment such as producing larger seedlings with longer roots, which increase the chances of surviving the summer drought [31,65–67], favoring the resprouting after herbivore action [68], or facilitating the establishment of seedlings in shaded environments, where acorns are frequently dispersed by jays and rodents [38,69].

By comparing the two *Quercus* species, the emergence was always higher for *Q. ilex* than for *Q. pyrenaica*, both with and without shrub. The emergence increases in shrub areas compared to non-shrub areas was somewhat higher for *Q. pyrenaica* than for *Q. ilex*. These results support the idea that positive interactions are relevant for the persistence of mesophytic species at the margins of their distribution areas [70–73]. On the other hand, in shrub areas, the emergence of *Q. ilex* was close to 100% and the process was faster, with there being the detection of differences with *Q. pyrenaica* earlier than in open areas. Therefore, even though shrubs in our study site were large and constituted old communities, our results regarding emergence do not support the idea that old shrub formations favor the regeneration of *Q. pyrenaica* against *Q. ilex*, as proposed by other authors [23]. However, in this study, only the emergence was assessed and other important aspects for the establishment of *Quercus* species should also be considered, such as the survival and growth of the seedlings. In another study in the same area, *C. multiflorus* favored the survival and early growth of *Q. pyrenaica* and *Q. ilex* but to a different degree depending on the variable measured [20]; the

marcescent species survival was more favored than the sclerophyllous species, whereas the initial advantage of *Q. pyrenaica* in terms of growth was attenuated after 2 years.

Given our results, it seems that *Q. pyrenaica* has more problems with the emergence in the study area, the values are lower and emergence, in general, taking place later. In other sites, however, deciduous and marcescent species such as *Q. pyrenaica* emerged earlier than the evergreen ones like *Q. ilex* [36,58]. Even the emergence date appears to be a species-specific character [74], although this can be modified by the maternal source [36]. These differences obtained have surprised us even more since in the area the trees over 60 years old are *Q. pyrenaica*, with specimens that are even 200 years old, and only a few young trees of *Q. ilex* can be observed. Therefore, the clear advantage in the emergence of *Q. ilex* over *Q. pyrenaica* could be interpreted as a reflection of the change towards more xeric conditions that has been taking place for some decades, and that will be even more accentuated in the center of the Iberian Peninsula [75], which, in the future, could lead to a change in the dominant tree species, from marcescent to sclerophyllous. However, although *Q. ilex* is more resistant to water deficit than *Q. pyrenaica* [76], in xeric environments, shrublands can improve the conditions for *Q. pyrenaica* by protecting it from sunlight and photoinhibition [18] and by reducing the demand for transpiration during the dry season [46], as was observed in this area when assessing the initial survival of seedlings [20]. Thus, if other phases of plant establishment, mainly survival and growth, are also considered, the change in the dominant tree species in our areas may be slower if there are shrubs. It would be of great interest to have further studies assess the process of interactions between *Quercus* species and shrublands in the medium and long term.

5. Conclusions

We conclude that in Mediterranean grazed areas, *C. multiflorus* has a clear facilitative effect on the seedlings' emergence of two ecologically contrasted *Quercus* species, *Q. ilex* and *Q. pyrenaica*. The presence of shrub has a much greater effect than the physical exclusion of large herbivores (fence); that is, initially it seems to play a protective role against large herbivores but, after the first month, *C. multiflorus* seems to play a more important role in modifying abiotic factors. Furthermore, the size of the acorn seems to be less important in the presence of shrub. Therefore, *C. multiflorus* can have a key role in oak regeneration in Mediterranean grazed areas.

On the other hand, in these Mediterranean grazed areas of contact between marcescent and sclerophyllous species of *Quercus*, with the domain of the *Q. pyrenaica* tree canopy, *Q. ilex* emergence is currently greater than for *Q. pyrenaica*. The emergence of *Q. pyrenaica* seems to be negatively affected if it is not protected against large herbivores and if the acorns are smaller, which is not the case for *Q. ilex*. This could be indicative of the shift towards more xeric climatic conditions that are taking place, which could lead to a change in the dominant tree species in the future, from marcescent to sclerophyllous, and this change could be more rapid because of pressure from large herbivores. On the other hand, the facilitative effect of *C. multiflorus* has been found for both oak species but, although it accelerates the process in *Q. ilex*, the increase ratio compared to the emergence outside is somewhat higher for *Q. pyrenaica*. Therefore, the change could be slower if there are shrubs. Therefore, further studies would be necessary to assess the process of interactions between *Quercus* species and the shrubland in the medium and long term.

