 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Índice

1. INTRODUCCIÓN
2. OBJETIVO
3. ALCANCE
4. DEFINICIONES
5. NORMATIVA
6. DESARROLLO
 - 6.1. Información secundaria
 - 6.1.1. *Importancia de la taxonomía biológica y la identificación taxonómica en los Estudios de Impacto Ambiental*
 - 6.1.2. *Importancia del diseño y esfuerzo de muestreo en Estudios de Impacto Ambiental*
 - 6.1.3. *Formulación del instrumento*
 - 6.2. Representatividad del muestreo a través de curvas de acumulación de especies y curvas de rarefacción con extrapolación
 - 6.3. Lineamientos generales para la estimación y evaluación de la representatividad a través de curvas
 - 6.4. Lineamientos clave para tener en cuenta en la elaboración de curvas de rarefacción con extrapolación
 - 6.5. Lineamientos clave para la interpretación de curvas de rarefacción-extrapolación
7. ANEXO
 7. 1. “Paso a paso para la ejecución de análisis de rarefacción / extrapolación con iNEXT-online”
 7. 2. “Paso a paso para la ejecución de análisis de rarefacción / extrapolación con iNEXT en R”
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Introducción

El presente Manual integra metodologías y lineamientos para orientar la estimación de la representatividad del muestreo de especies de flora silvestre en veda, para los grupos vasculares (bromelias y orquídeas) y no vasculares (briófitos y líquenes), en el contexto de los trámites de licencia, permiso, concesión o autorización ambiental y demás instrumentos de manejo y control ambiental.

Un muestreo adecuadamente representativo no solo permite establecer una línea base precisa de las condiciones biológicas existentes, sino que también facilita la valoración de impactos y la implementación de medidas de manejo y conservación efectivas para la biodiversidad y los ecosistemas.

Así mismo, se aborda la importancia del diseño y esfuerzo de muestreo; así como la utilidad y las diferencias entre las curvas de acumulación de especies y las curvas de rarefacción con extrapolación, siendo estas últimas una herramienta robusta para estimar la representatividad de muestreos a través de datos de abundancia y/o de frecuencia de la incidencia para estimar la representatividad con base en los números de Hill, el cual puede ser ejecutado en el programa iNEXT (iNterpolation and EXTrapolation), software creado a partir del trabajo original de Chao *et al.* (2014), el cual permite realizar análisis de representatividad o de cobertura y completitud de muestreos ecológicos, con base en la rarefacción y extrapolación de la diversidad de especies (Hsieh *et al.* 2016). Esta herramienta es útil para evaluar la representatividad con base en 3 tipos de curvas, lo cual permite realizar este análisis con base en la completitud, cobertura y tamaño de la muestra.

También se presenta un anexo con el paso a paso para la realización de curvas de rarefacción con extrapolación a través de iNEXT-online y de iNEXT a través del software R.


2. Objetivo

Estandarizar la metodología y establecer los lineamientos técnicos asociados al análisis de representatividad del muestreo para especies de flora silvestre en veda vascular (bromelias y orquídeas) y no vascular (briófitos) y líquenes.

3. Alcance

Aportar lineamientos para la estimación y evaluación de la representatividad del muestreo de las especies de flora silvestre en veda nacional, vascular y no vascular, en el marco de la solicitud de trámites o permisos ambientales.

Está dirigido a solicitantes de licencias, permisos, concesiones, autorizaciones ambientales y demás instrumentos de manejo y control

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

ambiental, así como a profesionales bióticos de la ANLA.

4. Definiciones

Abundancia:Número de individuos de una especie que viven en un hábitat. La abundancia varía tanto en tiempo como en espacio (Krebs, 2008). La abundancia aplica como medida para el caso de las bromelias y orquídeas, en los cuales se pueden identificar y contar los individuos epífitos o terrestres.

Biodiversidad:Es la variabilidad de organismos vivos de cualquier fuente, incluidos, entre otras cosas, los ecosistemas terrestres y marinos; comprende la variación dentro de cada especie, entre las especies y los ecosistemas. (Villareal et al., 2006).

Cobertura de la muestra:Es la proporción de individuos que pertenecen a las especies observadas en una muestra, es una métrica utilizada para medir la integridad de una muestra. (Chun-Huo Chiu, 2023); en otras palabras, es la proporción del número total de individuos en la comunidad que pertenecen a las especies que han sido representadas en la muestra. Se utiliza como la medida clave de la completitud del muestreo en el análisis de rarefacción y extrapolación (R/E) basado en cobertura en el software iNEXT.

Completitud de la muestra:De acuerdo con Chao et al. 2014, es el grado o nivel en que la muestra ha capturado la diversidad total de la comunidad. Es un concepto más amplio y cualitativo que la cobertura de la muestra. En el contexto de la rarefacción basada en cobertura, la cobertura de la muestra es la medida que se utiliza para cuantificar el grado de completitud.

Esfuerzo de muestreo:Intensidad de trabajo invertido para obtener los datos en un muestreo (e. g. 3 muestreos de 0,1 ha, 3 transectos de 500 m por semana, 6 horas/red/noche) (Villareal et al., 2006).

Especie en veda:Especie vegetal a la cual se le ha aplicado una restricción o regulación legal sobre su uso, aprovechamiento y movilización en un territorio determinado. De acuerdo al IAvH 2022, se define como una especie en amenaza de extinción, cuyo aprovechamiento ha sido prohibido en forma transitoria o permanente. La veda se define como una prohibición legalmente establecida que puede aplicarse a áreas, especies de flora y fauna, y a sus productos en cualquier forma de procesamiento. Dicha prohibición cubre actividades como la comercialización, el almacenamiento o la exportación, y su finalidad principal es la preservación y protección de estos recursos. Esta medida debe estar respaldada por mecanismos de control que aseguren su cumplimiento (Decreto 1076 de 2015).

Extrapolación:Método matemático que permite predecir o estimar valores fuera del rango de los datos conocidos, basándose en patrones observados dentro de ese rango.

Frecuencia de la incidencia:Proporción de unidades de muestreo (como cuadrantes, parcelas, forófitos etc.) en las que una especie vegetal específica está presente.

iNEXT:(Interpolation and Extrapolation). Paquete estadístico diseñado para estimar y visualizar la diversidad biológica, específicamente la riqueza de especies y otros índices de diversidad. (Chao et. al., 2024).

Intensidad de muestreo:Se refiere a la proporción o al número de unidades de muestreo (como parcelas o sitios de medición) que se deben tomar con respecto al área total o población bajo estudio.

Interpolación:Método matemático para estimar valores desconocidos entre dos o más valores conocidos. Se utiliza para encontrar valores intermedios en una secuencia de datos, ajustando funciones a los puntos conocidos.

Muestreo:Acción de seleccionar y obtener muestras con un método definido. (Villareal et al., 2006).


Rarefacción:Relación entre el número de especies y el número de individuos en una o más muestras (Stevens, 2009).

Representatividad de muestreo: Una muestra representativa se refiere a un subconjunto de datos que refleja con precisión las características de la población general de la que se extrae. Permite realizar inferencias sobre la población a partir de la muestra, suponiendo que esta es similar al resto de la población. (Choh, 2011).

Riqueza:Número total de especies presentes en un ensamblaje (Chao et al. 2014).

5. Normativa

Tipo	Número	Fecha	Epígrafe	Artículos
Resolución	0213	01-02-1977	Por la cual se establece veda para algunas especies y productos de la flora silvestre, declara la veda en todo el territorio nacional para el aprovechamiento, transporte y comercialización de estos grupos, y las declara como plantas y productos protegidos. Se exceptúan de la veda los arbustos, arbolitos, cortezas, ramajes y demás productos de los cultivos de flores y de plantas explotadas comúnmente como ornamentales, procedentes de plantaciones artificiales en tierras de propiedad privada. Especies de flora silvestre en veda: Musgos, líquenes, lamas, parásitas, quiches y orquídeas, así como lama, capote y broza y demás especies y productos herbáceos o leñosos como arbolitos, cortezas y ramajes que constituyen parte de los hábitats de tales especies.	Todos los artículos

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Tipo	Número	Fecha	Epígrafe	Artículos
Decreto	2106	22-11-2019	Por el cual se dictan normas para simplificar, suprimir y reformar trámites, procesos y procedimientos innecesarios existentes en la administración pública. Parágrafo 2 del artículo 125. Las autoridades ambientales impondrán las condiciones y medidas de conservación de especies vedadas directamente en la licencia, permiso, concesión o autorización ambiental, por lo anterior, no se requerirá adelantar el trámite de levantamiento parcial de veda. Parágrafo transitorio. (...) las autoridades ambientales competentes establecerán las medidas a que haya lugar para garantizar la conservación de estas especies. Especies de flora silvestre en veda: Aplica para todas las especies en veda a nivel nacional o regional.	Todos los artículos
Circular	NA	09-12-2019	“Metodología para la caracterización de especies de flora en veda”, expedida por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Su Anexo contiene la metodología y los lineamientos técnicos para la caracterización, censo, manejo y conservación de especies de flora silvestre en veda en Colombia, detallando protocolos para el muestreo de especies vasculares, no vasculares, arbóreas y helechos arborescentes. Además, define medidas in situ y ex situ para dar manejo a impactos, incluyendo rescate, reubicación, restauración y monitoreo de especies afectadas, todo ello en concordancia con la normativa vigente, buscando garantizar la protección efectiva de estas especies durante el desarrollo de proyectos, obras o actividades que requieran licencia o permiso ambiental.	Todos los artículos
Decreto	690	24-06-2021	Por el cual se adiciona y modifica el Decreto Único Reglamentario 1076 de 2015, del sector de Ambiente y Desarrollo Sostenible, en lo relacionado con el manejo sostenible de la flora silvestre y los productos forestales no maderables, y se adoptan otras determinaciones. Fijar condiciones para el manejo, beneficio, aprovechamiento y movilización de especies en veda, con imposición de medidas de conservación, en todo trámite ambiental relacionado. Especies de flora silvestre en veda: Especies de flora silvestre y de productos forestales no maderables.	Todos los artículos

6. Desarrollo

6.1 Información secundaria

6.1.1 Importancia de la taxonomía biológica y la identificación taxonómica en los Estudios de Impacto Ambiental

La taxonomía proporciona un marco sistemático para la identificación y clasificación de las especies presentes en un área determinada. Conocer las especies que están presentes en un territorio por medio de su identificación taxonómica, es crucial para determinar qué organismos pueden ser afectados por una actividad humana o un proyecto específico (Smith *et al.* 2022).

Por su parte, la biodiversidad es un componente clave de los ecosistemas y su pérdida o alteración puede tener consecuencias graves (Díaz & Malhi, 2022). La taxonomía permite evaluar la diversidad biológica en un área de estudio, lo que proporciona información sobre la salud y la estabilidad del ecosistema. Además, antes de llevar a cabo un proyecto o actividad que pueda tener impactos ambientales, es importante establecer una línea de base que describa las condiciones ambientales y biológicas existentes en el área de influencia (Seddon *et al.* 2021).

Una vez identificados los posibles impactos, se debe tener en cuenta la identificación taxonómica de las especies objeto de estudio para diseñar estrategias de mitigación y conservación que ayuden a reducir los efectos negativos sobre la biodiversidad y los ecosistemas afectados (Seddon *et al.* 2021; Díaz & Malhi, 2022).

Las metodologías que se proponen en el presente manual están basadas en la determinación taxonómica a nivel de especie, y en esta medida, el conocimiento taxonómico de los diferentes grupos biológicos estudiados, debe ser un componente fundamental en la labor de los profesionales bióticos de la entidad, así como por parte de los profesionales que realizan los estudios florísticos, para que la información básica primaria obtenida en los estudios ambientales de las especies de flora silvestre en veda que entregan los usuarios garantice la recolección de información valiosa para la toma de decisiones en el proceso de evaluación de licencia ambiental.


6.1.2 Importancia del diseño y esfuerzo de muestreo en Estudios de Impacto Ambiental

La ANLA, como Autoridad ambiental, evalúa, impone medidas de manejo y realiza seguimiento de forma exhaustiva al componente biótico, particularmente sobre especies de flora silvestre que, de acuerdo a la normativa, cuentan con una figura de protección, por lo tanto, en el Estudio de Impacto Ambiental se debe analizar la diversidad potencial que puede ser afectada por el Proyecto, Obra y/o Actividad - POA.

En el caso particular de estas especies, por sus características ecológicas y fisiológicas, los muestreos tienen un grado de complejidad cuando se realizan en diversidad de ecosistemas, por lo cual es importante la planificación del diseño del muestreo, dónde se sugiere llevar a cabo una revisión paralela a las actividades de campo, para tomar decisiones en la recolección de datos necesarios para lograr una representatividad del muestreo, que finalmente repercuta en una información de calidad para valorar los impactos sobre estas especies de flora silvestre en veda y de esta manera evaluar cuáles son las medidas de manejo más apropiadas.

De esta manera surgen las preguntas ¿Qué constituye un muestreo representativo? ¿Cómo podemos determinar si nuestra muestra ha capturado la mayoría de las especies?

Las curvas de acumulación son herramientas clave en la ecología y en otras disciplinas para estimar la riqueza de especies y evaluar la diversidad biológica en un ecosistema. Su aplicación permite comprender la relación entre el esfuerzo de muestreo y el número de

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

especies identificadas (Colwell *et al.* 2004).

Una forma de evaluar el éxito del muestreo es mediante la elaboración de una curva de acumulación de especies (Chao & Jost, 2012; Chao *et al.* 2014). Idealmente, esta curva debería ascender rápidamente con pocas muestras, para luego estabilizarse a medida que se incrementa el muestreo y se logra capturar la mayor parte de la diversidad de un lugar determinado.

La riqueza de especies, definida como el número total de especies en una comunidad, es una medida fundamental para evaluar la biodiversidad y es utilizada en diversos modelos de acumulación. No obstante, su uso presenta un problema clave: su dependencia del tamaño muestral. Según Magurran (2004) y Chao *et al.* (2014), un esfuerzo de muestreo insuficiente puede llevar a la subestimación de la verdadera riqueza, ya que es muy probable que no se detecten especies raras. Además, esta medida no considera la abundancia relativa de las especies, asignando la misma importancia a especies raras y comunes. Esto puede ser problemático al evaluar la diversidad en términos de sus funciones ecológicas, donde las especies raras podrían tener un impacto menor en el ecosistema. Por lo tanto, aunque la riqueza es una métrica intuitiva y simple, su sensibilidad al muestreo y su incapacidad para reflejar la abundancia relativa limitan su utilidad como única medida de la diversidad.

Existen diversos modelos que generan estas curvas, como el modelo básico de acumulación de especies que representa gráficamente cómo aumenta el número total de especies observadas a medida que se incrementa el esfuerzo de muestreo en una determinada área o hábitat. Otros métodos alternativos sugieren una acumulación repetida en un orden aleatorio (Oksanen, 2015).

Aunque el diseño experimental está pensado para estandarizar el esfuerzo muestral, los tamaños finales muestrales difícilmente son iguales. Esto representa un inconveniente, ya que muestreos en principio del mismo tamaño, podrían capturar números significativamente diferentes de individuos. Por tal razón, se han propuesto algunos estimativos de diversidad como Margalef y Menhinick para contrarrestar estos efectos, pero ajustarlos ha demostrado ser insuficiente (Magurran, 2004).

Dada esta situación, Chao *et al.* (2014) propusieron un marco unificado para la estimación de la diversidad biológica utilizando números de Hill, una familia de índices de diversidad que integran la riqueza de especies y sus abundancias relativas. El uso de números de Hill ofrece una manera coherente de medir la diversidad considerando especies raras y comunes, mejorando así la precisión de las estimaciones, por medio del parámetro “q”.

Este determina el peso que se le da a las especies raras o comunes en el cálculo de la diversidad, y se relaciona de la siguiente manera:

- q = 0:** Riqueza de Especies (todas cuentan igual)
- q = 1:** Diversidad de Shannon (pondera la abundancia)
- q = 2:** Diversidad de Simpson (enfatisa en la dominancia)

El uso de números de Hill permite generalizar la rarefacción por medio del método de interpolación y la extrapolación (predicción) para cualquier orden q, integrando en un solo marco los conceptos de riqueza de especies, diversidad de Shannon y diversidad de Simpson.

A partir de los números de Hill, los autores proponen analizar la diversidad de especies considerando dos tipos principales de datos:

- **Datos basados en abundancia** (individuales): Este método asume que se toma una muestra de n individuos de un ensamblaje con S especies totales. Se utiliza un modelo multinomial para estimar la probabilidad de detección de cada especie según su abundancia relativa en el ensamblaje.
- **Datos basados en incidencia:** Se manejan dos tipos de datos de incidencia:
 - * **Incidencia sin procesar o presencia/ausencia:** o "incidence raw" en inglés. Por ejemplo: 1 o 0, en el caso de manejar varios conjuntos de datos.
 - * **Frecuencia de la incidencia:** también llamados "incidence frequency" en inglés. Hace referencia al número de veces que aparece una especie en una unidad muestral. Por ejemplo: Cantidad de forófitos en los que aparece una especie.

Es importante tener en cuenta que el manejo de los datos de abundancia e incidencia tienen algunas diferencias, y que en el **Anexo** del presente Manual se presentan las especificaciones sobre el manejo de datos de estos dos tipos de datos para la ejecución de los análisis.


Los resultados muestran que:

- Los números de Hill son precisos tanto para rarefacción como para extrapolación a corto plazo.
- Para extrapolaciones a largo plazo, la precisión disminuye a medida que aumenta el rango de extrapolación y depende del orden q. Los estimadores funcionan mejor para q = 1 y q = 2 que para q = 0.
- La rarefacción y extrapolación basadas en cobertura de la muestra, proporcionan estimaciones más robustas que los métodos basados únicamente en el tamaño de la muestra.
- Las curvas generadas permiten comparar la diversidad entre ensamblajes diferentes de manera efectiva y consistente.

Chao *et al.* 2014, concluyen que la unificación de métodos de rarefacción / extrapolación bajo este enfoque, permiten realizar estimaciones más precisas y consistentes incluso cuando se trabaja con muestras incompletas o desiguales.

De acuerdo con los autores, el enfoque basado en cobertura y completitud de la muestra es más robusto que simplemente basarse en el tamaño de la muestra, especialmente cuando hay muchas especies raras presentes, mejorando significativamente la precisión de las estimaciones. De esta manera concluyen que los métodos desarrollados proporcionan herramientas poderosas para la comparación de la diversidad en múltiples ensamblajes y pueden ser aplicados en estudios ecológicos y de conservación a gran escala.

Actualmente, la herramienta ampliamente utilizada para realizar estos tipos de análisis es el programa iNEXT

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

(iNterpolation/EXTrapolation), diseñado para estimar y comparar la diversidad de especies utilizando el marco conceptual de los números de Hill. Este método se ha vuelto popular por su capacidad para proporcionar estimaciones intuitivas y rigurosas que integran tanto la riqueza de especies como su abundancia relativa (Hsieh & Chao, 2016).

Este software contiene métodos estandarizados para realizar curvas de rarefacción con extrapolación basadas en el tamaño y en la cobertura de la muestra, lo que permite comparar múltiples conjuntos de datos con diferentes tamaños de muestra o grados de completitud (Hsieh & Chao, 2016).

De acuerdo a los autores, el paquete iNEXT tiene aplicaciones en diversas áreas como:

- Análisis no asintótico: Comparación de diversidades bajo tamaños de muestra iguales o niveles de cobertura iguales.
- Análisis asintótico: Estimación de diversidades verdaderas mediante modelos teóricos.
- Evaluación de la cobertura muestral: Determinación de qué tan completas son las muestras recolectadas.
- Comparación de diversidades puntuales: Evaluaciones específicas para un tamaño de muestra o cobertura definida.

Su enfoque permite realizar análisis detallados y objetivos al utilizar todos los datos disponibles, evitando la pérdida de información al estandarizar tamaños de muestra. Además, la interfaz gráfica simple y amigable facilita la visualización e interpretación de resultados (Hsieh & Chao, 2016).

Se resalta que en el presente Manual se propone el uso de iNEXT para la estimación de la representatividad a través del análisis de rarefacción con extrapolación como una posibilidad que se encuentra disponible actualmente de manera gratuita, pero su uso no es de carácter restrictivo.

6.1.3 Formulación del instrumento

Para la formulación del presente instrumento se realizó la revisión del componente de flora silvestre en veda en Estudios de Impacto ambiental asociados a proyectos de diferentes sectores, en donde se verificó la forma, calidad y representatividad de los muestreos reportados a la Autoridad; en el marco de la formulación, también se realizaron talleres internos sobre representatividad de muestreo durante los años 2024 y 2025.

Algunas conclusiones que se tuvieron en cuenta a partir de estos espacios fueron:

- La necesidad de tener en cuenta la autoecología y la taxonomía de los diferentes grupos biológicos a emplear para complementar los análisis ecológicos, puesto que cada especie tiene una historia natural totalmente diferente la cual no fue tomada en cuenta en todos los EIA analizados, lo que puede conducir a una mala interpretación biológica de los resultados obtenidos.
- Es fundamental contar con una unidad de muestreo definida para los análisis ecológicos. Dicha unidad debe incluir un diseño de muestreo (experimental) preestablecido para evitar sesgos en las muestras. De esta manera, se garantiza un tamaño muestral óptimo y significativo que permita la correcta implementación de los análisis ecológicos, considerando siempre el grupo biológico que se esté estudiando. Actualmente existen diferentes metodologías disponibles en la literatura científica, las cuales pueden servir como referencia.
- Se recomienda realizar los análisis para estimar la representatividad de muestreo en plantas No vasculares (briófitos) y líquenes, con datos basados en frecuencia de la incidencia por especie, en lugar de datos de abundancia, ya que el algoritmo asume la información de abundancia como número de individuos, lo cual no aplicaría para este grupo biológico, ya que crecen en colonias o agregados. Por lo tanto, incluir este dato a manera de individuos o cobertura, podría generar errores de cálculo e interpretación.

6.2 Representatividad del muestreo a través de curvas de acumulación de especies y curvas de rarefacción con extrapolación

Curvas de acumulación de especies


De acuerdo con Villareal *et al.*, 2006, las curvas de acumulación de especies se utilizan para estimar el número de especies esperadas a partir de un muestreo. Muestra cómo el número de especies se va acumulando en función del número acumulado de muestras. Es útil al momento de tener un problema de submuestreo, pues los valores extrapolados o la riqueza esperada se puede utilizar como una medida de la diversidad alfa.

Según Villareal *et al.* (2006), la evaluación principal de los datos obtenidos de las curvas de acumulación radica en determinar si se ha muestreado la mayoría de las especies de los grupos de estudio. El método más eficiente para verificar este logro es precisamente mediante el uso de curvas de acumulación de especies.

Entre los programas sugeridos por Villareal *et al.*, 2006 y la MGEPEA, 2018 para la elaboración de curvas de acumulación de especies, se destaca el programa EstimateS, en su versión más reciente a la fecha 9.1, disponible en internet para descarga en la dirección URL: <https://www.robertkcolwell.org/pages/1407-estimates>.

El programa EstimateS es una herramienta útil para realizar curvas de acumulación y estimaciones de la riqueza esperada de acuerdo con modelos. Este programa toma los datos provenientes de un sistema de muestreo estandarizado, aleatoriza toda la información y realiza cálculos del número de especies observado y esperado utilizando estimadores y considerando las desviaciones estándar provenientes del proceso de aleatorización (Villareal *et al.*, 2006).

Una curva de acumulación de especies representa gráficamente la forma como las especies van apareciendo en las unidades de muestreo, o de acuerdo con el incremento en el número de individuos. Es por esto que, en una gráfica de curvas de acumulación, el eje

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Y es definido por el número de especies acumuladas y el X por el número de unidades de muestreo o el incremento del número de individuos. Cuando una curva de acumulación es asintótica indica que, aunque se aumente el número de unidades de muestreo o de individuos censados, es decir, aumente el esfuerzo, no se incrementará el número de especies (Villareal *et al.*, 2006). Este sería un caso de muestreo considerado como ideal.

Sin embargo, de acuerdo con (Villareal *et al.*, 2006) cuando un muestreo no es ideal, es posible usar modelos de acumulación para determinar qué tan completo es el muestreo y cuántas especies más podrían haberse encontrado.

Los estimadores empleados en EstimateS son:

- **MMMean:** Es un estimador cuya curva asintótica es muy similar a la producida a partir de los datos observados.
- **CHAO 1, ACE y Cole:** Son estimadores que se utilizan cuando se obtiene abundancia, siendo CHAO1 es el más riguroso.
- **CHAO 2, ICE, Jackknife 1, Jackknife 2 y Bootstrap:** Son Estimadores que se utilizan cuando sólo se dispone de datos de presencia-ausencia. De este conjunto de estimadores, CHAO 2 es el más riguroso y menos sesgado para muestras pequeñas. Estos se basan principalmente en el número de especies de un muestreo que sólo están representadas por uno o dos individuos, en el caso de abundancias (se denominan singletons y doubletons en el programa), o que se registraron en una o dos muestras, en caso de utilizar presencia-ausencia (uniques y duplicates).

Lo anterior se basa en el supuesto de que en la naturaleza no existen individuos solos, sino poblaciones; por ende, si nosotros tenemos muchos singletons o uniques en un muestreo, indica que no se ha censado un número suficiente de individuos o realizado suficientes repeticiones.

Es así como Villareal *et al.*, 2006, describe que, una vez procesados los datos de un muestreo en este programa, se obtienen datos de número de especies observadas de acuerdo con el muestreo, denominados (Sobs); número de especies representadas por uno o dos individuos (singletons, doubletons); número de especies representadas solo en una o dos muestras (uniques, duplicates); los valores esperados de la riqueza de los diferentes estimadores (ICE, ACE, CHAO 1 y 2, Jack 1 y 2, Bootstrap, MMRuns, MMMean y Cole); y la desviación estándar de cada columna producto de la aleatorización (terminados en _SD). Con base en esta información, se puede realizar una gráfica con los valores de la riqueza observados y esperados.

