



REPÚBLICA DE CUBA



INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL
GRUPO DE BIOMATEMÁTICA

UNIVERSIDAD DE GUANTÁNAMO
FACULTAD AGROFORESTAL DE MONTAÑA
CENTRO DE ESTUDIOS DE ESPECIES MENORES

**METODOLOGÍA PARA LA COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS
EN MODELOS DE REGRESIÓN NO LINEAL APLICADOS A
EXPERIMENTOS DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO***

**Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor
en Ciencias Veterinarias**

Autor: Lic. OSMANY JAY HERRERA

Tutora: Inv. Tit. Lic. VERENA TORRES CÁRDENAS, Dra. C.

Mayabeque

2012

REPÚBLICA DE CUBA

INSTITUTO DE CIENCIA ANIMAL
GRUPO DE BIOMATEMÁTICA

UNIVERSIDAD DE GUANTÁNAMO
FACULTAD AGROFORESTAL DE MONTAÑA
CENTRO DE ESTUDIOS DE ESPECIES MENORES

**METODOLOGÍA PARA LA COMPARACIÓN DE TRATAMIENTOS
EN MODELOS DE REGRESIÓN NO LINEAL APLICADOS A
EXPERIMENTOS DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO***

Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor
en Ciencias Veterinarias

Autor: Lic. OSMANY JAY HERRERA

Tutora: Inv. Tit. Lic. VERENA TORRES CÁRDENAS, Dra. C.

Mayabeque

2012

*Porque el SEÑOR da sabiduría, de su boca vienen el
conocimiento y la inteligencia.
El reserva la prosperidad para los rectos, es escudo para los
que andan en integridad,
guarda las sendas del juicio, y preserva el camino de sus
santos.*

Proverbios 2:6-8

A mi madre, por su dedicación y paciencia
A mi esposa, por ayudarme a conquistar este sueño

SÍNTESIS

Con el objetivo de poder realizar diseños experimentales, en las investigaciones de nutrición, en los que se pueda comparar tratamientos, tomando como criterio de medida las curvas de producción de gas *in vitro*, se propusieron, evaluaron y validaron criterios metodológicos estadísticos para la realización de pruebas de hipótesis sobre homogeneidad de modelos y las posteriores comparaciones múltiples. Partiendo de 3 experimentos, se modelaron 90 curvas, 30 por cada experimento y simularon 300 repeticiones para cada una por el método de Monte Carlo, con las cuales se realizó el análisis de sensibilidad de cuatro pruebas de homogeneidad de modelos de regresión. Se propuso una distancia estadística para la comparación múltiple *post-hoc*. Se simularon 38 curvas a partir de cuatro experimentos con los cuales se analizó el comportamiento de las dójimas de diferencia mínima significativa, distancia honestamente significativa de Tukey, distancia significativa de Scheffé y distancia significativa corregida por Bonferroni. Los resultados demostraron que la prueba adecuada para probar la homogeneidad es la de suma de cuadrados extra, cuando se cumplen los supuestos de base de la regresión y el criterio de información de Akaike corregido, cuando hay incumplimiento de los supuestos. La raíz de la distancia media cuadrática resultó una medida adecuada para las comparaciones múltiples y la dójima de mejor comportamiento fue la distancia honestamente significativa de Tukey. Los resultados se validaron por validación cruzada con dos experimentos independientes. Finalmente se muestran los resultados de la metodología aplicada a los experimentos de un proyecto nacional. De esta manera se obtiene un instrumento para evaluar preparados biológicos, permitiendo aumentar la eficiencia de utilización de los nutrientes, traducido en un mayor consumo de alimento y, por tanto, incremento de la producción de leche, con una alta calidad.

LISTADO DE ABREVIATURAS

BSD	Distancia significativa de Bonferroni
CIA	Criterio de información de Akaike
CIAC	Criterio de información de Akaike corregido
CIB	Criterio de información bayesiano
CME	Cuadrado medio del error
CMR	Cuadrado medio residual
D. E.	Desviación estándar
Dif.	Diferencia
E. E.	Error estándar
Exp.	Experimento
G	Gas producido
gl	Grados de libertad
H_0	Hipótesis nula
H_1	Hipótesis alternativa
HSD	Distancia honestamente significativa de Tukey
LSD	Diferencia mínima significativa
M_{completo}	Modelo completo
M_{reducido}	Modelo reducido
Par.	Parámetro

LISTADO DE ABREVIATURAS (Continuación)

PG	Producción de gas
SC	Suma de cuadrados
SCR	Suma de cuadrados residual
Sig.	Significación
SSD	Distancia significativa de Scheffé
Tto.	Tratamiento

INDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
1.1 Modelación estadística	5
1.2 Análisis de regresión	6
1.3 Ajuste de los parámetros a la ecuación de regresión	8
1.4 Selección del modelo y de la mejor ecuación	9
1.5 Pruebas de homogeneidad en modelos de regresión	10
1.5.1 La prueba de suma de cuadrados extra	12
1.5.2 El criterio de información bayesiano	12
1.5.3 Los criterios de información de Akaike y Akaike corregido	14
1.6 Dósimas de comparación múltiple	15
1.7 La simulación por el método de Monte Carlo	18
1.8 Métodos de validación	20
1.9 Aplicaciones en la Biología de los modelos de regresión no lineal	22
1.10 Experimentos de producción de gas <i>in vitro</i>	24
1.11 Modelos aplicados a la producción de gas <i>in vitro</i>	27

CAPÍTULO 2. MODELACIÓN Y SIMULACIÓN POR MONTE CARLO DE LA CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS <i>IN VITRO</i>	30
2.1 Introducción	30
2.2 Materiales y métodos	30
2.2.1 Obtención de los puntos experimentales	30
2.2.1.1 Experimento “Cuba”	30
2.2.1.2 Experimento “Brasil”	31
2.2.1.3 Experimento “Colombia”	31
2.2.2 Evaluación del ajuste del modelo	31
2.2.3 Formulación del modelo de simulación	32
2.2.4 Evaluación de la simulación	34
2.3 Resultados y Discusión	34
2.3.1 Evaluación del ajuste del modelo	34
2.3.2 Correspondencia entre los estimados originales y los estimados de la simulación	38
2.3.3 Normalidad de los estimadores	40
2.3.4 Estabilidad de las estimaciones	41
2.4 Conclusiones del Capítulo	42
CAPÍTULO 3. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD DE ESTADÍSTICOS PROPUESTOS PARA DETERMINAR DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS EN MODELOS DE REGRESIÓN NO LINEAL APLICADOS A EXPERIMENTOS DE PRODUCCIÓN DE GAS <i>IN VITRO</i>	44
3.1 Introducción	44

3.2 Análisis de sensibilidad de pruebas de homogeneidad de modelos no lineales utilizando la simulación por Monte Carlo aplicada a los datos de producción de gas <i>in vitro</i>	45
3.2.1 Materiales y métodos	45
3.2.2 Resultados y discusión	47
3.2.2.1 Prueba <i>F</i> de suma de cuadrados extra	47
3.2.2.2 El criterio de información bayesiano	50
3.2.2.3 Los criterios de información de Akaike y Akaike corregido	53
3.3 Pruebas <i>post hoc</i> para comparación múltiple de curvas de regresión no lineal	59
3.3.1 Materiales y métodos	59
3.3.1.1 Simulación 1	61
3.3.1.2 Simulación 2	62
3.3.1.3 Simulación 3	62
3.3.1.4 Simulación 4	63
3.3.2 Resultados y discusión	65
3.3.2.1 Comportamiento estadístico de la distancia entre las curvas	65
3.3.2.2 Comportamiento estadístico de las dójimas de comparación múltiple	67
3.4 Conclusiones del capítulo	74
CAPÍTULO 4. VALIDACIÓN Y APLICACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE COMPARACIÓN DE CURVAS A TRAVÉS DE EXPERIMENTOS DE PRODUCCIÓN DE GAS.	76
4.1 Introducción	76

4.2 Validación de la metodología de comparación de curvas a través de experimentos de producción de gas.	76
4.2.1 Materiales y métodos	76
4.2.1.1 Experimento “Leguminosas”	76
4.2.1.2 Experimento “ <i>Aspergillus</i> ”	77
4.2.1.3 Método de validación	77
4.2.1.4 Comparación de los modelos	77
4.2.1.5 Evaluación de la metodología	78
4.2.2 Resultados y discusión	78
4.2.2.1 Comparación de los modelos	80
4.2.2.2 Distancias <i>post hoc</i> críticas	82
4.2.2.3 Distancias entre las curvas ajustadas	82
4.3 Aplicación de la metodología a un experimento específico de producción de gas in vitro	84
4.3.1 Materiales y métodos	84
4.3.1.1 Estructura de la metodología	84
4.3.1.2 Los datos	85
4.3.2 Resultados y Discusión	86
4.4 Conclusiones del capítulo	90
CONCLUSIONES	91
RECOMENDACIONES	92
BIBLIOGRAFÍA	93
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ecuaciones de regresión derivadas del modelo de compartimentos _____	28
Tabla 2. Otras ecuaciones de regresión para el ajuste de los datos de experimentos de producción de gas in vitro. _____	29
Tabla 3. Resultado del ajuste de los datos a la función logística _____	35
Tabla 4. Resultado del ajuste de los datos a la función de Gompertz ____	35
Tabla 5. Resultado del ajuste de los datos a la función monomolecular	36
Tabla 6. Resultado del ajuste de los datos a la función de France _____	36
Tabla 7. Resultado del ajuste de los datos a la función de Orskov _____	37
Tabla 8. Comparación de las estimaciones originales y las simuladas por los métodos de remuestreo y de distribución teórica.	38
Tabla 9. Comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra para las simulaciones. _____	47
Tabla 10. Comportamiento del criterio de información bayesiano para las variaciones de los parámetros _____	51
Tabla 11. Comportamiento del criterio de información de Akaike y Akaike corregido para las variaciones de los parámetros. ____	55
Tabla 12. Valores de los parámetros de las curvas de la simulación 1	62
Tabla 13. Valores de los parámetros de las curvas de la simulación 2	62
Tabla 14. Valores de los parámetros de las curvas de la simulación 3.	63
Tabla 15. Valores de los parámetros de las curvas de la simulación 4.	63
Tabla 16. Estadígrafos de las estimaciones de las décimas de comparación múltiple de las cuatro simulaciones. _____	67
Tabla 17. Promedio de los estadísticos de las décimas de comparación múltiple y de las distancias entre las curvas estimadas para la simulación 1. _____	69

INDICE DE TABLAS (Continuación)

Tabla 18. Resultados de las comparaciones múltiples de cada una de las dósimas para la simulación 1 _____	70
Tabla 19. Promedio de los estadísticos de las dósimas de comparación múltiple y de las distancias entre las curvas estimadas para la simulación 2. _____	70
Tabla 20. Resultados de las comparaciones múltiples de cada una de las dósimas para la simulación 2. _____	71
Tabla 21. Promedio de los estadísticos de las dósimas de comparación múltiple y de las distancias entre las curvas estimadas para la simulación 3. _____	71
Tabla 22. Resultados de las comparaciones múltiples de cada una de las dósimas para la simulación 3. _____	72
Tabla 23. Criterios de bondad de ajuste de las muestras en los experimentos de validación. _____	79
Tabla 24. Resultados para las pruebas suma de cuadrados extra en los experimentos de validación. _____	81
Tabla 25. Resultados de la comparación con el uso del criterio de información de Akaike corregido en los experimentos de validación _____	81
Tabla 26. Distancias de las fronteras de decisión para las comparaciones múltiples de las muestras de los experimentos de validación _____	82
Tabla 27. Comportamiento de las distancias entre las curvas del experimento de validación “Leguminosas”. _____	83
Tabla 28. Comportamiento de las distancias entre las curvas del experimento de validación “Aspergillus” _____	83
Tabla 29. Criterios de bondad de ajuste de la ecuación de Gompertz ajustada al modelo reducido del experimento del proyecto 300292 _____	87
Tabla 30. Resultados de la aplicación de la prueba de suma de cuadrados extra y el criterio de información de Akaike corregido a los datos del proyecto 300292 _____	88
Tabla 31. Resultados de los grupos formados por las comparaciones múltiples aplicando la distancia honestamente significativa de Tukey _____	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diferentes técnicas del análisis de regresión. _____	8
Figura 2. Esquema del algoritmo de Monte Carlo. _____	33
Figura 3. Gráficas cuantil-cuantil de los residuos simulados. _____	41
Figura 4. Comportamiento del error estándar de las sumas de cuadrados de las regresiones simuladas con respecto al número de repeticiones empleadas en el análisis. _____	43
Figura 5. Valores del estadístico F y su tendencia por cada comparación. _____	49
Figura 6. Polígono suavizado de las frecuencias acumuladas de F por los tratamientos para las variaciones de 1 y 3% de los parámetros. _____	50
Figura 7. Valores ΔCIB y su tendencia por cada comparación. _____	53
Figura 8. Valores ΔCIA y su tendencia por cada comparación. _____	56
Figura 9. Valores $\Delta CIAC$ y su tendencia por cada comparación. _____	57
Figura 10. Diferentes comportamientos de la distancia entre curvas de regresión	60
Figura 11. Comportamiento de la distancia entre el tratamiento 0 y el resto de las curvas del experimento 4 en relación con el aumento de la variación del valor de los parámetros. _____	65
Figura 12. Distribución de las muestras de las distancias entre las curvas para seis de los tratamientos. _____	67
Figura 13. Relación entre las diferencias en los parámetros y las distancias entre las curvas para el experimento 4. _____	74
Figura 14. Gráficos cuantil-cuantil para evaluar la normalidad de los residuos de los experimentos de la validación. _____	80
Figura 15. Algoritmo de la comparación de tratamientos entre curvas de regresión no lineal para experimentos de producción de gas. _____	86
Figura 16. Ajuste del modelo completo a los datos experimentales del experimento del proyecto 300292. _____	87
Figura 17. Distribución de los residuos del modelo completo a) Histograma, b) gráfico cuantil-cuantil. _____	88

INTRODUCCIÓN GENERAL

Prácticamente toda la leche que se consume y un tercio de la producción de carne en el planeta, se obtiene de los rumiantes (FAO 2010). En nuestro país, con la actualización del modelo económico, la actividad agropecuaria cobra gran importancia, destinándose por la dirección del país grandes recursos y financiamiento al desarrollo de la actividad ganadera tanto estatal como particular, como se indica en el lineamiento 129 del VI Congreso del Partido Comunista de Cuba (PCC 2011).