Author Contributions: Conceptualization, B.F.-S., C.M.-R.; methodology, R.D.H., B.F.-S.; software, R.D.H., B.F.-S., J.L.V.V.; validation, R.D.H.,



B.F.-S., J.L.V.V.; formal analysis, R.D.H., B.F.-S., J.L.V.V.; investigation, R.D.H., B.F.-S.; resources, B.F.-S., J.L.V.V.; data curation, R.D.H., B.F.-S.; writing—original draft preparation, R.D.H., B.F.-S.; writing—review and editing, R.D.H., B.F.-S., J.L.V.V., C.M.-R.; visualization, R.D.H., B.F.-S.; supervision, B.F.-S., J.L.V.V., C.M.-R.; project administration, B.F.-S.; funding acquisition, B.F.-S.; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Project SA013G19 from “Junta de Castilla y León”, and by the “Programa de financiación de grupos de investigación (2014/00165/001)” from Salamanca University.

Data Availability Statement:

Acknowledgments: We would like to thank Juan Miguel Gómez-Cuadrado for their assistance in the characterization and location of plots in the field, Sara Villa and David Moro for their invaluable help with fieldwork, and the assistant editor, Denise Li, and two anonymous reviewers for their valuable comments to improve the manuscript.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Appendix A



Figure A1. Experimental design in the field. Spatial allocation of the four experimental plots, one for each treatment, considered in each selected area. Shrub—Fenced (SF), Shrub—Open (SO), No-shrub—Fenced (NF), and No-shrub—Open (NO).

A

Qi(l)	Qp(s)	Qi(l)	Qi(s)	Qp(l)
Qi(l)	Qp(s)	Qp(s)	Qi(s)	Qp(l)
Qi(s)	Qp(l)	Qi(s)	Qi(l)	Qp(s)
Qi(s)	Qp(l)	Qp(l)	Qi(l)	Qp(s)

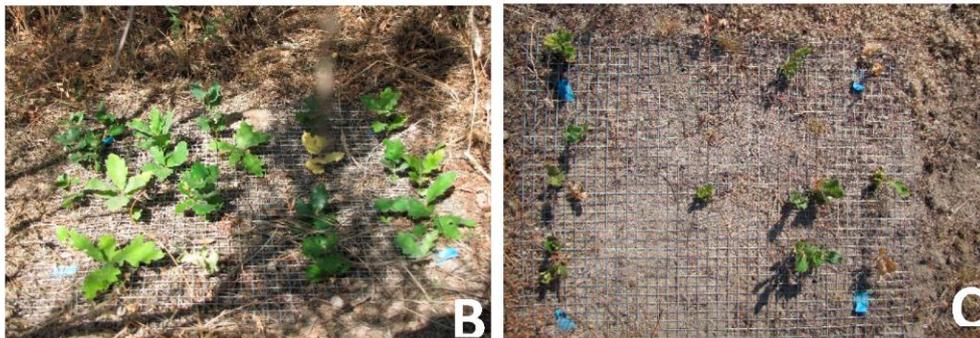


Figure A2. Experimental sowing design carried out in each plot. (A)—Schematic of the basic experimental unit consisted of a 20-hole acorn seeding area in a disposition of 4 rows × 5 columns; five holes with large acorns (l), and five holes with small acorns (s)

of each *Quercus* species. In the first and fourth columns, only seeds of *Quercus ilex* (Qi) were placed, in the second and fifth columns only acorns of *Q. pyrenaica* (Qp) were placed, and in the third column acorns of both *Quercus* species were placed. Acorn size and species were systematically alternated to avoid the possible edge effect and also to favor the *Quercus* species identification in the early seedlings stages. **(B)**—Seedlings emergence in the Shrub treatment. **(C)**—Seedlings emergence in the No-shrub treatment.

