



Máster en Biotecnología Aplicada a la Conservación y Gestión Sostenible de Recursos Vegetales

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Combinando la tecnología LiDAR con herramientas moleculares para el estudio de poblaciones amenazadas



Mario Quevedo

Luna María Puentes Poveda

21 de Julio de 2015

RESUMEN

La precisión en las mediciones sobre los requerimientos del hábitat de las especies es importante para entender las relaciones entre éstas y su hábitat. Muchos estudios abordan los requerimientos de hábitat centrados en medidas efectuadas in situ, aunque actualmente tecnologías como LiDAR (Light Detection and Ranging) proporcionan información sobre la estructura vertical y horizontal de la vegetación, ampliando el potencial del uso de los sistemas de teledetección en este tipo de estudios. En este trabajo hemos utilizado la tecnología LiDAR, con una densidad de 0,5 puntos/m², combinada con técnicas moleculares para la identificación y sexado de individuos a partir de muestras no invasivas (excrementos), para caracterizar la estructura de la vegetación donde habita el urogallo cantábrico (*Tetrao urogallus cantabricus*) durante el periodo reproductor. Esta subespecie catalogada como en peligro está relacionada con masas forestales caducifolias en la Cordillera Cantábrica. La estructura vertical del hábitat ha sido caracterizada mediante estimadores derivados de LiDAR (media, desviación estándar, percentiles y primeros retornos); y la estructura horizontal ha sido calculada a partir de estimadores de densidades y retornos de puntos en el suelo, representando la cobertura vegetal. LiDAR permitió cuantificar variación en la cobertura y dividirla en clases (estrato arbóreo, arbustivo y herbáceo). Los estimadores LiDAR han permitido evaluar las potenciales diferencias en uso de hábitat entre sexos en función de la estructura de la vegetación durante la época reproductora. Los requerimientos de cobertura vertical fueron similares entre sexos. No se observaron diferencias significativas entre las distintas variables empleadas, aunque los urogallos muestran preferencia por zonas de elevada cobertura arbórea durante esta época, teniendo mayor importancia la vegetación arbórea frente a la arbustiva y la herbácea. No obstante, los machos muestran ligeramente mayor preferencia por zonas más abiertas. Sugerimos el empleo de la tecnología LiDAR para determinar el uso del hábitat a una escala fina de especies forestales amenazadas como herramienta de gran potencial.

ABSTRACT

The measurement accuracy of the habitat requirements of the species is important to understand the relationships between species and their habitat. Many studies that address the habitat requirements are focused on measurements made in situ, but technologies like LiDAR (Light Detection and Ranging) provide information on vertical and horizontal structure, expanding the potential use of remote sensing systems in this type of studies. In this study we combined LiDAR technology, with a density of 0.5 points/m², with molecular techniques for the genetic individualization and sex assignment for non-invasive samples (droppings), to characterize the vegetation structure of the habitat for the Cantabrian capercaillie (*Tetrao urogallus cantabricus*) during the reproductive period. This subspecies is listed as endangered and inhabits mainly deciduous forests in the Cantabrian Mountains. The vertical structure has been characterized by estimates derived from LiDAR (mean, standard deviation, percentiles and first returns); and the horizontal structure has been calculated from estimates of densities and ground returns points, representing the vegetation cover. LiDAR allows us to quantify variation in coverage and to divide it into classes (tree, shrub and herbaceous). Using LiDAR estimates, we have evaluated the potential differences between sexes in the structure of the vegetation used during the breeding season. Vertical coverage requirements were similar between sexes. No significant differences between the different variables used were observed, although capercaillies show preference for areas with high tree cover during this time, with greater importance timberline against the shrub and herbaceous. However, males show higher preference for open areas than females. We suggest the use of LiDAR technology to determine habitat requirements at a fine scale to study forest species threatened as a tool with great potential.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. Introducción	Pág. 1
1.1 Planteamiento y objetivos	Pág. 2
2. Materiales y métodos	Pág. 4
2.1 <i>Área de estudio y recolección de excrementos</i>	Pág. 4
2.2 <i>Procedimiento para el genotipado de las muestras no invasivas</i>	Pág. 4
2.3 <i>Tecnología LiDAR</i>	Pág. 6
2.4 <i>Tratamiento de datos LiDAR</i>	Pág. 7
2.5 <i>Análisis</i>	Pág. 9
3. Resultados	Pág. 10
3.1 <i>Genotipado de las muestras no invasivas</i>	Pág. 10
3.2 <i>Características del hábitat del urogallo a pequeña escala durante el periodo de celo</i>	Pág. 10
3.3 <i>Cobertura vertical de la vegetación en función del sexo</i>	Pág. 11
3.4 <i>Estructura del hábitat en función del sexo</i>	Pág. 12
4. Discusión	Pág. 17
5. Conclusiones	Pág. 19
6. Bibliografía	Pág. 20

1. INTRODUCCIÓN

El urogallo (*Tetrao urogallus*) es una tetraónida que presenta una amplia distribución paleártica (Storch, 2000). A nivel global, la especie actualmente se encuentra catalogada dentro del nivel de preocupación menor (LC) por la UICN (IUCN 2009; BirdLife International, 2011). La población de urogallos de la Cordillera Cantábrica (*Tetrao urogallus cantabricus*), siendo una de las más meridionales de esta especie (Storch, 2000, 2007), es una de las poblaciones más amenazadas (Storch, 2007), incluida desde 2004 en la categoría de “En peligro” (EN) por la IUCN (Obeso, 2004). En las tres últimas décadas esta población cantábrica ha sufrido un fuerte declive, tanto en el número de sus efectivos poblacionales como en su área de distribución (Storch, 2007).

Varios son los factores que han sido relacionados con el declive de esta especie a nivel global entre los que cabe destacar la fragmentación y reducción del hábitat (Obeso & Bañuelos, 2003; Quevedo *et al.*, 2006; Bañuelos *et al.*, 2008; Segelbacher *et al.*, 2008); la depredación sobre puestas de huevos, pollos e individuos adultos (Klaus & Bergmann, 1994; Storch, 1994; Storaas & Wegge, 1997; Summers *et al.*, 2004); la competencia con herbívoros (Obeso & Bañuelos, 2003; Pollo *et al.*, 2003; Blanco-Fontao *et al.*, 2006), las molestias causadas por la actividad humana (Thiel *et al.*, 2008); impactos con tendidos eléctricos o vallados cinegéticos (Moss, 2000); la influencia de enfermedades (Isomursu *et al.*, 2008), o los efectos derivados del cambio climático (Moss *et al.*, 2001). A nivel de la Cordillera cantábrica, también se han sugerido muchos de estos factores como causantes del declive del urogallo cantábrico (Obeso & Bañuelos, 2003; Storch, 2007). Sin embargo, la incidencia de todos estos factores y como afectan a las poblaciones de urogallo ya sea de manera aislada o en conjunto, permanecen poco explorados (Obeso & Bañuelos, 2003).

De manera general, el urogallo se encuentra fundamentalmente en bosques de coníferas caracterizados por el dominio del arándano en el sotobosque (Storch, 2007). Sin embargo, en la Cordillera Cantábrica, la especie se encuentra asociada a bosques de frondosas (Menoni, 2006), ligado a bosques caducifolios de hayas (*Fagus sylvatica*), robles (*Quercus petraea*) y abedul (*Betula pubescens*) (Quevedo *et al.*, 2006; Blanco-Fontao *et al.*, 2010), donde el arándano tiene una presencia importante (Blanco-Fontao *et al.*, 2010). Aunque el núcleo de población más meridional dentro de la Cordillera ocupa principalmente bosques de rebollo (*Quercus pyrenaica*) y pinares de repoblación (*Pinus sylvestris*) (González *et al.*, 2010).

Los urogallos cantábricos utilizan manchas de bosques con elevada cobertura de sotobosque, comunicados entre sí a través de fragmentos de abundante matorral que permite a los individuos mantener cierta conectividad obteniendo además refugio y alimento. Sin embargo a pequeña escala, se ha medido el uso del hábitat por parte del urogallo observándose que difiere entre sexos. Por ejemplo, las hembras reproductoras tenderían a utilizar las zonas menos arboladas (Bañuelos *et al.*, 2008), siendo las especies de matorral (*Cytisus* spp, *Genista* spp, *Erica* spp, *Calluna vulgaris*) importantes para las hembras debido al refugio y al alimento que les proporcionan (Quevedo *et al.*, 2006; Bañuelos *et al.*, 2008). Los machos, por el contrario, parecen permanecer en ambientes forestales durante todo el año.

No obstante, el conocimiento sobre los requerimientos del hábitat para ambos sexos a una resolución espacial fina, todavía es limitado. Desde un punto de vista de gestión dicho conocimiento puede ser clave para guiar correctamente la adopción de medidas de seguimiento apropiadas con esta población. Dentro de los ecosistemas forestales, las decisiones de manejo asociadas a diferentes especies están condicionadas por el conocimiento de la importancia de factores tales como la composición específica, la estructura de la vegetación vertical y horizontal, el tipo de suelo o la topografía (Hudak *et al.*, 2002). El uso de sistemas de teledetección permite aumentar el grado de resolución de la información asociada a cada uno de estos factores, lo que permite por ejemplo, explorar diferencias en la estructura de la vegetación a pequeña escala entre individuos o especies (Verner *et al.*, 1986; Turner *et al.*, 2003).

Recientemente la tecnología LiDAR (*Light Detection and Ranging*, cuya traducción sería Barrido y Detección por Luz), permite obtener información tridimensional dentro de una escala espacial dada (Hyde *et al.*, 2006) que permite incorporar a los estudios de selección de hábitat una nueva perspectiva, precisión y realidad. LiDAR ofrece un gran potencial para mejorar nuestro conocimiento sobre la relación entre las especies y su hábitat, y llevar a cabo un monitoreo efectivo de los requerimientos del hábitat necesarios para especies amenazadas (Graf *et al.*, 2009).