Debido a esto, no es sorprendente que una gran cantidad de investigaciones se enfoquen al estudio del sistema digestivo de los rumiantes, de manera especial en encontrar métodos cuantitativos que permitan la interpretación de los procesos de absorción y aprovechamiento de los alimentos por parte de los rumiantes (Pedraza 2001, Galindo *et al.* 2003, La-O *et al.* 2008).

Una parte fundamental de estos estudios se dedica a investigar la dinámica de la fermentación ruminal. En esta área de investigación, la técnica de producción de gas *in vitro* ofrece las ventajas de ser económica, consumir poco tiempo, requerir pequeña cantidad de material como sustrato y permitir un mayor control de las condiciones experimentales (Marrero 2005, Rodríguez 2010).

Para el análisis de los resultados obtenidos en estos experimentos, la modelación matemática es una herramienta de gran utilidad ya que al representar las teorías y las predicciones en términos numéricos, éstos pueden ser comparados con los datos observados, lográndose no solamente una apreciación cualitativa de los resultados, sino una evaluación cuantitativa de los mismos (Thornley y France 2007).

La aplicación de los modelos a los experimentos de producción de gas *in vitro* se realiza a través del análisis de regresión no lineal. La tarea fundamental de la regresión consiste en determinar la ecuación o las ecuaciones que relacionan las distintas variables del modelo y estimar el valor de los parámetros en cada una de las condiciones en las que se realice el experimento.

Cuando las condiciones en las que se encuentran los sistemas no son las mismas o se realizan diseños experimentales con la aplicación de varios tratamientos, es posible que la forma de la curva de regresión del modelo muestre cierta variación. Por tanto debe hacerse uso de un método estadístico que permita verificar la homogeneidad del modelo en presencia de diferentes tratamientos.

Sin embargo los especialistas en biometría no han llegado al consenso del método por el cual se debe evaluar la homogeneidad de las curvas de regresión o la homogeneidad de un parámetro individual (Motulsky y Christopoulos 2003, Goldstein 2011). Esta situación cobra particular importancia en los experimentos de producción de gas *in vitro*, por las potencialidades que brinda para incluir varios tratamientos en un mismo experimento, y en los que se ha logrado perfeccionar la técnica en los últimos años, llegando a la automatización completa en la medición de las observaciones (Adesogan *et al.* 2005, Rymer *et al.* 2005).

En estos experimentos el modelo matemático que describe el proceso biológico ha sido investigado profundamente, pero se carece hasta el momento de una metodología estadísticamente correcta para la realización de pruebas de hipótesis integrales sobre homogeneidad de la curva de regresión, la cual, de existir, puede constituir una herramienta de gran utilidad en la evaluación integral de dietas y del manejo de estos animales.

Con todo lo anteriormente expuesto se llega al siguiente:

Problema de Investigación

Hasta el momento no existe en los centros de investigación del país, una metodología estadística correcta para la realización de pruebas de hipótesis sobre homogeneidad y pruebas de comparación múltiple en modelos de regresión no lineal, que permita la comparación de tratamientos en los experimentos de producción de gas *in vitro*.

Para lo cual se expone la siguiente ***hipótesis***:

Una metodología estadística que integre las pruebas de hipótesis de homogeneidad de modelos de regresión no lineal y el establecimiento de una distancia estadística permitirá realizar comparaciones necesarias en experimentos de producción de gas *in vitro*.

Objetivo General:

Proponer, evaluar y validar criterios metodológicos estadísticos para la realización de pruebas de hipótesis sobre homogeneidad de modelos de regresión no lineal y las posteriores comparaciones múltiples, aplicadas al estudio de los procesos de producción de gas *in vitro*.

Objetivos Específicos:

1. Proponer criterios estadísticos para la realización de pruebas de hipótesis sobre homogeneidad de modelos de regresión no lineal aplicados a experimentos de producción de gas *in vitro*.
2. Proponer una distancia estadística y las dójimas *post hoc*, cuando se detectan diferencias estadísticamente significativas entre las curvas, para la realización de comparaciones múltiples entre tratamientos en estos modelos.
3. Evaluar de forma integral los métodos propuestos a través de experimentos simulados por el método de Monte Carlo.
4. Validar y aplicar la metodología empleando datos procedentes de nuevos experimentos.

Novedades Científicas

1. Se introduce el método de Monte Carlo para la simulación de curvas de regresión aplicadas a experimentos de producción de gas *in vitro*.
2. Se establecen criterios metodológicos, no usados hasta el momento en el país, que permiten la comparación de tratamientos, tomando como criterio de comparación los modelos de regresión no lineal.

3. Se utiliza por primera vez la metodología desarrollada en experimentos de producción de gas *in vitro*, y se emplean técnicas de validación cruzada para evaluar la efectividad de los métodos propuestos.

Aportes Teóricos

1. Se propone una distancia estadística para la comparación múltiple de modelos de regresión no lineal.
2. Se analiza el comportamiento de las dójimas de comparaciones múltiples aplicadas a la comparación de las curvas.
3. Se desarrolla una metodología que permitirá realizar comparaciones entre tratamientos tomando como base los perfiles de las curvas de producción de gas *in vitro*.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Modelación estadística

Debido a la alta complejidad en las relaciones entre las partes del mundo real es necesario construir modelos para simplificar la comprensión de los fenómenos, de tal manera que estos puedan ser entendidos en su forma más general.

Un modelo es una representación simplificada de la realidad (Dey *et al.* 2011); y es frecuente que se propongan sucesivos modelos que cada vez intentan describir o predecir mejor el comportamiento del mundo real. Llavador (2005) define modelo como la expresión de un conjunto complejo de elementos funcionales directa o indirectamente relacionados entre sí de manera causal.

Para Rykov *et al.*, (2010), un modelo estadístico es una formulación de carácter matemático, que representa el comportamiento de un sistema determinado. El objetivo último del modelo es predecir el comportamiento del sistema a partir de las condiciones observadas en el mismo.

En el proceso de elaboración de un modelo estadístico de un sistema complejo, Reuter *et al.* (2011) establece que se deben seguir varias fases: La de la adquisición de información y conocimientos previos sobre el sistema, con el propósito de identificar los componentes internos y externos del sistema y las relaciones entre ellos; el reconocimiento de las características del entorno que afectan al sistema -por ejemplo condiciones ambientales- y delimitación del intervalo de valores de éstas dentro del cual puede operar el modelo; la especificación del objeto y alcance del modelo; la identificación del problema y delimitación del marco espacial y temporal; la asignación de los elementos del modelo que caracterizan el estado del sistema; la descripción matemática de la estructura del modelo; la verificación del modelo; y, por último, la validación del modelo a partir de nuevas observaciones del sistema y estimación de la incertidumbre de las predicciones.

Debido a la inclusión del elemento probabilístico; la elaboración, diseño e implementación de los modelos matemáticos aplicados a sistemas biológicos se

realiza sobre las bases de la estadística y el análisis matemático; y se ha desarrollado un método capaz de trabajar con soluciones tanto analíticas como numéricas, que tiene en cuenta a la vez la presencia de componentes aleatorios y la variabilidad de las magnitudes observadas en la experimentación (Rawlings *et al.* 1998). Este método es el análisis estadístico de regresión.

1.2 *Análisis de regresión*

El análisis de regresión es una técnica estadística para investigar y modelar la relación entre variables. El término regresión aparece por primera vez en Galton (1892). Su atractivo y utilidad general son el resultado del proceso conceptualmente lógico de usar una ecuación para expresar la relación entre una variable de interés -variable respuesta- y una o varias variables predictoras (Draper y Smith 1981). El análisis de regresión tiene también interés teórico, basado en la interpretación de la formulación matemática utilizada y por el empleo de teorías estadísticas bien desarrolladas (Kendall y Stuart 1976).

Como método de modelación estadística, el análisis de regresión se compone de diversas técnicas en dependencia del número o la naturaleza de las variables predictoras, la relación entre estas variables predictoras y los parámetros que las acompañan en la ecuación y la exactitud con que se realice la determinación de estos parámetros (Sheater 2009).

Cuando en el modelo empleado es imposible definir la expresión de la función de regresión en términos matemáticos, se emplean métodos de ajuste no paramétricos los cuales se encargan de obtener un estimado de la variable respuesta a partir del comportamiento general de los datos obtenidos previamente (Hazelton 2005, Wasserman 2006).

Si se define la dependencia entre las variables a través de una función matemática, el análisis de regresión se realiza a través del método paramétrico, que requiere el cumplimiento de una serie de supuestos que relacionan la validez de los resultados y las inferencias que se pueden obtener de los mismos. Draper y

Smith (1981), Rawlings *et al.* (1998), y Montgomery *et al.* (2005) indican la expresión general de la función de regresión paramétrica:

$$Y_i = f(X_{i,j}, \theta_j) + \varepsilon_i \quad (1)$$

Donde:

X_{ij} = Variable(s) predictora(s),

Y_i = Variable respuesta,

f = ecuación de regresión,

θ_j = parámetros de la ecuación,

ε_i = Residuos o término del error, normal e independiente distribuido, con media cero y varianza constante.

Kutner *et al.* (2005) plantean que los modelos de regresión se desarrollan con el objetivo de obtener una ecuación capaz de explicar o demostrar el funcionamiento de determinado mecanismo o la relación entre una serie de procesos; estimar los parámetros que caractericen determinado mecanismo o verifiquen los cambios que pueden ocurrir en el sistema; o pronosticar los valores que pudiera tomar la variable respuesta en caso de conocerse el valor de la variable predictora.

En dependencia de la ecuación que la caracteriza, y el ajuste de los parámetros, puede hablarse de regresión lineal y no lineal. En la regresión lineal la ecuación de regresión tiene una relación lineal entre los parámetros y las variables predictoras, mientras que en la regresión no lineal existen relaciones no lineales entre los parámetros y las variables predictoras (Montgomery *et al.* 2005).

El método de estimación de los parámetros de la ecuación de regresión no lineal puede ser analítico o numérico, en dependencia de la relación no lineal que se establece entre los parámetros y la variable predictora (Toro 2009, Velten 2009). Cuanto más compleja y detallada es la ecuación, más se aleja de la solución analítica, por tanto, para la estimación de dichos parámetros hay que acudir a los

métodos numéricos, que por lo general solo brindan valores aproximados (Collins 2003, Burguillo 2005), pero en la práctica, y dependiendo de las herramientas con las cuales se cuente, la solución puede considerarse exacta en la mayoría de las situaciones (Dalziel 2008).

La figura 1 muestra las clasificaciones en dependencia de la ecuación y la distribución de los residuos.

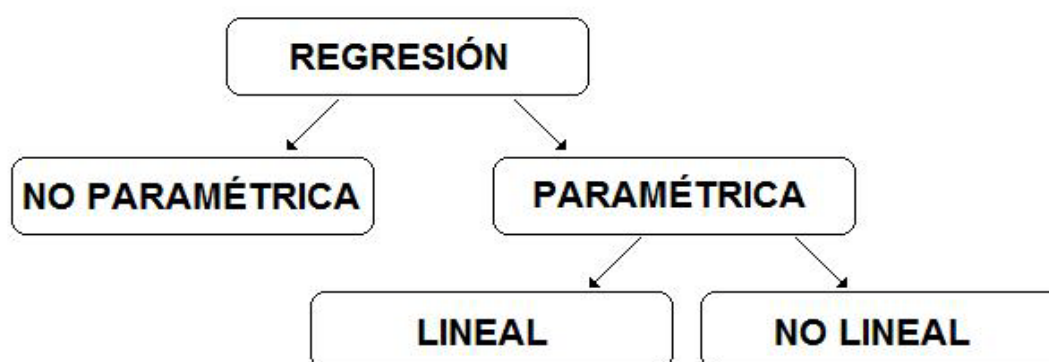


Figura 1. Diferentes técnicas del análisis de regresión.

1.3 Estimación de los parámetros de la ecuación de regresión

Existen varios métodos para la estimación de los parámetros de la ecuación de regresión. En dependencia de la naturaleza y del comportamiento de los datos experimentales, el ajuste se realiza por el método de máxima verosimilitud, la regresión ridge, el método del mínimo error absoluto, el máximo *a posteriori*, entre otros (Heijden *et al.* 2004).