References

- McCreary, D. Managing and restoring California’s oak woodlands. *Nat. Areas J.* **2004**, *24*, 269–275.
- Bergmeier, E.; Petermann, J.; Schroder, E. Geobotanical survey of wood-pasture habitats in Europe: Diversity, threats and conservation. *Biodivers. Conserv.* **2010**, *19*, 2995–3014.
- Beniston, M.; Diaz, H.F.; Bradley, R.S. Climatic change at high elevation sites: An overview. In *Climatic Change at High Elevation Sites*; Diaz, H.F., Beniston, M., Bradley, R.S., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 1997; pp. 1–19.
- Rolo, V.; Plieninger, T.; Moreno, G. Facilitation of holm oak recruitment through two contrasted shrubs species in Mediterranean grazed woodlands. *J. Veg. Sci.* **2013**, *24*, 344–355, doi:10.1111/j.1654-1103.2012.01458.x.
- Marañón, T.; Pugnaire, F.I.; Callaway, R.M. Mediterranean-climate oak savannas: The interplay between abiotic environment and species interactions. *Web. Ecol.* **2009**, *9*, 30–43, doi:10.5194/we-9-30-2009.
- Plieninger, T.; Bieling, C. Resilience-based perspectives to guiding high-nature-value farmland through socioeconomic change. *Ecol. Soc.* **2013**, *18*, 20, doi:10.5751/ES-05877-180420.
- Pulido, F.J.; Díaz, M.; Hidalgo de Trucios, S.J. Size structure and regeneration of Spanish holm oak *Quercus ilex* forests and dehesas: Effects



of agroforestry use on their long-term sustainability. *For. Ecol. Manag.* **2001**, *146*, 1–13, doi:10.1016/S0378-1127(00)00443-6.

Pulido, F.J.; Díaz, M. Regeneration of a Mediterranean oak: A whole-cycle approach. *Écoscience* **2005**, *12*, 92–102, doi:10.2980/i1195-6860-12-1-92.1.

Navarro Cerrillo, R.M.; Fragueiro, B.; Ceaceros, C.; del Campo, A.; de Prado, R. Establishment of *Quercus ilex* L. *subsp. ballota* [Desf.] Samp. using different weed control strategies in southern Spain. *Ecol. Eng.* **2005**, *25*, 332–342, doi:10.1016/j.ecoleng.2005.06.002.

Gómez, J.M.; Puerta-Piñero, C.; Schupp, E.W. Effectiveness of rodents as local seed dispersers of Holm oaks. *Oecologia* **2008**, *155*, 529–537, doi:10.1007/s00442-007-0928-3.

Pulido, F.; García, E.; Obrador, J.J.; Moreno, G. Multiple pathways for tree regeneration in anthropogenic savannas: Incorporating biotic and abiotic drivers into management schemes: Pathways for oak recruitment in savannas. *J. Appl. Ecol.* **2010**, *47*, 1272–1281, doi:10.1111/j.1365-2664.2010.01865.x.

Bertness, M.D.; Callaway, R. Positive interactions in communities. *Trends Ecol. Evol.* **1994**, *9*, 191–193, doi:10.1016/0169-5347(94)90088-4.

Porta, J.; López-Acevedo, M.; Roquero de Laburu, C. *Edafología Para la Agricultura y el Medio Ambiente*, 3rd ed.; Mundi-Prensa: Madrid, España, 2003.

Callaway, R.M. *Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2007.

Rousset, O.; Lepart, J. Shrub facilitation of *Quercus humilis* regeneration in succession on calcareous grasslands. *J. Veg. Sci.* **1999**, *10*, 493–502.

García, D.; Obeso, J.R. Facilitation by herbivore mediated nurse plants in a threatened tree, *Taxus baccata*: Local effects and landscape level consistency. *Ecography* **2003**, *26*, 739–750.

Baraza, E.; Zamora, R.; Hodar, J.A. Conditional outcomes in plant–herbivore interactions: Neighbours matter. *Oikos* **2006**, *113*, 148–156.

Gómez-Aparicio, L.; Pérez-Ramos, I.M.; Mendoza, I.; Matías, L.; Quero, J.L.; Castro, J.; Zamora, R.; Marañón, T. Oak seedling survival and growth along resource gradients in Mediterranean forests: Implications for regeneration in current and future environmental scenarios. *Oikos* **2008**, *117*, 1683–1699, doi:10.1111/j.1600-0706.2008.16814.x.

Torroba-Balmori, P.; Zaldívar, P.; Alday, J.G.; Fernández-Santos, B.; Martínez-Ruiz, C. Recovering *Quercus* species on reclaimed coal wastes using native shrubs as restoration nurse plants. *Ecol. Eng.* **2015**, *77*, 146–153, doi:10.1016/j.ecoleng.2015.01.024.