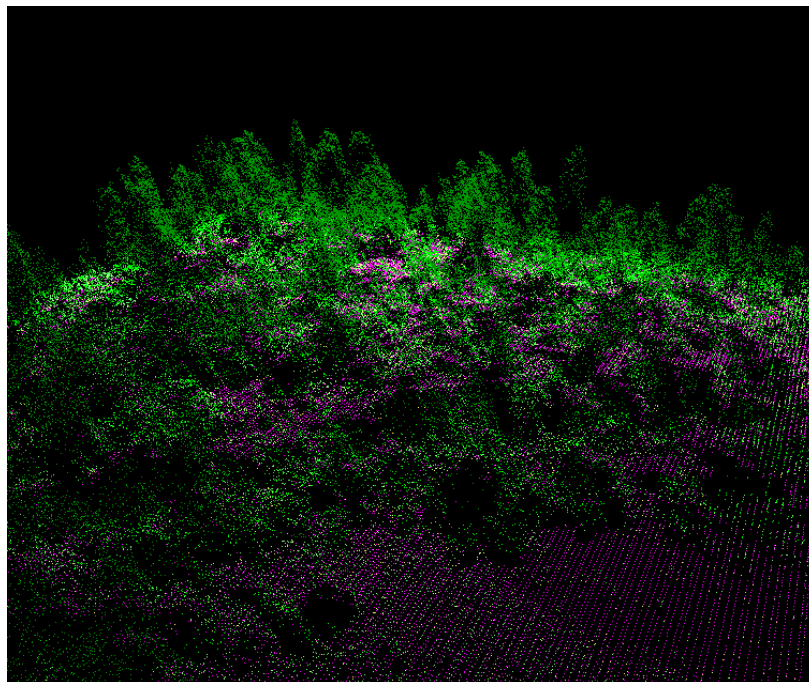


Figura 1. Visualización archivo LiDAR (.las) mediante FUGRO VIEWER (FugroViewer™ 2.0) donde se muestran los puntos que representan la vegetación de una zona de Hermo (Asturias).

1.1 Planteamiento y objetivos

La conservación del urogallo Cantábrico pasa por conservar eficientemente tanto la población como el hábitat en el que se encuentra. Entender los requerimientos en cuanto a la calidad y cantidad de hábitat favorable es fundamental para asegurar su persistencia.

Las diferencias en la selección de hábitat a pequeña escala entre machos y hembras de urogallo podrían tener implicaciones importantes de cara a la planificación de medidas de seguimiento. La baja productividad ha sido sugerida como uno de los mecanismos desencadenantes de la situación de la especie (Moss *et al*, 2000; Obeso & Bañuelos, 2003). Por ello, entender los requerimientos en cuanto a la estructura del hábitat a pequeña escala para las hembras podría ayudar a direccionar medidas de manera más concreta y que beneficiaran en particular a este sexo.

El objetivo general de este trabajo es evaluar la existencia de diferencias en la estructura del hábitat utilizado por machos y hembras de urogallo a una resolución espacial fina durante la época de celo. Para ello se han combinado técnicas moleculares, que permiten identificar el uso del espacio por cada individuo, con la tecnología LiDAR que permite caracterizar la estructura tridimensional de la vegetación.

Este objetivo principal se ha desglosado en los siguientes objetivos secundarios:

- 1. Descripción de las características del hábitat del urogallo cantábrico a pequeña escala durante la época de celo usando tecnología LiDAR.**
- 2. Evaluar la existencia de segregación espacial entre sexos durante la época de celo mediada por diferencias en la estructura de la vegetación.**

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2 Área de estudio y recolección de excrementos

Este estudio se ha centrado en la parte occidental de la Cordillera Cantábrica, dentro del Principado de Asturias, donde los urogallos se distribuyen en zonas montañosas de bosques caducifolios (Quevedo *et al.*, 2006). Entre los meses de Abril y Junio del año 2009, se recolectaron excrementos de urogallos en 4 zonas de trabajo: Leitariegos, Hermo, Umbría de Degaña y Muniellos. El área total de muestreo fue de aproximadamente 500 km².

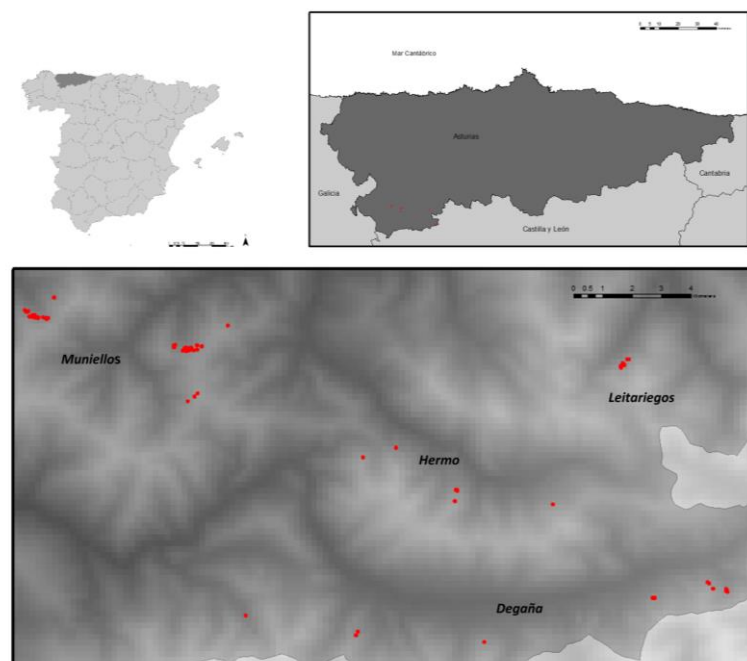


Figura 2. Distribución del urogallo cantábrico y localización de las muestras dentro de las cuatro áreas de estudio (Muniellos, Hermo, Umbría de Degaña y Leitariegos)

El muestreo fue realizado en la época de celo en un total de 52 zonas de exhibición conocidas y alrededores (zonas denominadas *cantaderos*, donde los machos se exhiben para atraer a las hembras; Picozzi, 1992). Todas las muestras (excrementos) fueron georreferenciadas mediante GPS (con un error de posición de ± 5 m) y recolectadas en tubos de ensayo con sílica-gel y a continuación almacenadas a -20°C hasta su posterior análisis para la extracción de ADN.

2.2 Procedimiento para el genotipado de las muestras no invasivas

Para este trabajo se seleccionaron 101 muestras (72 de macho y 29 de hembra) recogidas en la zona de estudio en 2009 que previamente habían pasado por un proceso de extracción y amplificación de ADN, así como de evaluación y corrección de errores de genotipado. En el momento de realizar este trabajo, ya se disponía por tanto de la información genética de estas muestras en concreto. No obstante, de cara al aprendizaje de la técnica, repetí el mismo protocolo con otro conjunto de muestras procedentes de la

misma zona, y recogidas durante la siguiente primavera, que se encontraban en fase de procesado en el laboratorio cuando me incorporé al grupo. A continuación resumo los protocolos empleados para la obtención de la información genética de las muestras.

La extracción del ADN de los excrementos se realizó empleando un kit especialmente desarrollado para este tipo de muestras (Qiamp DNA stool kit, Qiagen), siguiendo las instrucciones del fabricante. A continuación se realizaron reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar 9 microsatélites desarrollados específicamente para urogallos (TUD2, TUD4, TUD5, TUT1, TUT3) y gallos lira (*Tetrao tatrix*: TTD2, TTD6, BG10, BG15) (Segelbacher *et al.*, 2000; Caizergues *et al.*, 2001; Piertney & Höglund, 2001). Las PCRs se realizaron en tubos de 10 μ l, conteniendo cada uno la mezcla de reacción formada por 2 μ l de extracto de ADN, junto con 1x tampón Taq (formado por 750 mM Tris-HCl, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1% (v/v) Tween 20), 3 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada nucleótido, 4.2 pmoles de cada primer, 0.108 μ g/ μ l de BSA y 0.335 unidades de DNA Taq polimerasa.

Las condiciones de las PCRs fueron las siguientes: 3 minutos a 94°C más 35 ciclos de 45 segundos desnaturalizando a 94°C, seguidos de 45 segundos a 54°C o 59°C (según el *primer* utilizado) para que se produjeran los alineamientos, otros 45 segundos a 72°C para que se produjera la extensión más 5 minutos a 72°C para la extensión final de las cadenas. Cada una de las muestras fue amplificada de 2 a 7 veces con el fin de minimizar posibles errores en el genotipado. Se incluyeron controles negativos (con los reactivos pero sin ADN) y positivos (muestras con genotipo conocido) en todas las amplificaciones. Se determinó un genotipo consenso para cada muestra en el que eran necesarios al menos dos resultados positivos en PCRs independientes para los heterocigotos y tres para los homocigotos. (Taberlet *et al.*, 1996; Morán-Luis *et al.*, 2014). Para la determinación del sexo de cada individuo se emplearon *primers* específicos para urogallos, derivados del gen CHD1 (situado en cromosomas sexuales de aves). Estos *primers* producen fragmentos de aproximadamente 200 pares de bases uniéndose muy bien a muestras de ADN degradado, que es como se suele encontrar el que proviene de excrementos. Con estos *primers* sexuales se siguió el mismo criterio para determinar el consenso que con los *primers* anteriores, considerando la obtención de dos PCRs positivas para confirmar heterocigotos (ZW, en el caso de las hembras) y tres PCRs positivas para homocigotos (ZZ, en el caso de los machos).

Todas las PCRs se efectuaron mediante el equipo *ABI Prism 3100 Genetic Analyzer*, y la comprobación del tamaño se realizó con el software GeneMarker v1.3 (Soft Genetics LLC). La estimación del número de alelos fue efectuada usando GENEPOP 4.2, que permite calcular la heterocigosidad esperada (H_e) y observada (H_o), en función del equilibrio Hardy-Weinberg (HW) (Raymond, 1995). Los posibles errores de genotipado (principalmente alelos nulos y/o pérdida de alelos denominados *dropout*) se comprobaron con MICRO-CHECKER 2.2: (Van Oosterhout *et al.*, 2004), DROPOUT (McKelvey & Schwatz 2005) y GIMLET 1.3.3. (Valiere 2002). Para comprobar la potencia de los microsatélites elegidos para identificar individuos se calculó la *probabilidad de identificación* P_{ID} , la cual indica la probabilidad de que dos individuos (muestras) elegidos al azar pudieran compartir el mismo genotipo con los marcadores seleccionados. Para ello se empleó GIMLET v.1.3.3, y se consideró que el riesgo de que dos individuos compartieran el mismo

genotipo era negligible cuando P_{ID-sib} (probabilidad de identificación cuando hay alto grado de parentesco) era menor de 0.01 (Valière, 2002).