Afortunadamente, cuando se cumplen los supuestos que fueron señalados con anterioridad, el método de máxima verosimilitud coincide con el método de los mínimos cuadrados (Montgomery *et al.* 2005). Ahora bien, en el caso de los modelos no lineales, ha de recurrirse a métodos iterativos para encontrar los valores de los parámetros que minimicen la suma de cuadrados de los errores del ajuste. Desde la segunda mitad siglo pasado se han propuesto varios métodos entre los cuales se encuentran, el método de Gauss-Newton (Hartley 1961), el

método *steepest-descent* (Fletcher y Powell 1963) y una combinación de estos dos, propuesta por Levenberg en 1944 y revisada por (Marquardt 1963).

1.4 Selección del modelo y de la mejor ecuación

Freund *et al.* (2006) refieren que existen dos maneras de determinar la ecuación de regresión: la forma mecanicista, donde la expresión matemática del modelo se investiga a partir del conocimiento de los diferentes procesos del sistema; o bien la forma empírica, en la cual la dispersión en el espacio cartesiano de los puntos experimentales da la idea al investigador de cuál sea el grupo de ecuaciones más conveniente, en este grupo se realiza una selección de la mejor ecuación teniendo en cuenta ciertos criterios de bondad de ajuste (Guerra *et al.* 2003, Fernández *et al.* 2004).

Como en la experimentación se tiene solamente un número limitado de datos y en estos se incluye la dispersión experimental, no hay manera de controlar la totalidad de los factores que inciden en el sistema biológico que determinan el comportamiento de las variables en estudio. Es necesario entonces seleccionar, entre un conjunto de modelos candidatos, cuál sea el que mejor explique la realidad. Se debe plantear, por tanto, una metodología que sea capaz de aprovechar tanto el conocimiento que se posea *a priori* del fenómeno, como también enfocar el problema estadísticamente y dar la respuesta en términos de probabilidades.

Esto trae como consecuencia la necesidad de establecer un compromiso entre sesgo y varianza. Las inferencias a partir de un modelo con pocos parámetros pueden estar sesgadas, pero cuando un modelo se excede en parámetros pierde precisión y por tanto la identificación de los efectos puede llegar a ser adulterada (Bingman y Fry 2010).

En la actualidad se proponen nuevos métodos y criterios para la selección de modelos, los cuales pueden emplearse en dependencia de los supuestos estadísticos de los que se parta.

Sobre la base de la teoría de las funciones de máxima verosimilitud, se busca la posibilidad del cumplimiento de una hipótesis en términos de evidencia experimental (Owen 2001).

Sobre la base de la teoría estadística bayesiana se busca la probabilidad del cumplimiento de las hipótesis en dependencia de la evidencia experimental y de la información de fondo que se posea sobre el comportamiento de los datos (Konishi y Kitagawa 2008).

También se propone la técnica de la optimización de los residuos, la cual establece que la mejor hipótesis es aquella que muestra una mejor comprensión de los datos a partir del modelo propuesto, busca por tanto, minimizar la suma de los residuos a partir de una correcta descripción del modelo (Burnham y Anderson 2002).

Por último se puede mencionar la prueba de hipótesis clásica de Neyman-Pearson adaptada a la selección de modelos anidados, la cual considera la probabilidad del cumplimiento de las hipótesis sobre la distribución de los datos (Schabenberger y Pierce 2002).

1.5 Pruebas de homogeneidad en modelos de regresión

El modelo de regresión y la forma de ajuste de los parámetros contribuyen al conocimiento del funcionamiento del sistema. Una vez que éste se conoce a menudo se procede a investigar el comportamiento de este sistema en presencia de diferentes tratamientos, para lo cual es necesario conocer si el modelo permanece invariable o aparecen diferencias entre los parámetros de un experimento a otro.

Para comprobar lo anterior se establecen las pruebas de hipótesis sobre la homogeneidad de los modelos de regresión. Este método ha sido aplicado primeramente en el campo de la regresión lineal (Freund *et al.* 2006, Kleinbaum y Klein 2010). Posteriormente la aplicación se ha extendido a los modelos no lineales, empleándose en ellos diferentes métodos, algunos, extensiones de

aplicaciones de pruebas de mejor ajuste (Schabenberger *et al.* 1999, Motulsky y Christopoulos 2003, Sewell 2008).

La idea básica en la comparación de las curvas de regresión consiste probar la hipótesis de homogeneidad de las curvas de regresión. Sea la función del modelo de regresión para el tratamiento 1, F_1 y para el tratamiento 2, F_2 , y sucesivamente para los m tratamientos, entonces la expresión de la prueba de hipótesis quedará como sigue.

$$\begin{cases} H_0 : & F_i = F_j & \forall i \neq j \\ H_1 : & F_i \neq F_j & \text{para al menos una } i \neq j \end{cases} \quad (2)$$

Para llevar a cabo esta comparación de los modelos se emplea el método descrito en Seber y Wild (2003), donde el modelo en estudio se plantea obedeciendo al cumplimiento de la hipótesis correspondientes: para el cumplimiento de la hipótesis nula, se plantea el denominado modelo reducido, el cual considera que todos los puntos pertenecen a una sola curva:

$$M_{\text{Reducido}} = f(\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_k, t) \quad (3)$$

La otra expresión, correspondiente al cumplimiento de la hipótesis alternativa, se le denomina modelo completo. En este, se ajustan los puntos correspondientes a cada tratamiento con un vector de parámetros independiente, obteniéndose como resultado una función compuesta.

$$M_{\text{Completo}} = \begin{cases} f(\theta_{11}, \theta_{12}, \dots, \theta_{1k}, t) & Tto = 1 \\ f(\theta_{21}, \theta_{22}, \dots, \theta_{2k}, t) & Tto = 2 \\ \vdots & \vdots \\ f(\theta_{m1}, \theta_{m2}, \dots, \theta_{mk}, t) & Tto = m \end{cases} \quad (4)$$

De esta manera, la bondad de ajuste de los modelos completo y reducido constituye una medida del cumplimiento de una u otra hipótesis. Existiendo en consecuencia criterios estadísticos que permiten al investigador rechazar o no la hipótesis nula.

A través de estas técnicas se ha realizado la comparación de curvas principalmente en econometría y en los estudios de series de tiempo (Gorgens 2002, Pardo-Fernández *et al.* 2004, Neumeyer y Sperlich 2006, Frees 2010).

1.5.1 La prueba de suma de cuadrados extra

Como los residuos de los modelos completo y reducido siguen una distribución normal con media cero y varianza constante, la suma de cuadrados de los residuos divididos entre la varianza siguen una distribución ji-cuadrada. Entonces, si la hipótesis nula de que no hay diferencias entre las curvas es verdadera, el cociente:

$$F = \frac{SC_{reducido} - SC_{completo} / gl_{reducido} - gl_{completo}}{SC_{completo} / gl_{completo}} \quad (5)$$

Donde

SC = Suma de cuadrados residual de cada modelo.

gl = Grados de libertad de la suma de cuadrados residual

Se distribuye como F con los grados de libertad de $gl_{completo} - gl_{reducido}$ en el numerador y $gl_{completo}$ en el denominador.

La prueba ha sido empleada por DeLean *et al.* (1978) para comparar modelos aplicados a radiomarcadores, bioensayos y ensayos clínicos. Schabenberger *et al.* (1999) lo emplearon para estudiar el fenómeno de la hormesis y la determinación de dosis efectivas de herbicidas. En la actualidad se emplea con gran interés en la selección de modelos en diversos campos de investigación (Corral *et al.* 2007, Kariuki *et al.* 2009, Murtaugh 2009).

1.5.2 El criterio de información bayesiano:

El criterio de información bayesiano (Schwarz 1978) se basa en la teoría de la probabilidad bayesiana, mostrando un comportamiento óptimo cuando el tamaño de la muestra tiende a infinito, ya que estudia el comportamiento asintótico de los estimadores a partir de la distribución *a priori* de las observaciones.

Si se tienen un conjunto de r modelos candidatos $M_1, M_2, \dots, M_r$ en los que cada modelo está caracterizado por una función paramétrica $g_i(x, \theta_i)$ y la función de

distribución *a priori* $\pi_i(\theta_i)$. Entonces, cuando los datos experimentales $x_1, x_2, \dots, x_n$ se han obtenido, la distribución marginal de probabilidad de x_n estará dada por:

$$p_i(x_n) = \int f_i(x_n | \theta_i) \pi_i(\theta_i) d\theta_i. \quad (6)$$

Multiplicando por -2 y aplicando logaritmos se obtiene:

$$-2 \ln[p_i(x_n)] = -2 \ln \left\{ \int f_i(x_n | \theta_i) \pi_i(\theta_i) d\theta_i \right\} \quad (7)$$

Schwarz (1978), señala que el miembro derecho de la expresión anterior puede expresarse a través de la función de máxima verosimilitud del modelo más una corrección de sesgo quedando entonces el término como el criterio de información bayesiano:

$$CIB = -2 \ln \{ \ell(x_n | \hat{\theta}) \} + Q \ln(n) \quad (8)$$

Cuando los residuos siguen la distribución $N(0, \sigma)$ este criterio se expresa como:

$$CIB = n \ln \left(\frac{SC}{n} \right) + Q \ln(n) \quad (9)$$

donde:

n = número de puntos de la regresión,

Q = número de parámetros de la ecuación de ajuste a la regresión más uno, y

SC = suma de cuadrados residual.

Esta definición coincide con lo planteado por Kass y Raftery (1995), quienes señalan que la efectividad de las comparaciones basadas en el CIB, depende de si la precisión de la probabilidad *a priori* de la variable es equivalente a la de verosimilitud.

1.5.3 Los criterios de información de Akaike y Akaike corregido

Estos criterios de información parten de la cuantificación de la información que se pierde cuando se aplica un modelo $g(x, \theta)$ para explicar un sistema h :

$$I(h, g) = \int h \log \left(\frac{h}{g(x|\theta)} \right) dx = E_h [\log(h)] - E_h [\log(g(x|\theta))] \\ = C - E_h [\log(g(x|\theta))] = C - E_y E_x [\log(g(x|\hat{\theta}(y)))] \quad (10)$$

$$I(h, g) - C = -E_y E_x [\log(g(x|\hat{\theta}(y)))] \quad (11)$$

Donde:

$I(g, h)$: es la denominada información de Kullback-Leibler, y

$\hat{\theta}(x)$: es el estimador de máxima verosimilitud del vector de parámetros θ a partir de los datos experimentales.

Akaike (1981) demostró que la función de máxima verosimilitud del modelo para el vector de parámetros θ es un estimador sesgado del miembro derecho de la ecuación (11) pero este sesgo es aproximadamente igual al número de parámetros empleado en el modelo más uno.

$$I - C = -\log(g(x|\hat{\theta})) + Q \quad (12)$$

Multiplicando por 2 en ambos miembros se llega al CIA

$$CIA = -2\log(g(x|\hat{\theta})) + 2Q. \quad (13)$$

Teniendo en cuenta el cumplimiento de los supuestos de normalidad, independencia y homocedasticidad de los residuos, el valor de la función de verosimilitud se puede expresar como sigue:

$$CIA = n \ln \left(\frac{SC}{n} \right) + 2Q \quad (14)$$

Cuando el tamaño de la muestra es relativamente pequeño ($n < 40$), el CIA tiende a ser inestable, para resolver este problema Hurvish y Tsai (1989) propusieron una corrección de segundo orden del término que incrementa la influencia del número de puntos experimentales en el criterio.

$$CIAC = CIA + \frac{2Q(Q+1)}{N-Q-1} \quad (15)$$

En este criterio cobra mayor importancia el número de puntos empleados en la regresión. Con tales resultados se reduce el sesgo que suele producirse por el incumplimiento de los supuestos de base y se aumenta la robustez del método al estudiar datos que no muestren el cumplimiento ideal de los supuestos de la regresión (Fujii y Konishi 2006, Hu 2007).

Para determinar el cumplimiento de la hipótesis nula se trabajó con la diferencia entre los valores de los criterios de información de los modelos completo y reducido, denotados por la letra griega Δ :

$$\Delta = CIA_{completo} - CIA_{reducido} \quad (16)$$

Y la probabilidad de similitud entre ambos modelos establecida por la ecuación:

$$P = \frac{e^{-\frac{\Delta}{2}}}{1 + e^{-\frac{\Delta}{2}}} \quad (17)$$

El empleo de Δ hace que los criterios de información no dependan de la corrección del sesgo ya que este se elimina en el cálculo de la diferencia. Findley y Wei (2002) han encontrado un gran número de aplicaciones, principalmente en las series de tiempo, Konishi y Kitawa (2008) reportan también un elevado número de aplicaciones de estos criterios, fundamentalmente en la selección de modelos.

1.6 Dósimas de comparación múltiple

Cuando los análisis de homogeneidad de las curvas de regresión indican diferencias significativas en un experimento con tres o más tratamientos, se hace

necesario conocer cuáles tratamientos son los responsables de las diferencias existentes.

Una situación análoga se presenta en los diseños tradicionales, se pueden planificar qué contrastes se aplicarán a los tratamientos desde el mismo diseño del experimento, a estos se les llama contrastes *a priori*; o realizar las pruebas posteriores al análisis de varianza a las que se les llama pruebas de comparaciones múltiples o pruebas *post hoc* (DeVeaux 2001, Montgomery 2004).

Las pruebas *post hoc* se basan en la comparación de la distancia entre los tratamientos, tomando como criterio de decisión las distancias calculadas por dójimas de comparación múltiple. Estas pueden dividirse en dos grandes grupos, las pruebas con rango variable y las de rango fijo.

Entre las dójimas de rango variable se encuentran las dójimas de Duncan (1955), Student-Newman-Keuls (Newman 1939, Begun y Gabriel 1981). En estas, el proceso de comparación se realiza a través de varios pasos, considerando diferentes rangos entre las diferentes distancias.