Según Villareal *et al.* 2006, aunque los valores esperados que generan los estimadores se pueden emplear como medidas de la diversidad alfa, se pueden usar también para determinar cuán eficaz ha sido el muestreo realizado. En este contexto, se utiliza la información de los estimadores para conocer qué porcentaje de las especies esperadas se han colectado en el muestreo; Si las curvas nos indican que obtuvimos más del 85% de las especies esperadas en un sitio de muestreo, es posible realizar este tipo de análisis.

En lo posible no se debe utilizar un solo estimador para comparar con los valores observados, sino tratar de revisar la tendencia de varios estimadores. Si los valores del conjunto de estimadores se comportan de forma muy similar y presentan valores cercanos a los observados, con seguridad se ha obtenido un buen muestreo. La curva de los 'singletons o uniques', es también un buen indicador de la representatividad del muestreo. Cuando estas curvas son asintóticas o tienden a descender, indican que se ha logrado un buen muestreo (Villareal *et al.*, 2006).

Curvas de rarefacción con extrapolación

Una curva de rarefacción con extrapolación es una herramienta estadística que se utiliza en ecología para estimar la riqueza de especies (el número total de especies) de una comunidad biológica, incluso cuando el muestreo no es completo.

Esta técnica se divide en dos partes:

- **Rarefacción** (basada en el método de interpolación): La primera parte de la curva, generalmente representada por una línea sólida, muestra la relación entre el número de muestras o individuos recolectados y el número de especies que se han encontrado hasta ese momento.
- **Extrapolación:** Esta es la parte de la curva que va más allá de los datos reales recolectados, a menudo mostrada como una línea punteada. Utilizando modelos matemáticos, estima el número de especies que probablemente se encontrarían si el muestreo continuara, proporcionando una idea de la riqueza total de especies en el área estudiada.

En otras palabras, la rarefacción nos dice cuántas especies se han encontrado con un esfuerzo de muestreo actual, mientras que la extrapolación te ayuda a predecir cuántas más se podrían encontrar.

De acuerdo con Colwell *et al.* (2004), a menudo es deseable estimar el número de especies que se encontrarían (o se habrían encontrado) tomando muestras adicionales de un conjunto. La extrapolación tiene muchos usos posibles, incluyendo la asignación informada de tiempo y recursos limitados, el análisis de datos históricos para los que no es posible realizar más muestreos, o la necesidad de ampliar estadísticamente conjuntos de muestras más pequeñas para compararlas con otras más grandes.

Diferencias entre curvas de acumulación y curvas de rarefacción con extrapolación

En cuanto a las diferencias entre las curvas de acumulación de especies y las de rarefacción, es importante tener en cuenta que, en las curvas de acumulación de especies el resultado puede variar dependiendo del orden de los datos de entrada, lo que puede modificar sustancialmente los resultados. En el caso de las curvas de rarefacción, el orden no afecta el resultado, y es posible realizar la extrapolación y la estandarización de los tamaños de las muestras. También es posible obtener intervalos de confianza para un análisis más completo de la representatividad y son útiles para visualizar y cuantificar el progreso del muestreo. Ver Tabla 2.


 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Tabla 2. Diferencias clave entre curvas de acumulación de especies vs curvas de rarefacción/extrapolación

Característica	Curvas de acumulación de especies	Curvas de rarefacción/extrapolación
¿El orden del muestreo importa?	Sí	No (permite estimación ajustada)
¿Permite extrapolación?	No (normalmente no)	Sí
¿Estandariza el esfuerzo?	No	Sí
¿Muestra completitud del muestreo?	Sí (visualmente)	Sí (de forma cuantitativa)
¿Incorpora error/intervalos?	No (usualmente)	Sí

Fuente: Grupo de Biodiversidad ANLA, 2025

6.3 Lineamientos generales para la estimación y evaluación de la representatividad a través de curvas de acumulación de especies y curvas de rarefacción con extrapolación

Para estimar la representatividad es importante realizar una evaluación integral, que incluya además de los siguientes aspectos, los criterios en términos de porcentaje y en términos gráficos descritos en la Figura 1.

- Describir de manera detallada el diseño de muestreo para cada grupo biológico.
- Especificar cuál fue la intensidad de muestreo para cada cobertura-bioma (ecosistema).
- Realizar curvas por separado para los grupos vasculares y no vasculares, de acuerdo con el tipo de hábito, para cada cobertura-bioma (ecosistema), de acuerdo a la Tabla 3.

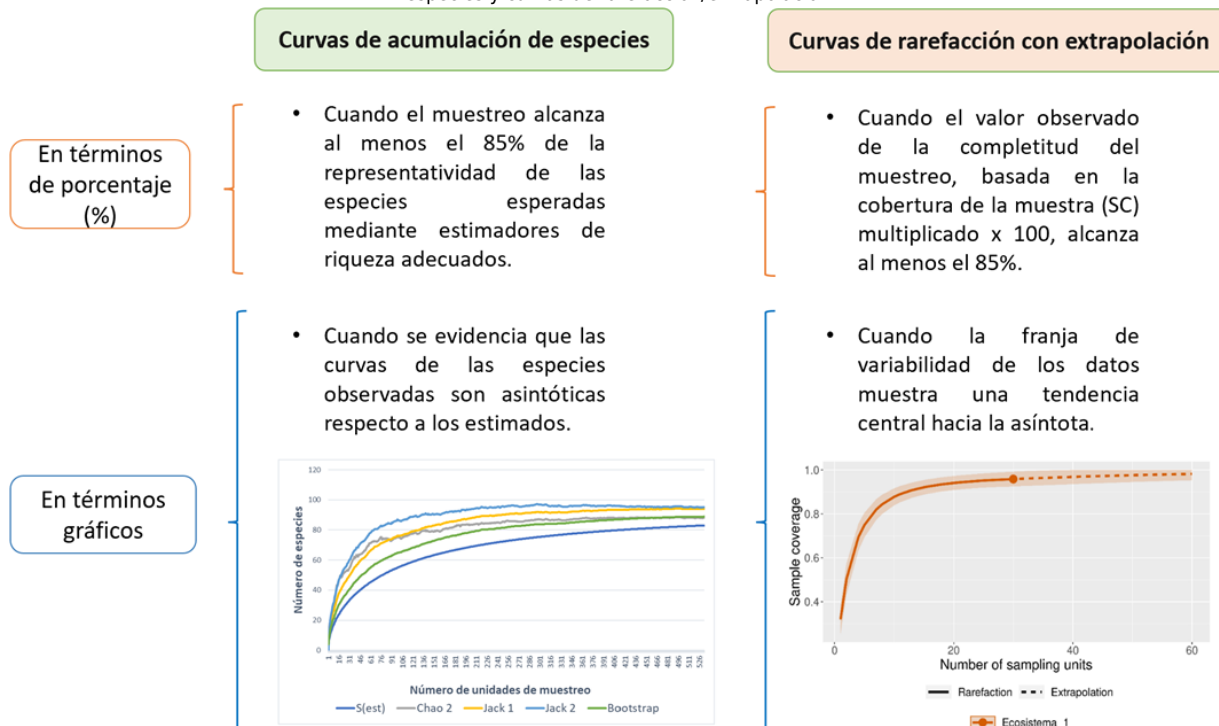
Tabla 3. Estimación de la representatividad por grupos biológicos y ecosistemas

Cobertura-bioma	Hábito	Vascular	No Vascular
Ecosistema 1	Epífito	Bromelias y orquídeas	Briófitos y Líquenes
	Terrestre y rupícola		
Ecosistema 2	Epífito		
	Terrestre y rupícola		

Fuente: Grupo de Biodiversidad ANLA, 2025

- Para el análisis de acumulación de especies el uso de los estimadores se realiza de acuerdo con el tipo de datos que se están analizando con base en la literatura científica. De acuerdo a Villareal *et al.* (2006), se utilizan CHAO 1, ACE y Cole para datos de abundancia, y CHAO 2, ICE, Jackknife 1, Jackknife 2 y Bootstrap para datos de presencia ausencia.
- Para el análisis de rarefacción con extrapolación, el estimador por defecto corresponde a los Números de Hill con el correspondiente parámetro q. Se sugiere presentar los resultados para q=0, q=1 y q=3. Se debe tener en cuenta que el q=0 es el menos exigente.
- Cuando en los ecosistemas que sean sujetos de muestreo no se observen especies en veda, se debe realizar en todo caso el muestreo, incluyendo coordenadas de los puntos, el registro fotográfico y el registro del dato en cero (0).
- Se considera que el muestreo es representativo si cumple con los criterios descritos en la Figura 1.

Figura 1. Criterios para identificar la representatividad en un muestreo de flora silvestre en veda para curvas de acumulación de especies y curvas de rarefacción/extrapolación



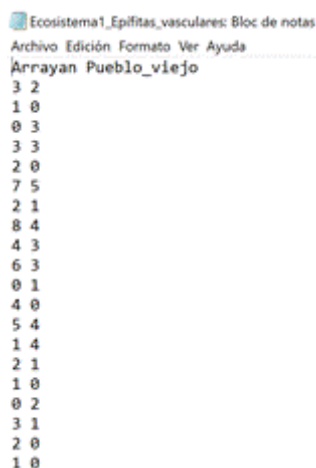
Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, 2025

6.4 Lineamientos clave para tener en cuenta en la elaboración de curvas de rarefacción con extrapolación

Además de tener en cuenta los lineamientos generales del numeral 7.3, es importante tener en cuenta los aspectos contemplados en las Figuras 2 a 4, las cuales se presentan a continuación. Para mayor detalle sobre la ejecución de los análisis de rarefacción con extrapolación, se puede consultar el **Anexo** del presente Manual.

- Adjuntar las matrices de entrada en formato .txt (Figura 2)

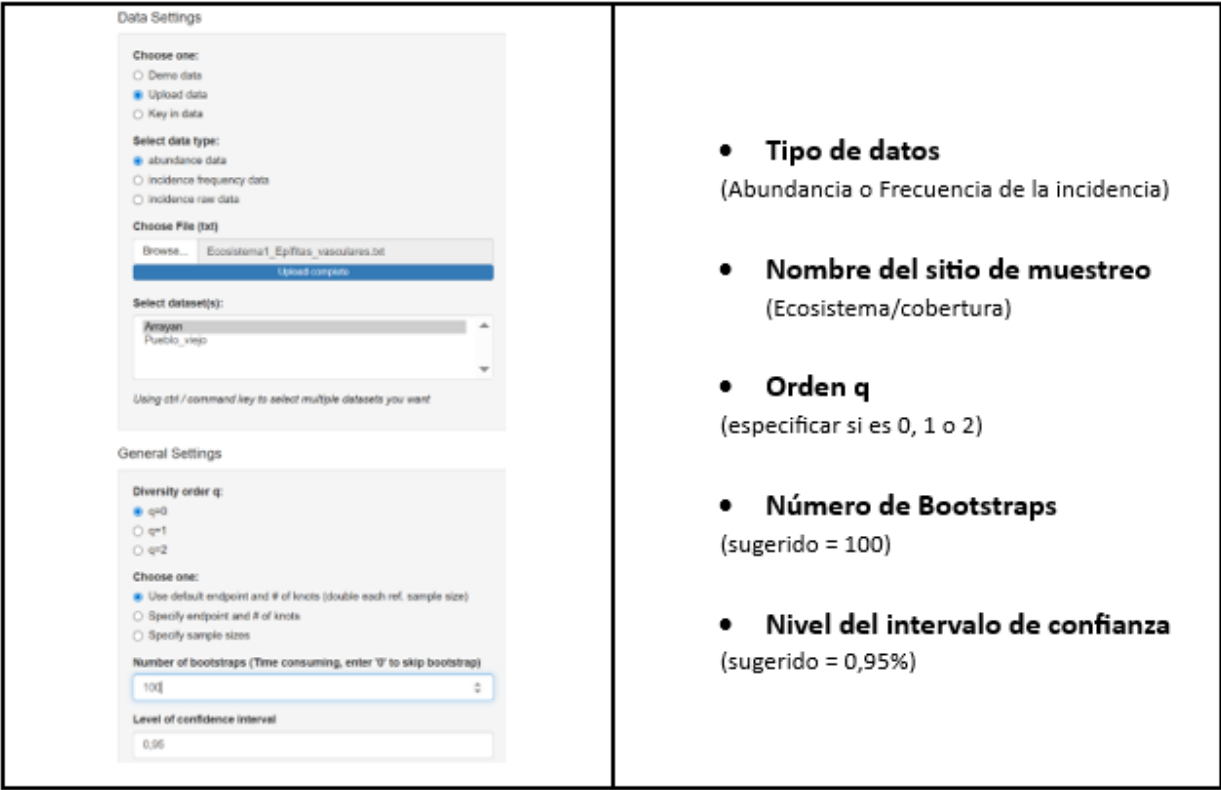
Figura 2. Formato de matrices de entrada



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA

- Los parámetros base usados en el programa (Figura 3)

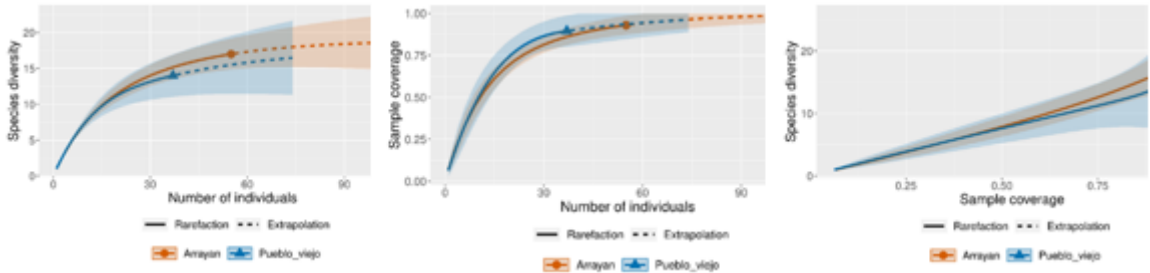
Figura 3. Especificación de parámetros de entrada en la interfaz de inicio del programa



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

- Las 3 curvas que genera el programa para cada análisis de acuerdo con la Tabla 3, en formato PNG o en la salida gráfica que provea el programa (Figura 4). Para más información, ver el numeral 7.5.

Figura 4. Tipos de curvas derivadas del análisis de rarefacción/extrapolación



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

- La tabla de datos de rarefacción y extrapolación

Se sugiere presentar en forma de salida gráfica y en el formato CSV que ofrece el programa como se muestra en la Figura 5. Es importante tener en cuenta que el programa genera dos tipos de salida de datos, un tipo basado en cobertura del muestro (Coverage-based), y el otro basado en el tamaño muestral (Size-based).

Figura 5. Salida gráfica de datos en iNEXT

Rarefaction and Extrapolation								Rarefaction and Extrapolation									
Select base:								Select base:									
Coverage-based								Size-based									
Assemblage	SC	m	Method	Order.q	qD	qD.LCL	qD.UCL	Assemblage	m	Method	Order.q	qD	qD.LCL	qD.UCL	SC	SC.LCL	SC.UCL
Arrayan	0.067	1	Rarefaction	0	1.00	0.95	1.05	Arrayan	1	Rarefaction	0	1.00	1.00	1.00	0.067	0.044	0.09
Arrayan	0.185	3	Rarefaction	0	2.81	2.14	3.47	Arrayan	3	Rarefaction	0	2.81	2.74	2.87	0.185	0.132	0.239
Arrayan	0.332	6	Rarefaction	0	5.10	3.97	6.22	Arrayan	6	Rarefaction	0	5.10	4.85	5.34	0.332	0.259	0.404
Arrayan	0.447	9	Rarefaction	0	6.98	5.53	8.43	Arrayan	9	Rarefaction	0	6.98	6.51	7.45	0.447	0.372	0.522
Arrayan	0.539	12	Rarefaction	0	8.54	6.86	10.22	Arrayan	12	Rarefaction	0	8.54	7.85	9.23	0.539	0.469	0.609
Arrayan	0.612	15	Rarefaction	0	9.85	8.00	11.70	Arrayan	15	Rarefaction	0	9.85	8.97	10.73	0.612	0.549	0.675
Arrayan	0.67	18	Rarefaction	0	10.95	8.98	12.92	Arrayan	18	Rarefaction	0	10.95	9.90	12.00	0.67	0.614	0.726
Arrayan	0.717	21	Rarefaction	0	11.89	9.82	13.96	Arrayan	21	Rarefaction	0	11.89	10.70	13.08	0.717	0.666	0.769
Arrayan	0.756	24	Rarefaction	0	12.70	10.54	14.86	Arrayan	24	Rarefaction	0	12.70	11.39	14.01	0.756	0.707	0.804
Arrayan	0.787	27	Rarefaction	0	13.40	11.15	15.65	Arrayan	27	Rarefaction	0	13.40	11.99	14.81	0.787	0.74	0.835
Arrayan	0.814	30	Rarefaction	0	14.01	11.66	16.37	Arrayan	30	Rarefaction	0	14.01	12.51	15.51	0.814	0.766	0.861
Arrayan	0.836	33	Rarefaction	0	14.55	12.07	17.03	Arrayan	33	Rarefaction	0	14.55	12.96	16.13	0.836	0.788	0.884
Arrayan	0.855	36	Rarefaction	0	15.02	12.40	17.64	Arrayan	36	Rarefaction	0	15.02	13.36	16.68	0.855	0.806	0.904
Arrayan	0.872	39	Rarefaction	0	15.44	12.64	18.23	Arrayan	39	Rarefaction	0	15.44	13.70	17.17	0.872	0.822	0.922
Arrayan	0.886	42	Rarefaction	0	15.81	12.80	18.81	Arrayan	42	Rarefaction	0	15.81	14.00	17.62	0.886	0.835	0.937
Arrayan	0.898	45	Rarefaction	0	16.14	12.84	19.43	Arrayan	45	Rarefaction	0	16.14	14.25	18.02	0.898	0.846	0.951
Arrayan	0.909	48	Rarefaction	0	16.43	12.81	20.05	Arrayan	48	Rarefaction	0	16.43	14.46	18.40	0.909	0.856	0.963
Arrayan	0.919	51	Rarefaction	0	16.69	12.73	20.66	Arrayan	51	Rarefaction	0	16.69	14.64	18.74	0.919	0.864	0.973
Arrayan	0.927	53	Rarefaction	0	16.87	12.59	21.15	Arrayan	54	Rarefaction	0	16.93	14.79	19.06	0.927	0.871	0.983
Arrayan	0.93	55	Observed	0	17.00	12.62	21.38	Arrayan	55	Observed	0	17.00	14.83	19.17	0.93	0.873	0.986
Arrayan	0.932	56	Extrapolation	0	17.07	12.59	21.55	Arrayan	56	Extrapolation	0	17.07	14.87	19.27	0.932	0.876	0.989
Arrayan	0.937	58	Extrapolation	0	17.20	12.53	21.88	Arrayan	58	Extrapolation	0	17.20	14.94	19.46	0.937	0.88	0.994
Arrayan	0.944	61	Extrapolation	0	17.38	12.42	22.35	Arrayan	61	Extrapolation	0	17.38	15.03	19.74	0.944	0.887	1
Arrayan	0.949	64	Extrapolation	0	17.55	12.32	22.78	Arrayan	64	Extrapolation	0	17.55	15.09	20.01	0.949	0.893	1
Arrayan	0.955	67	Extrapolation	0	17.69	12.22	23.17	Arrayan	67	Extrapolation	0	17.69	15.13	20.26	0.955	0.899	1

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

6.5 Lineamientos clave para la interpretación de curvas de rarefacción-extrapolación

Tipos de curvas

iNEXT genera 3 tipos de gráficas (ver Tabla 4):

- **Curva basada en el tamaño de la muestra** o “Sample-size-based rarefaction and extrapolation sampling curve”.
- **Curva de completitud de la muestra** o “Sample completeness curve”.
- **Curva basada en la cobertura del muestreo** o “Coverage-based rarefaction and extrapolation sampling curve”.


 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Tabla 4. Descripción y diferencias de los tipos de curvas derivadas del análisis de rarefacción con extrapolación

Tipo de Curva	Descripción	Eje X	Eje Y	Diferencia Clave (Propósito)
1. Curva R/E Basada en el Tamaño de la Muestra	Muestra la estimación de la diversidad (Números de Hill) en función del número de individuos (o unidades de muestreo). Es la curva de diversidad más tradicional.	Tamaño de la Muestra (N° de individuos o unidades)	Diversidad (parámetro q, Números de Hill)	Estandariza la comparación por intensidad de muestreo (cuántas muestras se tomaron).
2. Curva de Completitud de la Muestra	Muestra la completitud de la muestra en términos de la cobertura de la muestra (proporción de la comunidad total) representada en función del número de individuos (o unidades de muestreo).	Tamaño de la Muestra (N° de individuos o unidades)	Cobertura de la Muestra (Proporción, 0 a 1)	Evalúa la calidad y la suficiencia del muestreo realizado en relación con la comunidad.
3. Curva R/E Basada en la Cobertura del Muestreo	Muestra la estimación de la diversidad (Números de Hill) en función de la cobertura de la muestra	Cobertura de la Muestra (Proporción, 0 a 1)	Diversidad (parámetro q, Números de Hill)	Estandariza la comparación por calidad del muestreo (la proporción de la diversidad real que se ha capturado).

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en Chao *et. al* (2014)

En los siguientes ejemplos, nótese la diferencia entre el eje X de las gráficas 1, 2 y 3, para curvas obtenidas a partir de datos de abundancia y de frecuencia de la incidencia (ver Figuras 6 y 7).

Figura 6. Tipos de curvas a partir de datos de abundancia

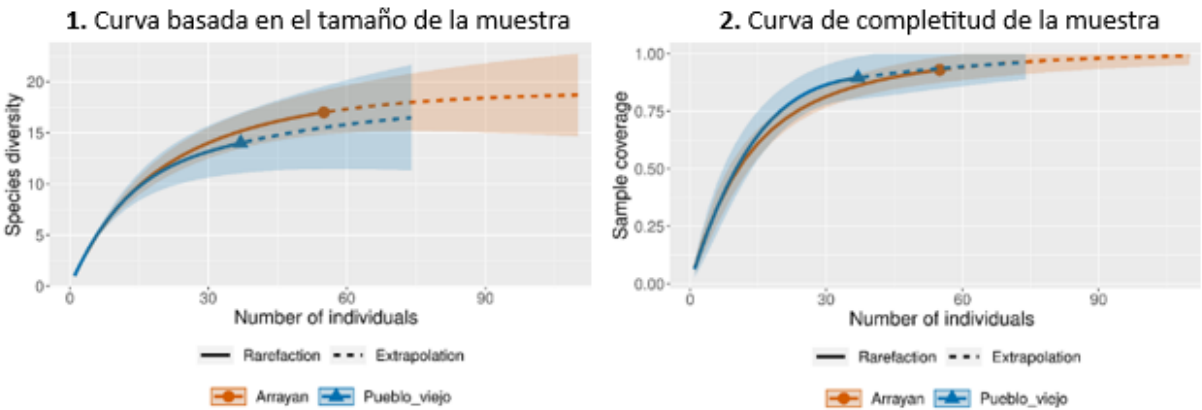
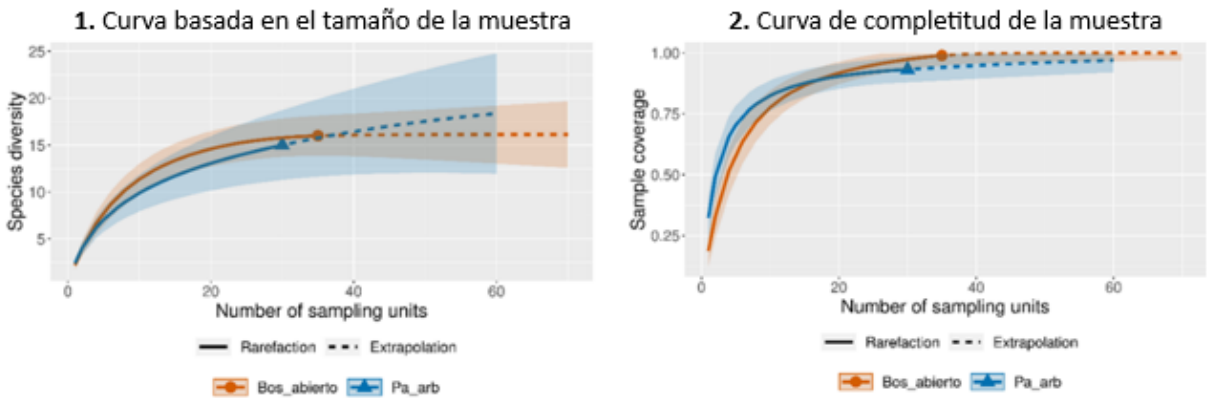
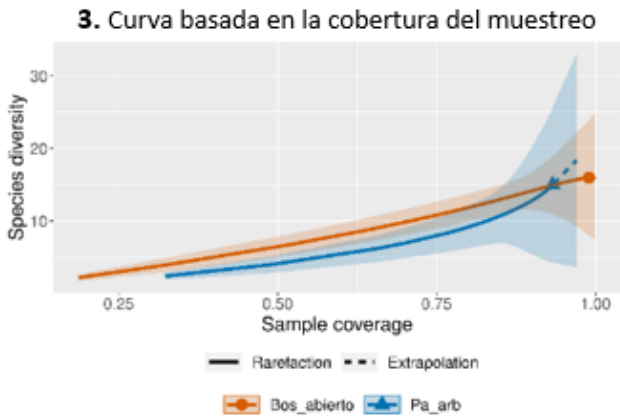


Figura 7. Tipos de curvas a partir de datos de frecuencia de la incidencia



Eje X: **Número de unidades de muestreo**
Eje Y: **Diversidad de especies**



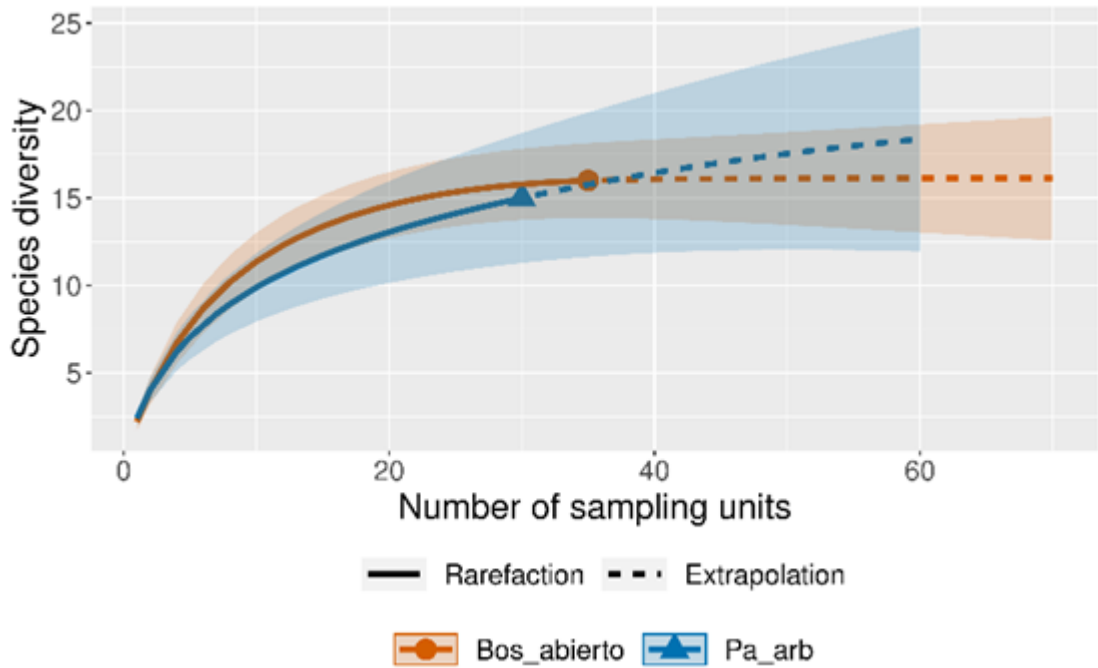
Eje X: **Cobertura del muestreo**
Eje Y: **Diversidad de especies**

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Interpolación, valores observados, extrapolación y variabilidad

A continuación, se muestran lineamientos generales que aplican en la interpretación de las diferentes gráficas derivadas del análisis. Se sugiere hacer la interpretación teniendo en cuenta tanto las gráficas de las curvas cómo los datos numéricos. En la siguiente gráfica que se muestra a manera de ejemplo, se observa que la rarefacción de los datos registrados en campo corresponden a las líneas continuas, mientras que el valor observado se muestra como figura geométrica (círculo y triángulo). En contraste, los valores extrapolados se observan como una línea discontinua.