A partir de este criterio, estimamos el número mínimo de loci necesarios para individualizar las muestras, y descartamos aquellas que no alcanzaban dicho límite. Adicionalmente, para reducir errores debidos a la sobrestimación en el genotipado, se comprobaron todas las parejas de muestras que se diferenciaban únicamente en un alelo de un mismo locus o en dos alelos de uno o dos loci. Para cada pareja se identificaron los alelos coincidentes, y se determinó la probabilidad de obtener esas coincidencias en dos urogallos al azar incluso si fueran hermanos (P_{ID-sib}). Si esa probabilidad era menor que el límite establecido para nuestro P_{ID-sib} (0.01), asumimos que esas muestras provenían de un mismo individuo. La fiabilidad de cada genotipo obtenido se determinó por medio de RELIOTYPE, y solamente aquellos con una puntuación superior al 95% fueron considerados como “aceptables”, para formar parte de los análisis (Miller *et al.*, 2005; Morán-Luis *et al.*, 2014).

2.3 Tecnología LiDAR

LiDAR es una tecnología de teledetección que permite obtener información precisa en el plano tridimensional (Lefsky *et al.*, 2002). Los sensores LiDAR obtienen información sobre la distribución tridimensional de la cobertura vegetal y de la topografía.

Existen varios tipos de equipos LiDAR, pero el más utilizado, el aerotransportado, va montado en un avión y lleva acoplado un distanciómetro láser y un espejo que desvía el haz perpendicularmente a la trayectoria del avión. De esta manera se van realizando barridos sobre el terreno y el sistema va midiendo la distancia del sensor al terreno a partir del tiempo que tarda el rayo de luz en alcanzar el suelo y volver de nuevo al sensor (señal de retorno). Cuando estas medidas se van repitiendo a lo largo de un transecto, el resultado es la representación del contorno de la superficie del suelo y la vegetación que lo cubre (Lefsky *et al.*, 2002). Conociendo las coordenadas y ángulos del avión y del espejo, y las distancias medidas se pueden calcular las coordenadas de los puntos (Bachman 1979), siendo necesario para ello la combinación de un sistema de GPS diferencial (DGPS) con un sistema inercial de navegación (INS).

La resolución y calidad de los datos depende tanto del escáner emisor de láser como de la densidad del pulso emitido (Evans *et al.*, 2009; Reutebuch *et al.*, 2005). El resultado de un vuelo LiDAR es una colección de puntos de coordenadas conocidas (Figura 3). Para cada pulso láser emitido se pueden detectar hasta dos ecos y para cada uno de ellos se registra la intensidad reflejada. La densidad de puntos sobre el terreno puede variar ajustando la velocidad del vuelo y la altitud. Tras esta obtención de puntos es necesario clasificar los puntos útiles y construir un modelo digital del terreno a partir de estos puntos. Para la construcción de estos modelos se pueden emplear diferentes algoritmos, aunque habitualmente se tiene en cuenta la altura de cada punto comparada con la de sus vecinos. A partir de estos modelos se pueden obtener diferentes estimadores que proporcionan información acerca de la estructura vertical y horizontal de la vegetación.

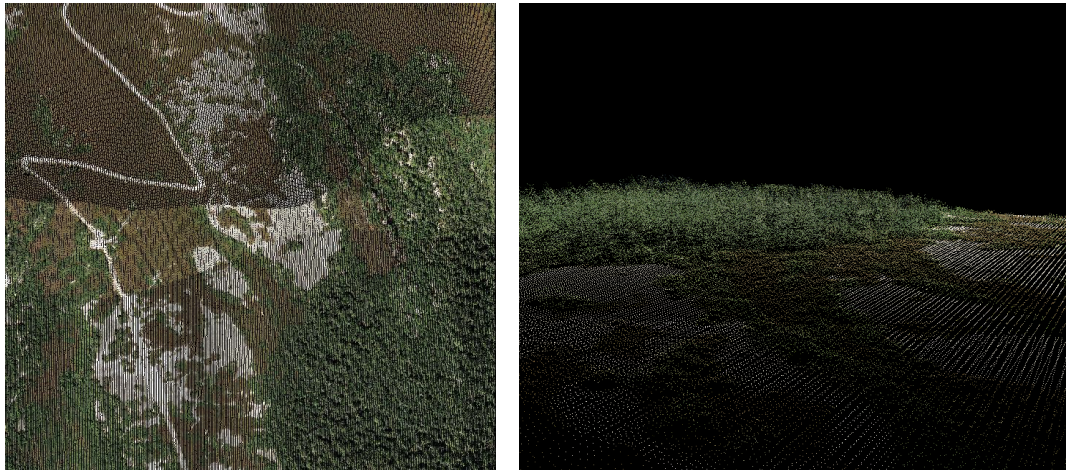


Figura 3. Visualización archivo LiDAR (.las) mediante FUGRO VIEWER (FugroViewer™ 2.0) donde se observa la composición de la vegetación de una cuadrícula de 2x2 km (izquierda) y en detalle una parte de esa cuadrícula dónde quedan representadas con distinta gama de colores las alturas de las nubes de puntos que componen la vegetación (derecha).

2.4 Tratamiento de datos LiDAR

Los datos LiDAR se obtuvieron del Plan Nacional de Ortofotografía Aérea (PNOA) de un vuelo realizado entre Mayo y Septiembre de 2011. Los datos son discretos y contienen información altimétrica de nubes de puntos de una densidad de 0,5 puntos/m². Las escenas de vuelo proporcionadas tienen extensiones de 2x2 km y los puntos obtenidos están clasificados y coloreados (RGB) a partir de ortofotos del PNOA con tamaño de pixel de 0,25 metros. El sistema geodésico de referencia que presentan los archivos es ETRS89 (LiDAR-PNOA cedido por © Instituto Geográfico Nacional de España).

Una vez obtenidos los archivos LiDAR correspondientes a las diferentes zonas de trabajo se utilizaron diferentes herramientas dentro del paquete LAsTools (Isenburg, 2010) para el pre-procesado de los datos. En primer lugar y según recomienda la ASPRS (American Society of Photogrammetry and Remote Sensing) se realizó un filtrado y clasificado de los puntos de cada uno de los archivos LiDAR en puntos de suelo (correspondientes a la clase 2 del PNOA) y en puntos que no se corresponden al suelo (clase 1 o puntos sin clasificar) mediante la función *lasground*. Con estas nubes de puntos ya clasificados se generaron dos tipos de superficies: por un lado un modelo digital del terreno (MDT) con los últimos retornos (puntos clasificados como suelo) y un modelo digital de coberturas (MDS) con los primeros retornos (clasificados como no suelo) de cada pulso láser. Tras este primer pre-procesado, el archivo de salida de *lasground* se utilizó como entrada para el uso de la función *lasheight* la cual permite computar la altura de cada punto sobre el suelo. Tras este paso, los archivos de salida fueron tratados con la función *lasclassify* que permite realizar una clasificación de la vegetación en función de dichas alturas. Mediante esta herramienta se calculó la altura de cada punto de la nube sobre el suelo y se clasificó en las siguientes categorías:

- Estrato herbáceo (Low): puntos entre 0,5 metros y 2 metros.
- Estrato arbustivo (Mid): puntos entre 2 metros y 5 metros.
- Estrato arbóreo (High): puntos más altos de 5 metros (calculados hasta un máximo de 60 metros).

Una vez realizado este procesado, se obtuvieron una serie de estimadores mediante la función *lascanopy*, los cuales fueron transformados en diferentes raster con un tamaño de celda de 10 x 10 m (Tabla 1). Los estadísticos calculados se engloban dentro de tres categorías descriptivas, siendo una de ellas la “altura” dividida a su vez en dos grupos: *alturas totales*, donde se calculan para todo el rango de datos (puntos desde 0 metros hasta un límite superior de 60 metros) los valores medios, desviación estándar, máximas y percentiles 50 y 90; y las *alturas estratificadas*, donde las nubes de puntos han sido divididas en los diferentes estratos, calculando valores medios, desviaciones estándar, y percentiles 50 y 90. El siguiente grupo de estimadores es el denominado “suelo”, donde se produce un conteo de los puntos que pertenecen al suelo desnudo del terreno. En este caso son contabilizados los primeros retornos totales frente al número de primeros retornos en el suelo, obteniéndose una relación de puntos que representan los claros del terreno. La tercera categoría engloba las “densidades” de puntos, donde se han calculado los porcentajes de puntos que representan la vegetación correspondiente con el estrato arbóreo (desde una altura de 5 metros hasta una altura máxima de 60 metros) y también las densidades de puntos de los estratos arbustivos (altura de 2 a 5 metros) y herbáceos (para la altura de 0.5 a 2 metros).

Tabla 1. Descripción de los estimadores obtenidos a partir de archivos LiDAR para el cálculo de variables descriptivas del hábitat.