Costa, A.; Villa, S.; Alonso, P.; García-Rodríguez, J.A.; Martín, F.J.; Martínez-Ruiz, C.; Fernández-Santos, B. Can native shrubs facilitate the early establishment of contrasted co-occurring oaks in Mediterranean grazed areas? *J. Veg. Sci.* **2017**, *28*, 1047–1056, doi:10.1111/jvs.12550.

Rolo, V.; Moreno, G. Shrub encroachment and climate change increase the exposure to drought of Mediterranean wood-pastures. *Sci. Total Environ.* **2019**, *660*, 550–558, doi:10.1016/j.scitotenv.2019.01.029.

Maestre, F.T.; Callaway, R.M.; Valladares, F.; Lortie, C.J. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J. Ecol.* **2009**, *97*, 199–205, doi:10.1111/j.1365-2745.2008.01476.x.

Madrigal-González, J.; García-Rodríguez, J.A.; Zavala, M.A. Shrub encroachment shifts the bioclimatic limit between marcescent and sclerophyllous oaks along an elevation gradient in west-central Spain. *J. Veg. Sci.* **2014**, *25*, 514–524, doi:10.1111/jvs.12088.

Michalet, R.; Brooker, R.W.; Cavieres, L.A.; Kikvidze, Z.; Lortie, C.J.; Pugnaire, F.I.; Valiente-Banuet, A.; Callaway, R.M. Do biotic interactions shape both sides of the humped-back model of species richness in plant



communities? *Ecol. Lett.* **2006**, *9*, 767–773, doi:10.1111/j.1461-0248.2006.00935.x.

Maestre, F.T.; Valladares, F.; Reynolds, J.F. Is the change of plant-plant interactions with abiotic stress predictable? A meta-analysis of field results in arid environments: Facilitation and stress in arid environments. *J. Ecol.* **2005**, *93*, 748–757, doi:10.1111/j.1365-2745.2005.01017.x.

Pigott, C.D.; Pigott, S. Water as a determinant of the distribution of trees at the boundary of the Mediterranean zone. *J. Ecol.* **1993**, *81*, 557, doi:10.2307/2261534.

Niinemets, U.; Valladares, F. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **2008**, *39*, 237–257.

Rivas-Martínez, S.; Gandullo Gutiérrez, J.M.; Allué Andrade, J.L.; Montero de Burgos, J.L.; González Rebollar, J.L. *Mapa de Series de Vegetación de España 1: 400 000 y Memoria*; Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza: Madrid, España, 1987.

Quero, J.L.; Villar, R.; Maranon, T.; Zamora, R.; Poorter, L. Seed-mass effects in four Mediterranean *Quercus* species (Fagaceae) growing in contrasting light environments. *Am. J. Bot.* **2007**, *94*, 1795–1803, doi:10.3732/ajb.94.11.1795.

Madrigal-González, J.; Ruiz-Benito, P.; Ratcliffe, S.; Rigling, A.; Wirth, C.; Zimmermann, N.E.; Zweifel, R.; Zavala, M.A. Competition drives oak species distribution and functioning in Europe: Implications under global change. In *Oaks Physiological Ecology. Exploring the Functional Diversity of Genus Quercus L.*; Gil-Pelegrin, E., Peguero-Pina, J., Sancho-Knapik, D., Eds.; Tree Physiology; publisher: city, country 2017; Volume 7, pp. 513–538, doi:10.1007/978-3-319-69099-5_15.

Lloret, F.; Casanovas, C.; Peñuelas, J. Seedling survival of Mediterranean shrubland species in relation to root: Shoot ratio, seed size and water and

nitrogen use. *Funct. Ecol.* **1999**, *13*, 210–216, doi:10.1046/j.1365-2435.1999.00309.x.

Luis Calabuig, E.; Montserrat, P. Mapa fitoclimático de la provincia de Salamanca. In *Estudio Integrado y Multidisciplinario de la Dehesa Salmantina*; Centro Pirenaico de Biología Experimental: Salamanca, España, 1979; Volume 3, pp. 157–181.

Fernández-Santos, B.; Gómez-Gutiérrez, J.M.; Moreno-Marcos, G. Effects of disturbance caused by traditional Spanish rural land use on the regeneration of *Cytisus multiflorus*. *Appl. Veg. Sci.* **1999**, *2*, 239–250.

Paula, S.; Arianoutsou, M.; Kazanis, D.; Tavsanoğlu, Ç.; Lloret, F.; Buhk, C.; Ojeda, F.; Luna, B.; Moreno, J.M.; Rodrigo, A.; et al. Fire-related traits for plant species of the Mediterranean Basin. *Ecology* **2009**, *90*, 1420.