Figura 8. Visualización gráfica de la rarefacción y la extrapolación



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

De acuerdo con la gráfica de la Figura 8, la diversidad en los Pastos arbolados es menor, aunque cercana a la del Bosque abierto. El muestreo de los Pastos arbolados refleja un menor grado de representatividad en contraste con el del Bosque abierto en cuanto al tamaño muestreado y a la variabilidad de los datos; esto se ve reflejado en la franja azul que tiene un ancho mayor, lo cual se interpreta como una mayor variabilidad de los datos, y por lo tanto un menor porcentaje de confianza frente al muestro del Bosque abierto.

En contraste, en la variabilidad de los datos del muestreo en el Bosque abierto (franja anaranjada), se observa una franja más angosta. Esta muestra una tendencia más central hacia la la asíntota, lo cual se interpreta como una menor variabilidad y un mayor nivel de confianza.

Los valores exactos de la rarefacción y extrapolación para el tamaño de la muestra se pueden observar en la Figura 9.

Para la cobertura de Pastos arbolados del Ecosistema 1, el tamaño (t) de la muestra observada fue de 30 forófitos, obteniendo una cobertura de la muestra de 0,932 equivalente al 93%. Para conocer cuántos forófitos adicionales se podrían muestrear para alcanzar un porcentaje de cobertura del 95% según la extrapolación, sería necesario muestrear 40 forófitos en los pastos arbolados del Ecosistema 1.

Figura 9. Salida gráfica de datos numéricos del análisis basado en el Tamaño del muestreo

Select base:

Size-based

Assemblage	t	Method	Order.q	qD	qD.LCL	qD.UCL	SC	SC.LCL	SC.UCL
Pa_arb	1	Rarefaction	0	2.40	1.92	2.88	0.323	0.242	0.404
Pa_arb	2	Rarefaction	0	4.03	3.29	4.76	0.492	0.404	0.58
Pa_arb	4	Rarefaction	0	6.22	5.16	7.29	0.657	0.575	0.74
Pa_arb	5	Rarefaction	0	7.05	5.85	8.24	0.705	0.625	0.784
Pa_arb	7	Rarefaction	0	8.38	6.94	9.81	0.768	0.696	0.84
Pa_arb	8	Rarefaction	0	8.93	7.39	10.48	0.791	0.722	0.859
Pa_arb	10	Rarefaction	0	9.89	8.13	11.66	0.825	0.761	0.888
Pa_arb	11	Rarefaction	0	10.31	8.44	12.19	0.838	0.777	0.9
Pa_arb	13	Rarefaction	0	11.06	8.99	13.14	0.859	0.801	0.918
Pa_arb	15	Rarefaction	0	11.72	9.45	13.99	0.876	0.82	0.932
Pa_arb	16	Rarefaction	0	12.02	9.65	14.38	0.883	0.828	0.938
Pa_arb	18	Rarefaction	0	12.56	10.01	15.12	0.895	0.842	0.948
Pa_arb	19	Rarefaction	0	12.82	10.18	15.46	0.9	0.847	0.952
Pa_arb	21	Rarefaction	0	13.29	10.47	16.11	0.908	0.857	0.96
Pa_arb	22	Rarefaction	0	13.51	10.60	16.41	0.912	0.861	0.963
Pa_arb	24	Rarefaction	0	13.92	10.84	17.00	0.919	0.868	0.969
Pa_arb	25	Rarefaction	0	14.12	10.95	17.28	0.922	0.871	0.972
Pa_arb	27	Rarefaction	0	14.49	11.15	17.82	0.927	0.876	0.977
Pa_arb	29	Rarefaction	0	14.83	11.33	18.33	0.931	0.88	0.981
Pa_arb	30	Observed	0	15.00	11.42	18.58	0.932	0.881	0.984
Pa_arb	31	Extrapolation	0	15.16	11.49	18.83	0.934	0.883	0.986
Pa_arb	32	Extrapolation	0	15.32	11.57	19.07	0.936	0.884	0.988
Pa_arb	34	Extrapolation	0	15.62	11.69	19.55	0.939	0.887	0.992
Pa_arb	35	Extrapolation	0	15.77	11.75	19.78	0.941	0.888	0.994
Pa_arb	37	Extrapolation	0	16.05	11.85	20.24	0.944	0.891	0.997
Pa_arb	38	Extrapolation	0	16.18	11.90	20.47	0.946	0.893	0.999
Pa_arb	40	Extrapolation	0	16.44	11.97	20.91	0.949	0.895	1

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Conclusión


A manera de conclusión, este manual constituye una primera propuesta metodológica para el uso de la tecnología y de los desarrollos estadísticos disponibles en la actualidad, con el fin de identificar cuando un muestreo de flora silvestre en veda ha sido representativo o cuanto faltaría para serlo. Igualmente representa una base general que puede ser aplicada en estudios de flora y fauna, entre otros grupos de la diversidad biológica.

Esperamos que sea una herramienta útil para la toma de decisiones informadas, y que contribuya a la aplicación de medidas de manejo y conservación efectivas para la protección de la biodiversidad y de los ecosistemas.

7. ANEXOS

Introducción

A continuación, se presenta una guía de soporte con parámetros estandarizados, para evaluar la representatividad de los muestreos de Flora silvestre con base en curvas de rarefacción con extrapolación, a través del programa iNEXT-online, el cual se encuentra disponible con acceso libre en su versión en línea y a través de iNEXT para R.

 <p>Autoridad Nacional de Licencias Ambientales</p>	<p align="center">MANUAL</p> <p align="center">EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL</p>	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

La información teórica empleada en el presente documento, se encuentra basada por lo propuesto por Chao y Jost (2012), Colwell *et al.* (2012), Chao *et al.* (2014) y (Hsieh *et al.* 2016; 2022). Para más información, el usuario puede remitirse al Manual de iNEXT desarrollado por Hsieh *et al.* (2016), el cual se encuentra disponible en CRAN <https://cran.r-project.org/web/packages/iNEXT/iNEXT.pdf>. y para una breve reseña de los antecedentes teóricos y los métodos relevantes para el paquete se pude consultar el trabajo de Hsieh *et al.* (2016).

Para ejecutar iNEXT Online no es necesario saber R. iNEXT incluye dos análisis estadísticos (asintótico y no asíntótico) para la diversidad de especies basados en números de Hill. En el presente instrumento se aborda solamente el enfoque no asíntótico basado en el análisis de rarefacción con extrapolación.

Tipos de curvas de muestreo

Con base en los números de Hill para $q = 0, 1$ y 2 , se busca comparar estimaciones de diversidad para muestras de igual tamaño (con un tamaño de muestra común) o de igual completitud (con una cobertura muestral común). El valor del $q=0$ es el menos exigente, y el de $q=2$ es el más exigente.

iNEXT ofrece tres tipos de curvas de muestreo de rarefacción con extrapolación (R/E):

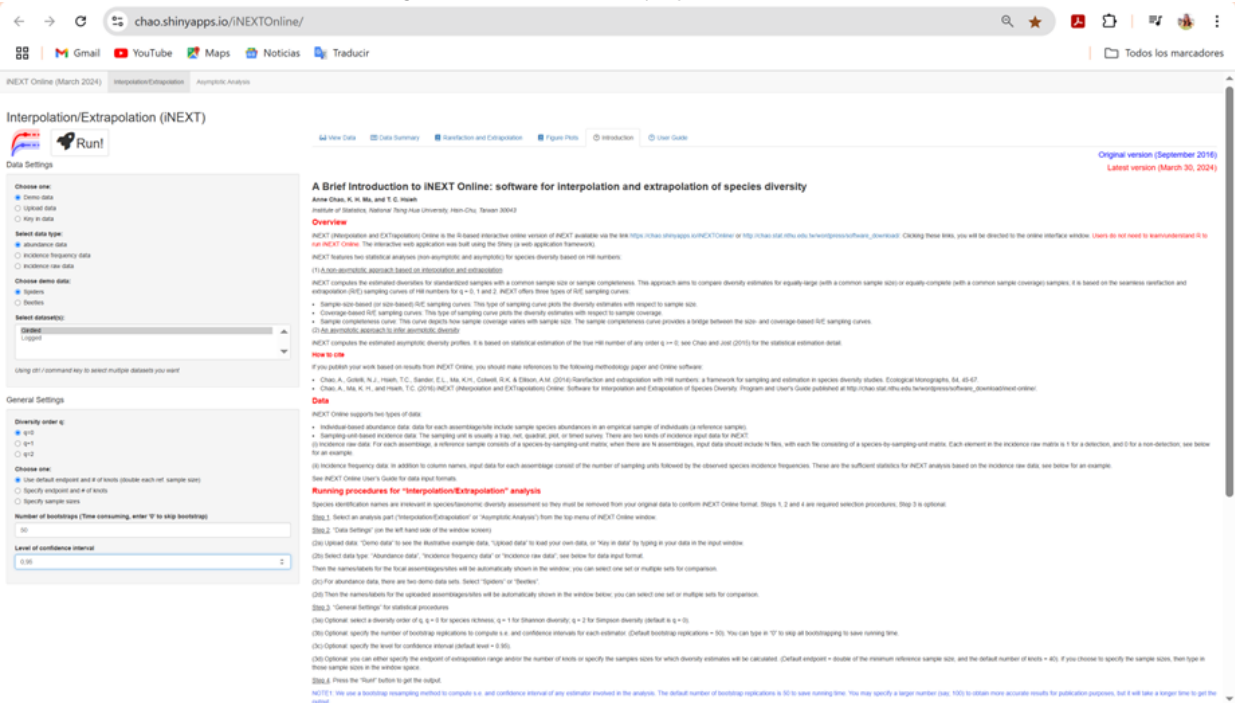
- Curvas de muestreo R/E basadas en el tamaño de la muestra: Este tipo de curva de muestreo representa las estimaciones de diversidad con respecto al tamaño de la muestra.
- Curvas de muestreo R/E basadas en la cobertura: Este tipo de curva de muestreo representa las estimaciones de diversidad con respecto a la cobertura de la muestra.
- Curva de completitud de la muestra: Esta curva representa cómo varía la cobertura de la muestra con el tamaño de la muestra. La curva de completitud de la muestra proporciona un puente entre las curvas de muestreo R/E basadas en el tamaño y en la cobertura.

PASO A PASO PARA LA REALIZACIÓN DE CURVAS DE RAREFACCIÓN CON EXTRAPOLACIÓN CON *iNEXT-ONLINE*

Ingreso a la interfaz online

iNEXT (iNterpolación y EXTrapolación) online es la versión interactiva en línea de iNEXT basada en R, disponible en el enlace <https://chao.shinyapps.io/iNEXTOnline/>. Al hacer clic en este enlace, los usuarios serán redirigidos a la interfaz en línea, la cual se observa en la Figura 1.


Figura 1. Interfaz inicial del programa iNEXT-online



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Formato de datos

El programa trabaja con datos de abundancia y datos de incidencia, los cuales se explican a continuación. Para el análisis de los estudios de Flora y Líquenes en veda, se ha planteado evaluar la representatividad por curvas de acumulación de especies y curvas de rarefacción para organismos vasculares (árboles, helechos arborescentes), (bromelias y orquídeas) y no vasculares (briófitos y líquenes), de acuerdo al tipo de muestreo (según el hábito, epifito o terrestre) para cada ecosistema.

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

1. Datos de abundancia basados en individuos ("abundance"):

Sugeridos en muestreos de especies vasculares como árboles, helechos arborescentes, bromelias y orquídeas. Los datos de entrada para cada conjunto o sitio incluyen abundancias de especies en una muestra empírica de n individuos ("muestra de referencia").

Cuando hay N conjuntos, los datos de entrada consisten en una matriz de abundancia S por N o N listas de abundancias de especies.

2. Datos de frecuencia de incidencia basados en unidades de muestreo ("incidence_freq"):

Sugeridos en muestreos de especies no vasculares como briófitos y líquenes. En el programa Hay dos tipos de datos de entrada, los datos de incidencia sin procesar ("incidence_raw") y los datos de frecuencia de incidencia ("incidence_freq"). Estos segundos son los que se sugiere utilizar ya que proporcionan mayor información sobre el muestreo. Los datos de la frecuencia de incidencia constituyen una buena alternativa para evitar el sesgo por especies con abundancias bajas.

Cuando hay N conjuntos, los datos de entrada consisten en una matriz (S+1) por N o N listas de frecuencias de incidencia de especies. La primera entrada de cada columna/lista debe ser el número total de unidades de muestreo, seguido de las frecuencias de incidencia de las especies.

Pasos para ejecutar el análisis de curvas de rarefacción en iNEXT online


Paso 1. Preparación de la matriz de datos

Datos de abundancia en un archivo txt

Cuando hay N conjuntos, las abundancias de especies observadas deben organizarse como una matriz de especies (en filas) por conjunto (en columnas), además de los nombres del conjunto/sitio (como nombres de columna, obligatorio) y los nombres de las especies (como nombres de fila, opcional). Los nombres de las especies o cualquier código de identificación pueden conservarse en cualquier archivo txt, pero no son obligatorios. En el caso especial de $N = 1$ (es decir, si solo hay un conjunto), todos los datos deben leerse en una sola columna.

En el ejemplo de la Figura 2, se observan los datos de abundancia para las especies de briófitos y líquenes presentes en el hábito epífita, pertenecientes a un ecosistema. Las abundancias de las especies observadas deben organizarse en un archivo de datos .txt de la siguiente manera, en el caso de manejar un solo conjunto de datos.

Figura 2. Forma de organización de los datos (ejemplo abundancias)

 **Ecosistema1_Epífitas_vasculares: Bloc de notas**

Ecosistema_1	Nombre del sitio de muestreo
9	
8	
7	
6	
5	
4	
4	
3	
3	
2	
2	
2	
2	
1	
1	
1	
1	
1	
1	
1	
1	

Abundancia por especie

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

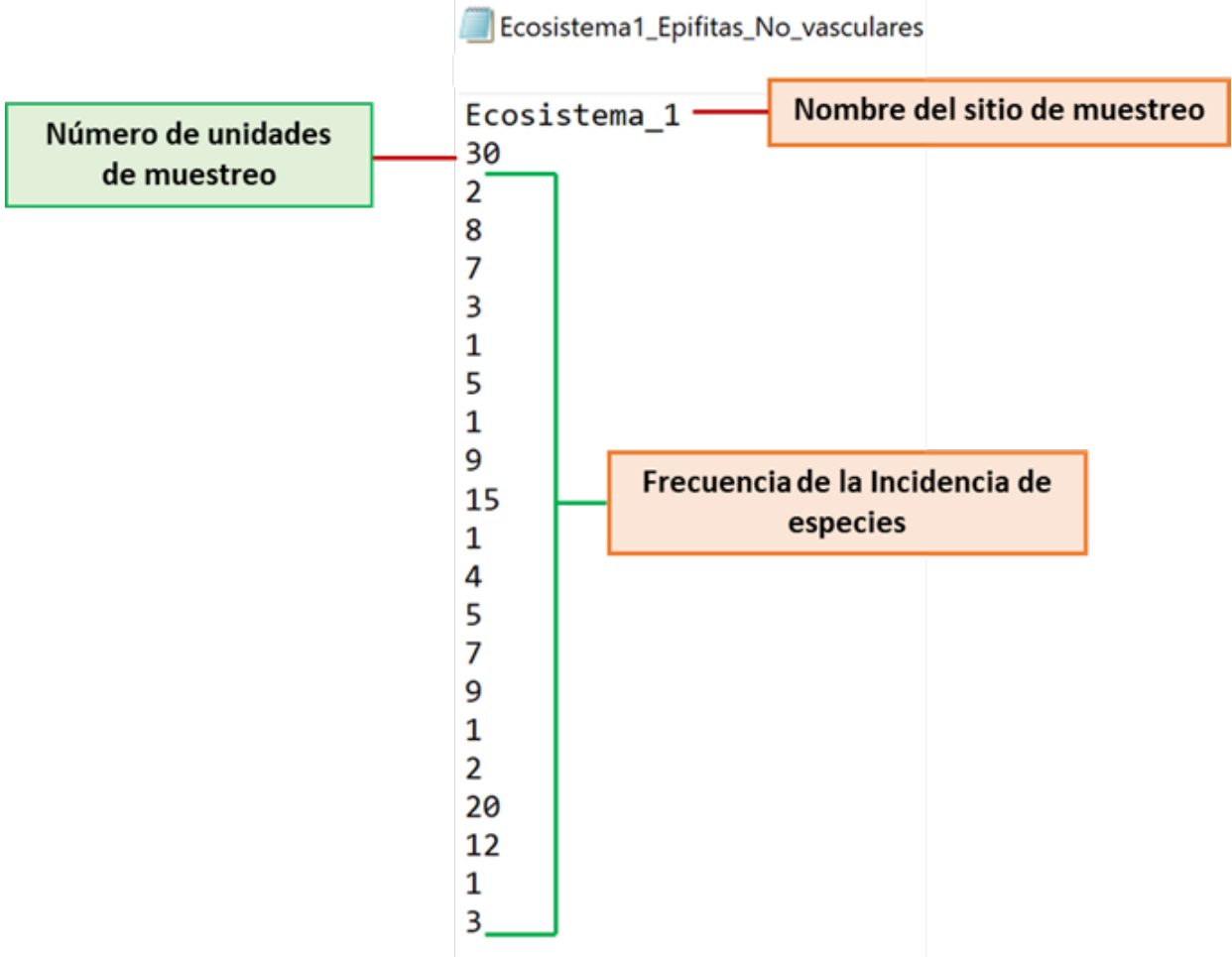
Los nombres de las especies o cualquier código de identificación se pueden conservar en los archivos .txt. En este tipo de lista de verificación de especies, los números en la misma fila se refieren a la misma especie, pero esto no es necesario para la entrada de datos de abundancia en iNEXT Online. Los nombres de identificación de especies son irrelevantes para la evaluación de la diversidad taxonómica/específica, por lo que deben eliminarse de los datos originales para ajustarse al formato iNEXT Online.

En el caso en que se quiera comparar la completitud del muestreo para varios ecosistemas, se debe introducir la frecuencia = 0 para una "no detección", dado que iNEXT Online no puede leer los datos faltantes, que son celdas vacías sin números. El número de filas debe ser el mismo para los N conjuntos. Por lo tanto, se deben agregar abundancias de "0", solo en el caso de trabajar con conjuntos de datos.

- Datos de frecuencia de incidencia en un archivo .txt

El formato de entrada de datos es generalmente similar al de los datos de abundancia, excepto que se debe proporcionar el número total de unidades de muestreo en cada conjunto. Es decir, la primera fila "Nombre del conjunto o sitio" enumera las etiquetas del conjunto o los nombres del sitio, y la segunda fila indica el número de unidades de muestreo en los N conjuntos, como se muestra a continuación. A partir de la tercera fila, la entrada en cada fila indica una frecuencia de incidencia (número total de detecciones de una especie en todas las unidades de muestreo) en un sitio. Los datos deben leerse en un archivo txt de la siguiente manera.

Figura 3. Datos de frecuencia de incidencia



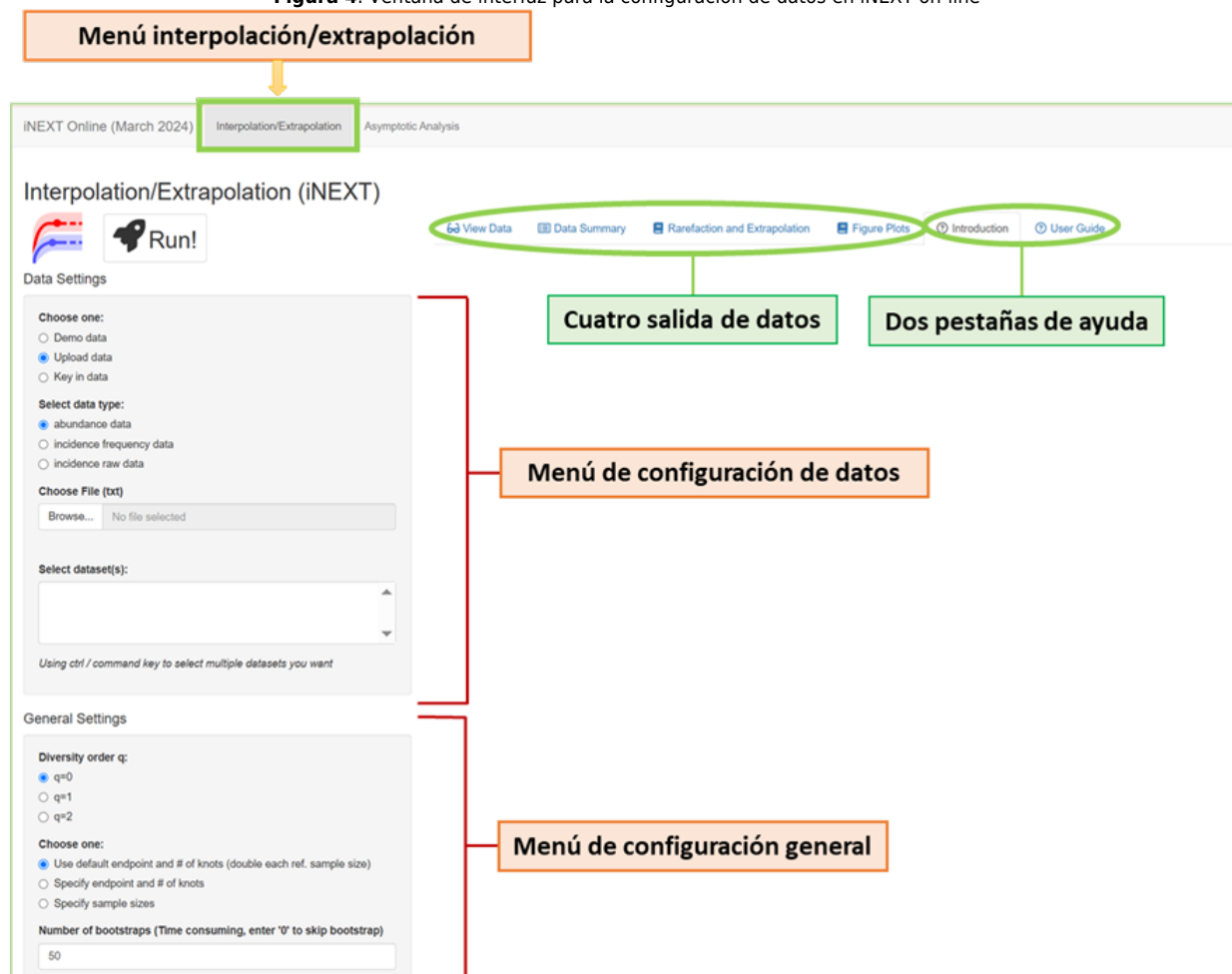
Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Cada fila puede corresponder a diferentes especies, ya que la información interensamblaje no es necesaria para nuestra comparación de la diversidad taxonómica/especies dentro del ensamblaje. Al igual que con los datos de abundancia, el número de filas para cada ensamblaje debe ser el mismo, por lo que se deben agregar incidencias "0" adicionales en los ensamblajes con menos especies.