Abreviatura	Descripción variable
<i>Altura</i>	
avg_total	Altura media del total de puntos clasificados como no suelo de las alturas de 0,5 a 60 metros
std_total	Desviación estándar del total de puntos clasificados como no suelo de las alturas de 0,5 a 60 metros
P50_total	Percentil 50 de puntos clasificados como no suelo. Alturas que acumulan el 50% de los datos de 0,5 a 60 metros
P90_total	Percentil 90 de puntos clasificados como no suelo. Alturas que acumulan el 90% de los datos de 0,5 a 60 metros
max_total	Altura máxima del total de puntos clasificados como no suelo (Máxima altura puntos de 0,5 a 60 metros)
avg_high	Altura media de los puntos clasificados como estrato arbóreo (5 a 60 metros).
std_high	Desviación estándar de los puntos clasificados como estrato arbóreo (5 a 60 metros)
P50_high	Percentil 50 del estrato arbóreo (5 a 60 metros). Alturas que acumulan el 50% de los puntos de ese estrato
P90_high	Percentil 90 del estrato arbóreo (5 a 60 metros). Altura que acumulan el 90% de los puntos de ese estrato
avg_mid	Altura media de los puntos clasificados como estrato arbustivo (2 a 5 metros)
std_mid	Desviación estándar de la altura de los puntos clasificados como estrato arbustivo (2 a 5 metros)
P50_mid	Percentil 50 del estrato arbustivo (2 a 5 metros). Alturas que acumulan el 50% de los puntos de ese estrato
P90_mid	Percentil 90 del estrato arbustivo (2 a 5 metros). Alturas que acumulan el 90% de los puntos de ese estrato
avg_low	Altura media de los puntos clasificados como estrato herbáceo (0,5 a 2 metros)
std_low	Desviación estándar de los puntos clasificados como estrato herbáceo (0,5 a 2 metros)
P50_low	Percentil 50 del estrato herbáceo (0,5 a 2 metros). Alturas que acumulan el 50% de los puntos de ese estrato
P90_low	Percentil 90 del estrato herbáceo (0,5 a 2 metros). Altura que acumulan el 90% de los puntos de ese estrato
<i>Suelo</i>	
Retornos	Relación de primeros retornos que dan en el suelo frente a los primeros totales. Fracción suelo desnudo
<i>Densidades</i>	
dns	Fracción de cabida cubierta. Porcentaje de todos los puntos que proyectan sombra en el suelo
d00 0,5-2	Porcentaje de puntos que componen el estrato herbáceo. Densidad relativa de alturas de 0,5 a 2 metros
d01 2-5	Porcentaje de puntos que componen el estrato arbustivo. Densidad relativa de alturas de 2 a 5 metros

2.5 Análisis

De las 101 muestras identificadas, se generó una base de datos en la que se incluía información sobre la posición espacial donde cada muestra fue encontrada. Una vez proyectadas todas las muestras sobre un mapa, se utilizó ArcMap 10.1 para añadir un *buffer* (polígono que enmarca el área de influencia que resulta al tomar una determinada distancia desde un punto, línea u otro polígono) de 1 ha alrededor de cada una de las muestras. En el caso de encontrarse varias muestras para un mismo individuo estas posteriormente fueron consideradas como réplicas en los análisis estadísticos. Para evitar posteriores problemas de solapamiento en la información del hábitat, se seleccionaron para los análisis únicamente aquellas muestras cuyos *buffer* no quedaban solapados con otros *buffer* del propio individuo. Así, se seleccionaron al azar las muestras independientes de los diferentes individuos. De esta manera finalmente se obtuvieron 57 muestras procedentes de 15 hembras y 18 machos de urogallo.

Se evaluó la existencia de diferencias entre sexos para los estimadores de estructura de la vegetación calculados a partir de LiDAR. Previamente se realizó una matriz de correlaciones sobre los 21 estimadores obtenidos con LiDAR, y tras comprobar que la correlación fue muy elevada (>0.9) entre algunos pares de variables, se decidió elegir aquellas variables que pudieran explicar de manera más fina la estructura de la vegetación. Se seleccionaron así 16 estimadores y se construyeron Modelos Lineales Mixtos (GLMMs) univariados con distribución de errores normal y función de enlace "*identity*" donde se consideró como variable independiente el sexo del urogallo de cada muestra de excremento identificada (variable binaria) y como variables respuestas los diferentes estimadores LiDAR, con la finalidad de observar variaciones en los diferentes estimadores en función del sexo. Previamente, se aplicó el logaritmo en base 10 a todos aquellos estimadores que no se distribuyeron de forma normal (valoración mediante el test de normalidad de *Shapiro-Wilk*). Dado que para cada individuo identificado fueron recolectadas varias muestras, el individuo fue incluido como factor aleatorio en todos los análisis. Por otro lado, debido a la similitud en el tipo de vegetación y topografía entre las zonas de trabajo, no se consideró la localidad como factor en los análisis. Se utilizó la función *lmer* del paquete "*lme4*" (Bates *et al.*, 2015) para R (*R Development Core Team*, 2010) para realizar los GLMMs.

3. RESULTADOS

3.1 Genotipado de las muestras no invasivas

Se obtuvo un porcentaje de éxito del 80% en la extracción y 65% en la amplificación. El número de alelos osciló entre 3-6, y el tamaño de los mismos entre 121-234 pares de bases. Los valores promedio de H_e y H_o fueron 0.6 y 0.5, respectivamente. Todos estos parámetros se encuentran en el rango de otras poblaciones de gallos descritas, en buen estado de conservación (Segelbacher *et al.*, 2003). Tres microsatélites se desviaron ligeramente del equilibrio de HW (TUD4, BG10, TUT1). Los posibles errores de genotipado fueron bajos: la tasa de error entre PCRs fue de 0.02, tanto para dropout (pérdida de alelos) como para falsos alelos, y la tasa de error promedio en los distintos loci fue de 0.03.

Los cálculos de PID indicaron que la probabilidad de que dos urogallos emparentados compartieran el mismo genotipo para los 9 marcadores era de 0.002 (PID-sib acumulativa). Se consideró que el número mínimo de loci necesarios para distinguir individuos era de 7 (PID-sib <0.01). Las muestras que no llegaron a ese límite fueron descartadas.

3.2 Características del hábitat del urogallo a pequeña escala durante el periodo de celo

Tras estimar los conteos de los primeros retornos en el suelo con respecto a los primeros retornos totales, para el total de las muestras analizadas ($n= 57$), el 20% de los puntos correspondientes a los conteos procedentes de los archivos LiDAR pertenecieron a suelo desnudo (media = 0.2, Tabla 2).

Por otro lado, en base a las densidades obtenidas sobre las nubes de puntos considerando la estratificación de la vegetación, se obtuvo para el estrato denominado como arbóreo (puntos obtenidos entre los 5 metros y una altura máxima de 60 metros) un valor medio del 65.4% para el total muestras analizadas, existiendo valores de cobertura vegetal mayor de 5 metros en un rango de entre 35.7% y 87,5%. Al considerar las densidades de puntos que componen el estrato denominado como arbustivo (2 - 5 metros), se obtuvieron unos valores medios de 9.2% de densidad (o lo que es lo mismo de cubida cubierta dentro de ese estrato) (rango 2.3% - 21.6%; Tabla 2). Para el estrato denominado herbáceo (puntos obtenidos para el rango de alturas de 0,5 a 2 metros) el resultado de la densidad de la vegetación fue menor (media = 5.4%; rango 1.1% - 14%; Tabla 2).

La altura máxima de los puntos obtenidos desde 0.5 hasta 60 metros, es decir de la vegetación total sin estratificar, mostró un valor medio de 17.2 metros, detectándose un valor máximo de 25.1 metros para el total de las muestras analizadas (Tabla 2). Para el estrato arbustivo (2-5 metros), los valores de altura media fueron de 3.7 m (Tabla 2).

Tabla 2. Estadística descriptiva de los estimadores LiDAR utilizados para el análisis descriptivo del hábitat de los urogallos cantábricos (datos para el conjunto de muestras de machos y hembras).

Estimadores	N	Media	STD	Min.	Max.
Primeros retornos	57	0.2	0.2	0.01	0.9
Densidad vegetación arbórea	57	65.4	12.5	35.7	87.5
Densidad vegetación arbustiva	57	9.2	4.1	2.3	21.6
Densidad vegetación herbácea	57	5.4	3.0	1.1	14.0
Altura media 0.5 a 60 metros	57	9.0	3.0	4.2	16.6
Percentil 50 0.5 a 60 metros	57	9.4	3.3	4.0	17.6
Percentil 90 0.5 a 60 metros	57	14.5	3.4	8.3	22.3
STD altura 0.5 a 60 metros	57	4.6	0.7	3.1	6.1
Máxima altura 0.5 a 60 metros	57	17.2	3.4	10.9	25.1
Altura estrato arbóreo	57	11.6	2.5	8.2	18.1
STD altura estrato arbóreo	57	2.9	0.6	1.8	4.1
Percentil 50 estrato arbóreo	57	11.7	2.6	8.1	18.5
Percentil 90 estrato arbóreo	57	15.3	3.0	10.5	22.5
Altura estrato arbustivo	57	3.7	0.1	3.5	3.8
STD altura estrato arbustivo	57	0.7	0.1	0.5	0.9
Percentil 50 estrato arbustivo	57	3.7	0.1	3.5	3.9

3.3. Cobertura vertical de la vegetación en función del sexo

Para las hembras se obtuvo una altura media de la vegetación de 11,4 m (n= 21), muy similar a la obtenida para los machos 11,7 m (n=36). El 57,1% de las muestras de hembras se encontraron bajo una cobertura arbórea de entre 10-15 m de altura, siendo este porcentaje ligeramente superior para los machos, 66,7%.

Por otro lado, el 9,52% de las muestras de hembras se encontraron bajo coberturas de entre 15-20 metros de altura siendo este valor de 13,9% para los machos. Al estimar las alturas máximas del dosel arbóreo, se observó que para las hembras esta fue de 24,8 metros, correspondiente a un 9,5% de las muestras; mientras que para el caso de los machos esta fue de 25,1 metros, correspondiendo con el 2,8% de las muestras localizadas.