Bonfil, C. The effect of seed size, cotyledon reserves, and herbivory on seedling survival and growth in *Quercus rugosa* and *Q. laurina* (Fagaceae). *Am. J. Bot.* **1998**, *85*, 79–87.

González-Rodríguez, V.; Barrio, I.C.; Villar, R. Within-population variability influences early seedling establishment in four Mediterranean oaks. *Acta Oecol.* **2012**, *41*, 82–89, doi:10.1016/j.actao.2012.04.008.

Smit, C.; Ouden, J.; Vandenberghe, C.; Müller-Schärer, H. Nurse plants, tree saplings and grazing pressure: Changes in facilitation along a biotic environmental gradient. *Oecologia* **2007**, *152*, 265–273.

Gómez, J.; García, D.; Zamora, R. Impact of vertebrate acorn- and seedling-predators on a Mediterranean *Quercus pyrenaica* forest. *For. Ecol. Manag.* **2003**, *180*, 125–134, doi:10.1016/S0378-1127(02)00608-4.

Smit, C.; Ouden, J.; Díaz, M. Facilitation of *Quercus ilex* recruitment by shrubs in Mediterranean open woodlands. *J. Veg. Sci.* **2008**, *19*, 193–200.

Joët, T.; Ourcival, J.-M.; Dussert, S. Ecological significance of seed desiccation sensitivity in *Quercus ilex*. *Ann. Bot.* **2013**, *111*, 693–701, doi:10.1093/aob/mct025.



Pérez-Ramos, I.M.; Rodríguez-Calcerrada, J.; Ourcival, J.M.; Rambal, S. *Quercus ilex* recruitment in a drier world: A multi-stage demographic approach. *Perspect. Plant. Ecol. Evol. Syst.* **2013**, *15*, 106–117, doi:10.1016/j.ppees.2012.12.005.

Farnsworth, E. The Ecology and Physiology of Viviparous and Recalcitrant Seeds. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **2000**, *31*, 107–138, doi:10.1146/annurev.ecolsys.31.1.107.

Gil-Pelegrín, E.; Peguero-Pina, J.J.; Sancho-Knapik, D. Oaks physiological ecology. Exploring the functional diversity of genus *Quercus* L. *Tree Physiol.* **2017**, *7*, 547.

Pugnaire, F.I.; Armas, C.; Maestre, F.T. Positive plant interactions in the Iberian Southeast: Mechanisms, environmental gradients, and ecosystem function. *J. Arid Environ.* **2011**, *75*, 1310–1320, doi:10.1016/j.jaridenv.2011.01.016.

Smit, C.; Ouden, J.D.; Müller-Schärer, H. Unpalatable plants facilitate tree sapling survival in wooded pastures. *J. Appl. Ecol.* **2006**, *43*, 305–312.

Gómez-Aparicio, L.; Gómez, J.M.; Zamora, R.; Boettinger, J.L. Canopy vs. soil effects of shrubs facilitating tree seedlings in Mediterranean montane ecosystems. *J. Veg. Sci.* **2005**, *16*, 191–198, doi:10.1111/j.1654-1103.2005.tb02355.x.

Muhamed, H.; Touzard, B.; Le Bagousse-Pinguet, Y.; Michalet, R. The role of biotic interactions for the early establishment of oak seedlings in coastal dune forest communities. *For. Ecol. Manag.* **2013**, *297*, 67–74, doi:10.1016/j.foreco.2013.02.023.

Perea, R.; San Miguel, A.; Gil, L. Leftovers in seed dispersal: Ecological implications of partial seed consumption for oak regeneration. *J. Ecol.* **2011**, *99*, 194–201.

Perea, R.; San Miguel, A.; Martínez-Jáuregui, M.; Valbuena-Carabaña, M.; Gil, L. Effects of seed quality and seed location on the removal of acorns and beechnuts. *Eur. J. For. Res.* **2012**, *131*, 623–631.

Del Arco, J.M.; Beltrán, D.; Martínez-Ruiz, C. Risk for the natural regeneration of *Quercus* species due to the expansion of rodent species (*Microtus arvalis*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* **2018**, *72*, doi:10.1007/s00265-018-2575-6.