Paso 2. Ingresar a la página

Ingresar al siguiente link <https://chao.shinyapps.io/iNEXTOnline/>, en donde se encuentra la interfaz inicial, que contiene datos de demostración. Para cargar la información a analizar, se debe seleccionar “upload data”, y una vez cargada la información, se encontrará con la siguiente interfaz:

Figura 4. Ventana de interfaz para la configuración de datos en iNEXT on-line



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 3. Configuración general de datos

- 3.1. Seleccionar el método de análisis de Interpolación/Extrapolación que se encuentra en el menú superior de la ventana.
- 3.2. Ir a "General settings" para la configuración de datos, en el lado izquierdo de la ventana.
- 3.3. Seleccione "Cargar datos" para cargar sus propios datos.
- 3.4. Seleccione el tipo de datos: datos de frecuencia de incidencia o datos brutos de incidencia.

Los nombres/etiquetas de los conjuntos/sitios seleccionados o cargados se mostrarán automáticamente en la ventana inferior; puede seleccionar uno o varios conjuntos para comparar.

Paso 4. Configuración general para procedimientos estadísticos

(3a) Opcional: seleccione un orden de diversidad de q , $q = 0$ para la riqueza de especies; $q = 1$ para Shannon Diversidad; $q = 2$ para la diversidad de Simpson (el valor predeterminado es $q = 0$).

(3b) Opcional: especifique el número de réplicas de bootstrap para calcular el error estándar y los intervalos de confianza para cada estimador. (El valor predeterminado de las réplicas de bootstrap es 50). Se sugiere introducir un valor de 100.

(3c) Opcional: especifique el nivel del intervalo de confianza (el valor predeterminado es 0,95).

(3d) Opcional: los usuarios pueden especificar el punto final del rango de extrapolación o el número de nudos, o bien especificar los tamaños de muestra para los que se calcularán las estimaciones de diversidad. (El punto final predeterminado es el doble del tamaño mínimo de la muestra de referencia y el número predeterminado de nudos es 40). Si los usuarios eligen especificar los tamaños de muestra, introdúzcanlos en el espacio de la ventana.

Paso 5. Ejecutar el análisis de Interpolación/Extrapolación

Una vez se ha cargado el archivo y configurado los datos de entrada, Presione el botón para obtener la salida de los datos.


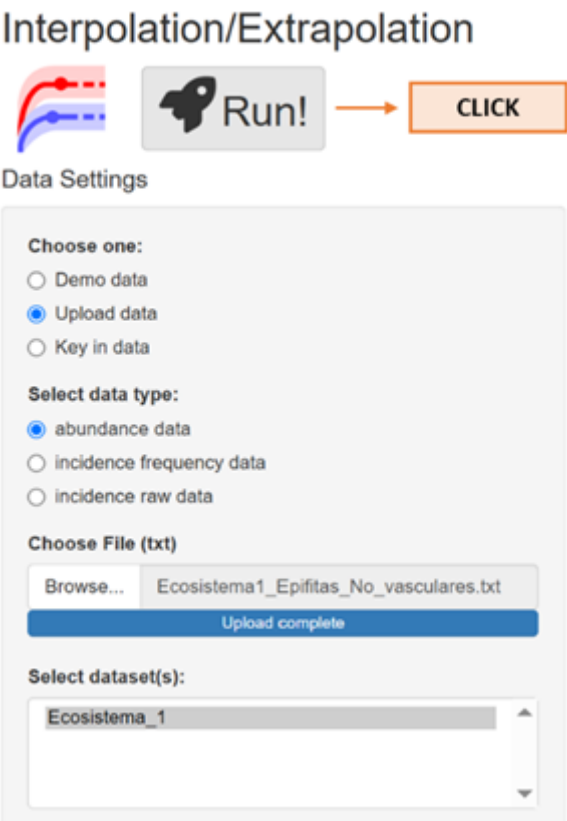
 <p>Autoridad Nacional de Licencias Ambientales</p>	<p align="center">MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL</p>	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

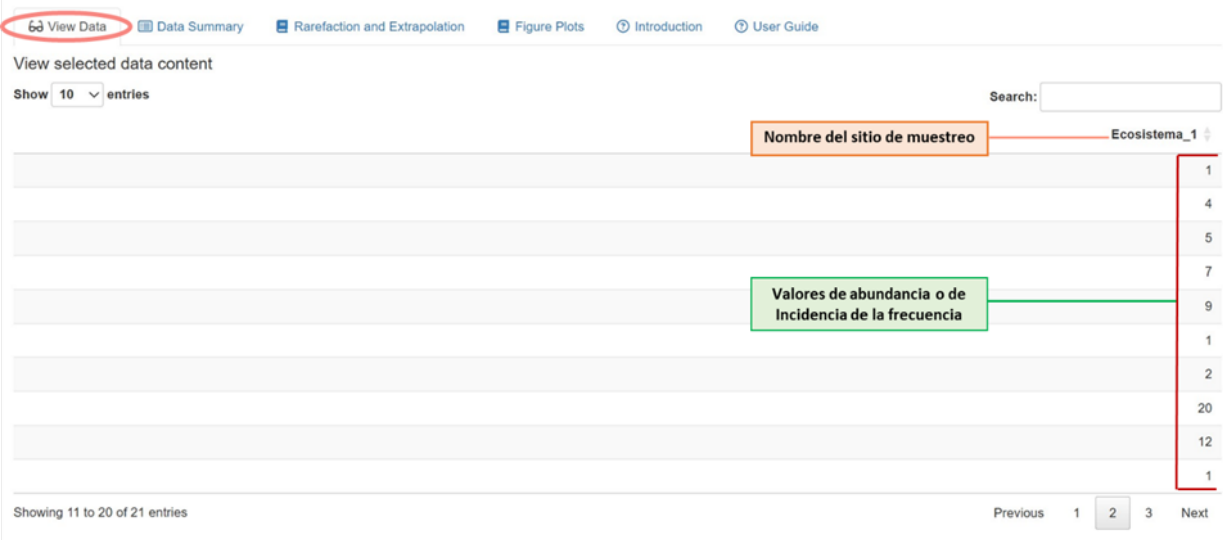
Figura 5. Botón de Ejecución para el procesamiento de la información del muestreo y generación de las curvas



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Una vez el programa ha analizado los datos, se pueden visualizar cuatro ventanas principales. (1) View data, (2) Data Summary, (3) Rarefaction and extrapolation y (4) Figure plots. En la primera View data, se pueden visualizar los datos que fueron cargados y analizados.

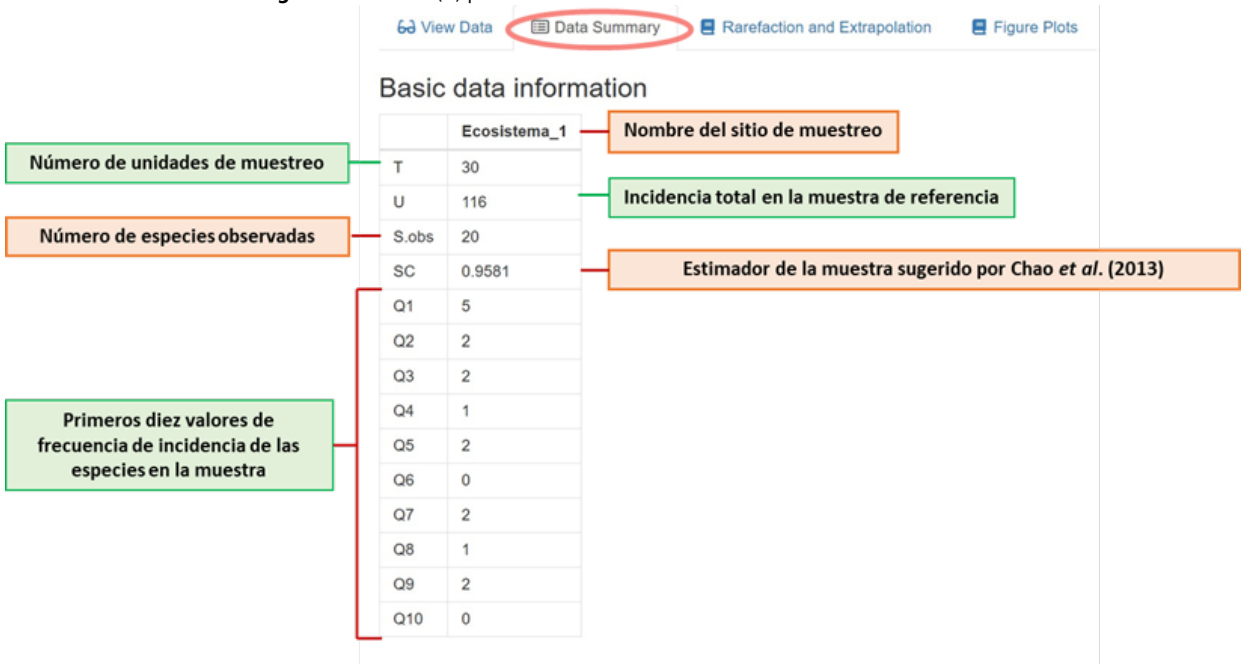
Figura 6. Ventana (1) para visualización de los datos del muestreo



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

En la segunda Data Summary, se encuentra el resumen de los datos del muestreo que fueron cargados.

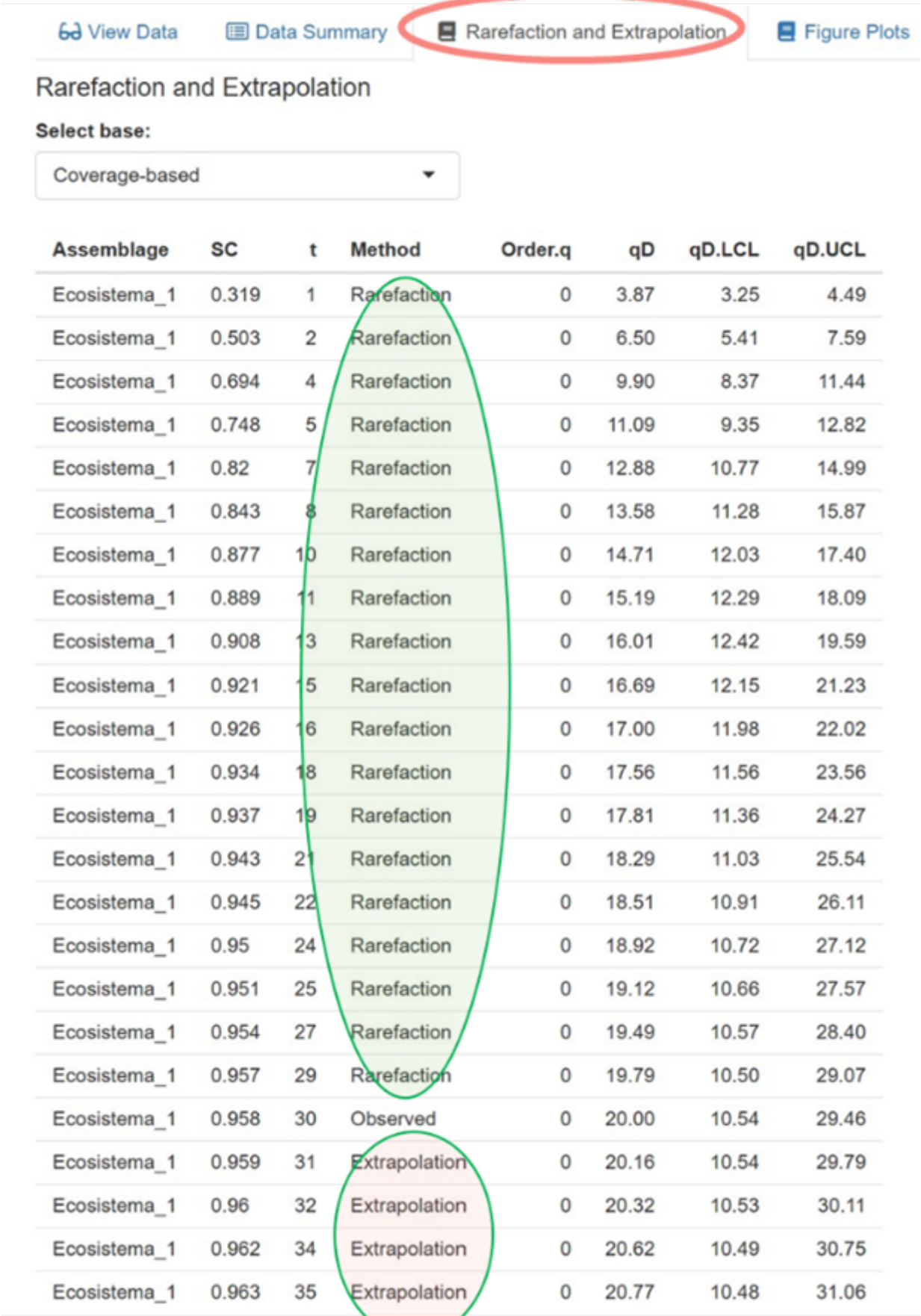
Figura 7. Ventana (2) para visualización del resumen de los datos del muestreo




Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

En la tercera Rarefaction and Extrapolation, se encuentra el resultado del análisis, que incluye los datos qD para facilitar la interpretación en términos numéricos de las gráficas.

Figura 8. Ventana (3) para visualización de los resultados de rarefacción y extrapolación

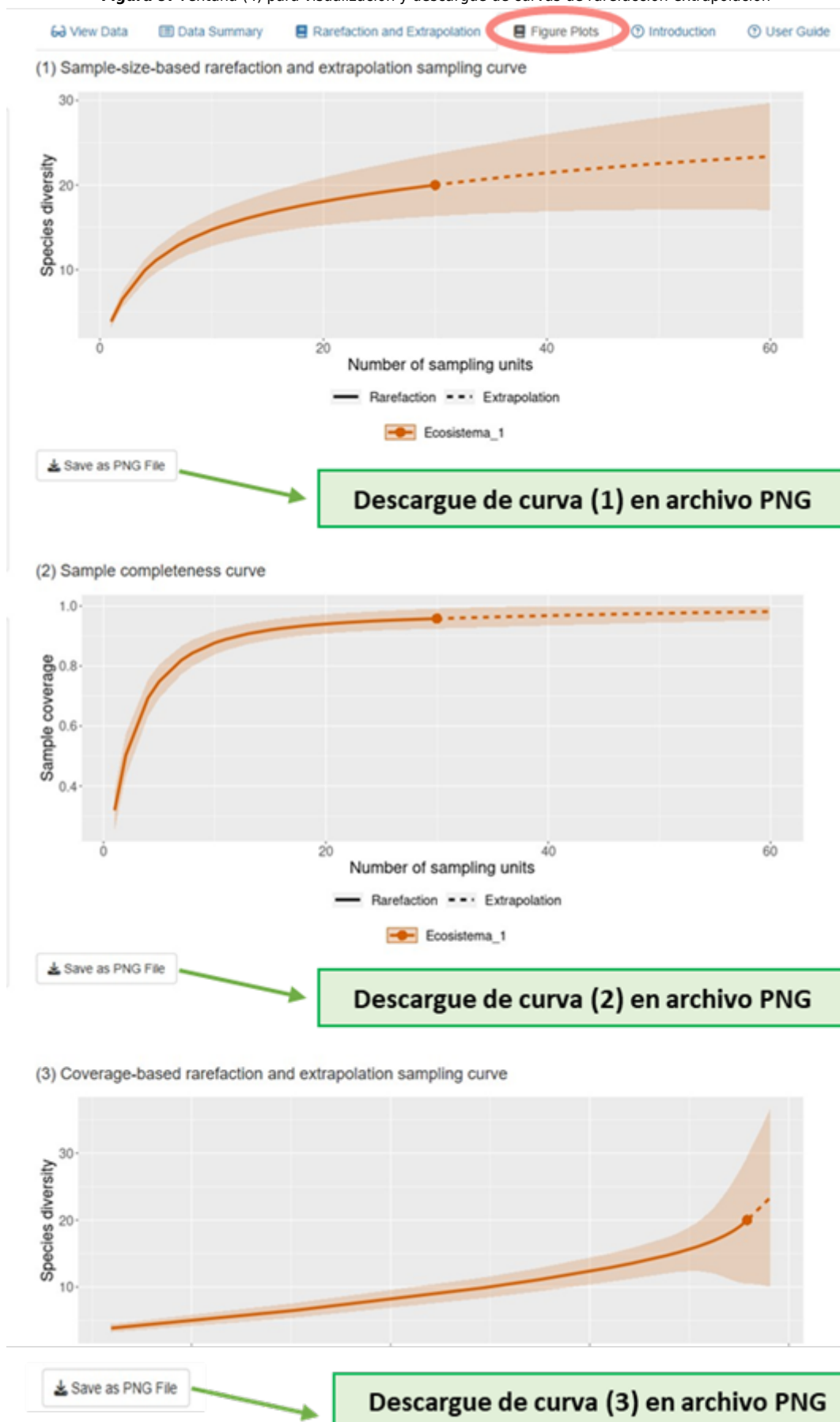


Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Y en la cuarta, [Figure Plots](#), se pueden visualizar los 3 tipos de curvas como producto del análisis de rarefacción-extrapolación y se encuentran los botones de descarga de las curvas como archivos independientes tipo JPG.

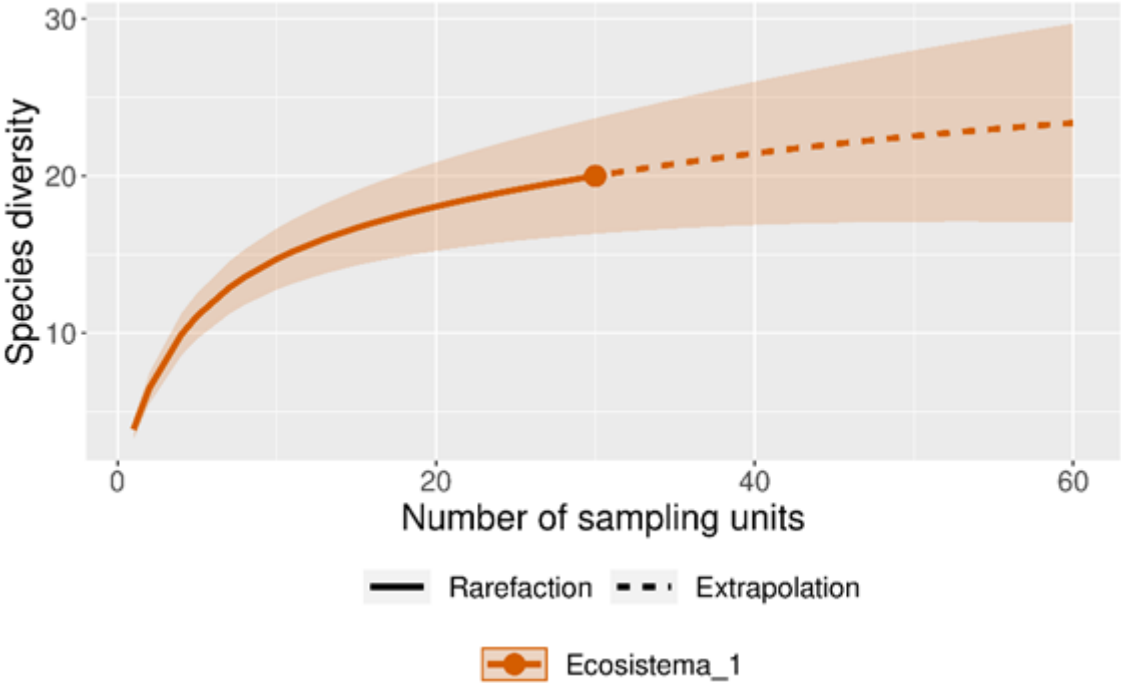
Figura 9. Ventana (4) para visualización y descarga de curvas de rarefacción-extrapolación



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

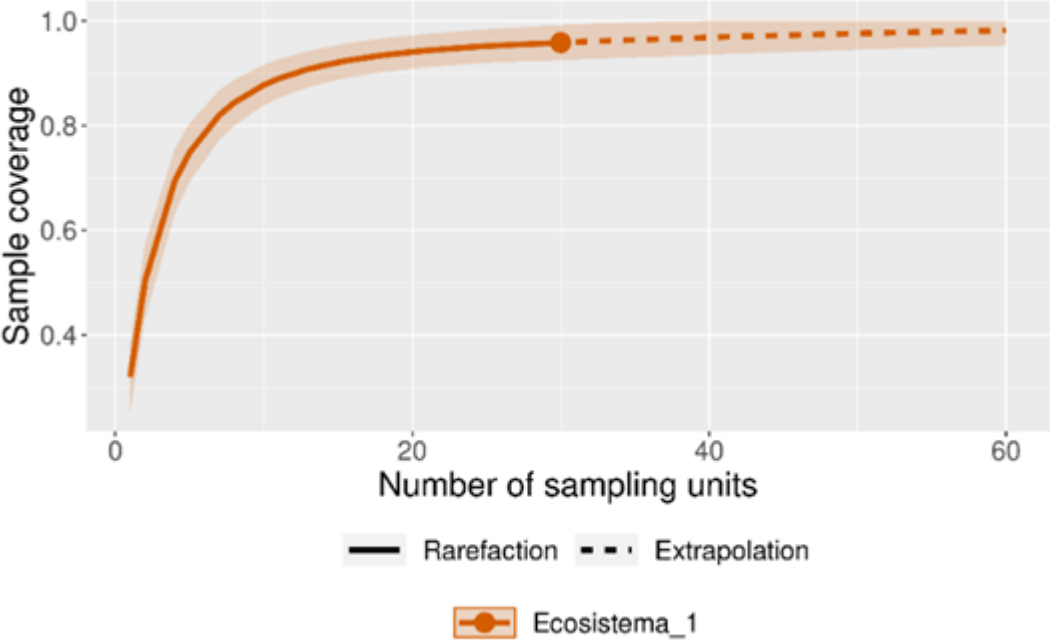
Tipos de curvas

1. **Figura 10.** Curva de muestreo por rarefacción y extrapolación basada en el tamaño de la muestra




Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

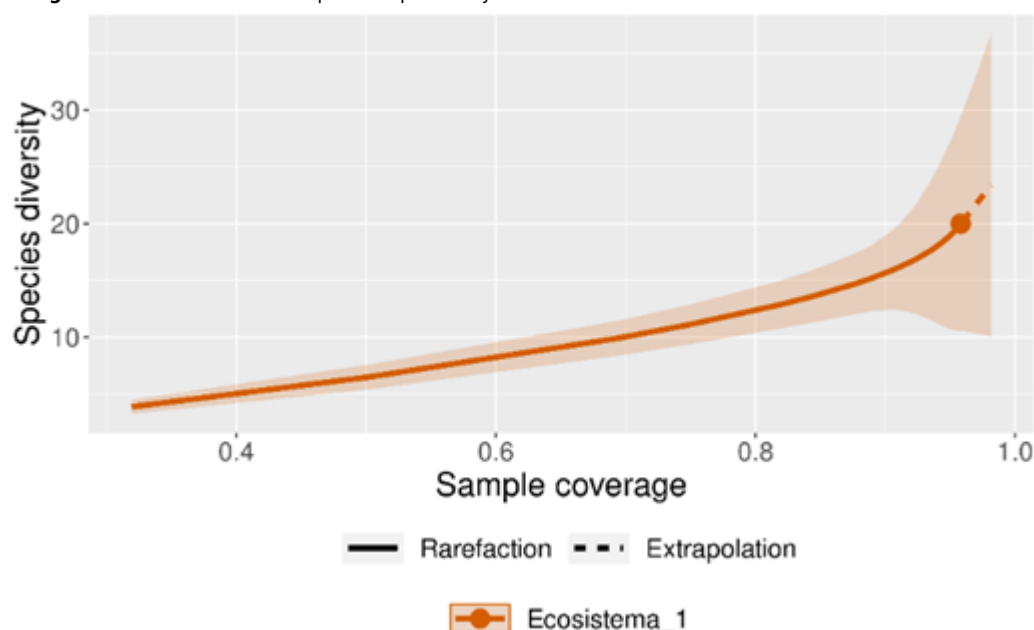
2. **Figura 11.** Curva de muestreo por rarefacción y extrapolación basada en la completitud de la muestra



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

3. Figura 12. Curva de muestreo por extrapolación y rarefacción basada en la cobertura



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

3. PASO A PASO PARA LA REALIZACIÓN DE CURVAS DE RAREFACCIÓN CON EXTRAPOLACIÓN CON *iNEXT* PARA R

Paso 1. Acceder al Software para ejecutar *iNEXT* en R

Requerido: R (<https://cran.r-project.org/bin/windows/base/>)

Sugerido: RStudio IDE (<https://posit.co/download/rstudio-desktop/>)

Paso 2. Ejecutar *iNEXT*

El paquete *iNEXT* está disponible en CRAN y se puede descargar con un procedimiento de instalación estándar utilizando los comandos que se muestran a continuación. También se puede descargar desde github. Para una instalación por primera vez, se debe cargar un paquete de extensión de visualización adicional (ggplot2).

```
## Instalar el paquete iNEXT desde CRAN
install.packages("iNEXT")
## instalar iNEXT desde github
install.packages('devtools')
library(devtools)
install_github('AnneChao/iNEXT')
## importar paquetes en R
library(iNEXT)
library(ggplot2)
```

Nota: Para instalar el paquete devtools, debe actualizar R a la última versión. Además, para que install_github funcione correctamente, debes instalar el paquete httr.