Entre las dójimas con rango fijo se encuentran la diferencia mínima significativa (LSD), Tukey, Scheffé y Bonferroni.

Todas ellas han sido establecidas en función de estadísticos con una distribución definida, y su cálculo depende fundamentalmente de la dispersión de los datos y el número de tratamientos. Al ser unas diferentes que otras, los grupos por ellas formadas también serán diferentes (Montgomery 2004, Rienzo *et al.* 2005). La forma de cálculo de estas dójimas es como sigue:

Diferencia mínima significativa (LSD) que se calcula (Sheskin 2004):

$$LSD = t_{\alpha, gl} \sqrt{\frac{2CMR_{reducido}}{n}} \quad (18)$$

donde:

CMR: es el cuadrado medio residual del modelo reducido;

t = valor del estadístico *t de Student*, con los grados de libertad asociados al cuadrado medio residual del modelo reducido; y

n = número de puntos experimentales empleados en la regresión.

Kardaun (2005) afirma que el valor de significación de la prueba LSD es impreciso, ya que la distribución de la muestra para t asume pruebas independientes para cada muestra, esto provoca una inflación de alfa en el orden $1-(1-\alpha)^k$, donde k es el número de tratamientos.

La distancia corregida por Bonferroni (BSD) (Dunn 1961) se emplea para evitar la inflación del error de tipo I cuando se realizan las comparaciones múltiples. Si se denota a m como el número de comparaciones que se harán, entonces habrán hasta $m=kC_2$ posibles comparaciones, donde k es el número de grupos o tratamientos. Para evitar la inflación del error de tipo I, cada una de las m pruebas se hace sobre una probabilidad de α/m . Una forma simple de establecer lo anterior es multiplicar la prueba LSD por m :

$$BSD = LSD * m \quad (19)$$

donde:

m = número de comparaciones que se realizan.

La prueba de honestamente significativa de Tukey (HSD) se desarrolló para resolver las limitaciones de LSD y las investigaciones muestran que el procedimiento mantiene estable la precisión de alfa tanto como el cumplimiento de los supuestos lo permitan (Dean y Voss 1999). La dócima de Tukey se diseñó para situaciones en que se empleen iguales tamaños de muestra por tratamientos.

$$HSD = q_{\alpha, g, l, k} \sqrt{\frac{CMR}{n}} \quad (20)$$

Donde

q = coeficiente de rango estadístico estudentizado, con k parámetros, gl grados de libertad del cuadrado medio residual del modelo reducido y un valor de probabilidad α , y

n = total de puntos de la comparación.

Distancia significativa de Scheffé (SSD). Scheffé (1953) propuso una dística mucho más flexible y más conservadora. La prueba corrige la inflación del alfa, para las comparaciones de tratamientos dos a dos, a través de la inclusión del estadístico de suma de cuadrados extra F y el número de parámetros k del modelo reducido.

$$SSD = \sqrt{(k-1)F} \sqrt{\frac{CMR}{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad (21)$$

Donde:

k = número de parámetros del modelo reducido

F = valor del estadístico de la prueba de suma de cuadrados extra,

CMR = cuadrado medio residual del modelo reducido y

n_1, n_2 = número de puntos experimentales del tratamiento 1 y 2 respectivamente.

Para la comprobación y la validación de estos métodos de comparación se hace necesario establecer una metodología que permita la generación de curvas similares a las que se obtienen experimentalmente y en las cuales el investigador pueda manejar el valor de los parámetros del modelo. Esta es la simulación por el método de Monte Carlo.

1.7 La simulación por el método de Monte Carlo.

Por definición, la simulación por Monte Carlo consiste en un conjunto de algoritmos de análisis empleados para la experimentación numérica. El propósito de tales experimentos consiste en explicar determinados fenómenos del mundo real, es decir, los algoritmos de simulación por Monte Carlo se diseñan para

resolver problemas del tipo “que pasaría si...”. Sus soluciones entran dentro del campo de la teoría del diseño experimental en la rama del análisis de sensibilidad.

Los métodos de Monte Carlo basan se basan fundamentalmente en la generación de números aleatorios que obedecen a cierta distribución establecida *a priori*. Esencialmente consiste en el establecimiento de un algoritmo de cómputo para la generación de variables y la investigación de las propiedades de éstas variables (Sobol 1974).

El método es muy útil para obtener soluciones numéricas a problemas que son difíciles de resolver con los métodos tradicionales, así como realizar pruebas en la que los experimentos reales son muy costosos o cuando se cuenta con un número reducido de unidades experimentales (Sobol 1994).

La aplicación del método de Monte Carlo en la regresión no lineal es amplia y diversa. Lee y Sampson (2005) lo aplicaron para evaluar estimadores de la regresión en datos longitudinales, Yu *et al.* (2008) en la modelación del crecimiento de los granos, Shonkwiler y Mendivil (2009) lo emplean para explorar los datos en la regresión.

La estructura básica de la simulación de modelos por método de Monte Carlo consiste en generar la función de regresión simulada:

$$Y_i^* = f(X_{i,j}, \theta^*_j) + \varepsilon^*_i \quad (22)$$

La cual a estar caracterizada por los valores que se le asignen durante la simulación al parámetro θ^* y a los residuos ε^* , de acuerdo a los fines que se persiga con la simulación (Montgomery *et al.* 2005).

La selección del parámetro θ^* estará determinada por los propósitos que se persigan en la simulación, entre otras: generación de datos experimentales nuevos, pruebas de nuevos modelos o control de la calidad de la simulación. En el caso de evaluar la simulación, se buscan datos correspondientes al fenómeno que se quiere simular, obteniéndose de éste el valor de parámetros o residuos

denominados reales u originales. Luego se simulan datos igualando el valor de θ^* al de los parámetros estimados en la regresión original. En el caso de generar nuevos modelos los parámetros se generan con una variación correspondiente al espectro de valores que se desea probar o simular repitiendo el proceso cuantas veces sea necesario (Morgan 2005).

Los residuos ε^* , son generados bien por el muestreo aleatorio de los residuos de la regresión original o extraídos de una población con una distribución definida *a priori* de forma automática por el software estadístico (Huet *et al.* 1990).

Si bien las variables que se obtienen por medio de la computadora se denominan pseudoaleatorias ya que son generadas a través de un algoritmo determinístico, para la mayoría de los propósitos de la investigación son considerados equivalentes a los números aleatorios (L'Ecuyer 2004).

Como indicador de calidad de la simulación se encuentra la eficiencia del método que consiste en la verificación de la reducción de la varianza lo que conduce a la obtención de estimados más precisos. En la medida que aumenta el número de repeticiones de las simulaciones, la variabilidad de los datos tiende a un valor constante. Una de las tareas que deben acometerse en el proceso de simulación es la determinación del número óptimo de repeticiones (Giordano *et al.* 2003).

La correspondencia entre las estimaciones del método y los parámetros reales del sistema es otro de los indicadores de la eficacia en la formulación del modelo de simulación, en caso de existir falta de correspondencia entre los parámetros estimados en el experimento real y las estimaciones del experimento simulado, se considera que el método no es eficaz (Giordano *et al.* 2003, Feelders 2007).

1.8 Métodos de validación

La validación y verificación son partes esenciales dentro del desarrollo de toda metodología. La validación es una técnica que revela en primer lugar si la metodología seleccionada explica correctamente el proceso en estudio, que las

ecuaciones han sido planteadas de la forma adecuada y que los parámetros que caracterizan los procesos no han sido sub o sobrestimados.

El propósito fundamental de la validación es demostrar que la metodología es capaz de proveer información precisa y exacta del experimento realizado. Para ello debe verificarse que los resultados tengan correspondencia con el sistema en estudio, de tal manera que no se observen subestimaciones ni sobrestimaciones que sobrepasen los límites razonables.

Steyeborg y Harrel (2011) indican que la validación puede clasificarse de acuerdo a la procedencia de los datos empleados en la misma en:

1. *Aparente*: se realiza con los mismos datos con los cuales se elaboró la metodología.
2. *Interna*: Se realiza con datos diferentes a los empleados en la elaboración de la metodología, pero provenientes de los mismos experimentos.
3. *Externa*: Se realiza con datos procedentes de experimentos que no fueron empleados en la elaboración de la metodología.

En dependencia del volumen de datos que se disponga, la separación de los datos se puede realizar de varias formas.

1. *División*: la totalidad de los datos se dividen en n (generalmente $n=2$) subconjuntos de aproximadamente el mismo tamaño.
2. *Bootstrap*: Se seleccionan n muestras aleatorias con reemplazo de los datos destinados a la validación.
3. *Jackknife*: A los datos se le sustraen los k primeros datos y se obtiene el primer conjunto de datos para la validación, luego se realiza la sustracción de la misma cantidad de datos a partir del $k+1$ -ésimo dato, y así sucesivamente hasta llegar a recorrer todo el conjunto de datos.

Una vez que se obtienen los datos para la validación se les aplica la metodología a cada conjunto y se verifican la correspondencia entre los resultados obtenidos por cada conjunto. A esta forma de validación se le denomina validación cruzada (Snee 1977).

1.9 Aplicaciones en la Biología de los modelos de regresión no lineal

En los últimos treinta años, la aplicación de modelos de regresión no lineal en la biología ha ganado terreno gracias a su capacidad para la explicación mecanicista de los procesos y al desarrollo de técnicas de cómputo que reducen el tiempo requerido para la estimación de los parámetros. Sin embargo en este campo aun se investigan las mejores técnicas para comparación de tratamientos y la implementación de diseños experimentales a través de los mismos (Logan y Wolesensky 2009).

El empleo de ecuaciones diferenciales brinda una nueva salida al problema de encontrar una ecuación que puede explicar el proceso biológico subyacente en estudio, de tal manera que el dominio del cálculo diferencial constituye una herramienta fundamental a la hora de trabajar con los modelos de regresión no lineal aplicados a procesos biológicos (Tung 2004). Esto no significa que se vaya a encontrar una ecuación ideal que pueda describir procesos completos que ocurren en plantas o animales, sin embargo sirve de gran ayuda para describir, dentro de ciertos rangos, procesos que ocurren en algún momento y que pueden ser medidos o apreciados y a la vez proveen una herramienta útil para mejorar o perfeccionar el tratamiento a las plantas o los animales y, por tanto, por tener una mayor eficiencia en la producción (Thornley y France 2007).

Dentro de las aplicaciones de los modelos de regresión a la biología, el estudio de procesos fisiológicos de los rumiantes constituye la categoría animal más estudiada (Torres y Ortiz 2005), de manera especial en encontrar los métodos cuantitativos que permitan la interpretación de varios aspectos tales como la evaluación de valor nutritivo y el grado de aprovechamiento por parte de los

rumiantes del alimento que consumen (McNamara *et al.* 2000, Thornley y France 2007).

La importancia práctica de la evaluación de los alimentos es obvia con respecto a la optimización de su utilización, del aumento del potencial productivo de los rumiantes, y de la eficiencia económica para el productor. Por otra parte, van ganando importancia las acciones para minimizar la excreción de nutrientes al medio ambiente y disminuir por tanto el nivel contaminante de este (Moberg y Mench 2000).

En particular en el trabajo con rumiantes se destacan los trabajos relacionados con la producción de leche y el consumo de alimento (Mishra *et al.* 1995, Dijkstra *et al.* 2008), el consumo (Ingvarsen 1994, Pitroff y Kothmann 2001), el crecimiento (Oltjen *et al.* 1986, Kilpatrick y Steen 1999, Hoch y Agabriel 2004), el papel de la proteína y la energía en el proceso (Sniffen *et al.* 1992, Karlsson *et al.* 2009), entre otras.

En Cuba se destacan los trabajos sobre consumo de materia seca, fibra bruta y energía (Menchaca y Ruiz 1990); el análisis de la curva de lactancia (Fernández 2004); el reciclaje de nitrógeno, fósforo y potasio en sistemas de pastoreo vacuno (Ortiz 2000) la modelación del comportamiento de insectos en sistemas agrícolas (Miranda 2004), y la modelación y simulación del crecimiento de cerdos al destete (Larduet 2009).

Últimamente se incorporan nuevos aspectos de la regresión como el método de ajuste, la selección del modelo, los criterios de bondad de ajuste, el comportamiento de los residuos y el empleo de métodos no paramétricos en la regresión no lineal aplicada a la biología (Jay y Torres 2009) .

Un lugar especial ocupa el empleo de la regresión como método de evaluación estadística de las técnicas de producción de gas *in vitro* para el estudio del valor nutritivo de los alimentos fibrosos.

1.10 Experimentos de producción de gas *in vitro*

La aplicación de los métodos de producción de gas, en los cuales la fermentación bajo condiciones controladas permite el estudio de la degradación de los alimentos, absorbe en la actualidad gran interés por parte de los investigadores de la nutrición de los rumiantes (Rymer *et al.* 2005).

Tales métodos de estudio consisten en la incubación de una muestra del alimento en una solución búfer inoculada con fluido del rumen, y la medición periódica de la producción de gas resultante (Dijkstra *et al.* 2005). Este proceso de medición tiene la ventaja de que los resultados se obtienen a partir de pequeñas muestras, por un método no invasivo (Karlsson *et al.* 2009).