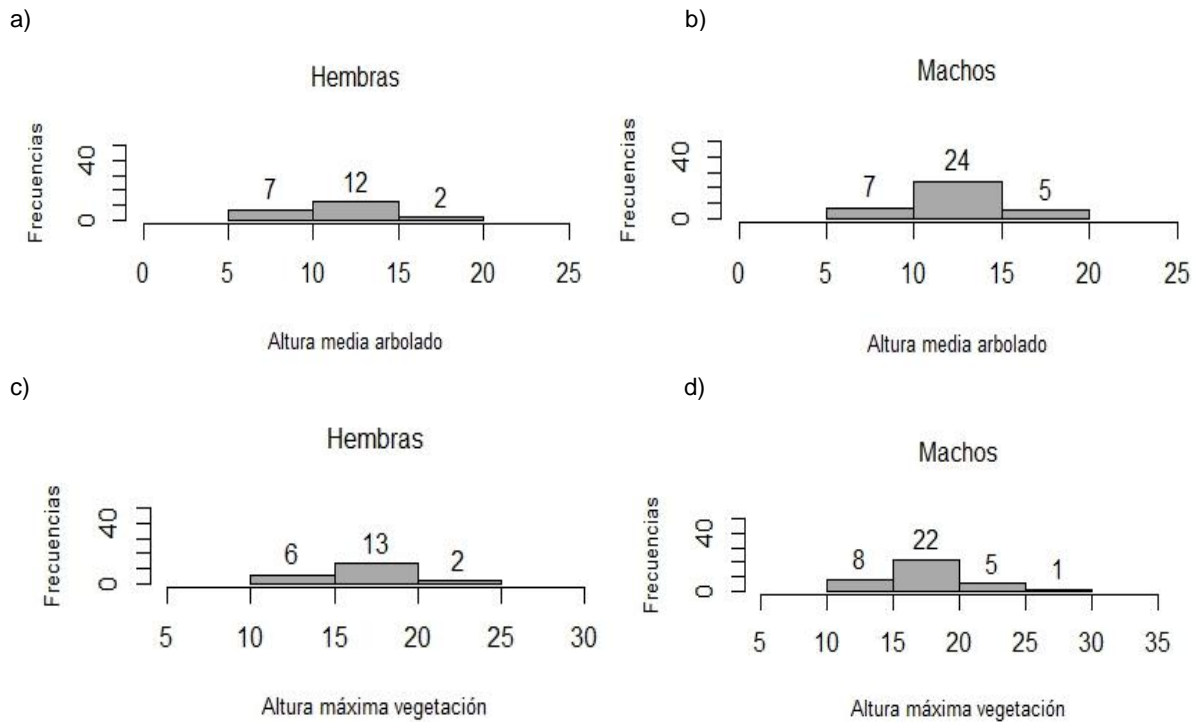


Figura 4. a) Altura media del estrato arbóreo donde fueron localizadas las muestras de los urogallos hembra (n= 21). b) Altura media del estrato arbóreo donde se localizaron las muestras de los machos (n= 36). c) Altura máxima del dosel arbóreo bajo el que se encontraron las muestras de las hembras (n= 21). d) Altura máxima del dosel arbóreo bajo el que se localizaron las muestras de los machos (n= 36).

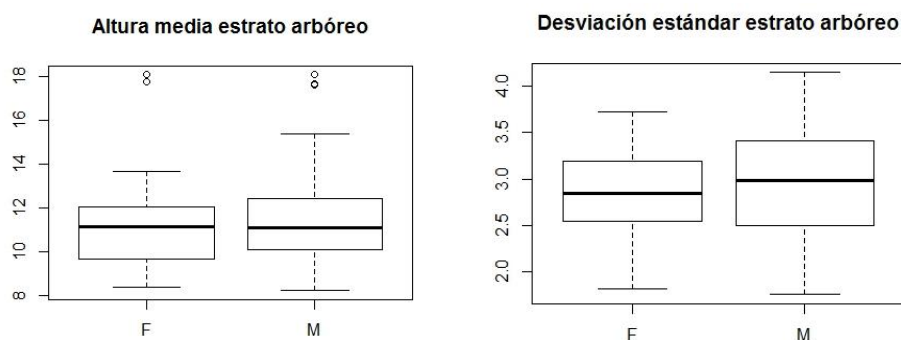
3.4 Estructura del hábitat en función del sexo

Del total de 16 estimadores seleccionados, 5 se distribuyeron de forma normal (STD Altura estrato arbóreo, STD Altura estrato arbustivo, STD Altura (0 a 60m), Densidad vegetación arbórea y Densidad vegetación arbustiva). No se observaron diferencias significativas entre sexos en las características del hábitat (Tabla 3). Todos los estimadores utilizados a partir de LiDAR mostraron valores similares entre sexos (Figura 5). La presencia de claros o zonas abiertas no difirió entre sexos. No se encontraron diferencias significativas entre la variable *primeros retornos* con respecto al sexo de las muestras (Tabla 4; Figura 6). Respecto a la densidad del hábitat para el total de las alturas, las densidades de las alturas del estrato arbustivo y las densidades del estrato herbáceo, tampoco se encontraron diferencias significativas en función del sexo de los urogallos (Tabla 5; Figura 7).

Tabla 3. Resultados de los Modelos Lineales Mixtos obtenidos para los distintos estimadores basados en las variables que definen la altura de los puntos totales y por estratos (arbóreo y arbustivo) obtenidos a partir de LiDAR respecto a las muestras totales (machos y de hembras). Se muestran valores de los efectos fijos y la varianza de los factores aleatorios. EE: error estándar; STD: desviación estándar.

Efectos sobre datos de alturas	Efectos fijos		Efecto aleatorio		
	Estima ± EE	t		Varianza	STD
<i>Intercepto</i>	2.41 ± 0.04	52.91	Individuo	0.01	0.08
<i>Altura estrato arbóreo (♂)</i>	0.02 ± 0.05	0.42	Residuo	0.03	0.18
<i>Intercepto</i>	2.84 ± 0.13	20.98	Individuo	0.10	0.33
<i>STD Altura estrato arbóreo (♂)</i>	0.08 ± 0.17	0.46	Residuo	0.21	0.46
<i>Intercepto</i>	2.41 ± 0.04	50.29	Individuo	0.01	0.07
<i>Percentil50 estrato arbóreo (♂)</i>	0.02 ± 0.06	0.44	Residuo	0.04	0.19
<i>Intercepto</i>	2.69 ± 0.04	61.3	Individuo	0.01	0.09
<i>Percentil90 estrato arbóreo (♂)</i>	0.02 ± 0.05	0.39	Residuo	0.02	0.17
<i>Intercepto</i>	1.30 ± 0.00	318.4	Individuo	0.00	0.00
<i>Altura estrato arbustivo (♂)</i>	0.00 ± 0.00	0.4	Residuo	0.00	0.01
<i>Intercepto</i>	0.70 ± 0.02	34.61	Individuo	0.00	0.02
<i>STD Altura estrato arbustivo (♂)</i>	-0.00 ± 0.02	-0.26	Residuo	0.00	0.08
<i>Intercepto</i>	1.31 ± 0.00	267.64	Individuo	0.00	0.00
<i>Percentil 50 estrato arbustivo (♂)</i>	0.00 ± 0.00	0.21	Residuo	0.00	0.02
<i>Intercepto</i>	2.11 ± 0.07	29.28	Individuo	0.01	0.12
<i>Altura media (0 a 60 metros) (♂)</i>	0.04 ± 0.09	0.49	Residuo	0.08	0.29
<i>Intercepto</i>	2.13 ± 0.07	26.96	Individuo	0.02	0.14
<i>Percentil 50 (0 a 60 metros) (♂)</i>	0.06 ± 0.10	0.63	Residuo	0.09	0.31
<i>Intercepto</i>	2.62 ± 0.05	49.42	Individuo	0.01	0.10
<i>Percentil 90 (0 a 60 metros) (♂)</i>	0.02 ± 0.06	0.4	Residuo	0.04	0.20
<i>Intercepto</i>	4.41 ± 0.17	25.55	Individuo	0.20	0.45
<i>STD Altura (0 a 60 metros) (♂)</i>	0.10 ± 0.22	0.46	Residuo	0.30	0.55
<i>Intercepto</i>	0.00 ± 0.09	62.38	Individuo	0.00	0.09
<i>Máxima altura (0 a 60 metros) (♂)</i>	0.02 ± 0.17	0.34	Residuo	0.02	0.17

El nivel "Hembra" está incluido en el intercepto.