Paso 3. Definir el formato de los datos

Definir el tipo de datos de entrada acorde a su naturaleza:

- Datos de abundancia basados en individuos (sugerido para vasculares)
- Datos de frecuencia de la incidencia (sugerido para no vasculares)
 - Datos de incidencia (presencia/ausencia)

Paso 4. Describir la Función principal: *iNEXT()*

Describir la función principal *iNEXT()* con los argumentos usados en el presente manual:

```
iNEXT(x ,q=c(0, 1, 2), datatype="abundance", size=NULL, endpoint=NULL, knots=40, se=TRUE,
conf=0.95, nboot=50)
```

Esta función principal calcula estimaciones de diversidad de orden q, las estimaciones de cobertura de muestra y estadísticas relacionadas para K (si *Knots*=K) *Knots* espaciados uniformemente (tamaños de muestra) entre el tamaño 1 y el punto final, donde el punto final es como se describe a continuación. Cada *knots* representa un tamaño de muestra particular para el cual se calcularán estimaciones de diversidad. De forma predeterminada, el criterio de valoración está configurado para que sea el doble del tamaño de la muestra de referencia. Por ejemplo, si *endpoint* = 10, *knots* = 4, entonces se calcularán estimaciones de diversidad para una secuencia de muestras con tamaños (1, 4, 7, 10) (Hsieh *et al.* 2016). A continuación, se muestra en la Tabla 1, el significado de cada argumento con su respectiva descripción:

Tabla 1. Descripción de cada argumento empleado en la función principal de iNEXT

Argumento	Descripción
x	Una matriz, un marco de datos, listas de abundancias/incidencias de especies o listas de frecuencias de incidencia (consulte la sección 2.3 'Formato de datos'.
q	Un número o vector que especifica el (los) orden(es) de diversidad de los números de Hill: q=c (0, 1, 2).
datatype	Tipo de datos de entrada: " <i>abundance</i> ", " <i>incidence_raw</i> " o " <i>incidence_freq</i> ".
size	Un vector entero de tamaños de muestra para los cuales se calcularán las estimaciones de diversidad. Si es NULL, entonces se calcularán estimaciones de diversidad para aquellos tamaños de muestra determinados por el punto final (<i>endpoint</i>) y los nudos (<i>knots</i>) especificados/predeterminados.
endpoint	Un número entero que especifica el tamaño de la muestra que es el criterio de valoración para el cálculo de R/E; Si es NULL, entonces <i>endponit=double</i> , duplica el tamaño de la muestra de referencia.
knots	Un número entero que especifica el número de <i>knots</i> equidistantes (40, por defecto) entre el tamaño 1 y el endpoint.
se	Una variable lógica para calcular el error estándar de arranque y el intervalo de confianza de un nivel especificado por <i>conf</i> .
conf	Un número positivo < 1 que especifica el nivel del intervalo de confianza (<i>conf</i>).
nboot	Un número entero que especifica el número de replicaciones de arranque (Bootstrap).

Fuente: Adaptado de

Hsieh *et al.* (2016)

Paso 5. Ejecutar el análisis de rarefacción con extrapolación

Paso 5.1. Análisis de rarefacción con extrapolación (R/E) mediante ejemplo con datos de abundancia

Paso 5.1.1. Construir la matriz

Inicialmente debemos construir, en Excel (en formato csv) o en un editor de texto (formato txt), una matriz con abundancias por cada especie registrada en cada zona de muestreo, en nuestro caso, ‘Tipo de Cobertura’ (Figura 13).


 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 13. Modelo de matriz con abundancias por cada especie registrada de especies no vasculares en cada zona de muestreo en formato csv.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Species_ID	site	Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3	Parcela 4	Parcela 5	Parcela 6	Parcela 7	Parcela 8	Parcela 9	Parcela 10	Parcela 11
2	<i>Plagiochila deflexirama</i>	Bgr	1330	1583	5	995	0	0	0	1620	14	16	27
3	<i>Neckeropsis undulata</i>	Bgr	9	80	0	350	185	77	430	0	15	19	10
4	<i>Octoblepharum albidum</i>	Bgr	400	0	17	0	15	35	60	168	0	10	0
5	<i>Leucoloma tortellum</i>	Bgr	45	300	0	0	0	90	0	0	0	0	0
6	<i>Vesicularia vesicularis</i>	Bgr	450	0	0	0	0	0	0	290	0	0	0
7	<i>Lejeunea flava</i>	Bgr	90	0	0	25	280	275	210	510	0	0	0
8	<i>Paratrichum substriatum</i>	Bgr	1050	0	0	0	0	0	0	350	0	0	0
9	<i>Meteoridium tenuissimum</i>	Bgr	225	0	0	0	0	675	150	0	0	0	0
10	<i>Lejeunea sp</i>	Bgr	130	360	44	0	0	0	55	0	21	14	0
11	<i>Erythrodontium squarrosum</i>	Bgr	0	1075	0	670	475	3445	430	0	0	0	0
12	<i>Lopholejeunea subfusca</i>	Bgr	0	340	0	70	0	0	0	0	0	0	36
13	<i>Calymperes afzelii</i>	Bgr	0	120	83	195	177	105	0	170	0	39	0
14	<i>Lejeunea laetevirens</i>	Bgr	0	1030	0	1400	155	350	1810	0	0	10	79
15	<i>Campylopus sp</i>	Bgr	0	400	0	0	0	0	0	0	0	41	0
16	<i>Frullania riojaneirensis</i>	Bgr	0	90	29	0	0	0	0	0	0	7	0
17	<i>Sematophyllum subsimplex</i>	Bgr	0	500	0	0	0	0	0	44	0	0	0
18	<i>Racopilum tomentosum</i>	Bgr	0	70	0	1070	0	0	0	0	8	0	0
19	<i>Orthostichidium quadrangulare</i>	Bgr	0	270	0	0	0	0	35	0	0	8	0
20	<i>Frullania sp1</i>	Bgr	0	35	0	0	0	0	1575	0	0	0	0
21	<i>Thuidium tomentosum</i>	Bgr	0	0	40	1100	425	325	0	96	0	103	77
22	<i>Eulacophyllum cultelliforme</i>	Bgr	0	0	0	670	460	72	0	0	0	0	0
23	<i>Bryum capillare</i>	Bgr	0	0	0	0	310	780	280	0	0	0	0
24	<i>Pilosium chlorophyllum</i>	Bgr	0	0	0	0	520	1220	1005	20	0	0	0
25	<i>Entodontopsis leucostega</i>	Bgr	0	0	0	0	1300	35	145	310	0	0	0
26	<i>Thuidium sp1</i>	Bgr	0	0	0	0	120	0	65	0	0	0	0
27	<i>Acrolejeunea torulosa</i>	Bgr	0	0	0	0	20	89	0	0	0	0	0
28	<i>Syringothecium sprucei</i>	Bgr	0	0	0	0	0	0	0	86	0	0	0

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

En la columna 'Species_ID' se colocan las especies determinadas taxonómicamente en cada zona de muestreo. En 'site', se coloca el nombre de la zona de muestreo, en nuestro caso se muestra el tipo de cobertura 'Bosque de galería (Bgr)'. Finalmente, en cada columna en donde dice 'Parcela', se debe registrar la abundancia para cada especie en cada parcela empleada en cada zona de muestreo, en nuestro ejemplo, tenemos 11 parcelas para el tipo de cobertura Bgr. Lo anterior se debe hacer por cada zona de muestreo incluyendo el número de parcelas usadas para cada zona. Si se desea hacer un solo análisis y obtener gráficas en donde aparezcan todas las zonas de muestreo, y así evitar realizar un procedimiento por separado para cada zona, se recomienda construir una sola matriz con todas las zonas cómo se puede observar en la Figura 13.

Paso 5.1.2. Cargar las librerías y la matriz de abundancias

Posteriormente, en la consola de R Studio se deben cargar las librerías y luego la matriz de abundancias creada en formato csv en Excel o en txt en un editor de texto (Figura 14).


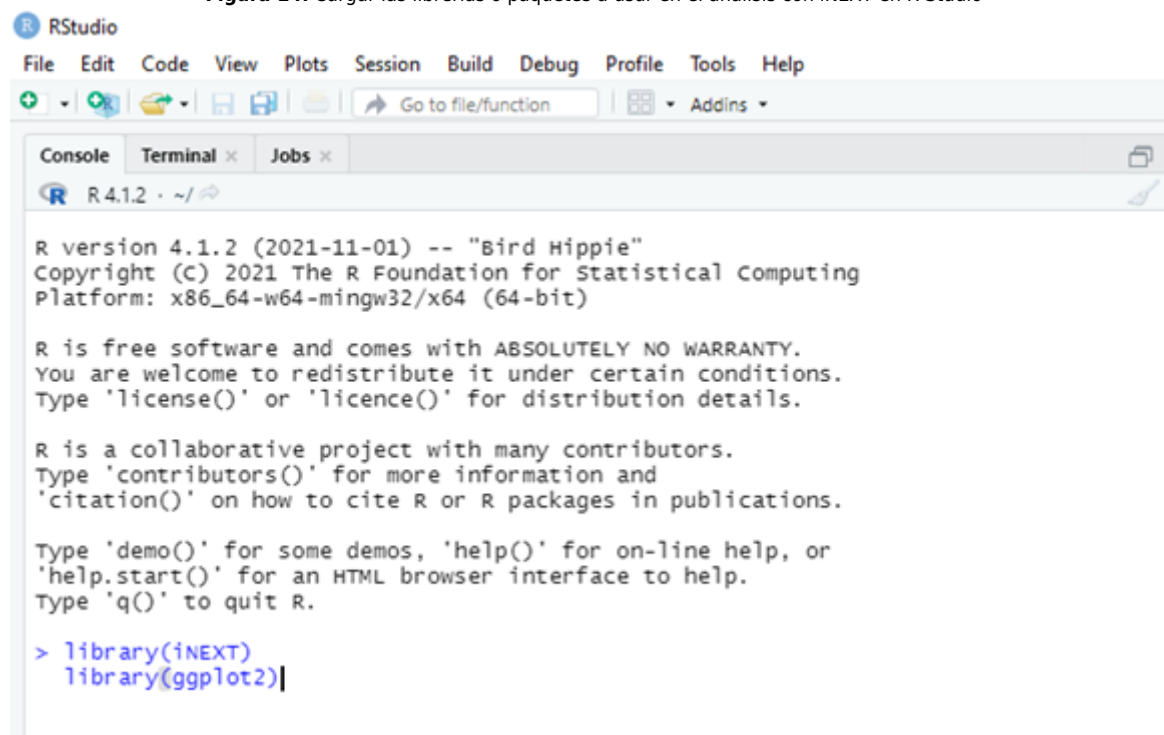
 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 14. Cargar las librerías o paquetes a usar en el análisis con iNEXT en R Studio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 5.1.3. Ubicar la dirección de trabajo en R Studio

Se ubica la dirección de trabajo en R Studio, en el cual tenemos nuestros datos a trabajar como se muestra en la Figura 15, o empleando el comando `setwd("mi_ruta_de_trabajo")`, ejemplo:

```
setwd("F:/FUPAD/Briofitos")
```


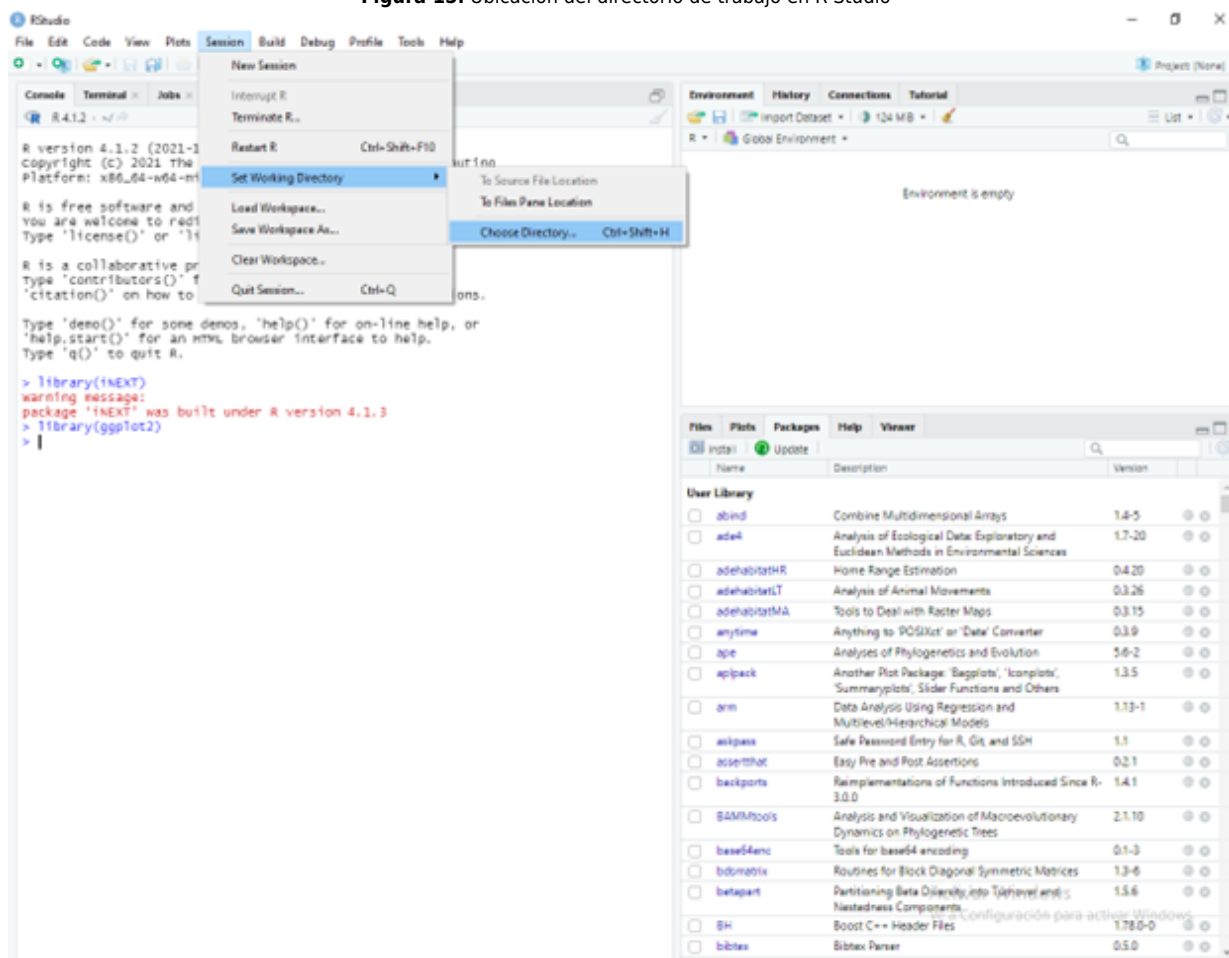

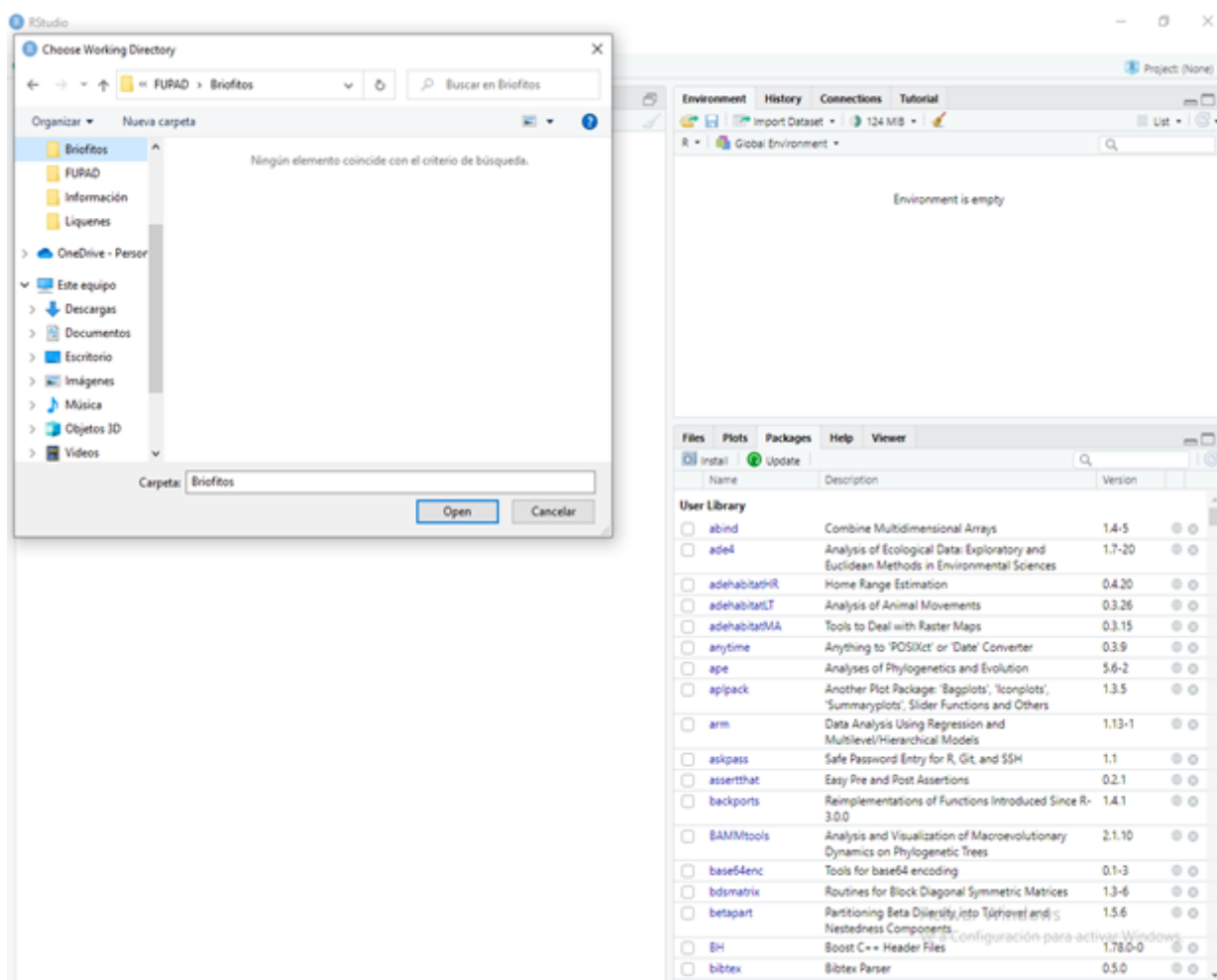
 <p>Autoridad Nacional de Licencias Ambientales</p>	<p align="center">MANUAL</p> <p align="center">EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL</p>		Fecha	20-11-2025
			Versión	1
			Código	IR-MN-10

Figura 15. Ubicación del directorio de trabajo en R Studio



 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 5.1.4. Cargar y visualizar los datos a trabajar

Luego, cargamos los datos a trabajar y podremos visualizarlos (Figura 16) mediante el siguiente código:

```
datos<-read.csv("briofitos_R.csv", sep=";",header=T)
datos
```

Si se usa el formato txt, se debe usar el siguiente código:

```
datos <- read.table(file = "briofitos_R.txt", header = TRUE)
```


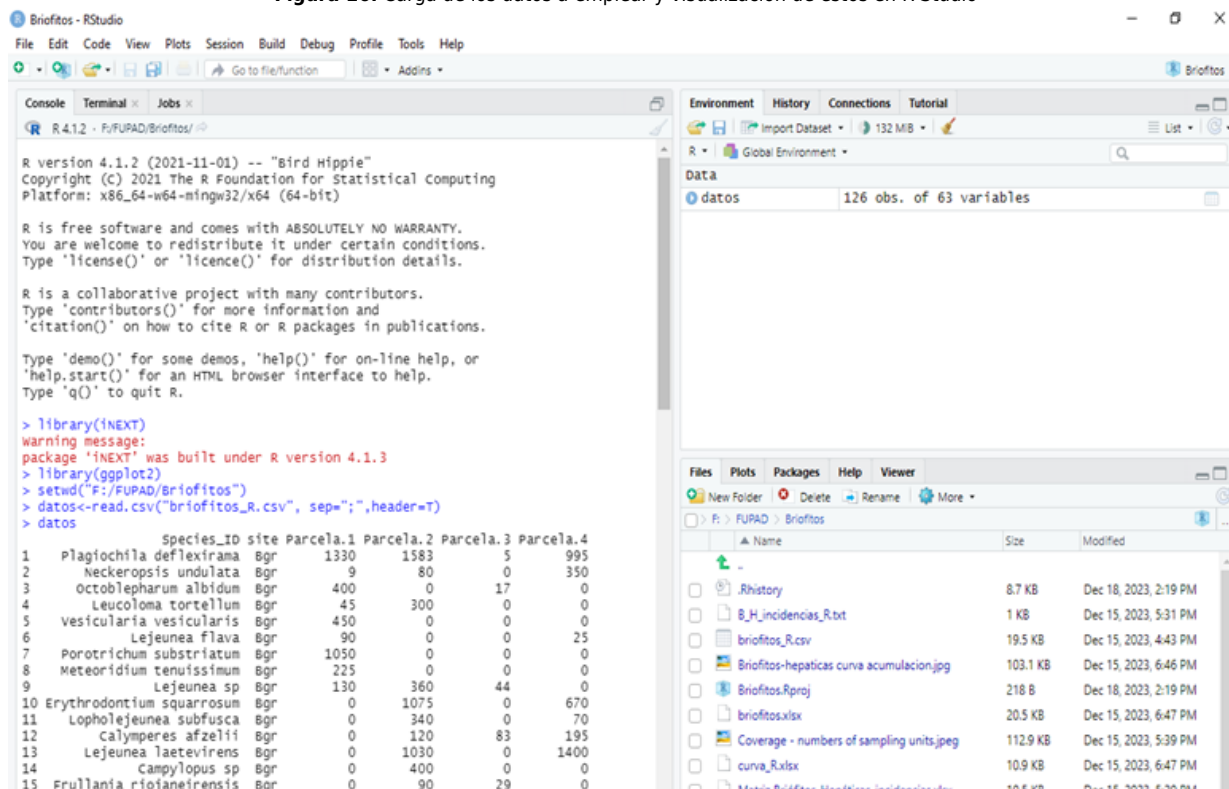
 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	<p align="center">MANUAL</p> <p align="center">EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL</p>		Fecha	20-11-2025
			Versión	1
			Código	IR-MN-10

Figura 16. Carga de los datos a emplear y visualización de estos en R Studio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Los siguientes pasos se tratan de organizar los datos en una matriz de abundancia y luego utilizar iNEXT para calcular la diversidad entre los sitios, incluyendo las observaciones de las parcelas. El gráfico generado mostrará la comparación de la diversidad entre los diferentes sitios, considerando las diferentes parcelas dentro de cada sitio.