En el sistema publicado por Menke *et al.* (1979) el sustrato es incubado en una jeringuilla calibrada, en la cual el desplazamiento de su pistón permite realizar mediciones de volumen de gas producido en el tiempo; el medio de incubación incluye líquido ruminal, solución de nutrientes y un búfer. Este método ha sido simplificado y mejorado empleándose cada vez más las botellas cerradas, en lugar de las jeringuillas y con un medidor de presión se estima la cantidad de gas producido (López *et al.* 2007). La mayor innovación del método producción de gas, es obtener las características de la degradación ruminal a partir de la medición del volumen de los gases provenientes de la muestra en lugar de medir directamente dicha degradación *in situ* (Pedraza 2001).

Los experimentos de producción de gas pueden emplearse para investigar en diferentes áreas del estudio de la nutrición animal como son los trabajos de Carro *et al.*, (1999), que emplean este método para investigar el efecto de la suplementación nitrogenada y la naturaleza orgánica o inorgánica del suplemento en la degradabilidad de varios tipos de forrajes. Liu *et al.* (2002) investigan los efectos asociativos del tratamiento químico gramíneas y leguminosas. Kamalak *et al.*, (2005) evaluaron el valor nutritivo del forraje cortado en diversos niveles de madurez. Calabrò *et al.*, (2005) investigaron los efectos de las fuentes del inóculo en las formas que puede tomar la curva de producción de gas. Cone *et al.*, (2008)

estudiaron el efecto del largo de corte y el periodo de ensilaje en la degradabilidad del forraje de maíz. Jalilvand *et al.*, (2008) estudiaron los efectos de la inclusión de diferentes niveles de una mezcla de enzimas en alfalfa, maíz y trigo.

En Cuba esta técnica ha alcanzado un gran desarrollo en los últimos tiempos a través de proyectos de colaboración y en investigaciones en la ciencia animal destacándose los resultados en el estudio de la población microbiana (Marrero *et al.* 2002, Galindo *et al.* 2003, Sosa *et al.* 2004), en la incorporación de levaduras como activadoras de la fermentación ruminal (Marrero 2005) y en el estudio de nuevas dietas para rumiantes (Galindo *et al.* 2003, Rodríguez 2010).

El procesamiento de la información cinética a partir de las curvas de producción de gas hace necesario el análisis de los datos a través de modelos con el fin de estimar parámetros de importancia nutricional (Thornley y France 2007). En el análisis de los datos de la producción de gas se han adoptado muchas funciones matemáticas que responden a modelos en los cuales cada parámetro puede interpretarse en función del proceso biológico. La diversidad de formas que puede tomar la curva y la relación entre la cinética de la producción de gas requiere la aplicación de un modelo apropiado capaz de describir las curvas e interpretar correctamente el proceso de degradación ruminal (Dhanao *et al.* 2000).

En las funciones matemáticas que se han adoptado para describir el proceso de producción de gas, pueden encontrarse las que tiene un origen empírico como es el caso de la función de Ørskov y Mc Donald (1979). Otras tienen un enfoque mecanístico, como son las derivadas del modelo general basado en compartimentos, del que se derivan las soluciones del sistema de ecuaciones diferenciales. Esta, en su forma más general, vincula de forma práctica la producción de gas con la cantidad de degradación ruminal (France *et al.* 2005).

Independientemente del origen del modelo que se adopte para describir la curva de degradabilidad, es necesario tomar en cuenta criterios estadísticos que permitan realizar la selección del modelo que mejor describa el proceso que se

está estudiando (Bender 1978). La selección de modelos es toda un área en franco desarrollo dentro de la estadística (Frees 2010, Goldstein 2011).

En la producción de gas *in vitro*, la determinación del modelo y las ecuaciones de regresión se realiza por el método mecanicista. Se ha logrado establecer, a partir del modelo de compartimientos, toda una familia de ecuaciones que logran explicar el proceso y a la vez muestran un satisfactorio ajuste de los datos (Thornley y France 2007).

Para la selección de la mejor ecuación de ajuste entre esta familia de ecuaciones, de aquella que presente mejor ajuste, se han empleado como criterios, el cociente de la varianza de los residuos, la suma de cuadrados residuales, el análisis gráfico de los residuos, entre otros (Dhanoa *et al.* 2000, Rymer *et al.* 2005).

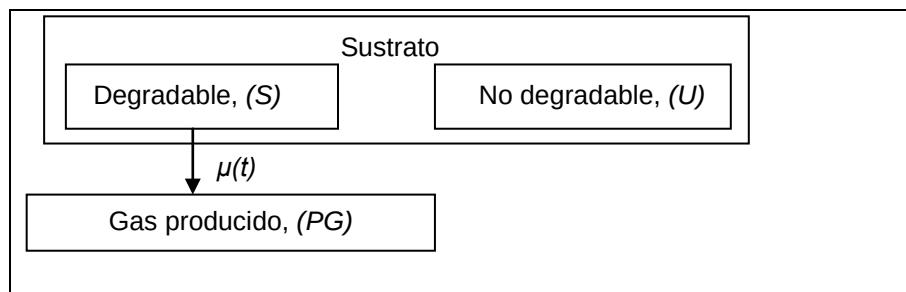
Para la comparación de los parámetros de regresión, se han propuesto varios métodos, desde el análisis de varianza univariado con diferentes criterios, como son los contrastes ortogonales, las mínimas diferencias significativas o las pruebas *post hoc* (Beuvink y Kogut 1993, Carro *et al.* 1999, Kamalak *et al.* 2005, Min *et al.* 2005, Cone *et al.* 2008, Jalilvand *et al.* 2008). Todos estos métodos parten del supuesto de que los parámetros estimados en cada uno de los tratamientos pertenecen a una población con distribución normal, lo que en la mayoría de los casos no puede determinarse experimentalmente.

Otros investigadores han obviado el problema de comparar parámetros y se limitan a verificar la adecuación del modelo propuesto, aunque realizan pruebas de hipótesis sobre variables ya encontradas a través de los mismos (La-O *et al.* 2008).

Con todo lo anterior se evidencia la necesidad de la aplicación de las modernas técnicas de análisis y simulación de datos para encontrar una metodología estadística adecuada para la realización de experimentos en las investigaciones que actualmente se desarrollan y en las de un futuro inmediato, en este campo.

1.11 Modelos aplicados a la producción de gas in vitro

Para modelar la producción de gas in vitro se toma en consideración el modelo reportado por Thornley y France (2007), el cual considera que el sustrato en un compartimiento con dos fracciones, una degradable y otra no degradable, mientras que el otro compartimento es el gas producido a una tasa de producción inversamente proporcional al gas producido previamente.



Varias ecuaciones para determinar la producción de gases han sido propuestas por los investigadores (Beuvink y Kogut 1993, Schofield *et al.* 1994, France *et al.* 2005) como solución del modelo anterior, muchas veces mezclando el mecanicismo con una visión empírica del proceso.

El modelo de Ørskov y McDonald (1979) intenta describir la cinética de la reacción de primer orden. En el caso de los experimentos de producción de gas in vitro, la tasa de producción es proporcional a la cantidad de gas que ya se haya producido, que a su vez es inversamente proporcional a la cantidad de sustrato degradado.

El modelo monomolecular, que es otra forma de expresar la ecuación de Mitscherlich, estuvo entre las primeras en ser aplicadas a los experimentos de producción de gases (Dhanoa *et al.* 2000).

El modelo logístico, se asume que la tasa de producción de gas es proporcional a la actividad microbiana, representada por la cantidad de gas producido hasta ese momento y a la concentración de sustrato (Thornley y France 2007).

El modelo de Gompertz asume que la producción de gas es proporcional a la actividad microbiana, pero la actividad microbiana decrece con el tiempo de

acuerdo a la cinética de primer orden, lo que puede ser asumido como una pérdida de la eficiencia de la producción de gases con el tiempo (Lopez *et al.* 2000).

El modelo de France es una generalización del modelo de Misterlich que permite ajustarlo a curvas sigmoidales o no, esto se logra estableciendo la tasa de degradación del sustrato creciente o decreciente en el tiempo (France *et al.* 2005).

Tabla 1. Ecuaciones de regresión derivadas del modelo de compartimentos Thornley y France (2007).

Nombre	Expresión matemática
Ørskov y McDonald	$G(t) = a + b(1 - e^{-ct})$
Monomolecular	$G(t) = A(1 - be^{-ct})$
Logístico	$G(t) = \frac{A}{1 + be^{-ct}}$
Gompertz	$G(t) = A \exp(-be^{-ct})$
France	$G(t) = A \{1 - \exp[(-bt) - c\sqrt{t}]\}$

Otros investigadores ecuaciones que no responden al modelo planteado anteriormente, aunque en la concepción se ha tenido en cuenta la teoría biológica de la fermentación del alimento en el rumen, algunas de las cuales emplean el modelo multifásico, en el cual se asume que cada fracción (fase) del sustrato se digiere independientemente despreciando los efectos de interacción entre el sustrato el alimento y los microorganismos.

Entre estas ecuaciones se encuentran las que aparecen en la siguiente tabla:

Tabla 2. Otras ecuaciones de regresión para el ajuste de los datos de experimentos de producción de gas in vitro. Adaptado de (France *et al.* 2005).

Nombre	Expresión matemática
Beuvink y Kogut	$G(t) = a \exp \left[-\frac{b_1}{c_1} e^{-c_1 t} - \frac{b_2}{c_2} e^{-c_2 t} \right]$
Schofield	$G(t) = \sum_{i=1}^2 a_i \left\{ 1 + \exp \left[2 - \frac{4b_i}{a_i} t \right] \right\}^{-1}$
Groot	$G(t) = \sum_{i=1}^n \frac{a_i}{1 + \frac{K_i^{c_i}}{t^{c_i}}}$

Es tarea conjunta del estadístico y del especialista la selección del modelo de mejor ajuste de acuerdo con las condiciones y propósitos del experimento. Una vez que se haya adoptado el modelo y se obtenga el valor de los parámetros, es posible encontrar los valores numéricos de índices biológicos tales como la producción de gas asintótica (G_∞), el tiempo de máxima tasa de degradación, o punto de inflexión (t^*), el tiempo de semidesaparición de la fracción degradable, ya sea de forma analítica o por alternativas del cálculo numérico, pudiendo así caracterizar cuantitativamente el proceso biológico en estudio.

CAPÍTULO 2. MODELACIÓN Y SIMULACIÓN POR MONTE CARLO DE LA CINÉTICA DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*.

2.1 Introducción

En el presente capítulo se presenta el modelo descrito por Beuvink y Kogut (1993) aplicado al proceso de producción de gas y, como soluciones del mismo, las funciones logística, monomolecular, de Gompertz, de France y de Orskov y McDonald, como puede verse en los trabajos de Dhanoa *et al.* (2000), Leenhardt *et al.* (2006) y de López *et al.* (2007). Se evaluó la bondad de ajuste del modelo a los datos experimentales y se seleccionó el modelo con mejores criterios de ajuste entre los modelos.

Con los resultados de las estimaciones se llevó a cabo la simulación de experimentos por Monte Carlo empleando los dos métodos más utilizados en la regresión. Se aplicó el análisis de regresión a los puntos simulados y se analizó la correspondencia entre los puntos simulados y los puntos reales para evaluar la efectividad de la simulación en estas condiciones.

Como los supuestos y el comportamiento de los modelos son comunes a cada una de las pruebas, los resultados obtenidos con la ecuación de regresión escogida pueden ser extendidos a cualquier modelo que satisfaga las condiciones del experimento.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Obtención de los puntos experimentales.

Para la evaluación de la bondad de ajuste de este modelo se tomaron tres experimentos de producción de gas realizados en laboratorios distintos y con procedimientos diferentes:

2.2.1.1 Experimento “Cuba”

Este experimento fue realizado en el Departamento de Fisiología del Instituto de Ciencia Animal (Sosa 2011). Las mediciones se realizaron a través de jeringuillas insertadas a la botella contenedora del sustrato, inoculado con un cultivo de

levadura y mezclado con la disolución búfer. Se realizaron 21 lecturas 1, 2, 3.5, 5.5, 7.5, 9.5, 11.5, 13.5, 17.5, 21, 24, 27, 30, 32.5, 45.5, 49, 52, 61, 72, y 77 horas, directamente de la jeringuilla, considerando la producción de gas inicial nula. Se realizaron cuatro repeticiones para un total de 88 puntos experimentales.

2.2.1.2 Experimento “Brasil”

El segundo experimento fue realizado en colaboración con el Departamento de Fisiología Animal de la Universidad de Minas Gerais de Brasil (Marrero 2010). Las mediciones se realizaron a través de manómetro acoplado a los frascos de fermentación con pantalla digital. Los datos se tomaron a las 4, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 60 y 72 horas; nueve lecturas sobre cuatro repeticiones, considerando nula la producción de gas inicial. En total en el experimento se contó con 40 puntos experimentales.

2.2.1.3 Experimento “Colombia”

En este tercer experimento fue realizado en colaboración entre el Instituto de Ciencia Animal de Cuba y los Laboratorios de Microbiología Molecular y de Química de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Marrero 2005). Las mediciones de la producción de gas, se realizaron con un manómetro acoplado a los frascos de fermentación mediante interfaz electrónica y las lecturas se realizaron automáticamente a través de una computadora en intervalos de 0.34 horas realizadas, durante 23.5 horas. Se obtuvieron 70 mediciones, en cada una de las cuatro repeticiones realizadas, lo que arroja un total de 280 puntos experimentales, se consideró además que en el inicio de las mediciones la producción de gas fue nula.

2.2.2 Evaluación del ajuste del modelo

Se ajustaron las funciones de Orskov, logística, monomolecular, de Gompertz, y de France a cada uno de los datos de los cuatro experimentos por medio de la regresión no lineal.