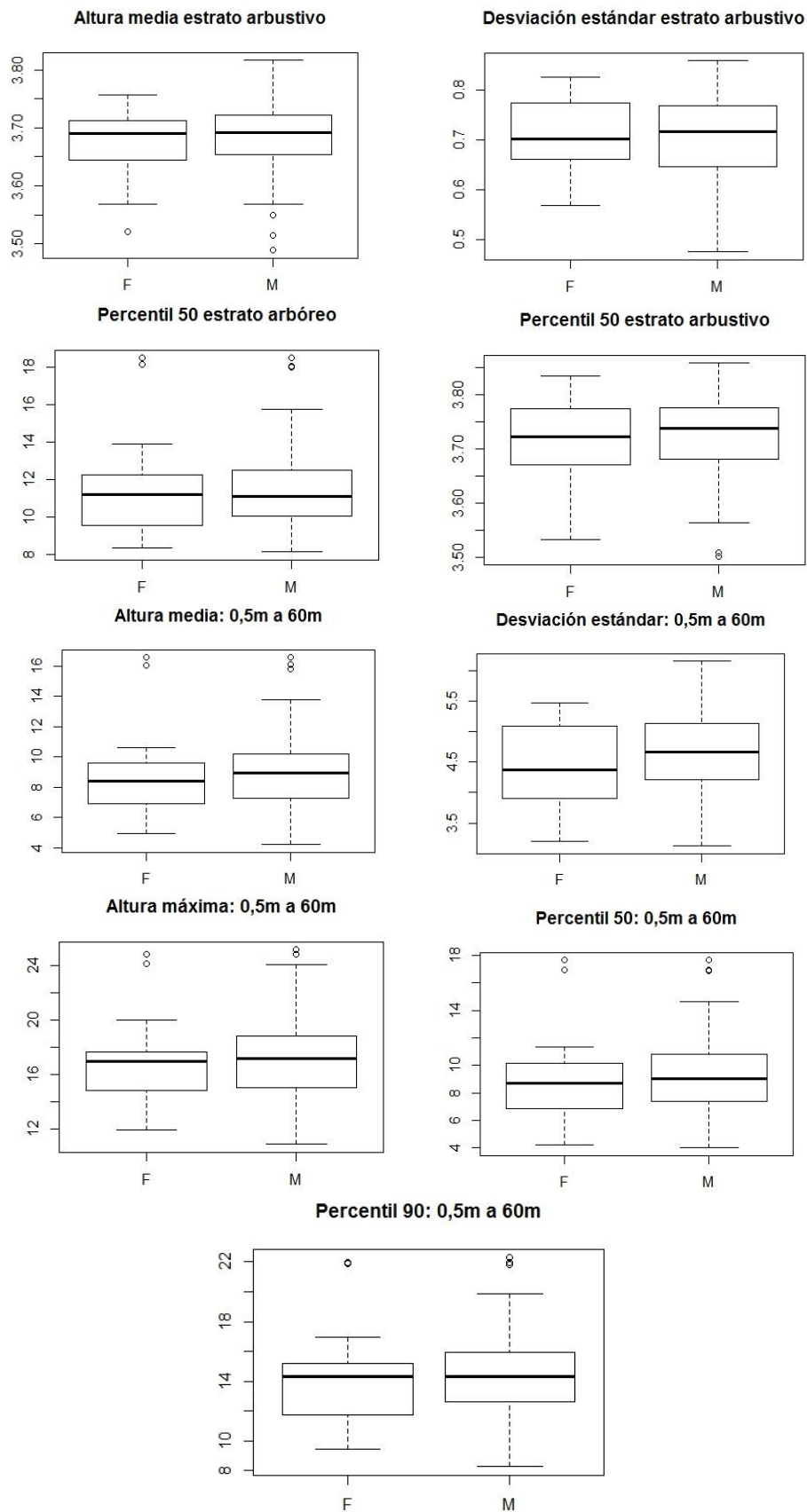


Figura 5. Diagramas de caja para las variables que miden la altura total y estratificada obtenidos a partir de LiDAR con respecto a las muestras de urogallo obtenidos para los machos (M) y las hembras (F).

Tabla 4. Resultado del Modelo Lineal Mixto obtenido para el estimador de LiDAR basado en los primeros retornos, que son los puntos que representan las zonas de suelo desnudo (su cálculo se realiza dividiendo el conteo total de puntos que dan en el suelo y son reflejados de nuevo entre el total de puntos considerandos como primeros retornos, que incluyen tanto a los retornos que dan en vegetación, como los que dan en suelo). Se ha calculado el modelo con respecto al número de muestras totales, donde los machos son calculados en la estima y las hembras están consideradas dentro del intercepto. Se muestran valores de los efectos fijos y la varianza de los factores aleatorios. EE: error estándar; STD: desviación estándar.

Efectos sobre datos suelo	Efectos fijos		Efectos aleatorios		
	Estima ± EE	t	Varianza	STD	
Intercepto	-2.46 ± 0.21	-11.40	Individuo	4.03E-14	2.01E-07
Primeros retornos (♂)	0.06 ± 0.27	0.22	Residuo	9.83E-01	9.92E-01

El nivel "Hembra" está incluido en el intercepto

Primeros retornos

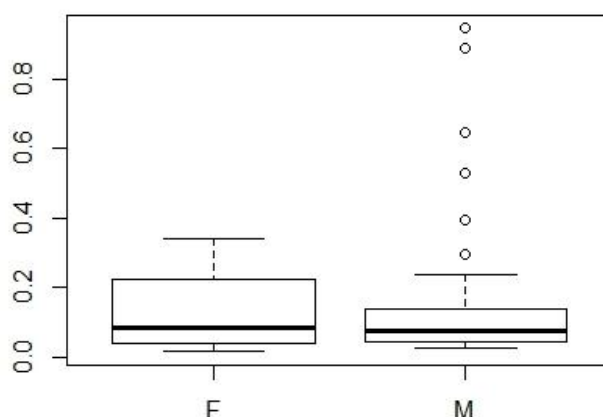


Figura 6. Diagrama de caja para los conteos de los primeros retornos del suelo con respecto a los primeros retornos totales obtenidos a partir de LiDAR con respecto a las muestras de urogallo obtenidos para las hembras (F) y los machos (M).

Tabla 5. Resultado de los Modelos Lineales Mixtos obtenidos para los estimadores basados en la densidad de la vegetación, calculados a partir del porcentaje de puntos que componen cada uno de los tres estratos definidos (arbóreo, arbustivo y herbáceo). Se muestran los resultados de los modelos para cada uno de los estratos con respecto al total de las muestras identificadas (machos y hembras). Se presentan los valores de los efectos fijos y la varianza de los factores aleatorios. EE: error estándar; STD: desviación estándar.

Efectos sobre datos densidades	Efectos fijos		Efectos aleatorios		
	Estima ± EE	t	Varianza	STD	
Intercepto	64.1 ± 2.85	22.47	Individuo	18.78	4.33
Densidad vegetación arbórea (♂)	2.12 ± 3.65	0.58	Residuo	140.67	11.8
Intercepto	9.80 ± 0.92	10.60	Individuo	1.05	1.02
Densidad vegetación arbustiva (♂)	-0.92 ± 1.17	-0.78	Residuo	16.23	4.02
Intercepto	1.63 ± 0.13	12.45	Individuo	0.02	0.16
Densidad vegetación herbácea (♂)	-0.16 ± 0.16	-0.98	Residuo	0.31	0.56

El nivel "Hembra" está incluido en el intercepto

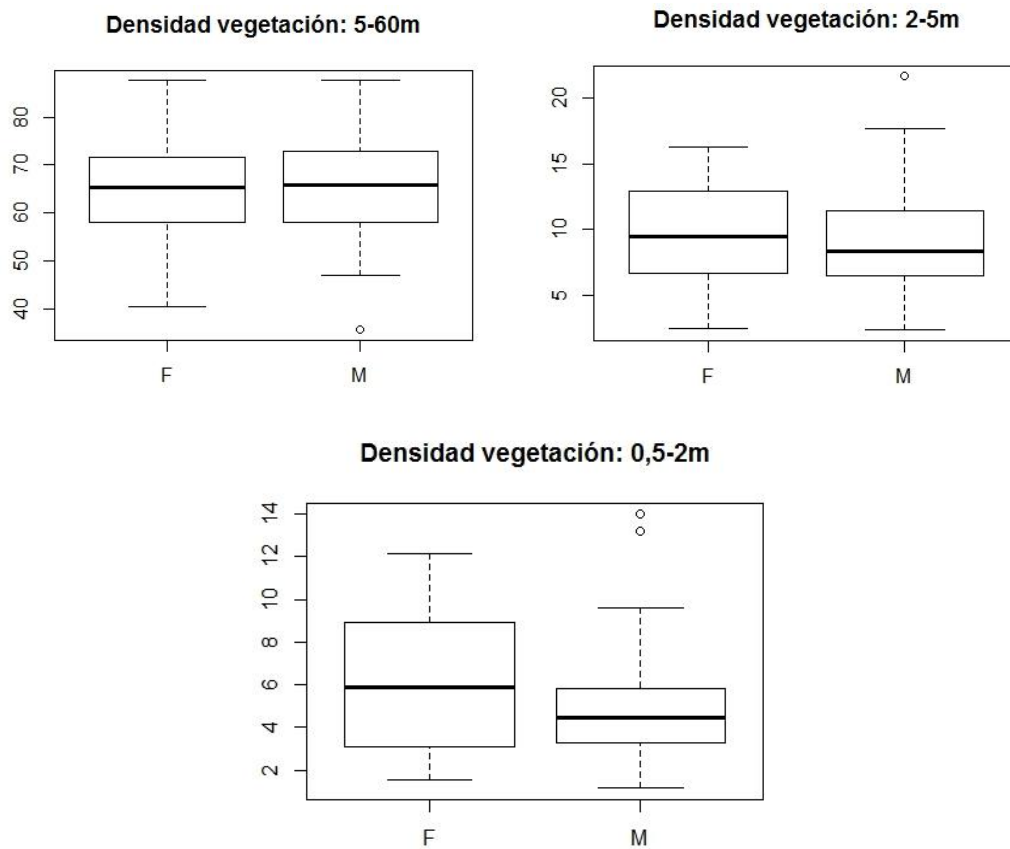


Figura 7. Diagramas de caja para los datos de densidades LiDAR con respecto a las muestras de urogallo obtenidos para los machos (M) y las hembras (F).

4. DISCUSIÓN

Existen numerosos métodos aplicados *in situ* para generar información sobre la estructura del hábitat de especies forestales (p.ej. Schwarz & Seber, 1999). No obstante, la caracterización de dichos requerimientos a pequeñas escalas espaciales requieren acceso directo a las zonas de estudio y puede suponer un elevado coste de tiempo y recursos (Hinsley *et al.*, 2006). Como consecuencia, la mayor parte de los métodos sólo pueden ser aplicados en pequeñas extensiones geográficas. En contraste, la tecnología LiDAR permite aplicar procedimientos no invasivos para caracterizar la estructura del hábitat a pequeña escala de manera más óptima y en zonas más extensas (Vierling *et al.*, 2008). Además, permite estandarizar y homogeneizar el proceso de toma de datos sobre la estructura del hábitat, lo que facilita la realización de estudios comparativos. En este trabajo se ha evaluado el potencial de la tecnología LiDAR como herramienta para la determinación de la estructura del hábitat usado por el urogallo cantábrico durante la época de celo, así como la existencia de diferencias sexuales en dicho uso.

El urogallo se encuentra en masas forestales de coníferas en la mayor parte de su distribución (Storch, 2007). Sin embargo, en la Cordillera Cantábrica, la especie aparece en a bosques de frondosas (Quevedo *et al.*, 2006; Blanco-Fontao *et al.*, 2010; González *et al.*, 2010). La información disponible sobre el uso del hábitat y los requerimientos estructurales del mismo para los urogallos en la Cordillera no es muy abundante (Quevedo *et al.*, 2006; Bañuelos *et al.*, 2008), aunque el nivel de cobertura parece ser importante (Suter *et al.*, 2002) y la ocupación parece más estable en aquellos fragmentos de hábitat más grandes de bosque maduro con elevada cobertura de sotobosque (Bañuelos *et al.*, 2008). La densidad de la vegetación arbórea fue elevada en comparación con la vegetación arbustiva y herbácea, lo que se corresponde con hábitat de bosque maduro, siendo este tipo de estructura el que compone las zonas de exhibición de los urogallos durante el periodo reproductor (Hjorth, 1982; Rolstad *et al.*, 1988).