- Para ello, creamos una matriz de abundancia con las especies como filas y los sitios como columnas y seleccionamos sólo las columnas correspondientes a los sitios:

```
matriz_abundancia_sitios <- datos[, c("site")]
```

- Agrupamos los datos por sitios y calculamos la suma de las abundancias de las especies por sitio de muestreo:

```
abundancia_sitios <- aggregate(. ~ site, data = datos[, -1], sum)
```

- Transponemos la matriz para tener las especies como filas y los sitios como columnas:

```
matriz_abundancia_sitios <- t(abundancia_sitios[, -1])
```

- Asignamos los nombres a las columnas (sitios) de la matriz de abundancia POR ORDEN ALFABETICO (Figura 17). Si se analiza un solo sitio, se debe colocar el nombre de sólo ese sitio.

```
nombres_columnas <- c("BDAF", "Bgr", "PA", "PE", "PL", "VSA")
colnames(matriz_abundancia_sitios) <- nombres_columnas
```


Figura 17. Líneas de código para organizar y visualizar los datos en una matriz de abundancia en RStudio

```
> matriz_abundancia_sitios <- datos[, c("site")]
> abundancia_sitios <- aggregate(. ~ site, data = datos[, -1], sum)
> matriz_abundancia_sitios <- t(abundancia_sitios[, -1])
> nombres_columnas <- c("BDAF", "Bgr", "PA", "PE", "PL", "VSA")
> nombres_columnas
[1] "BDAF" "Bgr"  "PA"   "PE"   "PL"   "VSA"
>
```

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 5.1.5. Ejecutar iNEXT en R Studio

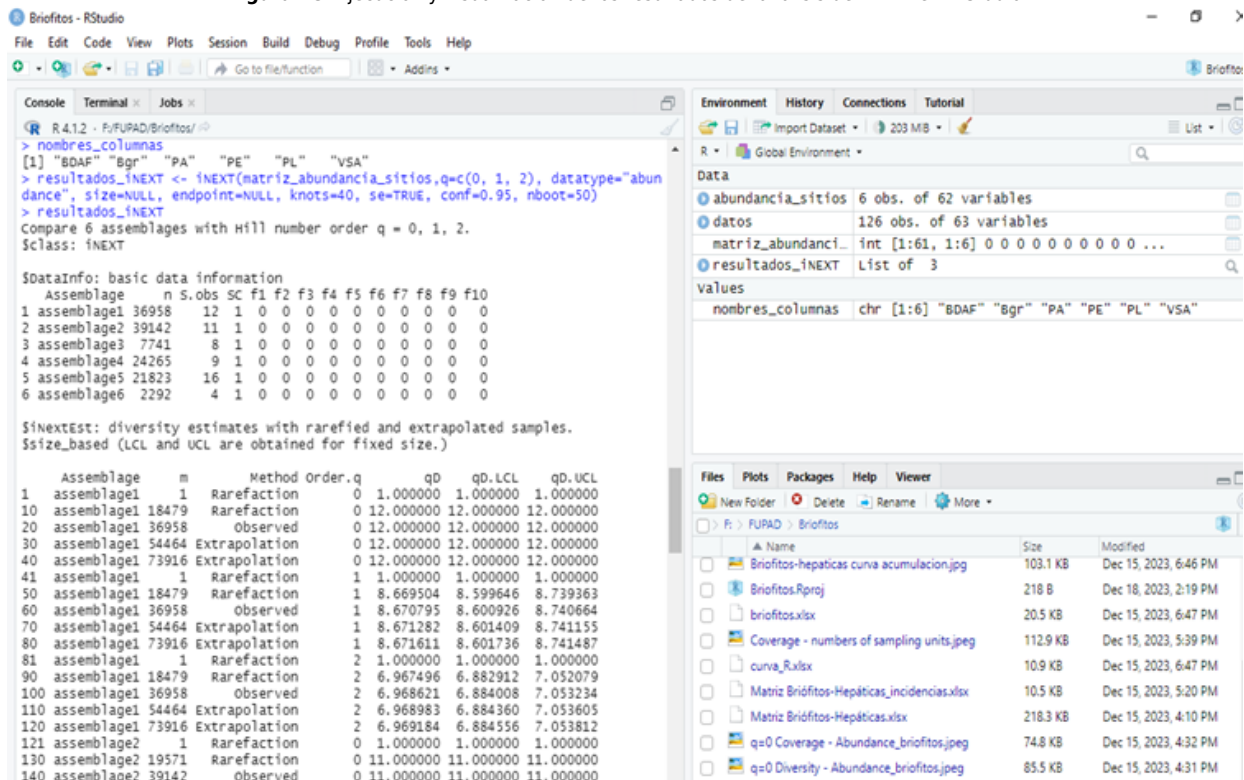
Para ejecutar iNEXT en R Studio, calculamos la diversidad con iNEXT para cada sitio de muestreo (Figura 18). Para más información

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

sobre los parámetros del análisis y uso de iNEXT se puede revisar el manual en: http://chao.stat.nthu.edu.tw/wordpress/wp-content/uploads/software/iNEXT_UserGuide.pdf

```
resultados_iNEXT<-iNEXT(matriz_abundancia_sitios,q=c(0,1,2),
datatype="abundance", size=NULL, endpoint=NULL, knots=40, se=TRUE, conf=0.95, nboot=50)
resultados_iNEXT
```

Figura 18. Ejecución y visualización de los resultados del análisis de iNEXT en R Studio

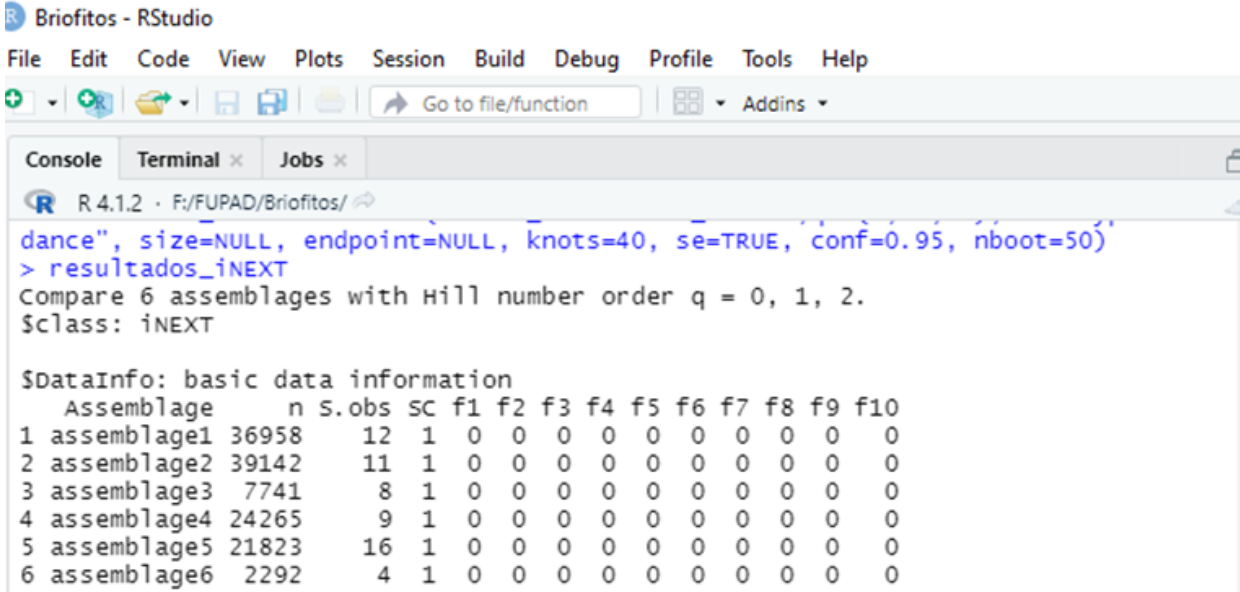


Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 5.1.6. Interpretar los resultados

- En la interpretación de los resultados obtenidos con iNEXT, aparecen tres marcos de datos: \$DataInfo para resumir la información de los datos; \$iNextEst para mostrar las estimaciones de diversidad junto con las estadísticas relacionadas para una serie de muestras enrarecidas y extrapoladas; y \$AsyEst para mostrar estimaciones de diversidad asintótica junto con estadísticas relacionadas, como se describe en los siguientes numerales.
- \$DataInfo, como se muestra en la Figura 19, devuelve información de datos básicos, incluido el nombre del sitio (site), el tamaño de la muestra de referencia (n), la riqueza de especies observada (S.obs), una estimación de la cobertura de la muestra (SC) y los primeros diez recuentos de frecuencia (f1-f10), donde f1 denota el número de especies representadas por exactamente un individuo (es decir, "singletons"), f2 denota el número de especies representadas por exactamente dos individuos (es decir, "doubletons"), y fk denota el número de especie representada por exactamente k individuos. Toda la información de datos también se puede generar llamando a la función DataInfo().

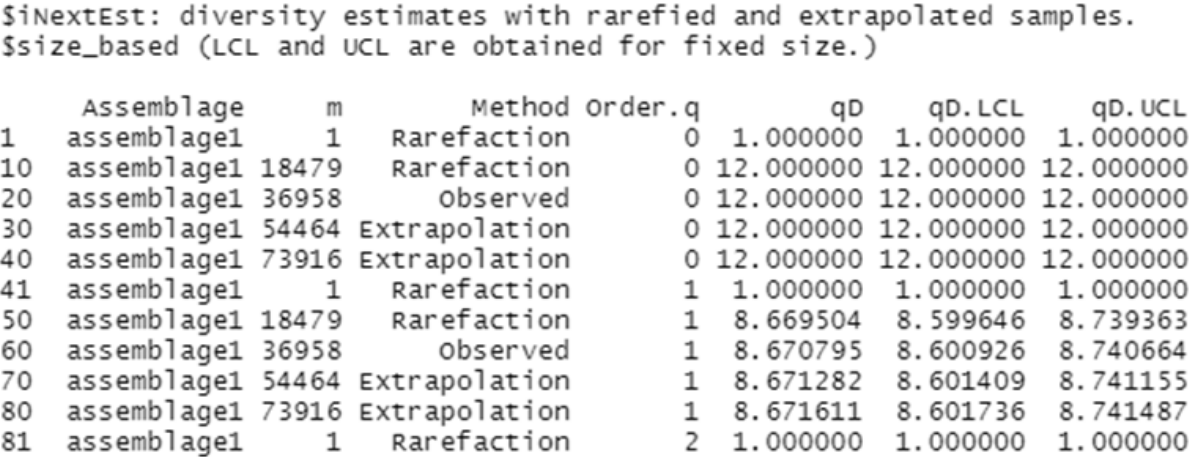
Figura 19. Visualización de los resultados (\$DataInfo) del análisis de iNEXT en R Studio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

- Para cada tamaño de muestra correspondiente a un *knots*, la lista \$iNextEst (Figura 20) incluye el tamaño de la muestra (*m*, es decir, el tamaño de cada uno de los 40 nudos), el método (interpolado, observado o extrapolado), dependiendo de si el tamaño *m* es menor, igual o mayor que el tamaño de muestra de referencia, el orden de diversidad, la estimación de diversidad de orden *q* (*qD*), los límites de confianza superior e inferior del 95% (predeterminado) de diversidad (*qD.LCL*, *qD.UCL*) y la estimación de cobertura de la muestra (*SC.LCL*, *SC.UCL*). Estas estimaciones de cobertura muestral con intervalos de confianza se utilizan para trazar la curva de completitud de la muestra y las curvas R/E basadas en la cobertura. El siguiente resultado muestra una lista parcial de estimaciones de diversidad para *q* = 0, 1 y 2.

Figura 20. Visualización de los resultados (\$iNextEst) del análisis de iNEXT en R Studio.



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

- En la parte \$AsyEst (Figura 21) se enumera la diversidad observada, estimaciones asintóticas, bootstrap estimado (*s.e.*) y los intervalos de confianza del 95% (predeterminado) para números de Hill de orden *q* = 0, 1 y 2. Las asintotas estimadas se calculan mediante las funciones *ChaoRichness()* para *q*=0, *ChaoShannon()* para *q*=1, y *ChaoSimpson()* para *q*=2; véase Chao *et al.* (2014) para las fórmulas de estos estimadores asintóticos.


 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 21. Visualización de los resultados (\$AsyEst) del análisis de iNEXT en R Studio

```
$AsyEst: asymptotic diversity estimates along with related statistics.
  Assemblage      Diversity Observed Estimator      s.e.      LCL
1 assemblage1 species richness 12.000000 12.000000 0.00000000 12.000000
2 assemblage1 shannon diversity  8.670795  8.672086 0.03364996  8.606133
3 assemblage1 simpson diversity  6.968621  6.969746 0.04218900  6.887058
4 assemblage2 species richness 11.000000 11.000000 0.00000000 11.000000
5 assemblage2 shannon diversity  7.352905  7.353845 0.01686702  7.320786
6 assemblage2 simpson diversity  6.810425  6.811436 0.01757306  6.776994
7 assemblage3 species richness  8.000000  8.000000 0.00000000  8.000000
8 assemblage3 shannon diversity  6.657393  6.660404 0.04987763  6.562646
9 assemblage3 simpson diversity  5.472163  5.475327 0.08030093  5.317940
10 assemblage4 species richness  9.000000  9.000000 0.00000000  9.000000
11 assemblage4 shannon diversity  4.417964  4.418693 0.02429250  4.371081
12 assemblage4 simpson diversity  3.312943  3.313259 0.02342495  3.267347
13 assemblage5 species richness 16.000000 16.000000 0.00000000 16.000000
14 assemblage5 shannon diversity 13.595806 13.600480 0.04271165 13.516767
15 assemblage5 simpson diversity 12.560313 12.566971 0.05572227 12.457757
16 assemblage6 species richness  4.000000  4.000000 0.00000000  4.000000
17 assemblage6 shannon diversity  2.092461  2.093833 0.04100208  2.013470
18 assemblage6 simpson diversity  1.612796  1.613228 0.03099919  1.552470
      UCL
1 12.000000
2  8.738039
3  7.052435
4 11.000000
5  7.386904
6  6.845879
7  8.000000
8  6.758163
9  5.632714
10 9.000000
11 4.466306
12 3.359171
13 16.000000
14 13.684194
15 12.676184
16 4.000000
17 2.174195
18 1.673985
```

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

El usuario puede especificar un tamaño de muestra entero para el *endpoint* del argumento para designar el tamaño de muestra máximo del cálculo R/E. Para la riqueza de especies, el método de extrapolación es confiable hasta el doble del tamaño de la muestra de referencia; más allá de eso, el sesgo de predicción puede ser grande. Sin embargo, para medidas de orden $q = 1$ y 2 , la extrapolación generalmente se puede extender con seguridad a la asíntota si los datos no son escasos. Por lo tanto, no hay límite para el valor del criterio de valoración de estas dos medidas (Hsieh et al. 2016).

El usuario también puede especificar el número de *knots* (es decir, especificar algunos tamaños de muestra particulares) entre 1 y el *endpoint*. Si elige una gran cantidad de *knots*, puede llevar mucho tiempo obtener el resultado debido al método de Bootstrap que requiere mucho tiempo (Hsieh et al. 2016).

Paso 5.1.7. Elaborar las gráficas básicas usando la función `ggiNEXT()`

La función `ggiNEXT()`, que emplea la librería `ggplot2`, se describe a continuación con los argumentos predeterminados acorde a Hsieh et al. (2016):

```
ggiNEXT(resultados_iNEXT, type=1, facet.var="Assemblage")
```

```
ggiNEXT(resultados_iNEXT, type=2, facet.var="Assemblage")
```

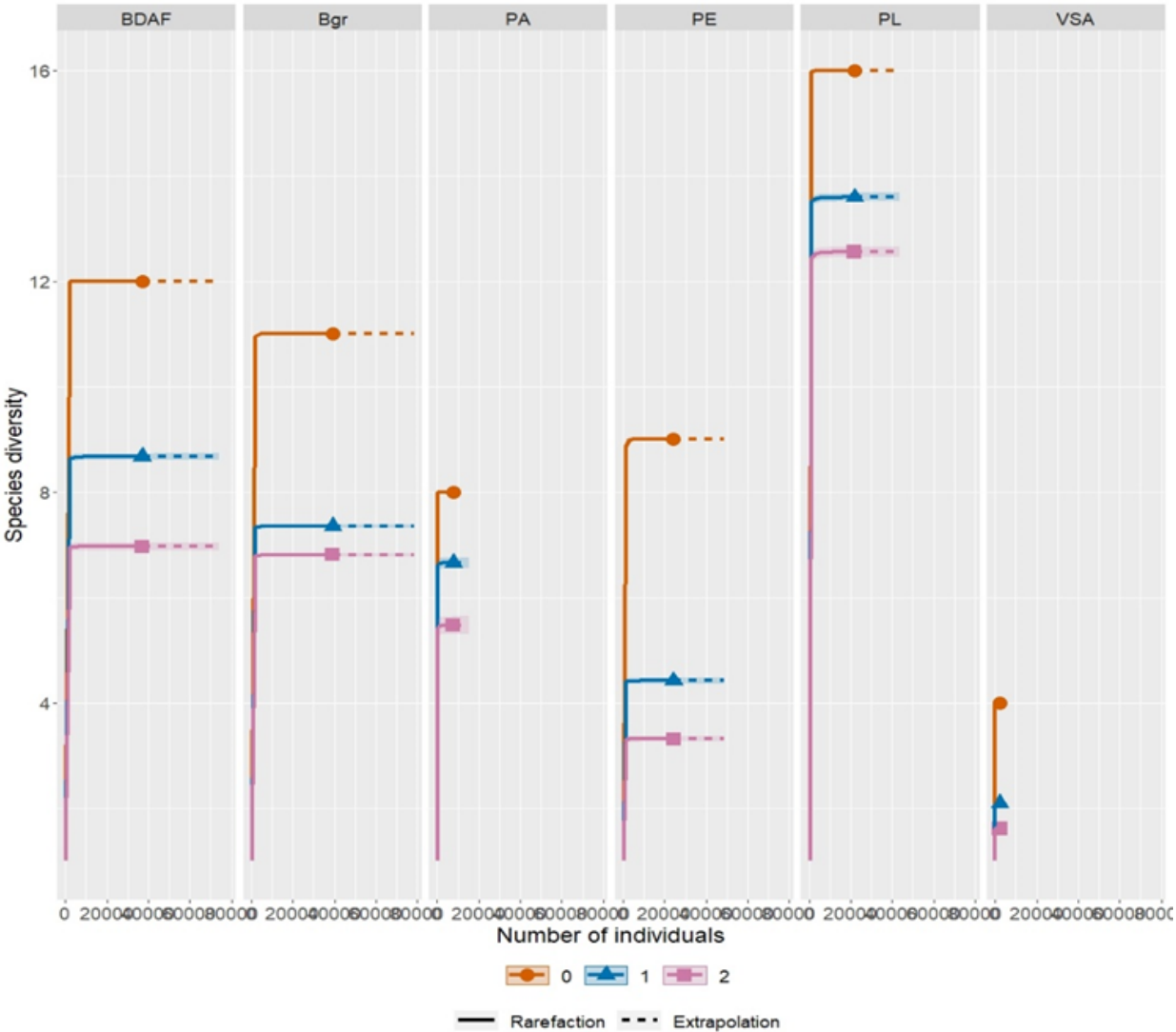
```
ggiNEXT(resultados_iNEXT, type=3, facet.var="Assemblage")
```

La función `ggiNEXT()` es una función del paquete `ggplot2` para crear curvas R/E usando una sola línea de código. El objeto resultante es de clase "ggplot", por lo que puede manipularse utilizando las herramientas `ggplot2`. Se admiten tres tipos de curvas, las cuales se describen en los siguientes numerales.

- La curva R/E basada en el tamaño de la muestra (tipo=1) (Figura 22) traza estimaciones de diversidad con intervalos de confianza (se = TRUE) en función del tamaño de la muestra hasta el doble del tamaño de la muestra de referencia de forma

predeterminada, o un criterio de valoración especificado por el usuario.

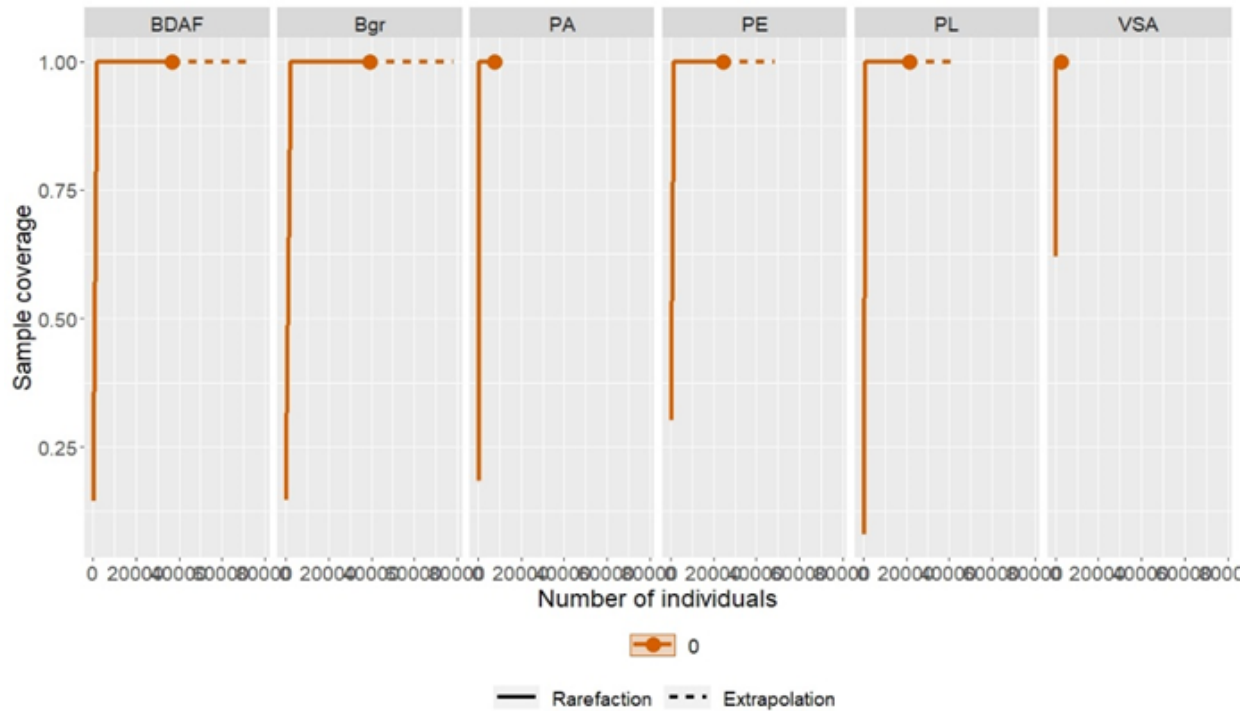
Figura 22. Visualización de los resultados tipo 1 de iNEXT en R Studio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Curva de completitud de la muestra (tipo=2) con intervalos de confianza (se= TRUE) (Figura 23). Esta curva traza la cobertura de la muestra con respecto al tamaño de la muestra para el mismo rango descrito en (1).

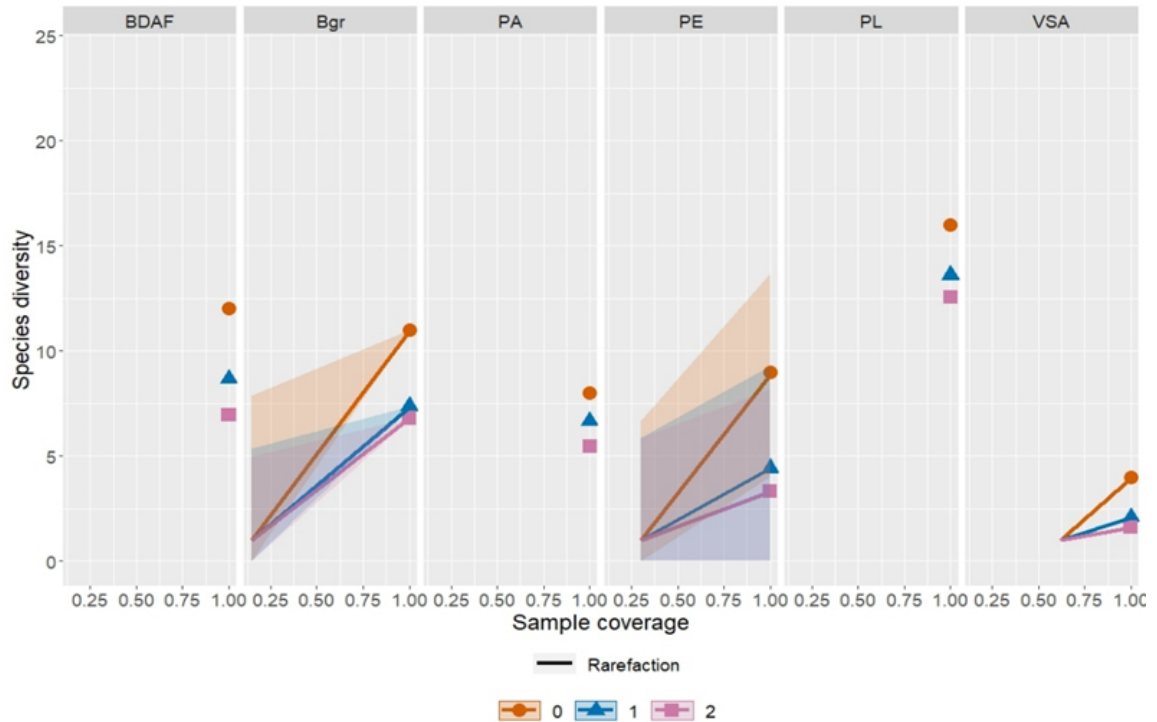
Figura 23. Visualización de los resultados tipo 2 de iNEXT en R Studio.



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Curva R/E basada en cobertura (tipo=3) (Figura 24). Esta curva traza las estimaciones de diversidad con intervalos de confianza (se = TRUE) en función de la cobertura de la muestra hasta la cobertura máxima obtenida del tamaño máximo descrito en (1).