Para evaluar la bondad de ajuste del modelo se usaron los criterios estadísticos significación del modelo y los parámetros, coeficiente de determinación, error

estándar de estimación de los parámetros y cuadrado medio del error de regresión.

El paquete estadístico empleado fue el SPSS 15.0 (2006) y el método de ajuste fue el de Levenberg-Marquardt.

2.2.3 Formulación del modelo de simulación

Con los resultados de la modelación del acápite anterior se desarrolló el proceso de simulación, empleando el modelo:

$$PG^*_i = f(a^*, b^*, c^*, t_i) + e^*_i, \quad (29)$$

donde:

PG^*_i = i-ésimo punto simulado de producción de gas,

f = función de regresión,

t_i = tiempo correspondiente a la i -ésima observación en el experimento original,

a^*, b^*, c^* = parámetros simulados, y

e^*_i = i-ésima componente del vector de residuos simulado $\mathbf{e}^*$.

Se estableció que los valores de los parámetros simulados a^* , b^* y c^* , fueran iguales a los de las curvas originales, con el objetivo de verificar la correspondencia entre los resultados de la regresión de las curvas simuladas y los datos reales.

Para la formación del vector de los residuos simulado $\mathbf{e}^*$, se siguieron los dos métodos más recomendados en la literatura consultada (Efron y Tibshirani 1993, Robert y Casella 2004, Dimov 2008, Shonkwiler y Mendivil 2009).

1. El vector $\mathbf{e}^* = [e^*_1, e^*_2, \dots, e^*_n]$ se obtiene a partir de realizar un muestreo aleatorio con reemplazo de los residuos originales, de tamaño igual al número de puntos de la regresión original.

2. Considerando la distribución normal de los residuos, una vez estimada la media y la desviación estándar de los residuos originales, se generan n números aleatorios normalmente distribuidos con la media y la desviación estándar estimada.

A estos puntos PG_i se les aplica la técnica de regresión no lineal para cerrar el ciclo de la simulación.

El algoritmo general se muestra en el esquema de la figura 2.

Para cada experimento se realizaron 500 simulaciones por cada uno de los dos métodos. Los software estadísticos empleados en la simulación fueron el Microsoft Excel ® 2007 (2008) y SPSS 15.0 (2006).

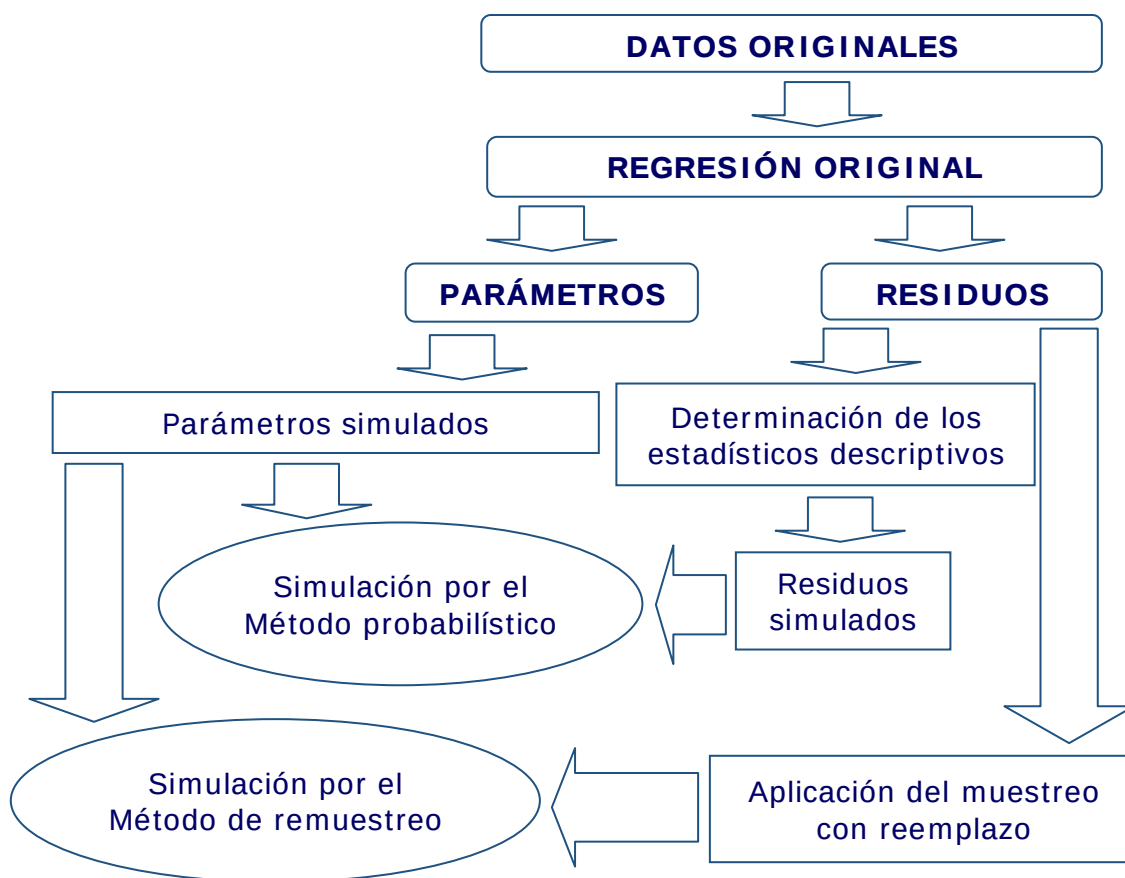


Figura 2. Esquema del algoritmo de Monte Carlo

2.2.4 Evaluación de la simulación

Una vez obtenidos los puntos simulados y aplicada la regresión a cada una de las simulaciones, se procedió a la evaluación a través de los siguientes criterios:

Correspondencia entre los estimadores originales y el los estimadores de Monte Carlo: Se verifica que el intervalo de confianza de las estimaciones de los parámetros de las curvas simuladas se encuentre dentro del intervalo de confianza de las estimaciones de los parámetros de la regresión original. El método de determinación del intervalo de confianza de los estimaciones de los parámetros simulados es el método del percentil (Montgomery *et al.* 2005).

Estabilidad de las estimaciones: Para el estudio de la convergencia del método se realiza un estudio de la estabilidad de las estimaciones en la medida que se repiten las simulaciones. A través del gráfico del error estándar, contra las iteraciones, debe aparecer una curva asintótica con un punto donde se alcanza la estabilidad. Llegado a este punto, se considera que las siguientes simulaciones no aportarían sustancialmente a los resultados de la simulación (Feelders 2007).

2.3 Resultados y Discusión

2.3.1 Evaluación del ajuste del modelo

Los resultados del ajuste de los datos a las diferentes funciones de regresión se muestran en la tabla 3 a la 7.

Tabla 3. Resultado del ajuste de los datos a la función logística

Experimento	A	b	c	R ²	Sig.	CME
CUBA	77.5	-3830	34.33	0.063	NS	4047
E. E. (±)	6.9	-	-			
Sig. Parám.	***	NS	NS			
BRASIL	205.9	-19543	8.9	0.231	NS	13202
E. E. (±)	13.5	-	-			
Sig. Parám.	NS	NS	NS			
COLOMBIA	15.9	11.792	0.230	0.966	***	0.806
E. E. (±)	0.230	0.661	0.007			
Sig. Parám.	***	***	***			

*** Indica nivel de significación $p < 0.001$

Tabla 4. Resultado del ajuste de los datos a la función de Gompertz

Experimento	A	b	c	R ²	Sig.	CME
CUBA	174.5	4.753	0.077	0.993	***	28.3
E. E. (±)	1.7	0.192	0.002			
Sig. Parám.	***	***	***			
BRASIL	335.4	3.753	0.096	0.987	***	231.3
E. E. (±)	3.5	0.205	0.004			
Sig. Parám.	***	***	***			
COLOMBIA	17.9	3.212	0.130	0.970	***	0.7
E. E. (±)	0.4	0.089	0.005			
Sig. Parám.	***	***	***			

*** Indica nivel de significación $p < 0.001$

Tabla 5. Resultado del ajuste de los datos a la función monomolecular

Experimento	A	b	c	R^2	Sig.	CME
CUBA	252.7	1.064	0.019	0.980	***	85.3
E. E. ($\pm$)	13.1	0.011	0.002			
Sig. Parám.	***	***	***			
BRASIL	385.9	1.063	0.036	0.980	***	346.4
E. E. ($\pm$)	3.5	0.205	0.004			
Sig. Parám.	***	***	***			
COLOMBIA	44.9	1.008	0.019	0.967	***	0.8
E. E. ($\pm$)	0.4	0.089	0.005			
Sig. Parám.	***	***	***			

*** Indica nivel de significación $p < 0.001$

Tabla 6. Resultado del ajuste de los datos a la función de France

Experimento	A	b	c	R^2	Sig.	CME
CUBA	203.7	0.039	-0.087	0.992	***	34.7
E. E. ($\pm$)	4.1	0.002	0.007			
Sig. Parám.	***	***	***			
BRASIL	352.9	0.066	-0.117	0.990	***	166.2
E. E. ($\pm$)	4.3	0.004	0.011			
Sig. Parám.	***	***	***			
COLOMBIA	32.1	0.034	-0.021	0.968	***	0.8
E. E. ($\pm$)	3.8	0.006	0.008			
Sig. Parám.	***	***	***			

*** Indica nivel de significación $p < 0.001$

Tabla 7. Resultado del ajuste de los datos a la función de Orskov

Experimento	A	b	c	R^2	Sig.	CME
CUBA	-16.2	268.9	0.019	0.980	***	85.3
E. E. ($\pm$)	2.2	12.0	0.002			
Sig. Parám.	***	***	***			
BRASIL	-24.5	410.3	0.036	0.980	***	346.4
E. E. ($\pm$)	5.2	8.3	0.002			
Sig. Parám.	***	***	***			
COLOMBIA	-0.372	45.2	0.019	0.967	***	0.8
E. E. ($\pm$)	0.162	6.7	0.004			
Sig. Parám.	***	***	***			

*** Indica nivel de significación $p < 0.001$

El ajuste de las regresiones fue significativa para un nivel de $p < 0.001$ para todas las funciones excepto en la logística en el ajuste de los experimentos Cuba y Brasil.

La función de Gompertz fue la que mostró mejores criterios de bondad de ajuste con alto nivel de significación de ajuste del modelo y de los parámetros, presentó los más altos coeficientes de determinación así como los más bajos errores estándar de estimación de los parámetros.

De acuerdo con Liu *et al.* (2002), Grings *et al.* (2005) y López *et al.* (2007), la función de Gompertz aplicada a los experimentos de producción de gas *in vitro* reporta por regla general buenos criterios de ajuste, por tratarse de experimentos que se realizan en condiciones controladas, en los cuales se minimiza a nivel de laboratorio la variabilidad de los datos.

Para este modelo, los valores del error estándar de la estimación de los parámetros y la suma de cuadrados residuales del experimento Colombia fue el que menores valores mostró. Este resultado está relacionado con el empleo de la

tecnología más avanzada y la posibilidad de realizar un número mucho mayor de observaciones en el mismo intervalo de tiempo. En cuanto al coeficiente de determinación, el mayor valor se encontró en el experimento Cuba, lo que puede estar relacionado con el propósito con el que se llevó a cabo dicho experimento. No obstante, todos los experimentos mostraron coeficientes de determinación por encima de 0.90 lo que indica una alta adecuación del modelo.

2.3.2 Correspondencia entre los estimados originales y los estimados de la simulación

La tabla 8 es una muestra comparativa de las estimaciones de los parámetros originales y los simulados. Las estimaciones de los parámetros obtenidos por el método de remuestreo y de distribución teórica se denotan como A^*_{1} , b^*_{1} y c^*_{1} , y A^*_{2} , b^*_{2} y c^*_{2} , respectivamente.

Tabla 8. Comparación de las estimaciones originales y las simuladas por los métodos de remuestreo y de distribución teórica.

Exp	Par.	Estimación	E. E.	Intervalo de Confianza 95%		
				Límite Inferior	Límite Superior	
Cuba	A	A	174.467	1.694	171.099	177.835
		A* ₁	173.546	0.071	173.404	173.687
		A* ₂	174.385	0.073	174.242	174.528
	b	b	4.753	0.192	4.371	5.135
		b* ₁	4.872	0.009	4.855	4.890
		b* ₂	4.767	0.008	4.752	4.783
	c	c	0.0770	0.0020	0.0720	0.0810
		c* ₁	0.0779	0.0001	0.0777	0.0781
		c* ₂	0.0772	0.0001	0.0770	0.0773

Exp	Par.	Estimación	E. E.	Intervalo de Confianza 95%	
				Límite Inferior	Límite Superior
Brasil	A	A	335.434	3.535	328.394 342.473
		A* ₁	333.955	0.148	333.665 334.245
		A* ₂	334.077	0.143	333.796 334.358
	b	b	3.753	0.205	3.345 4.161
		b* ₁	3.820	0.009	3.798 3.834
		b* ₂	3.842	0.009	3.825 3.860
	c	c	0.096	0.004	0.088 0.105
		c* ₁	0.0970	0.0002	0.0966 0.0973
		c* ₂	0.0974	0.0002	0.0971 0.0977
Colombia	A	A	17.970	0.414	17.155 18.786
		A* ₁	17.939	0.174	17.905 17.974
		A* ₂	17.966	0.018	17.930 18.003
	b	b	3.212	0.088	3.038 3.386
		b* ₁	3.226	0.004	3.219 3.233
		b* ₂	3.223	0.004	3.216 3.231
	c	c	0.130	0.005	0.119 0.140
		c* ₁	0.1303	0.0002	0.1298 0.1307
		c* ₂	0.1300	0.0002	0.1296 0.1305

Las estimaciones de los parámetros de los puntos simulados se correspondieron con los valores obtenidos con la regresión de los puntos originales. La diferencia que puede existir entre ellos estará dada por la dispersión aleatoria que sufren los residuos durante el proceso de simulación.