Leiva, M.J.; Fernández-Alés, R. Holm-oak (*Quercus ilex* subsp. ballota) acorns infestation by insects in Mediterranean dehesas and shrublands: Its effect on acorn germination and seedling emergence. *For. Ecol. Manag.* **2005**, *212*, 221–229.

Pérez-Ramos, I.; Marañón, T.; Lobo, J.M.; Verdú, J.R. Acorn removal and dispersal by the dung beetle *Thorectes lusitanicus* Jeckel: Ecological and evolutionary implications. *Ecol. Entomol.* **2007**, *32*, 349–356.

Chaichi, M.R.; Saravi, M.M.; Malekian, A. Effects of livestock trampling on soil physical properties and vegetation cover (Case Study: Lar Rangeland, Iran). *Int. J. Agric. Biol.* **2005**, *7*, 1560–8530.

Sigcha, F.; Pallavicini, Y.; Camino, M.J.; Martínez-Ruiz, C. Effects of short-term grazing exclusion on vegetation and soil in early succession of a Subhumid Mediterranean reclaimed coal mine. *Plant. Soil* **2018**, *426*, 197–209, doi:10.1007/s11104-018-3629-2.

Komatsu, H.; Katayama, A.; Hirose, S.; Kume, A.; Higashi, N.; Ogawa, S.; Otsuki, K. Reduction in soil water availability and tree transpiration in a forest with pedestrian trampling. *Agric. For. Meteorol.* **2007**, *146*, 107–114, doi:10.1016/j.agrformet.2007.04.014.

Ciapała, S.; Adamski, P.; Zielonka, T. Tree ring analysis as an indicator of environmental changes caused by tourist trampling—A potential method for the assessment of the impact of tourists. *Geochronometria* **2014**, *41*, 392–399, doi:10.2478/s13386-013-0170-1.



Salomón, R.; Lorenzo, Z.; Valbuena-Carabaña, M.; Nicolás, J.L.; Gil, L. Seed recalcitrant behavior of Iberian *Quercus*: A multispecies comparison. *Austrian J. For. Sci.* **2012**, *129*, 182–201.

Urbietta, I.R.; Pérez-Ramos, I.M.; Zavala, M.A.; Marañón, T.; Kobe, R.K. Soil water content and emergence time control seedling establishment in three co-occurring Mediterranean oak species. *Can. J. For. Res.* **2008**, *38*, 2382–2393, doi:10.1139/X08-089.

Quero, J.L.; Villar, R.; Perez-Ramos, I.M.; González-Rodríguez, V.; Urbietta, I.R.; Gómez-Aparicio, L.; Zavala, M.A.; Marañón, T.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Zamora, R.; et al. Implicaciones ecológicas del peso de semilla en especies del género *Quercus*. Evidencias en condiciones controladas y experimentos de campo. In *Proceedings of the 5º Congreso Forestal Español, Ávila, España*; S.E.C.F.-Junta de Castilla y León: Ávila, España, 2009.

Gómez, J.M. Bigger is not always better: Conflicting selective pressures on seed size in *Quercus ilex*. *Evolution* **2004**, *58*, 71–80, doi:10.1111/j.0014-3820.2004.tb01574.x.

Castro-Díez, P.; Puyravaud, J.P.; Cornelissen, J.H.C. Leaf structure and anatomy as related to leaf mass per area variation in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia* **2000**, *124*, 476–486, doi:10.1007/PL00008873.

Tyler, C.M.; Davis, F.W.; Mahall, B.E. The relative importance of factors affecting age-specific seedling survival of two co-occurring oak species in southern California. *For. Ecol. Manag.* **2008**, *255*, 3063–3074, doi:10.1016/j.foreco.2008.01.073.

Mendoza, E.; Dirzo, R. Seed tolerance to predation: Evidence from the toxic seeds of the buckeye tree (*Aesculus californica*; Sapindaceae). *Am. J. Bot.* **2009**, *96*, 1255–1261, doi:10.3732/ajb.0800297.

Puerta-Piñero, C.; Gómez, J.M.; Zamora, R. Species-specific effects on topsoil development affect *Quercus ilex* seedling performance. *Acta Oecol.* **2006**, *29*, 65–71, doi:10.1016/j.actao.2005.07.007.

Metcalf, D.J.; Grubb, P.J. The responses to shade of seedlings of very small-seeded tree and shrub species from tropical rain forest in Singapore. *Funct. Ecol.* **1997**, *11*, 215–221, doi:10.1046/j.1365-2435.1997.00070.x.