Figura 24. Visualización de los resultados tipo 3 de iNEXT en R Studio



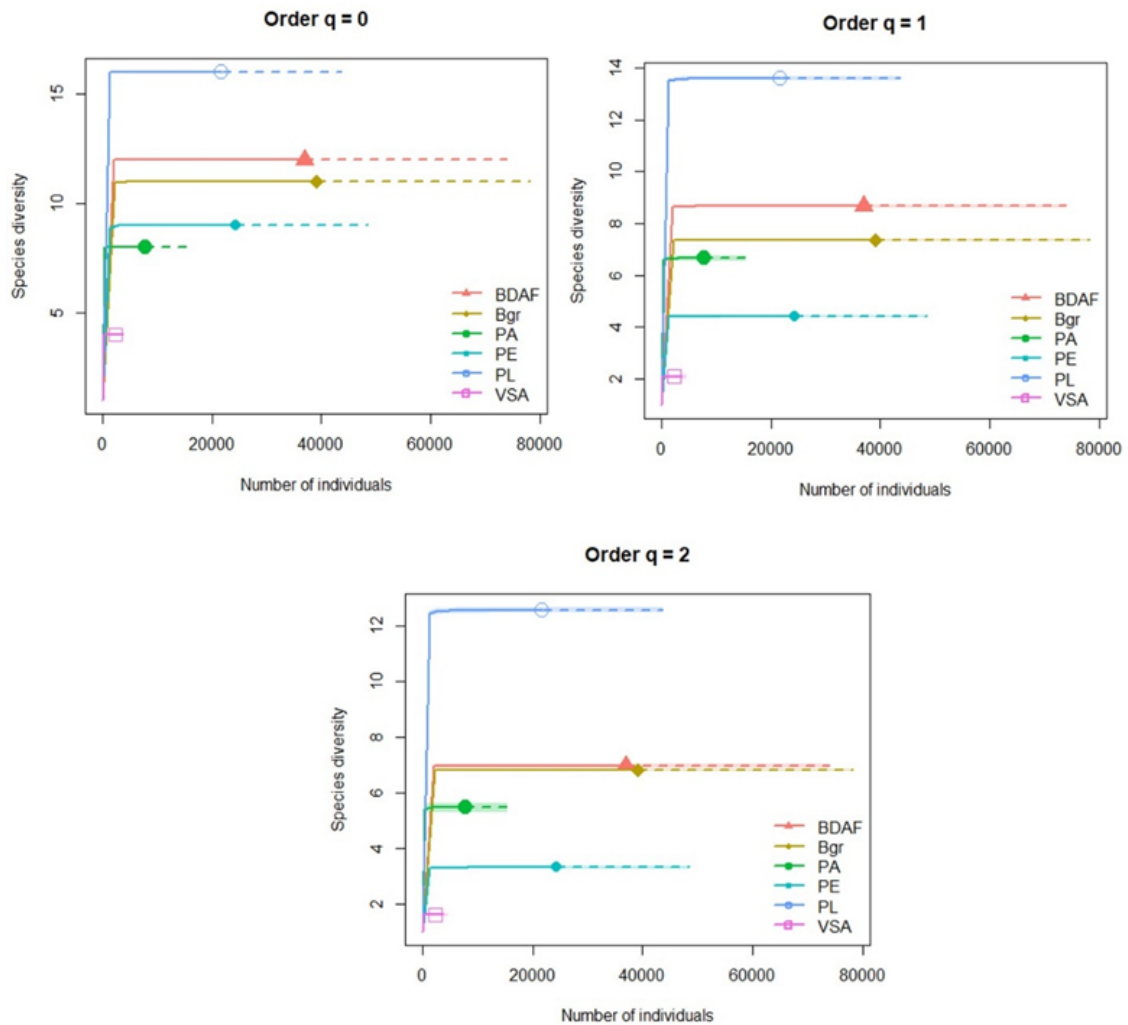
Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Otro tipo de gráficas que el usuario puede realizar, ya según los gustos para la presentación de estas, se pueden generar para los mismos tres tipos de análisis en iNEXT mediante los siguientes códigos:

```
plot(resultados_iNEXT, type = 1)# q=0
plot(resultados_iNEXT, type = 2)# q=1
plot(resultados_iNEXT, type = 3)# q=2
```

Para los resultados de tipo 1 (Figura 25):

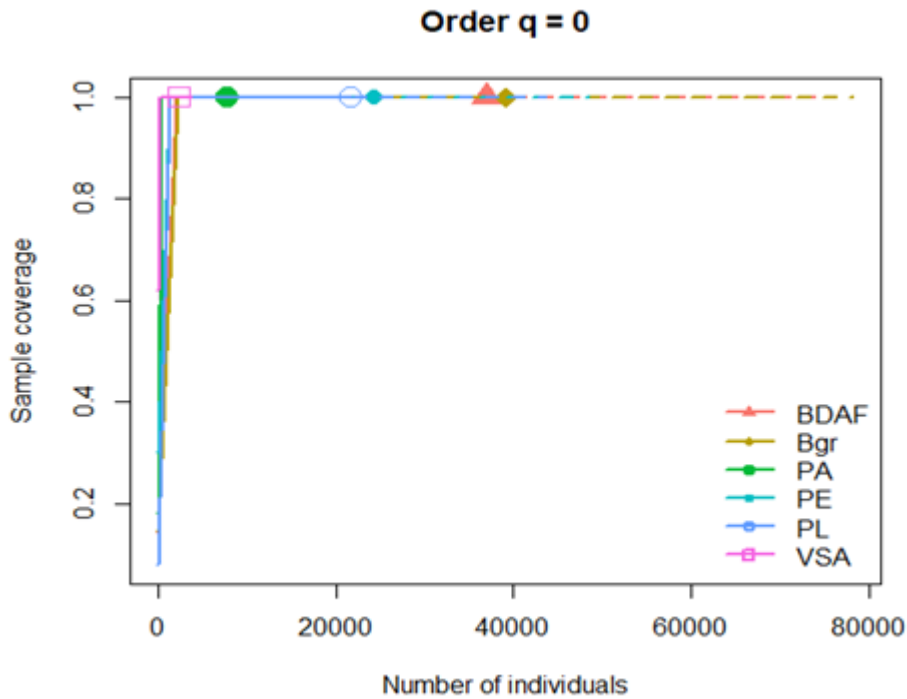
Figura 25. Otro tipo de visualización de los resultados tipo 1 de iNEXT en R Studio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Para los resultados de tipo 2 (Figura 26):

Figura 26. Otro tipo de visualización de los resultados tipo 2 de iNEXT en RStudio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Finalmente para el tipo 3 (Figura 27):


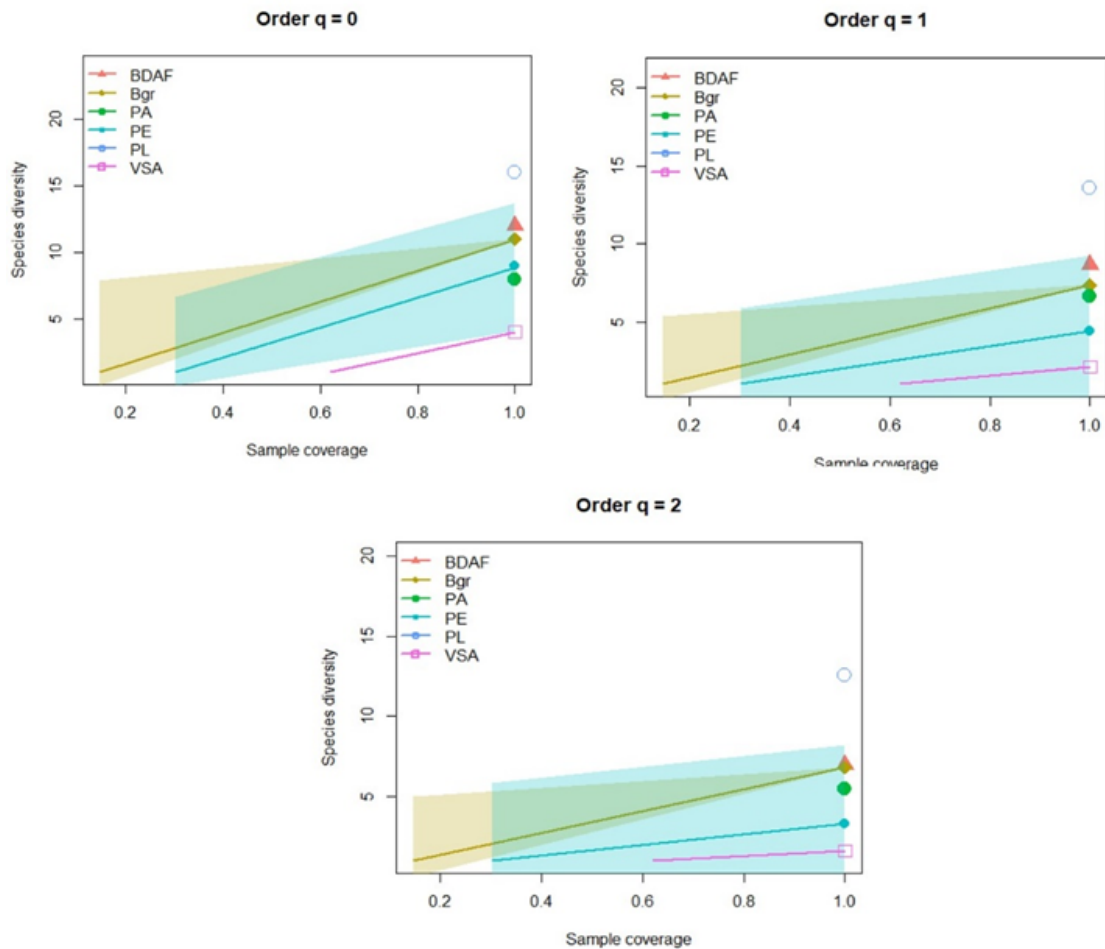
 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 27. Otro tipo de visualización de los resultados tipo 3 de iNEXT en RStudio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 5.2. Análisis de rarefacción con extrapolación (R/E) mediante datos de Frecuencias de Incidencias

Para demostrar el uso de iNEXT con datos de frecuencias de incidencias para realizar el análisis de representatividad del muestreo, usaremos como ejemplo, datos de especies No vasculares (briófitos).

Paso 5.2.1. Construir la matriz

Inicialmente debemos construir, en Excel (en formato csv) o en un editor de texto (formato txt), una matriz con las frecuencias de incidencias para cada especie registrada en cada parcela por zona de muestreo, en nuestro ejemplo, 'Tipo de Cobertura' (Figura 28).


 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 28. Modelo de matriz con frecuencias de incidencias por cada especie registrada de especies No vasculares en cada parcela para cada zona de muestreo en formato csv.

	A	B	C	D	E	F	G
1		BDAF	Bgr	PA	PE	PL	VSA
2	N°_plot	12	11	9	9	16	4
3	<i>Plagiochila deflexirama</i>	10	8	1	3	2	4
4	<i>Neckeropsis undulata</i>	8	9	0	0	0	2
5	<i>Octoblepharum albidum</i>	5	7	0	4	1	1
6	<i>Leucoloma tortellum</i>	2	3	1	3	0	0
7	<i>Vesicularia vesicularis</i>	5	2	0	0	0	0
8	<i>Lejeunea flava</i>	12	6	3	4	7	2
9	<i>Porotrichum substriatum</i>	2	2	2	0	0	0
10	<i>Meteoridium tenuissimum</i>	1	3	7	0	1	0
11	<i>Lejeunea sp</i>	2	6	0	2	1	2
12	<i>Erythrodontium squarrosum</i>	3	5	2	3	7	2
13	<i>Lopholejeunea subfusca</i>	7	3	8	3	3	2
14	<i>Calymperes afzelii</i>	6	7	1	1	8	3
15	<i>Lejeunea laetevirens</i>	4	7	4	6	8	3
16	<i>Campylopus sp</i>	0	2	0	1	0	0
17	<i>Frullania riojaneirensis</i>	1	3	6	4	9	2
18	<i>Sematophyllum subsimplex</i>	1	2	1	3	3	0
19	<i>Racopilum tomentosum</i>	4	3	4	1	3	0
20	<i>Orthostichidium quadrangulare</i>	1	3	5	0	0	0
21	<i>Frullania sp1</i>	4	2	1	3	7	1
22	<i>Thuidium tomentosum</i>	7	7	0	1	0	3
23	<i>Eulacophyllum cultelliforme</i>	1	3	0	0	0	0
24	<i>Bryum capillare</i>	3	3	2	4	5	1
25	<i>Pilosium chlorophyllum</i>	2	4	1	0	2	0
26	<i>Entodontopsis leucostega</i>	7	4	1	2	3	1
27	<i>Thuidium sp1</i>	7	2	0	1	1	0
28	<i>Acrolejeunea torulosa</i>	0	2	0	2	0	0
29	<i>Syringothecium sprucei</i>	7	1	3	0	0	1
30	<i>Lejeunea aff capensis</i>	3	0	2	1	1	1
31	<i>Lindigia debilis</i>	0	0	0	1	0	0

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

En la fila 'N°_plot' se coloca el número de parcelas empleadas para cada zona de muestreo. En cada columna se debe colocar la zona de muestreo, en nuestro ejemplo: Bosque denso de tierra firme (BDAF), Bosque de galería (Bgr), Pastos Arbolados (PA), Pastos Enmalezados (PE), Pastos Limpios (PL), y Vegetación Secundaria Alta (VSA), y para cada especie se debe contar el número de veces que se registra la especie en la zona de muestreo en general, es decir, para nuestro ejemplo en la Figura 27, la zona de muestreo BDAF, presentó 12 parcelas, y para la especie *Plagiochila deflexirama* se registró 10 veces dentro de la zona BDAF.

Paso 5.2.2. Cargar las librerías y la matriz de frecuencia de la incidencia

Seguir las indicaciones del numeral 5.1.2.

Paso 5.2.3. Ubicar la dirección de trabajo en R Studio

Seguir las indicaciones del numeral 5.1.3.

Paso 5.2.4. Cargar y visualizar los datos a trabajar

Seguir las indicaciones del numeral 5.1.4. De esta manera, se debe obtener la información como se muestra en la Figura 29.


 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 29. Carga de los datos a emplear y visualización de estos en RStudio

```
> datos <- read.table(file = "B_H_incidencias_R.txt", header = TRUE)
> datos
```

	BDAF	Bgr	PA	PE	PL	VSA
NÂ°_plot	12	11	9	9	16	4
Plagiochila_deflexirama	10	8	1	3	2	4
Neckeropsis_undulata	8	9	0	0	0	2
Octoblepharum_albidum	5	7	0	4	1	1
Leucoloma_tortellum	2	3	1	3	0	0
Vesicularia_vesicularis	5	2	0	0	0	0
Lejeunea_flava	12	6	3	4	7	2
Porotrichum_substriatum	2	2	2	0	0	0
Meteoridium_tenuissimum	1	3	7	0	1	0
Lejeunea_sp	2	6	0	2	1	2
Erythrodontium_squarrosus	3	5	2	3	7	2
Lopholejeunea_subfusca	7	3	8	3	3	2
Calymperes_afzelii	6	7	1	1	8	3
Lejeunea_laetevirens	4	7	4	6	8	3
Campylopus_sp	0	2	0	1	0	0
Frullania_riojaneirensis	1	3	6	4	9	2
Sematophyllum_subsimplex	1	2	1	3	3	0
Racopilum_tomentosum	4	3	4	1	3	0
Orthostichidium_quadrangulare	1	3	5	0	0	0
Frullania_sp1	4	2	1	3	7	1
Thuidium_tomentosum	7	7	0	1	0	3
Eulacophyllum_cultelliforme	1	3	0	0	0	0
Bryum_capillare	3	3	2	4	5	1
Pilosium_chlorophyllum	2	4	1	0	2	0
Entodontopsis_leucostega	7	4	1	2	3	1
Thuidium_sp1	7	2	0	1	1	0
Acrolejeunea_torulosa	0	2	0	2	0	0
Syringothecium_sprucei	7	1	3	0	0	1
Lejeunea_aff_capensis	3	0	2	1	1	1
Lindigia_debilis	0	0	0	1	0	0

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 5.2.5. Ejecutar el análisis en R Studio

Para realizar el análisis en iNEXT en R Studio, calculamos la diversidad con iNEXT para la matriz con los datos de frecuencias de incidencias para cada especie por sitio de muestreo (Figura 30) siguiendo el código a continuación. Además, los datos de especies consisten únicamente en recuentos de frecuencia de incidencia (Q1, Q2,..., QT), donde T denota el número total de unidades de muestreo. Para mayor información sobre los parámetros del análisis y uso de iNEXT se puede revisar el manual en: http://chao.stat.nthu.edu.tw/wordpress/wp-content/uploads/software/iNEXT_UserGuide.pdf

```
resultados_inext <- iNEXT(datos, q=c(0, 1, 2), datatype = "incidence_freq", conf=0.95, nboot=50,
endpoint = 50)
```



 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 30. Ejecución y visualización de los resultados del análisis de iNEXT en RStudio

```
> resultados_inext <- iNEXT(datos, q=c(0, 1, 2), datatype = "incidence_freq", conf
=0.95, nboot=50, endpoint = 50)
> resultados_inext
Compare 6 assemblages with Hill number order q = 0, 1, 2.
$class: iNEXT

$DataInfo: basic data information
  Assemblage T   U S.obs   SC Q1 Q2 Q3 Q4 Q5 Q6 Q7 Q8 Q9 Q10
1      BDAF 12 115    26 0.9620 5 4 3 3 2 1 5 1 0 1
2      Bgr 11 109    27 0.9962 1 7 8 2 1 2 4 1 1 0
3      PA 9 55    19 0.8886 7 4 2 2 1 1 1 1 0 0
4      PE 9 53    21 0.8807 7 3 6 4 0 1 0 0 0 0
5      PL 16 72    18 0.9341 5 2 4 0 1 0 3 2 1 0
6      VSA 4 31    16 0.8839 6 6 3 1 0 0 0 0 0 0

$iNextEst: diversity estimates with rarefied and extrapolated samples.
$size_based (LCL and UCL are obtained for fixed size.)

  Assemblage t      Method Order.q      qD      qD.LCL      qD.UCL
1      BDAF 1  Rarefaction      0 9.583333 8.570696 10.595971
8      BDAF 8  Rarefaction      0 23.909091 21.635287 26.182895
16     BDAF 18 Extrapolation      0 27.596364 23.761186 31.431542
24     BDAF 34 Extrapolation      0 28.720190 21.596611 35.843768
32     BDAF 50 Extrapolation      0 28.848143 19.205549 38.490738
33     BDAF 1  Rarefaction      1 9.583333 8.570696 10.595971
40     BDAF 8  Rarefaction      1 19.813372 18.004992 21.621752
48     BDAF 18 Extrapolation      1 21.680023 19.694789 23.665257
56     BDAF 34 Extrapolation      1 22.611462 20.530651 24.692273
64     BDAF 50 Extrapolation      1 22.841271 20.716085 24.966456
65     BDAF 1  Rarefaction      2 9.583333 8.570696 10.595971
72     BDAF 8  Rarefaction      2 17.303003 15.648209 18.957798
80     BDAF 18 Extrapolation      2 18.484752 16.625051 20.344454
88     BDAF 34 Extrapolation      2 18.972574 17.019169 20.925979
96     BDAF 50 Extrapolation      2 19.154553 17.164865 21.144241
97      Bgr 1  Rarefaction      0 9.909091 8.717356 11.100826
```

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Paso 5.2.6. Interpretar los resultados

En la interpretación de los resultados obtenidos con iNEXT, aparecen cuatro marcos de datos: \$DataInfo para resumir la información de los datos; \$iNextEst para mostrar las estimaciones de diversidad junto con las estadísticas relacionadas para una serie de muestras enrarecidas y extrapoladas; \$coverage_based para determinar la representatividad del muestreo (S.C.) mostrando los LCL y UCL obtenidos a partir de una cobertura fija, y la longitud del intervalo, en donde suele ser más amplia debido a la variación del tamaño en los bootstraps. Finalmente, \$AsyEst para mostrar estimaciones de diversidad asintótica junto con estadísticas relacionadas, como se describieron en el numeral 5.1.6.

- Para los datos de incidencia, la lista \$DataInfo incluye el nombre del sitio (site); el tamaño de la muestra de referencia (T), es decir el número total de parcelas usadas; la riqueza de especies observada (S.obs); el número total de incidencias (U); una estimación de cobertura de la muestra (S.C.), y los primeros diez recuentos de frecuencia de incidencia (Q1-Q10) (Figura 31).

Figura 31. Visualización de los resultados (\$DataInfo) del análisis de iNEXT en RStudio

```
$DataInfo: basic data information
```

	Assemblage	T	U	S.obs	SC	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9	Q10
1	BDAF	12	115	26	0.9620	5	4	3	3	2	1	5	1	0	1
2	Bgr	11	109	27	0.9962	1	7	8	2	1	2	4	1	1	0
3	PA	9	55	19	0.8886	7	4	2	2	1	1	1	1	0	0
4	PE	9	53	21	0.8807	7	3	6	4	0	1	0	0	0	0
5	PL	16	72	18	0.9341	5	2	4	0	1	0	3	2	1	0
6	VSA	4	31	16	0.8839	6	6	3	1	0	0	0	0	0	0

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

- Para interpretar los resultados de \$iNextEst, el usuario puede remitirse al numeral 5.1.6. En la Figura 32 se puede observar algunos de los resultados obtenidos en iNEXT.

Figura 32. Visualización de los resultados (\$iNextEst) del análisis de iNEXT en RStudio

```
$iNextEst: diversity estimates with rarefied and extrapolated samples.
$size_based (LCL and UCL are obtained for fixed size.)
```

	Assemblage	t	Method	order.q	qD	qD.LCL	qD.UCL
1	BDAF	1	Rarefaction	0	9.583333	8.570696	10.595971
8	BDAF	8	Rarefaction	0	23.909091	21.635287	26.182895
16	BDAF	18	Extrapolation	0	27.596364	23.761186	31.431542
24	BDAF	34	Extrapolation	0	28.720190	21.596611	35.843768
32	BDAF	50	Extrapolation	0	28.848143	19.205549	38.490738
33	BDAF	1	Rarefaction	1	9.583333	8.570696	10.595971
40	BDAF	8	Rarefaction	1	19.813372	18.004992	21.621752
48	BDAF	18	Extrapolation	1	21.680023	19.694789	23.665257
56	BDAF	34	Extrapolation	1	22.611462	20.530651	24.692273
64	BDAF	50	Extrapolation	1	22.841271	20.716085	24.966456
65	BDAF	1	Rarefaction	2	9.583333	8.570696	10.595971
72	BDAF	8	Rarefaction	2	17.303003	15.648209	18.957798
80	BDAF	18	Extrapolation	2	18.484752	16.625051	20.344454
88	BDAF	34	Extrapolation	2	18.972574	17.019169	20.925979
96	BDAF	50	Extrapolation	2	19.154553	17.164865	21.144241

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

La lista \$coverage_based permite observar la representatividad del muestreo (S.C.), y los intervalos de Bootstrap (qD.LCL y qD.UCL) (Figura 33).


 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 33. Visualización de los resultados (\$coverage_based) del análisis de iNEXT en RStudio

\$coverage_based (LCL and UCL are obtained for fixed coverage; interval length is wider due to varying size in bootstraps.)

	Assemblage	SC	t	Method	Order.q	qD	qD.LCL
1	BDAF	0.4901186	1	Rarefaction	0	9.583333	8.616493
8	BDAF	0.9326478	8	Rarefaction	0	23.909065	19.633387
16	BDAF	0.9831954	18	Extrapolation	0	27.596364	14.807786
24	BDAF	0.9980867	34	Extrapolation	0	28.720190	13.224831
32	BDAF	0.9997822	50	Extrapolation	0	28.848143	13.036605
33	BDAF	0.4901186	1	Rarefaction	1	9.583333	8.612129
40	BDAF	0.9326478	8	Rarefaction	1	19.813358	17.927182
48	BDAF	0.9831954	18	Extrapolation	1	21.680023	19.344234
56	BDAF	0.9980867	34	Extrapolation	1	22.611462	20.330243
64	BDAF	0.9997822	50	Extrapolation	1	22.841271	20.606123
65	BDAF	0.4901186	1	Rarefaction	2	9.583333	8.606728
72	BDAF	0.9326478	8	Rarefaction	2	17.302994	15.798685
80	BDAF	0.9831954	18	Extrapolation	2	18.484752	16.700849
88	BDAF	0.9980867	34	Extrapolation	2	18.972574	17.074032
96	BDAF	0.9997822	50	Extrapolation	2	19.154553	17.209842
97	Bgr	0.4238532	1	Rarefaction	0	9.909091	8.831804
104	Bgr	0.9602441	8	Rarefaction	0	26.296954	23.661419
111	Bgr	0.9999917	18	Extrapolation	0	27.064793	22.926456
119	Bgr	1.0000000	34	Extrapolation	0	27.064935	22.926217
126	Bgr	1.0000000	Inf	Extrapolation	0	27.064935	22.932172
127	Bgr	0.4238532	1	Rarefaction	1	9.909091	8.825341
134	Bgr	0.9602441	8	Rarefaction	1	22.540292	20.487451
141	Bgr	0.9999917	18	Extrapolation	1	24.490919	21.888583
149	Bgr	1.0000000	34	Extrapolation	1	25.306722	22.718017
156	Bgr	1.0000000	Inf	Extrapolation	1	25.500575	22.935637
157	Bgr	0.4238532	1	Rarefaction	2	9.909091	8.815604
164	Bgr	0.9602441	8	Rarefaction	2	19.983170	17.975921
171	Bgr	0.9999917	18	Extrapolation	2	21.737071	19.079922
179	Bgr	1.0000000	34	Extrapolation	2	22.479855	19.725300

Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Para la comprensión de los resultados de \$AsyEst, el usuario se puede remitir al numeral 5.1.6. En la Figura 34 se puede observar algunos de los resultados obtenidos en iNEXT.

Figura 34. Visualización de los resultados (\$AsyEst) del análisis de iNEXT en RStudio

```
$AsyEst: asymptotic diversity estimates along with related statistics.
  Assemblage      Diversity Observed Estimator      s.e.      LCL
1      BDAF species richness 26.00000 28.86458 5.052916 26.00000
2      BDAF shannon diversity 20.82666 22.91654 1.247559 20.47137
3      BDAF simpson diversity 17.99320 19.55309 1.147691 17.30366
4      Bgr species richness 27.00000 27.06494 3.052391 27.00000
5      Bgr shannon diversity 23.42217 25.50058 1.434552 22.68891
6      Bgr simpson diversity 20.80736 23.37859 1.650761 20.14316
7      PA species richness 19.00000 24.44444 7.630237 19.00000
8      PA shannon diversity 14.77768 17.98809 2.346858 13.38833
9      PA simpson diversity 12.24696 14.00463 1.659260 10.75254
10     PE species richness 21.00000 28.25926 13.163260 21.00000
11     PE shannon diversity 18.12630 23.07264 3.326125 16.55355
12     PE simpson diversity 16.23699 20.80741 2.785846 15.34725
13     PL species richness 18.00000 23.85938 7.894706 18.00000
14     PL shannon diversity 13.99893 16.25040 1.578323 13.15695
15     PL simpson diversity 12.05581 13.57542 1.236563 11.15180
16     VSA species richness 16.00000 18.25000 4.866994 16.00000
17     VSA shannon diversity 14.40886 17.80527 2.346109 13.20698
18     VSA simpson diversity 13.16438 17.16071 1.709115 13.81091

      UCL
1 38.76812
2 25.36171
3 21.80253
4 33.04751
5 28.31224
6 26.61402
7 39.39943
8 22.58785
9 17.25672
10 54.05877
11 29.59172
12 26.26757
13 39.33272
14 19.34386
15 15.99904
16 27.78913
17 22.40356
18 20.51052
```

Fuent

e: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

De igual forma, el usuario puede definir un tamaño de muestra para el *endpoint* del argumento para designar el tamaño de muestra máximo para el cálculo R/E. Para la riqueza de especies, el método de extrapolación es confiable hasta el doble del tamaño de la muestra de referencia; más allá de eso, el sesgo de predicción puede ser alto. No obstante, para medidas de orden $q = 1$ y 2 , la extrapolación generalmente se puede extender con seguridad a la asíntota si los datos no son escasos. Por lo tanto, no hay límite para el valor del criterio de valoración de estas dos medidas (Hsieh *et al.* 2016).