Los valores de los errores estándares de la estimación y por consiguiente los intervalos de confianza fueron aproximadamente iguales en los dos métodos de simulación acorde a lo sugerido por Rubinstein y Kroese (2008). Este resultado corrobora, por un lado, la validez del método de simulación y por otro, el

cumplimiento de los supuestos de normalidad de los residuos en la regresión original.

Como señal de la convergencia de los métodos se muestra que los intervalos de confianza de las estimaciones de Monte Carlo quedaron dentro de los límites de confianza de la regresión original. Estos valores no coincidieron en los dos métodos debido a que su acercamiento asintótico a los valores poblacionales transcurre por rutas diferentes como lo explican Mammen y Nandi (2004).

2.3.3 Normalidad de los estimadores

Cuando se prueba la normalidad de los estimadores obtenidos por cualquier método de remuestreo, es necesario establecer criterios más estrictos que cuando se evalúan la normalidad de las variables habituales. En la medida que disminuye el error estándar de la estimación de los parámetros simulados, su distribución debe acercarse más a las características de una distribución normal. Por lo que debe esperarse que el valor de los coeficientes de las pruebas de normalidad de los residuos de la regresión de los puntos simulados sea más cercano al valor ideal.

Todos los parámetros reportaron estadísticos de Shapiro-Wilks y Kolmogorov-Smirnov corregido por Lilliefors (Abdi y Molin 2007) que no rechazan la hipótesis de normalidad, para la cantidad de grados de libertad de la simulación.

La figura 3 muestra los gráficos cuantil-cuantil, que representan de manera visible el grado de coincidencia de la distribución de los residuos con la distribución normal. Se aprecia la ocurrencia de puntos atípicos en las simulaciones realizadas por el método de remuestreo, debido a que estos puntos contienen el valor exacto de los residuos de la regresión original, en los cuales es posible encontrar puntos atípicos como resultado de eventos fortuitos en la experimentación. En ningún caso el número de puntos atípicos rebasó la cantidad de 25, que representaría el 5% del total de puntos empleados considerada por Belsley (2004), Shonkwiler y Mendivil (2009) como la cantidad máxima de atípicos permisible.

Un examen de los gráficos de comparación con la curva indica que éstos pueden considerarse suficientemente aproximados a los de la distribución normal (Sokal y Rohlf 1995, Sheskin 2004, Lee y Sampson 2005).

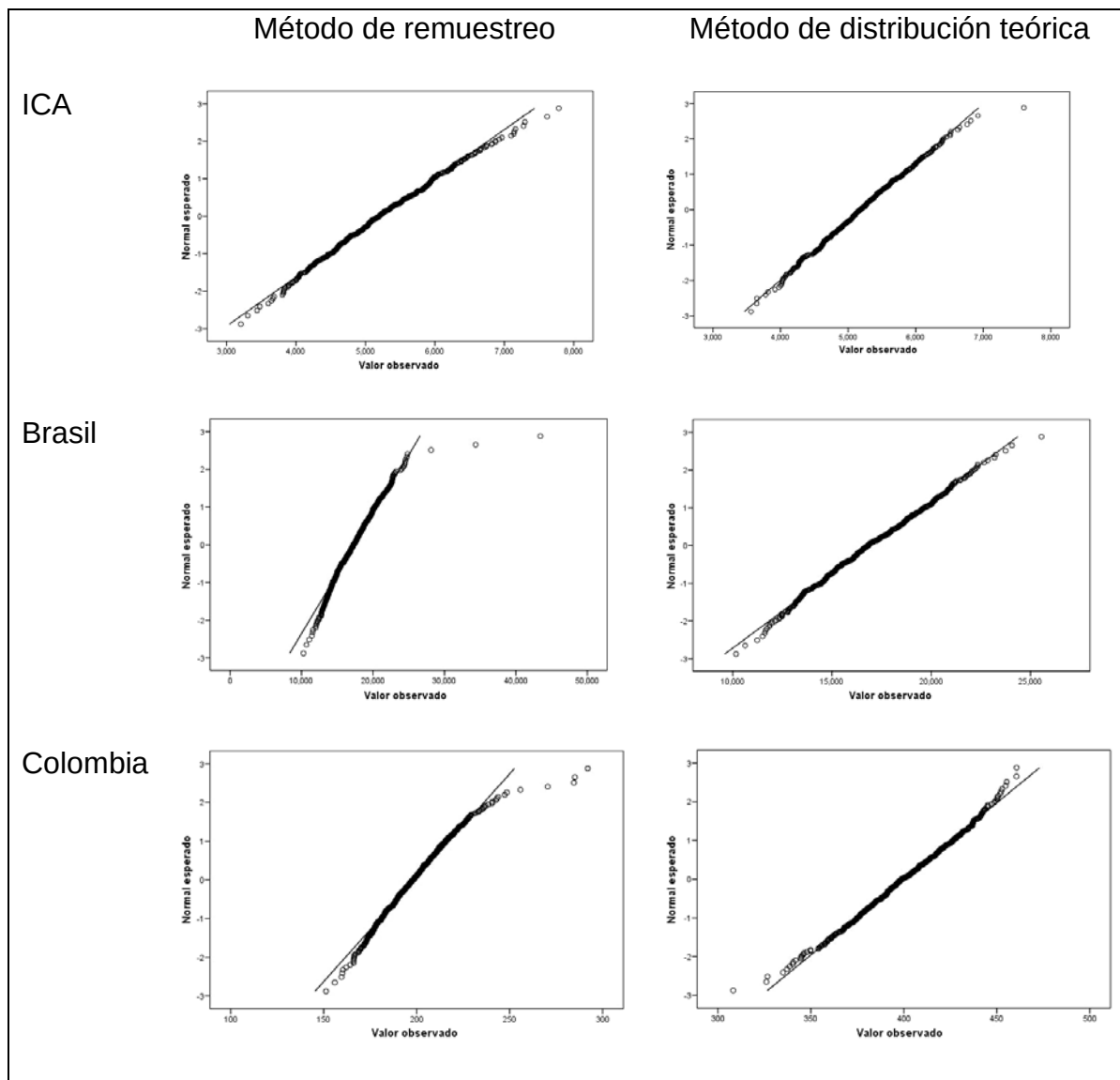


Figura 3. Gráficas cuantil-cuantil de los residuos simulados

2.3.4 Estabilidad de las estimaciones

Cuando los estimadores tienden a tener un valor estable en la medida que se van produciendo las iteraciones por Monte Carlo, se dice que el método es convergente. En cambio, si cuando aumentan las iteraciones, los estimadores

varían abruptamente, variando así los errores estándar de la estimación, entonces el método será divergente y la simulación no es aplicable. Los valores de los estimadores del error estándar de la suma de cuadrados de los residuos se muestran en la figura 4. Puede verse que el método ha conducido a estimaciones convergentes alcanzándose el punto de convergencia aproximadamente a las 200 repeticiones.

Dimov (2008) recomienda que se deben tomar un número mayor de iteraciones. En nuestro caso consideramos como valor medio aceptable el de 300 repeticiones, aunque en algunas pruebas el número de iteraciones fue menor para evitar la redundancia en los resultados.

En la figura 4 se aprecia que los métodos muestran diferencias más pronunciadas hasta las ochenta repeticiones, producto de que los residuos de estas todavía no han entrado en la estabilidad. Luego ambos modelos transcurren hacia la convergencia de forma uniforme. Después de las 200 repeticiones el comportamiento es aproximadamente el mismo. A partir de las 300 repeticiones la estabilidad se ha alcanzado a través de los dos métodos.

2.4 Conclusiones del capítulo

Los resultados de los tres experimentos muestran que el modelo de dos compartimentos representado por la función de Gompertz sirve como modelo general para representar los procesos de producción de gas *in vitro*, en estos experimentos, ya que caracteriza correctamente la curva descrita por los datos experimentales.

La simulación por Monte Carlo presentó resultados similares en los dos métodos. Los resultados alcanzan la convergencia a partir de las 200 repeticiones.

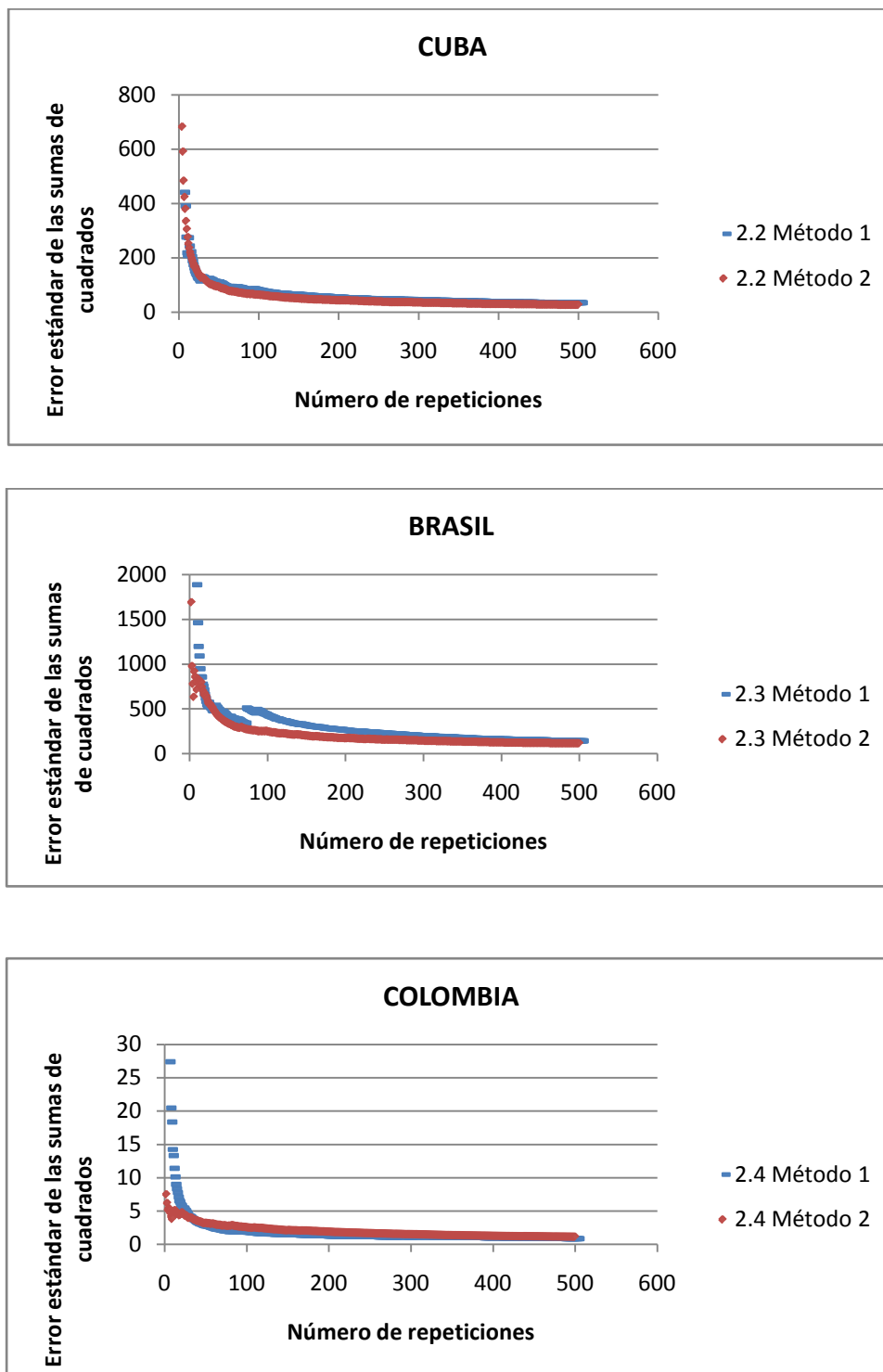


Figura 4. Comportamiento del error estándar de las sumas de cuadrados de las regresiones simuladas con respecto al número de repeticiones empleadas en el análisis.

CAPÍTULO 3. ANÁLISIS DE SENSIBILIDAD DE ESTADÍSTICOS PROPUESTOS PARA DETERMINAR DIFERENCIAS ENTRE TRATAMIENTOS EN MODELOS DE REGRESIÓN NO LINEAL APLICADOS A EXPERIMENTOS DE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*

3.1 Introducción

En la actualidad se han propuesto un gran número de métodos para la comparación de modelos de regresión, los cuales pueden ser empleados para probar la homogeneidad de las curvas de regresión, la utilidad de cada método está basada en el cumplimiento de los supuestos del modelo y la dispersión de los datos entre un tratamiento u otro (Sewell 2008).

Sin embargo, en el caso de la producción de gas *in vitro*, de acuerdo a las características propias de este experimento (gran variabilidad de los datos experimentales, dependencia de los errores y facilidad de obtener un gran número de repeticiones y de tratamientos), no ha quedado establecido un método único de comprobación de la homogeneidad de los modelos (Motulsky y Christopoulos 2003).