Fernández-Santos, B.; Moro, D.; Martínez-Ruiz, C.; Fernández, M.J.; Martín, F.J. Efectos del peso de la bellota y de la edad del árbol productor en las características regenerativas de *Quercus ilex* subsp. *ballota*. In *Avances en la Restauración de Sistemas Forestales. Técnicas de Implantación*; Martínez-Ruiz, C., Lario Leza, F.J., Fernández-Santos, B., Eds.; SECF-AEET: Madrid, Spain, 2013; pp. 198–202.

Alonso-Crespo, I.M.; Silla, F.; Jiménez del Nogal, P.; Fernández, M.J.; Martínez-Ruiz, C.; Fernández-Santos, B. Effect of the mother tree age and acorn weight in the regenerative characteristics of *Quercus faginea*. *Eur. J. For. Res.* **2020**, *139*, 513–523, doi:10.1007/s10342-020-01266-8.

Green, P.T.; Juniper, P.A. Seed mass, seedling herbivory and the reserve effect in tropical rainforest seedlings. *Funct. Ecol.* **2004**, *18*, 539–547.

Bossema, I. Jays and oaks: An eco-ethological study of a symbiosis. *Behaviour* **1979**, *70*, 1–117, doi:10.1163/156853979X00016.

Choler, P.; Michalet, R.; Callaway, R.M. Facilitation and competition on gradients in alpine plant communities. *Ecology* **2001**, *82*, 3295–3308.

Castro, J.; Zamora, R.; Hódar, J.A. Restoring *Quercus pyrenaica* forests using pioneer shrubs as nurse plants. *Appl. Veg. Sci.* **2006**, *9*, 137–142, doi:10.1111/j.1654-109X.2006.tb00663.x.

Wang, D.; Ba, L. Ecology of meadow steppe in northeast China. *Rangel. J.* **2008**, *30*, 247, doi:10.1071/RJ08005.

Madrigal-González, J.; García-Rodríguez, J.A.; Alarcos-Izquierdo, G. Testing general predictions of the stress gradient hypothesis under high inter-



and intra-specific nurse shrub variability along a climatic gradient. *J. Veg. Sci.* **2012**, *23*, 52–61, doi:10.1111/j.1654-1103.2011.01327.x.

Laliberté, E.; Bouchard, A.; Cogliastro, A. Optimizing hardwood reforestation in old fields: The effects of treeshelters and environmental factors on tree seedling growth and physiology. *Restor. Ecol.* **2008**, *16*, 270–280, doi:10.1111/j.1526-100X.2007.00270.x.

Moreno-Rodríguez, J.M. *Principales Conclusiones de la Evaluación Preliminar de los Impactos en España Por Efecto del Cambio Climático*; Departamento de Ciencias Ambientales, Universidad de Castilla-La Mancha (UCLM): Toledo, España, 2005; pp. 1–35.

Plieninger, T.; Rolo, V.; Moreno, G. Large-scale patterns of *Quercus ilex*, *Quercus suber*, and *Quercus pyrenaica* regeneration in Central-Western Spain. *Ecosystems* **2010**, *13*, 644–660, doi:10.1007/s10021-010-9345-2.





**APENDICE B.
POSTER.
XV Congreso Nacional de
la Asociación Española de
Ecología Terrestre,
PLASENCIA, 2021**

Análisis del efecto de *Cytisus multiflorus* y del tamaño de las bellotas sobre la emergencia y supervivencia de *Quercus ilex* y *Quercus pyrenaica*.



Roberto Díaz-Hernández^{1,2}, José Luis Vicente Villardón², Carolina Martínez-Ruiz^{3,4} and Belén Fernández-Santos^{1,*}

¹ Área de Ecología, Campus Miguel de Unamuno, Universidad de Salamanca, 37071 Salamanca, España; robdiagh@usal.es

² Departamento de Estadística, Universidad de Salamanca, 37071 Salamanca, España; villardon@usal.es

³ Área de Ecología, Universidad de Valladolid, Avda. Madrid 50, 34071 Palencia, España; caromar@agro.uva.es

⁴ Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible UVA-INIA (iUFOR), Universidad de Valladolid, 34071 Palencia, España

* Correspondencia: belenfs@usal.es

INTRODUCCIÓN

Cytisus multiflorus es una de las especies arbustivas dominante en las formaciones adherasadas que se encuentran en el centro oeste de la Península Ibérica, principalmente de *Q. pyrenaica* y *Q. ilex*. La regeneración de *Quercus* suele ser muy difícil en estas zonas, más aún con la presencia de ganado. Algunos estudios han detectado que los matorrales pueden facilitar la regeneración. Sin embargo, la fuerza de la interacción puede variar dependiendo, entre otros factores, de la especie de matorral y de la tolerancia al estrés de la especie de *Quercus*.