Paso 5.2.7. Elaborar las gráficas básicas usando la función `ggiNEXT()`

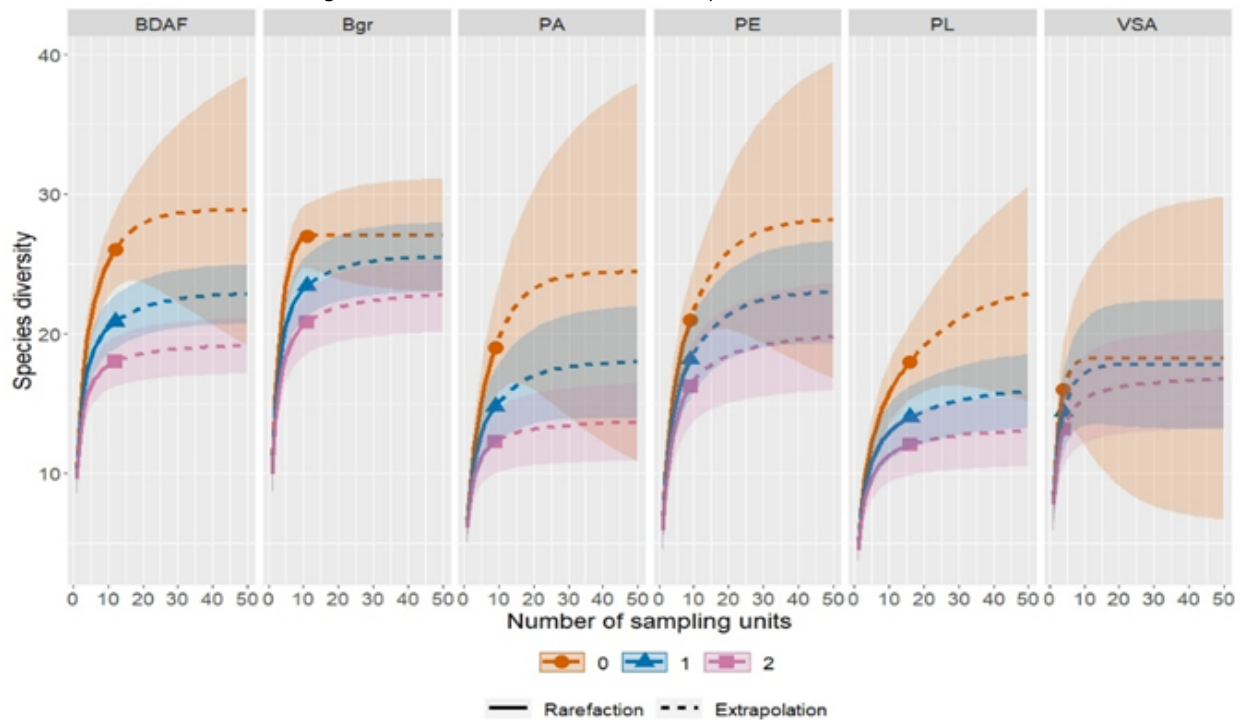
La función `ggiNEXT()`, que emplea la librería `ggplot2`, se describe a continuación con los argumentos propuestos para el análisis basado en Hsieh *et al.* (2016):

```
ggiNEXT(resultados_iNEXT, type=1, facet.var="Assemblage")
ggiNEXT(resultados_iNEXT, type=2, facet.var="Assemblage")
ggiNEXT(resultados_iNEXT, type=3, facet.var="Assemblage")
```

La función `ggiNEXT()` es una función del paquete `ggplot2` para crear curvas R/E usando una sola línea de código. El objeto resultante es de clase "ggplot", por lo que puede manipularse utilizando las herramientas `ggplot2`. Al igual que en los análisis con datos de abundancias, también se admiten tres tipos de curvas, las cuales se describen en los siguientes numerales.

La curva R/E basada en el tamaño de la muestra (tipo=1) (Figura 35) traza estimaciones de diversidad con intervalos de confianza (se = TRUE) en función del tamaño de la muestra hasta el doble del tamaño de la muestra de referencia de forma predeterminada, o un criterio de valoración especificado por el usuario.

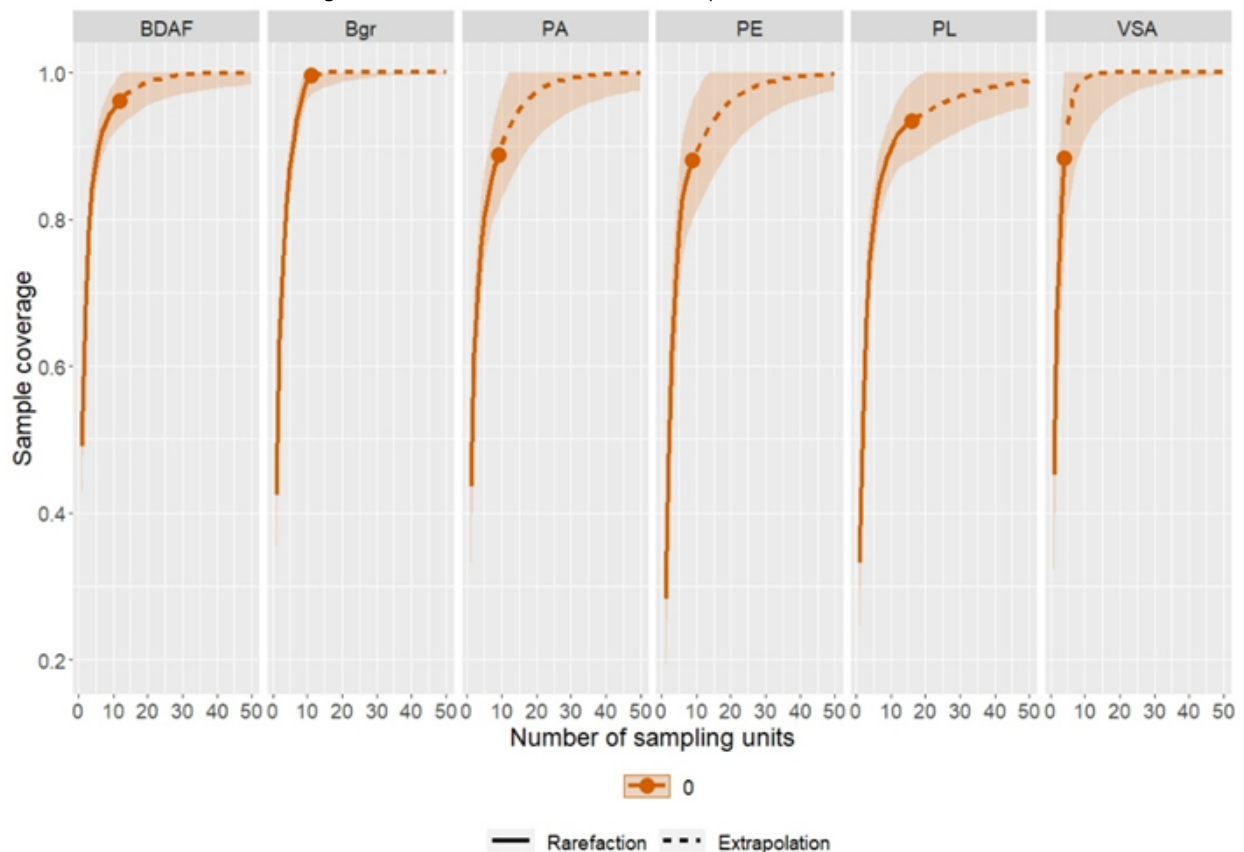
Figura 35. Visualización de los resultados tipo 1 de iNEXT en RStudio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Curva de completitud de la muestra (tipo=2) con intervalos de confianza (se= TRUE) (Figura 36). Esta curva traza la cobertura de la muestra con respecto al tamaño de la muestra para el mismo rango descrito en (1).

Figura 36. Visualización de los resultados tipo 2 de iNEXT en RStudio

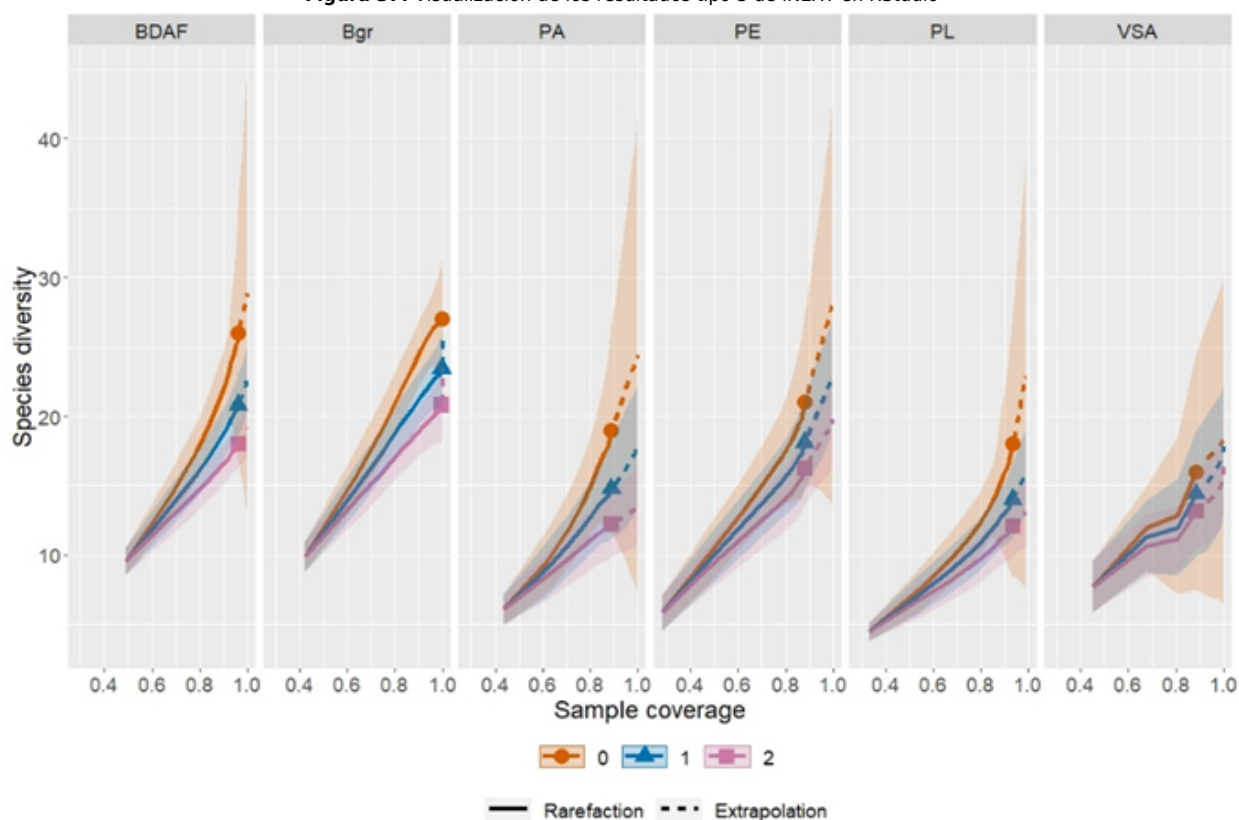


Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Curva R/E basada en cobertura (tipo=3) (Figura 37). Esta curva traza las estimaciones de diversidad con intervalos de confianza (se =

TRUE) en función de la cobertura de la muestra hasta la cobertura máxima obtenida del tamaño máximo descrito en (1).

Figura 37. Visualización de los resultados tipo 3 de iNEXT en RStudio



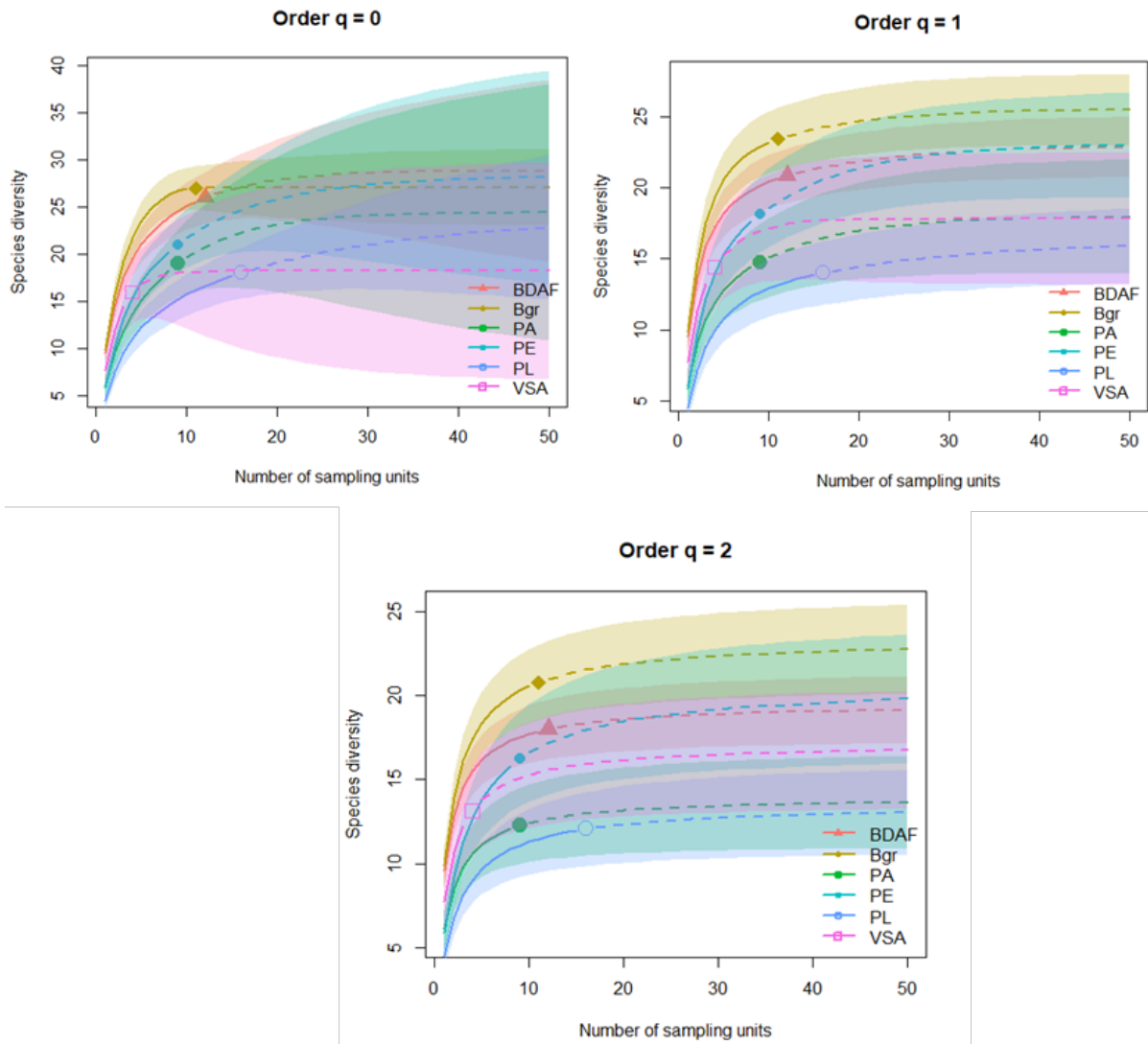
Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Otro tipo de gráficas que el usuario puede realizar, ya según necesidades de la presentación de estas, se pueden generar para los mismos tres tipos de análisis en iNEXT mediante los siguientes códigos:

```
plot(resultados_iNEXT, type = 1)# q=0
plot(resultados_iNEXT, type = 2)# q=1
plot(resultados_iNEXT, type = 3)# q=2
```

Para los resultados de tipo 1 (Figura 38):

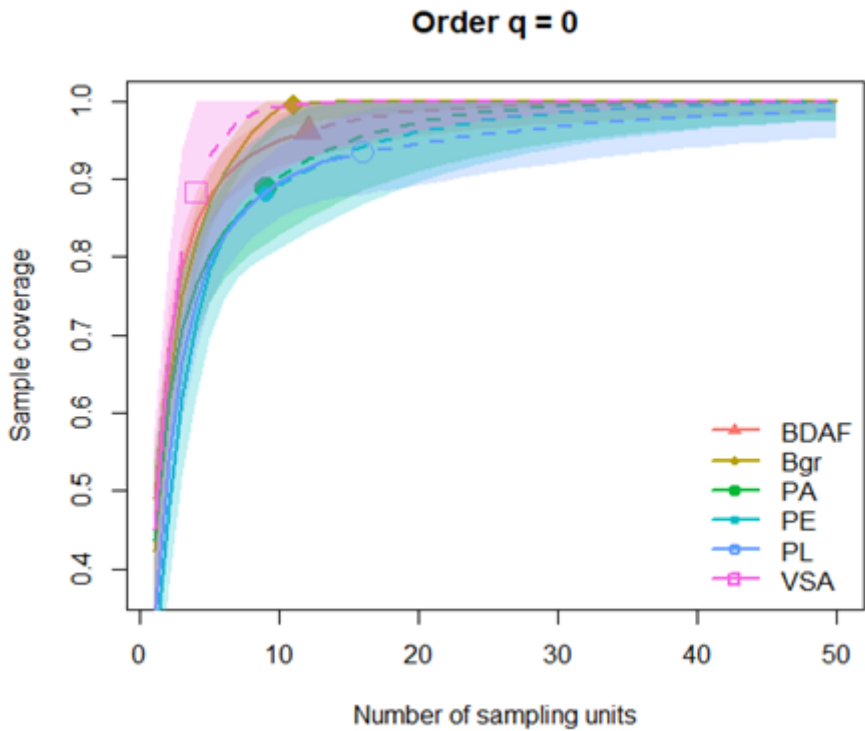
Figura 38. Otro tipo de visualización de los resultados tipo 1 de iNEXT en RStudio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Para los resultados de tipo 2 (Figura 39):

Figura 39. Otro tipo de visualización de los resultados tipo 2 de iNEXT en RStudio



Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Finalmente, para los resultados de tipo 3 (Figura 40):


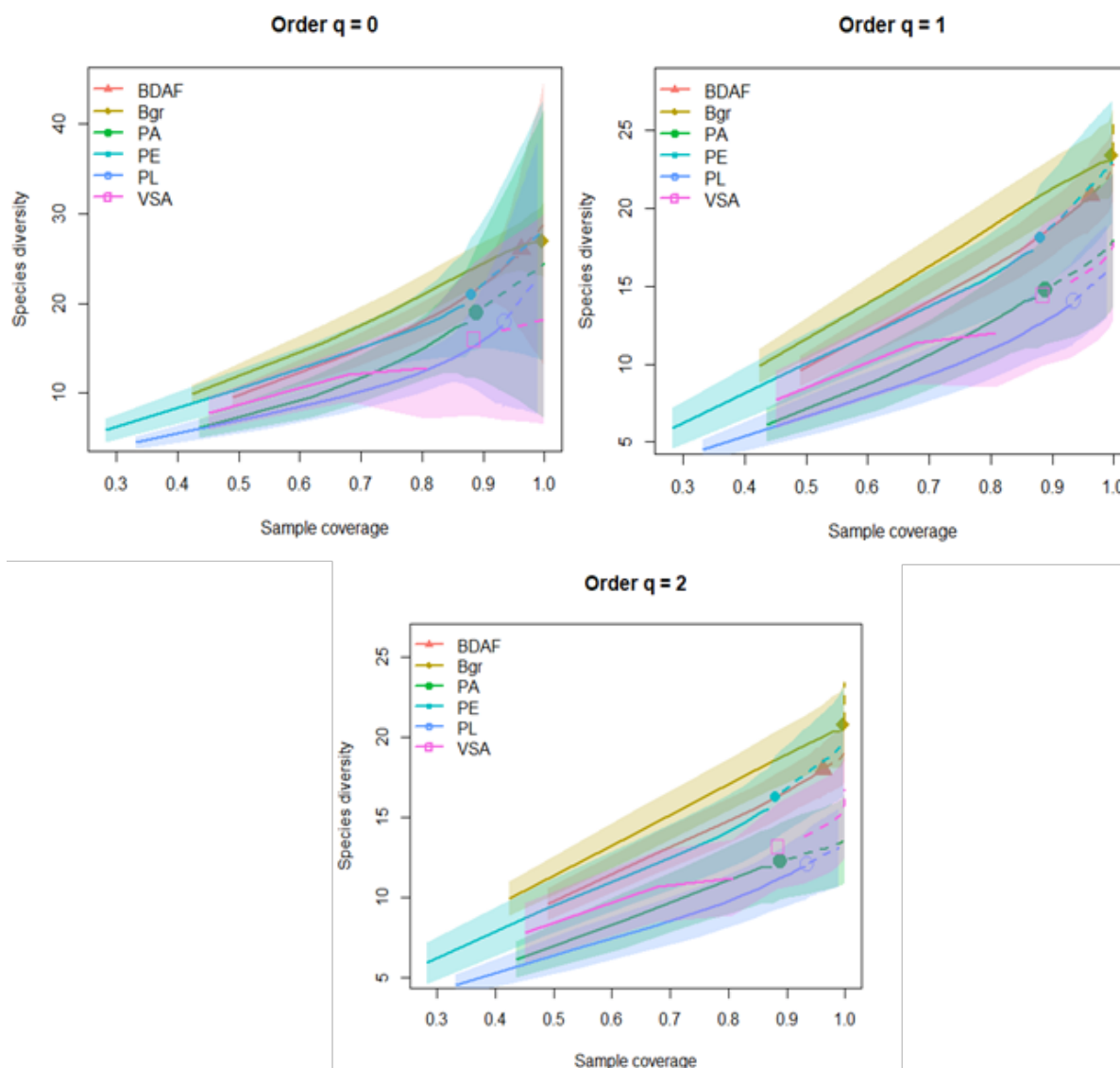
 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Figura 40. Otro tipo de visualización de los resultados tipo 3 de iNEXT en RStudio




Fuente: grupo de biodiversidad ANLA, con base en iNEXT

Licencia uso iNEXT

El paquete iNEXT tiene licencia GPLv3. Si desea enviar comentarios o sugerencias sobre cómo mejorar o perfeccionar iNEXT, comuníquese con Anne Chao (chao@stat.nthu.edu.tw).

7. Referencias bibliográficas

- **ANLA**, Términos de referencia - TdR para Estudios Ambientales. (0)
- **Colwell, Robert K., Mao Chang Xuan, And Chang Jing**. ,Interpolating, extrapolating, and comparing incidence-based species accumulation curves. (2004)
- **Villarreal, H., Álvarez, M., Córdoba, S., Escobar, F., Fagua, G., Gast, F., Mendoza, H., Ospina, M., & Umaña, A. M.** ,Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. (2006)
- **Krebs, C.** ,Ecosystem Ecology-Energy Flows and Production. In The Ecological World View (p. 339). CSIRO Publishing. (2008)
- **Stevens, H. H. S. A.** ,Primer of ecology with R. Springer. (2009)
- **Choh, H. Y., Lee, J. X., Lau, H. C., Tew, J. H., & Woon, S. P.** ,Linkage between the role of knowledge and economic growth: A panel data analysis. (2011)
- **Chao, A. & Jost, L.** ,Coverage-based rarefaction and extrapolation: standardizing samples by completeness rather than size. (2012)
- **Colwell, R.K., Chao, A., Gotelli, N.J., Lin, S.-Y., Mao, C.X., Chazdon, R.L. & Longino, J.T.** ,Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. (2012)
- **Chao, A., Gotelli, N. J., Hsieh, T. C., Sander, E. L., Ma, K. H., Colwell, R. K. and Ellison, A. M.** ,Rarefaction and extrapolation with Hill numbers (2014)

 Autoridad Nacional de Licencias Ambientales	MANUAL EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

- **Chao, A., Gotelli, N.J., Hsieh, T.C., Sander, E.L., Ma, K.H., Colwell, R.K. & Ellison, A.M.** ,Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. (2014)
- **Chao, A. & Jost, L.** ,Estimating diversity and entropy profiles via discovery rates of new species. (2015)
- **Hsieh, T.C., Ma, K.H. & Chao, A.** ,An R package for interpolation and extrapolation of species diversity (Hill numbers). (2016)
- **Chao, A., Ma, K. H., and Hsieh, T. C.** ,Software for Interpolation and Extrapolation of Species Diversity. http://chao.stat.nthu.edu.tw/wordpress/software_download/inext-online/. (2016)
- **Hsieh, T. C. Ma K. H. y Chao Anne** ,iNEXT - Un paquete R para rarefacción y extrapolación de la diversidad de especies (Hill numbers). (2016)
- **ANLA**, Metodología General para la Elaboración y Presentación de Estudios Ambientales, en adelante MGEPEA (2018)
- **Seddon, P. J., Griffiths, C. J., Soorae, P. S., & Armstrong, D. P.**, The importance of taxonomic expertise in conservation research. *Conservation Biology*, 35(3), 657-660. (2021)
- **Díaz, S., & Malhi, Y.** ,Biodiversity: Concepts, patterns, trends, and perspectives. *Annual Review of Environment and Resources*, 47, 31-63. (2022)
- **Lindenmayer, D. B., & Likens, G. E.** ,Effective ecological monitoring: strategies and techniques. Cambridge University Press. (2022)
- **Smith, K. G., Johnson, M. L., & Brown, R. P.** ,Taxonomic uncertainty in biodiversity assessments: implications for environmental impact studies. (2022)
- **Chun-Huo Chiu**, Sample coverage estimation, rarefaction, and extrapolation based on sample-based abundance data. (2023)

 <p>Autoridad Nacional de Licencias Ambientales</p>	<p align="center">MANUAL</p> <p align="center">EXTERNO MANUAL DE LINEAMIENTOS TÉCNICOS PARA LA REPRESENTATIVIDAD DEL MUESTREO DE ESPECIES DE FLORA SILVESTRE VASCULAR Y NO VASCULAR EN VEDA NACIONAL</p>	Fecha	20-11-2025
		Versión	1
		Código	IR-MN-10

Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Nombre	Nombre	Nombre
Jehimmy paola Navarro Munoz Cristian Rincon Alvarez	Olga Helena devia Canar	Tomas Restrepo Rodriguez
Cargo	Cargo	Cargo
Profesional de Calidad Líder	Coordinadora	Subdirector(a) Permisos y Trámites Ambientales
Fecha	Fecha	Fecha
11-11-2025	11-11-2025	20-11-2025