Bañuelos y colaboradores (2008) observaron que en verano los machos permanecen en los bosques de manera similar al resto del año, mientras que las hembras tienden a utilizar más las zonas menos arboladas. Las hembras con pollos usan preferentemente la orla supraforestal, donde la cobertura de matorral es mayor (Bañuelos *et al.*, 2008). Según esto, se podría lanzar la hipótesis de que ciertas diferencias en el uso de hábitat se mantengan incluso durante el celo, época que requiere la concentración de individuos en zonas concretas.

Es importante considerar que el número de muestras de hembras localizadas y analizadas es menor que el número de muestras de machos, aunque ambos sexos comparten el mismo espacio durante la época reproductora. De manera general, se conoce que en las poblaciones centroeuropeas y boreales, las hembras de urogallo comienzan a visitar las zonas de exhibición a finales de Abril a primeras horas de la mañana preferentemente, mientras que los machos las visitan de manera continua durante los meses de Abril y Mayo (Wegge & Rolstad, 1986), con lo que podríamos hipotetizar que la fenología de la población Cantábrica es similar a la europea y con ello podríamos explicar la baja detectabilidad de las hembras durante los muestreos realizados en esta época del año. El efecto de una baja detectabilidad de hembras en comparación con los machos, sobre estos resultados, así como otro tipo de estudios basados en la detección de excrementos

(Morán-Luis *et al.*, 2014), deberá de ser explorado con mayor detalle en el futuro de cara a mejorar y optimizar los procedimientos de muestreo.

Los resultados de la cobertura vertical mostraron que ésta fue muy similar entre sexos. Sin embargo, se observa que las hembras se encuentran en zonas bajo doseles arbóreos de menor altura que los machos (Figura 4). Aunque no se detectaron diferencias significativas entre la preferencia de los machos y las hembras con respecto al uso de zonas abiertas o claros (Tabla 4, Figura. 6), las muestras de machos analizadas en función de esta variable LiDAR se encontraron en áreas con un 16% de suelo desnudo de media, mientras que las hembras apenas superaron de media el 13% de suelo descubierto, lo que sugeriría una tendencia de los machos hacia zonas más abiertas, encontrándose más expuestos en las zonas de exhibición que las hembras, lo que podría de nuevo explicar que las muestras de las hembras se hayan encontrado en menor cantidad, por encontrarse más ocultas y siendo con ello menos detectables que los machos.

Las muestras de las hembras recolectadas estuvieron relacionadas en mayor medida con zonas de vegetación más densa dentro de los estratos arbustivos y herbáceos, mientras que las muestras de los machos se relacionaron con zonas de mayor densidad de vegetación en el estrato arbóreo, aunque de nuevo no se encontraron diferencias significativas. Se sabe que los urogallos macho se mantienen durante más tiempo en la época de celo en las zonas de exhibición, donde la vegetación arbórea es más abundante, mientras que las hembras sólo visitan de manera esporádica estos lugares para encontrar pareja (Wiley 1974; Wegge & Rolstad, 1986), manteniéndose el resto del tiempo en zonas que les proporcionen mayor cantidad de refugio y alimento (Bañuelos *et al.*, 2008).

En este estudio se han utilizado variables basadas en el primer y el último retorno del láser generado desde LiDAR, lo que podría limitar nuestros resultados. Sin embargo, los datos LiDAR con múltiples retornos pueden proporcionar más información sobre la estructura de la vegetación (Lefsky *et al.* 2002). Por lo tanto, se recomienda explorar el uso de LiDAR con múltiples retornos para apoyar los resultados obtenidos. Por otro lado, el tamaño muestral quizás haya podido influenciar nuestra capacidad de detección de efectos significativos debido a la pérdida de potencia en los contrastes de las hipótesis. Se recomienda por tanto repetir estos análisis con un mayor tamaño muestral ya sea considerando varios periodos reproductores con el objetivo de validar los resultados obtenidos en este trabajo

5. CONCLUSIONES

Hasta hace poco tiempo el estudio de los requerimientos del hábitat de especies en peligro utilizando sistemas de teledetección, se centraba en el uso de imágenes satelitales y fotografías aéreas, que ayudaban a determinar el tipo de hábitat utilizado o preferido por las diferentes especies. Sin embargo, el uso de este tipo de información puede ser limitado cuando se pretende estudiar los requerimientos estructurales del hábitat a pequeña escala. En la actualidad, la disponibilidad de la tecnología (LiDAR) permite crear imágenes 3D del paisaje y la estructura de la vegetación, con la consiguiente mayor precisión para describir la estructura del hábitat de las especies a diferentes escalas espaciales.

En este estudio se han combinado métodos moleculares con tecnología LiDAR para estudiar la selección de hábitat por el urogallo durante la época de celo. Esto ha permitido caracterizar la estructura de los lugares de exhibición de los urogallos, información que puede ser de utilidad para planes de actuación y seguimiento con la especie.

Se observó cómo los urogallos se encontraron preferentemente en zonas con elevada cobertura arbórea durante la época de celo. No se detectaron diferencias sexuales en las características del hábitat estudiadas.

Conocer la estructura de la vegetación a una escala más fina puede permitir a los gestores direccionar sus acciones sobre el hábitat de manera más específica. LiDAR ofrece un gran potencial para el monitoreo del hábitat a partir de pulsos de múltiples retornos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Bachman CG. 1979. Laser Radar Systems and Techniques. Norwood (MA): Artech House.
- Bañuelos, M. J., Bravo, F., Obeso, J. R., Reque, J. (2003). Estructura forestal de los cantaderos (Microhábitat). Pp. 39-52. En: Obeso, J. R., Bañuelos, M. J. (Eds.). *El urogallo (Tetrao urogallus cantabricus) en la Cordillera Cantábrica*. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Bañuelos, M. J., Quevedo, M., Obeso, J. R. (2008). Habitat partitioning in endangered Cantabrian capercaillie *Tetrao urogallus cantabricus*. *Journal of Ornithologie*, 149: 245-252.
- Bañuelos, M. J., Quevedo, M. (2008). Update of the situation of the Cantabrian capercaillie *Tetrao urogallus cantabricus*: an ongoing decline. *Grouse News*, 25: 5-7.
- Bates D, Maechler M, Bolker B and Walker S (2015). *lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4*. R package version 1.1-8. <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>.
- Blanco-Fontao, B., & Quevedo, M. (2006). Could competition with ungulates be a limiting factor for Cantabrian capercaillie? A new Ph. D. project. *Grouse News*, 15.
- Blanco-Fontao, B., Fernández-Gil, A., Obeso, J. R., & Quevedo, M. (2010). Diet and habitat selection in Cantabrian Capercaillie (*Tetrao urogallus cantabricus*): ecological differentiation of a rear-edge population. *Journal of Ornithology*, 151(2), 269-277.
- Blanco-Fontao, B., Quevedo, M., & Obeso, J. R. (2011). Abandonment of traditional uses in mountain areas: typological thinking versus hard data in the Cantabrian Mountains (NW Spain). *Biodiversity and Conservation*, 20(5), 1133-1140.
- Breidenbach, J., & Braunisch, V. (2008). Monitoring capercaillie habitat using ALS. *Proceedings of SilviLaser*, 2008, 8th.
- Caizergues A, Dubois S, Mondor G, Rasplus J (2001) Isolation and characterization of microsatellite loci in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes* 1: 36–38. 40.
- Evans, J. S., Hudak, A. T., Faux, R., & Smith, A. (2009). Discrete return lidar in natural resources: Recommendations for project planning, data processing, and deliverables. *Remote Sensing*, 1(4), 776-794.
- Flaherty, S., Lurz, P. W., & Patenaude, G. (2014). Use of LiDAR in the conservation management of the endangered red squirrel (*Sciurus vulgaris* L.). *Journal of Applied Remote Sensing*, 8(1), 083592-083592.
- Garabedian, J. E., McGaughey, R. J., Reutebuch, S. E., Parresol, B. R., Kilgo, J. C., Moorman, C. E., & Peterson, M. N. (2014). Quantitative analysis of woodpecker habitat using high-resolution airborne LiDAR estimates of forest structure and composition. *Remote Sensing of Environment*, 145, 68-80.
- González, M. A., Olea, P. P., Robles, L., & Ena, V. (2010). The Mediterranean *Quercus pyrenaica* oak forest: a new habitat for the Capercaillie?. *Journal of Ornithology*, 151(4), 901-906.
- Graf, R. F., Mathys, L., & Bollmann, K. (2009). Habitat assessment for forest dwelling species using LiDAR remote sensing: Capercaillie in the Alps. *Forest Ecology and Management*, 257(1), 160-167.
- Hinsley, S. A., Hill, R. A., Bellamy, P. E., & Balzter, H. (2006). The Application of Lidar in Woodland Bird Ecology. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 72(12), 1399-1406.