OBJETIVOS

I. Evaluar la influencia de *Cytisus multiflorus*, el tamaño de la bellota, y la exclusión de grandes herbívoros sobre la emergencia y supervivencia de plántulas de *Quercus* (*Q. pyrenaica* y *Q. ilex*) en los dos primeros años tras la siembra de bellotas.

II. Analizar las diferencias en la emergencia y supervivencia entre las especies de *Quercus* para los parámetros estudiados.

Emergencia

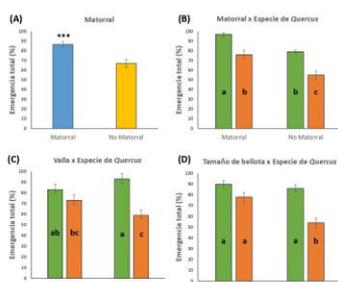


Fig 4. Emergencia de las plántulas en MV (izquierda) y en V sin matorral (derecha).

- Emergencia con matorral (M, MV) > sin matorral (A, V), tanto para *Q. ilex* como para *Q. pyrenaica*.
- Emergencia de *Q. ilex* > emergencia *Q. pyrenaica*.
- El tamaño de la bellota influye en la emergencia de *Q. pyrenaica*.

CONCLUSIONES

- C. multiflorus* tiene un claro efecto facilitador en la emergencia de *Q. ilex* y *Q. pyrenaica*. Esta especie de matorral tiene un efecto mayor que la exclusión física de grandes herbívoros. El tamaño de la bellota parece ser menos importante en presencia del matorral.
- En zonas donde predominan los árboles adultos de *Q. pyrenaica*, actualmente la emergencia de *Q. ilex* es mayor. La emergencia de *Q. pyrenaica* parece verse afectada si no está protegida contra grandes herbívoros, así como por las bellotas pequeñas. Esto puede ser indicativo del cambio a condiciones climáticas más xéricas que se está produciendo, lo que podría llevar a un cambio en la especie arbórea dominante en el futuro.

Agradecimientos: : Proyecto SA013G19 de la Junta de Castilla y León , D. Juan Miguel Gómez Cuadrado por la ayuda en campo

Área de estudio



Noroeste de Salamanca, España (Fig. 1):

Clima: Mediterráneo subhúmedo,

- Temperatura media anual: 12,4 °C.
- Precipitación anual: 550-650 mm.

Vegetación: formaciones adherasadas poco densas, de *Quercus pyrenaica* y *Quercus ilex*, preferentemente *Q. pyrenaica*. Estrato arbustivo dominado por *Cytisus multiflorus*.

Suelos: Oligotróficos, arenosos y ácidos (Cambisoles distrícticos).

RESULTADOS



Fig 4. Emergencia de las plántulas en MV (izquierda) y en V sin matorral (derecha).

Supervivencia

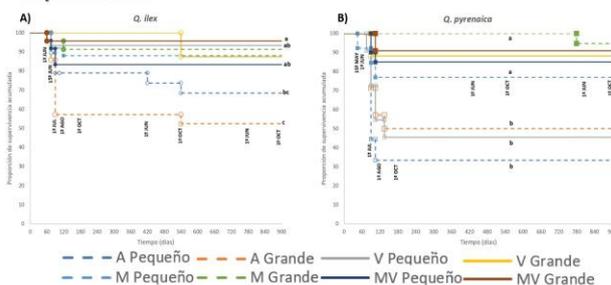


Fig 6. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier obtenidas para las plántulas procedentes de bellotas de cada especie (A: *Q. ilex*, B: *Q. pyrenaica*) en cada tratamiento (con tamaño) para todo el periodo estudiado. Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes según la prueba LogRank ($p < 0,05$).

- La principal caída en la supervivencia tiene lugar al comienzo del primer periodo seco.
- La disminución en la supervivencia es más pronunciada en los tratamientos sin matorral y para *Q. pyrenaica*.
- Las plántulas de *Q. pyrenaica* procedentes de bellotas grandes sobreviven más que las procedentes de bellotas pequeñas, excepto en MV.