- Hjorth, I. (1982). Attributes of capercaillie display grounds and the influence of forestry. In *Proceedings of the 2nd International Grouse Symposium*. World Pheasant Association, Exning, Suffolk, UK (pp. 26-35).
- Hudak, A. T., Lefsky, M. A., Cohen, W. B., & Berterretche, M. (2002). Integration of lidar and Landsat ETM+ data for estimating and mapping forest canopy height. *Remote sensing of Environment*, 82(2), 397-416.
- Hyde, P., Dubayah, R., Walker, W., Blair, J.B., Hofton, M., Hunsaker, C., 2006. Mapping forest structure for wildlife habitat analysis using multi-sensor (LiDAR, SAR/ InSAR, ETMplus, Quickbird) synergy. *RemoteSensingofEnvironment*102, 63–73.
- Isomursu, M., Rätti, O., Helle, P., & Hollmén, T. (2008, December). Parasitized grouse are more vulnerable to predation as revealed by a dog-assisted hunting study. In *Annales Zoologici Fennici* (Vol. 45, No. 6, pp. 496-502). Finnish Zoological and Botanical Publishing.
- Lefsky, M. A., Cohen, W. B., Parker, G. G., & Harding, D. J. (2002). Lidar Remote Sensing for Ecosystem Studies Lidar, an emerging remote sensing technology that directly measures the three-dimensional distribution of plant canopies, can accurately estimate vegetation structural attributes and should be of particular interest to forest, landscape, and global ecologists. *BioScience*, 52(1), 19-30.
- Lorenzo, A., Iseburg, M., Arbelo, M., & Alonso-Benito, A. Comparación de modelos digitales del terreno obtenidos mediante LiDAR y técnicas fotogramétricas en una zona forestal de la isla de Tenerife.
- Martin Iseburg, 2010, LAsTools user guides, (<http://www.lastools.org/>)
- Martinuzzi, S., Vierling, L. A., Gould, W. A., Falkowski, M. J., Evans, J. S., Hudak, A. T., & Vierling, K. T. (2009). Mapping snags and understory shrubs for a LiDAR-based assessment of wildlife habitat suitability. *Remote Sensing of Environment*, 113(12), 2533-2546.
- McKelvey KS, Schwartz MK (2005) DROPOUT: a program to identify problem loci and samples for noninvasive genetic samples in a capture-mark-recapture framework. *Molecular Ecology Notes* 5: 716–718.
- Menoni, E. (2006). El urogallo en los Pirineos franceses: situación actual de la especie, evolución de los efectivos, factores limitantes y gestión de las poblaciones. Pp. 79-84. En: Robles, L., Ballesteros, F., Canut, J. (Eds.). *El urogallo en España, Andorra y Pirineos franceses. Situación actual* (2005). SEO/BirdLife, Madrid.
- Merrick, M. J., Koprowski, J. L., & Wilcox, C. (2013). Into the third dimension: Benefits of incorporating LiDAR data in wildlife habitat models. *USDA Forest Service Proc.*, 67, 389-395.
- Miller CR, Joyce P, Waits LP (2005) A new method for estimating the size of small populations from genetic mark-recapture data. *Molecular Ecology* 14: 1991–2005.
- Morán-Luis M, Fameli A, Blanco-Fontao B, Fernández-Gil A, Rodríguez-Muñoz R, et al. (2014) Demographic Status and Genetic Tagging of Endangered Capercaillie in NW Spain. *PLoS ONE* 9(6): e99799. doi:10.1371/journal.pone.0099799
- Moss, R., Picozzi, N., SUMMERS, R. W., & BAINES, D. (2000). Capercaillie Tetrao urogallus in Scotland-demography of a declining population. *Ibis*, 142(2), 259-267.
- Moss, R., Oswald, J., & Baines, D. (2001). Climate change and breeding success: decline of the capercaillie in Scotland. *Journal of Animal Ecology*, 70(1), 47-61.
- Obeso, J. R. (2004). Urogallo Cantábrico Tetrao urogallus cantabricus. Pp. 176-178. En: Madroño, A., González, C., Atienza, J. C. (Eds.). *Libro rojo de las aves de España*. Dirección General para la Biodiversidad-SEO/BirdLife, Madrid.

- Obeso, J. R., Bañuelos, M. J. (2003). El urogallo (*Tetrao urogallus cantabricus*) en la Cordillera Cantábrica. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Picozzi N, Catt DC, Moss R (1992) Evaluation of capercaillie habitat. *Journal of Applied Ecology* 29: 751–762.
- Piertney S, Höglund J (2001) Polymorphic microsatellite DNA markers in black grouse (*Tetrao tetrix*). *Molecular Ecology Notes* 1: 303–304. 41.
- Pollo, C. J., Robles, L. U. I. S., García-Miranda, A., Otero, R. A. F. A. E. L., & Obeso, J. R. (2003). Variaciones en la densidad y asociaciones espaciales entre ungulados silvestres y urogallo cantábrico. *Ecología*, 17, 199-206.
- Quevedo, M., Bañuelos, M. J., Obeso, J. R. (2006a). The decline of Cantabrian capercaillie: How much does habitat configuration matter? *Biological Conservation*, 127: 190-200.
- Quevedo M, Bañuelos MJ, Sáez O, Obeso JR (2006) Habitat selection by Cantabrian capercaillie at the edge of the species distribution. *Wildlife Biology* 12: 267–276. DOI: 10.2981/0909-6396
- Raymond M, Rousset F (1995) GENEPOP Version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *The Journal of Heredity* 86: 248–249. 47.
- Reutebuch, S. E., Andersen, H. E., & McGaughey, R. J. (2005). Light detection and ranging (LIDAR): an emerging tool for multiple resource inventory. *Journal of Forestry*, 103(6), 286-292.
- Rolstad, J., & Wegge, P. (1987). Distribution and size of capercaillie leks in relation to old forest fragmentation. *Oecologia*, 72(3), 389-394.
- Rolstad, J., Wegge, P., & Larsen, B. B. (1988). Spacing and habitat use of capercaillie during summer. *Canadian Journal of Zoology*, 66(3), 670-679.
- Rushton, S.P., Ormerod, S.J., Kerby, G., 2004. New paradigms for modelling species distributions? *Journal of Applied Ecology* 41, 193–200.
- Saniga, M. (2003). Ecology of the capercaillie (*Tetrao urogallus*) and forest management in relation to its protection in the West Carpathians. *Journal of forest science*, 49(5), 229-239.
- Schwarz, C. J., & Seber, G. A. (1999). Estimating animal abundance: review III. *Statistical Science*, 427-456.
- Segelbacher G, Paxton R, Steinbruck G, Trontelj P, Storch I (2000) Characterization of microsatellites in capercaillie *Tetrao urogallus* (AVES). *Molecular Ecology* 9: 1934–1935. 39.
- Segelbacher G, Höglund J, Storch I (2003) From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe. *Molecular Ecology* 12: 1773–1780.
- Simonson, W. D., Allen, H. D., & Coomes, D. A. (2014). Applications of airborne lidar for the assessment of animal species diversity. *Methods in Ecology and Evolution*, 5(8), 719-729.
- Smart, L. S., Swenson, J. J., Christensen, N. L., & Sexton, J. O. (2012). Three-dimensional characterization of pine forest type and red-cockaded woodpecker habitat by small-footprint, discrete-return lidar. *Forest Ecology and Management*, 281, 100-110.
- St-Onge, B. A., & Achaichia, N. (2001). Measuring forest canopy height using a combination of lidar and aerial photography data. *INTERNATIONAL ARCHIVES OF PHOTOGRAMMETRY REMOTE SENSING AND SPATIAL INFORMATION SCIENCES*, 34(3/W4), 131-138.

- Storaas, T., & Wegge, P. (1987). Nesting habitats and nest predation in sympatric populations of capercaillie and black grouse. *The Journal of wildlife management*, 167-172.
- Storch, I. (1997). The importance of scale in habitat conservation for an endangered species: the capercaillie in central Europe. In *Wildlife and Landscape Ecology* (pp. 310-330). Springer New York.
- Storch, I. (2000). Conservation status and threats to grouse worldwide: an overview. *Wildlife biology*, 6(4), 195-204.
- Storch, I. (2002). On spatial resolution in habitat models: can small-scale forest structure explain capercaillie numbers?. *Conservation Ecology*, 6(1), 6.
- Storch, I., Bañuelos, M. J., Fernández-Gil, A., Obeso, J. R., Quevedo, M., & Rodríguez-Muñoz, R. (2006). Subspecies Cantabrian capercaillie *Tetrao urogallus cantabricus* endangered according to IUCN criteria. *Journal of Ornithology*, 147(4), 653-655.
- Storch, I. (2007). Conservation status of grouse worldwide: an update. *Wildlife Biology*, 13(sp1), 5-12.
- Summers, R. W., Green, R. E., Proctor, R., Dugan, D., Lambie, D., Moncrieff, R., ... & Baines, D. (2004). An experimental study of the effects of predation on the breeding productivity of capercaillie and black grouse. *Journal of Applied Ecology*, 41(3), 513-525.
- Suter, W., Graf, R. F., & Hess, R. (2002). Capercaillie (*Tetrao urogallus*) and Avian Biodiversity: Testing the Umbrella-Species Concept. *Conservation Biology*, 16(3), 778-788.
- Taberlet P, Griffin S, Goossens B, Questiau S, Manceau V, et al. (1996) Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic acids research* 24: 3189–3194.
- Tattoni, C., Rizzolli, F., & Pedrini, P. (2012). Can LiDAR data improve bird habitat suitability models?. *Ecological Modelling*, 245, 103-110.
- Thiel, D., Jenni-Eiermann, S., Braunisch, V., Palme, R., & Jenni, L. (2008). Ski tourism affects habitat use and evokes a physiological stress response in capercaillie *Tetrao urogallus*: a new methodological approach. *Journal of applied ecology*, 45(3), 845-853.
- Turner, W., Spector, S., Gardiner, N., Fladeland, M., Sterling, E., Steininger, M., 2003. Remote sensing for biodiversity science and conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 18, 306–314.
- Valière N (2002) GIMLET: a computer program for analysing genetic individual identification data. *Molecular Ecology Notes* 2: 377–379. 48.
- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004) MICROCHECKER: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535–538.
- Verner, J., Morrison, M. L., & Ralph, C. J. (1986). *Wildlife 2000. Modeling habitat relationships of terrestrial vertebrates*. University of Wisconsin Press.
- Vierling, K. T., Vierling, L. A., Gould, W. A., Martinuzzi, S., & Clawges, R. M. (2008). Lidar: shedding new light on habitat characterization and modeling. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 6(2), 90-98.
- Watson, A., & Moss, R. (2010). *Grouse (Collins New Naturalist Library, Book 107)* (Vol. 107). HarperCollins UK.
- Wegge, P., & Rolstad, J. (1986). Size and spacing of capercaillie leks in relation to social behavior and habitat. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 19(6), 401-408.

- Wiley, R. H. (1974). Evolution of social organization and life-history patterns among grouse. *Quarterly Review of Biology*, 201-227.
- Wingfield, J. C., Hegner, R. E., Dufty Jr, A. M., & Ball, G. F. (1990). The "challenge hypothesis": theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *American Naturalist*, 829-846.
- Zimble, D. A., Evans, D. L., Carlson, G. C., Parker, R. C., Grado, S. C., & Gerard, P. D. (2003). Characterizing vertical forest structure using small-footprint airborne LiDAR. *Remote sensing of Environment*, 87(2), 171-182.