Para probar la homogeneidad de los modelos, se propone la metodología de modelo completo y reducido, y se realiza el análisis de la sensibilidad de cuatro pruebas de bondad de ajuste con el fin de determinar aquella que mejor comportamiento tenga en los experimentos de producción de gas.

Para las comparaciones múltiples *post hoc* se propone el empleo de la distancia media cuadrática entre curvas.

Posteriormente se analizaron las dójimas LSD, Tukey, Scheffé y Bonferroni para la comparación mediante la distancia propuesta y se comprobó, mediante las curvas simuladas cómo se comporta el nivel de significación de éstas al variar el número de tratamientos.

3.2 Análisis de sensibilidad de pruebas de homogeneidad de modelos no lineales utilizando la simulación por Monte Carlo aplicada a los datos de producción de gas in vitro

3.2.1 Materiales y métodos

La sensibilidad de la prueba de homogeneidad de curvas de regresión se define como la capacidad de detectar diferencias significativas ($P < 0.05$) en comparaciones entre tratamientos con valores muy cercanos de sus parámetros.

Para este análisis, se simularon curvas por el método de remuestreo con los datos de los experimentos relacionados en el Capítulo 2.

Los valores de los parámetros para las simulaciones se construyeron dejando dos componentes del vector de parámetros iguales a los del experimento original y modificando el tercero en unidades porcentuales siendo la i -ésima variación porcentual de la componente θ igual a:

$$\theta_{-i} = \left(1 + \frac{i}{100}\right) \cdot \theta_{original} \quad (30)$$

El orden del variación de los parámetros de simulación (1, 2,...,10%) se efectuó de acuerdo con los resultados obtenidos por (Calabro *et al.* 2005, García-Rodríguez *et al.* 2005) en los que el intervalo de confianza de la estimación de los parámetros de regresión para experimentos de producción de gas *in vitro* se encuentra por lo general entre 1 y 10% del valor absoluto del parámetro. Estos parámetros se establecieron de tal manera que para las diez primeras simulaciones se varió el valor del parámetro A , dejando los restantes parámetros constantes, para las siguientes cuatro se varió el parámetro b con el mismo orden de variación y en las últimas cuatro se varió el valor del parámetro c con el mismo orden. Todos los parámetros usados en la simulación pueden verse en el Anexo 1. Las comparaciones se realizaron por pares entre las curvas con los parámetros originales (T_0) y las restantes.

Le expresión matemática del modelo reducido aplicando la ecuación de Gompertz para comparar dos tratamientos en experimentos de producción de gas *in vitro* es:

$$GP_{Reducido} = A_0 \exp(-b_0 \cdot e^{-c_0 t}) \quad : \text{Tto 1, Tto 2} \quad (31)$$

Para el modelo completo la forma de la ecuación es:

$$GP_{Completo} \begin{cases} A_1 \exp(-b_1 \cdot e^{-c_1 t}) & : \text{Tto 1} \\ A_2 \exp(-b_2 \cdot e^{-c_2 t}) & : \text{Tto 2} \end{cases} \quad (32)$$

Una vez definidas las formas del modelo completo y el modelo reducido, la prueba de hipótesis quedará como sigue:

$$\begin{cases} H_0 : GP_{Completo} = GP_{Reducido} \\ H_1 : GP_{Completo} \neq GP_{Reducido} \end{cases} \quad (33)$$

De esta manera, la bondad de ajuste de los modelos completo y reducido constituye una medida del cumplimiento de una u otra hipótesis. Se estudiaron las siguientes pruebas estadísticas que permiten al investigador rechazar o no la hipótesis nula.

1. La prueba de suma de cuadrados extra (Schabenberger *et al.* 1999),
2. El criterio de información bayesiano, (Schwarz 1978, Liddle 2008),
3. El criterio de información de Akaike (CIA) (Akaike 1981, Sewell 2008),
4. El criterio de información de Akaike corregido (CIAC) (Hurvish y Tsai 1989, Burnham y Anderson 2004).

En la prueba de suma de cuadrados extra el nivel de significación está dado por la probabilidad de la F calculada. En los criterios de información el nivel de significación se calculó de acuerdo con la fórmula (17).

Se consideró que el método fue eficaz en la comparación cuando se detectaron diferencias significativas en más de 285 casos dentro de las 300 repeticiones realizadas.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con los programas SPSS 15.0 (2006) y Microsoft Excel 2007 (2008).

3.2.2 Resultados y Discusión

3.2.2.1 Prueba *F* de suma de cuadrados extra

La tabla 9 muestra el comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra en cada una de los experimentos simulados.

Tabla 9. Comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra para las simulaciones.

Experi mento	Frontera de decisión	Parámetro que varía	Tratamiento con el que se compara T_0	No. de diferencias significativas detectadas ($P < 0.05$)
ICA	2.659	A	A_1	51
			A_2	231
			A_3	295
			A_4	300
		b	b_7	278
			b_8	296
			b_9	298
			b_10	300
		c	c_3	214
			c_4	276
			c_5	296
			c_6	300
BRASIL	2.224	A	A_3	184
			A_4	270
			A_5	294
			A_6	300
		b	b_14	268
			b_15	282
			b_16	290
			b_17	298
		c	c_7	226
			c_8	256
			c_9	280
			c_10	300

Experi mento	Frontera de decisión	Parámetro que varía	Tratamiento con el que se compara T_0	No. de diferencias significativas detectadas ($P < 0.05$)
COLOMBIA	2.621	A	A_1	71
			A_2	183
			A_3	280
			A_4	300
		b	b_5	184
			b_6	284
			b_7	297
			b_8	300
		c	c_3	192
			c_4	290
			c_5	299
			c_6	300

La tabla 9 representa las simulaciones con los tratamientos en los cuales se produce el cambio de decisión de la hipótesis. El resto de las estimaciones del estadístico se encuentra en el anexo 2.

En última columna aparece el número de diferencias detectadas en las simulaciones para cada comparación. Se considera que el método es efectivo cuando es capaz de detectar diferencias significativas en más del 95% de las comparaciones, es decir en al menos 285 casos. El análisis de la sensibilidad de la prueba indica que ésta es capaz de detectar diferencias significativas al nivel de confianza del 95%, cuando se ha modificado el 3% del parámetro A en el experimento ICA, el 4% en el experimento Colombia y para modificaciones del 5% en el experimento de Brasil. Para modificaciones del parámetro *b*, del orden del 8% en el ICA, del 16% en Brasil y del 7% en el experimento de Colombia. Para el parámetro *c*, detectó diferencias significativas para modificaciones del 5% para el experimento del ICA, del 10% del de Brasil y del 4% del de Colombia.

Para estas variaciones se observó que el valor del percentil señalado es mayor que el valor de la frontera de decisión. Particularmente para modificaciones producidas en el parámetro *b* en un orden del 6% del experimento de Colombia, la

estimación del estadístico estuvo próximo la frontera de decisión, pero no lo suficiente, por lo que se observó que el método falló al hallar diferencias en el 6.67% de los casos.

La figura 5 muestra el comportamiento del valor del estadístico F en relación con el incremento del porcentaje de variación. En la gráfica se ha representado solamente el experimento de Colombia. Las barras indican el intervalo de confianza del 95% para el estadístico. La relación del estadístico con la variación del valor de los parámetros es aproximadamente exponencial. Para el parámetro A la convexidad de la curva es mucho mayor que para b y c ; lo que está en correspondencia con la relación lineal entre este parámetro y la función de regresión. En la medida que aumenta la diferencia entre los parámetros de la función de regresión, aumenta la dispersión del estadístico.

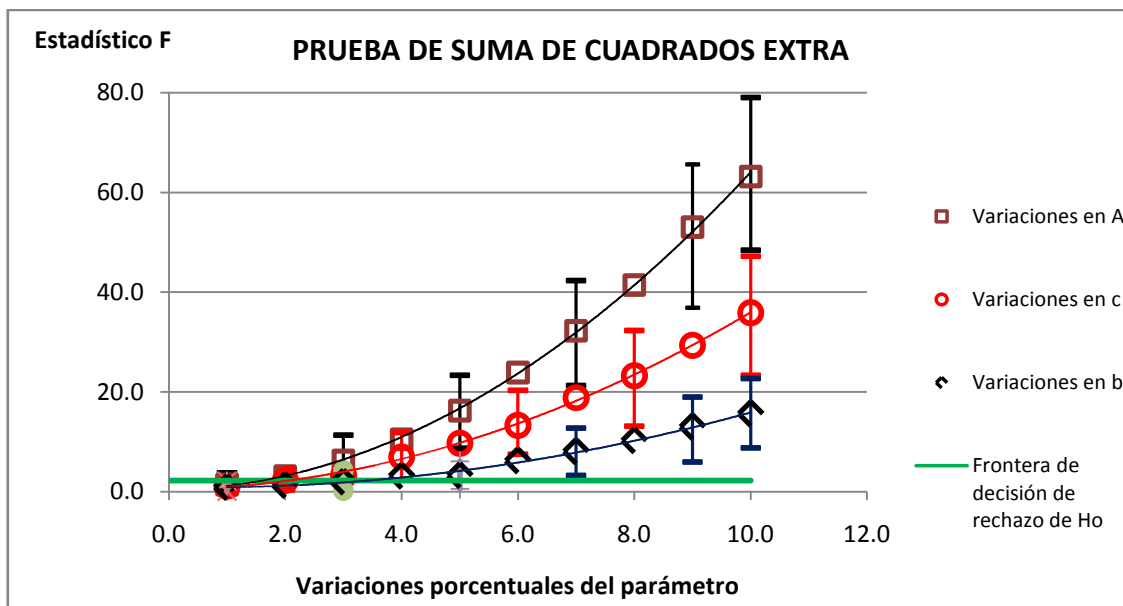


Figura 5. Valores del estadístico F y su tendencia por cada comparación.

El parámetro A fue el más sensible a la detección de diferencias, mientras que el menos sensible fue el b . Esto se debe a que la relación entre el parámetro A y la producción de gas es lineal, mientras que la dependencia de ésta con los parámetros b y c es logarítmica, lo que hace que la sensibilidad con variaciones pequeñas de A sea mucho mayor que con los otros parámetros.

Para visualizar el perfil del estadístico F calculado se graficó el polígono de frecuencias suavizado para las comparaciones con variaciones del 1% y del 3% del experimento Colombia.

En la figura 6 es apreciable que la distribución empírica del estadístico se corresponde con el perfil gráfico que describe la distribución F teórica.

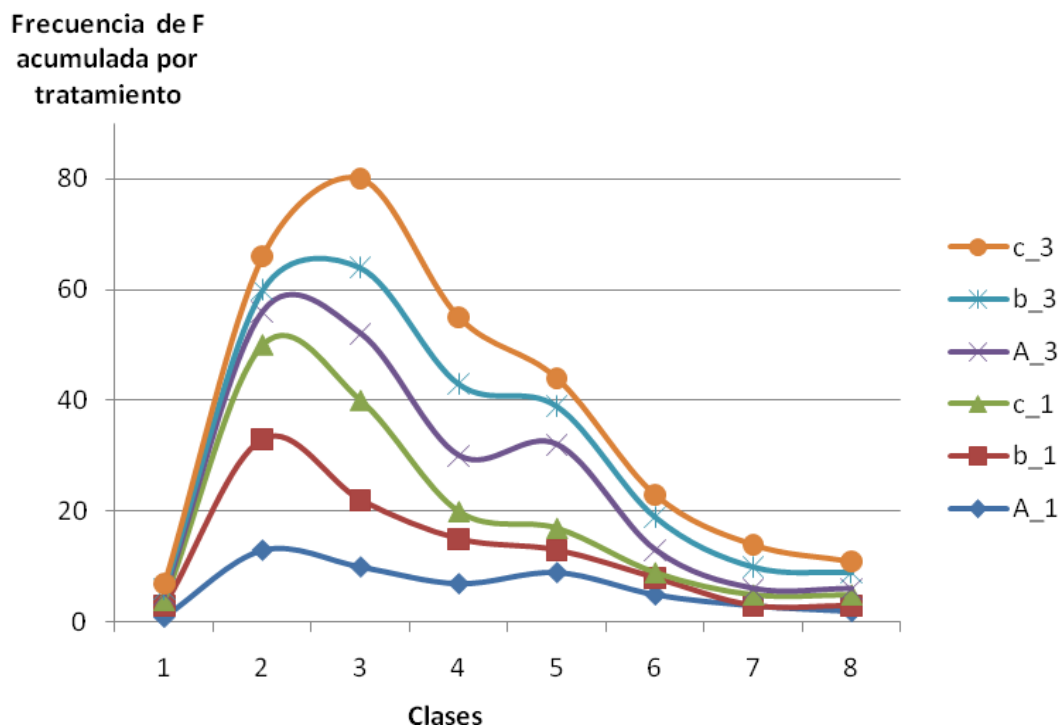


Figura 6. Polígono suavizado de las frecuencias acumuladas de F por los tratamientos para las variaciones de 1 y 3% de los parámetros.

3.2.2.2 El criterio de información Bayesiano

Los resultados correspondientes al criterio de información bayesiano, aparecen en la tabla 10.

Para todos los criterios de información el valor de la frontera de decisión para el rechazo de la hipótesis nula de Δ está determinado por la ecuación:

$$\frac{e^{-\frac{\Delta}{2}}}{1 - e^{-\frac{\Delta}{2}}} = 0.05 \Rightarrow \Delta_{0.05} = 6.09 \quad (34)$$

Tabla 10. Comportamiento del criterio de información bayesiano para las variaciones de los parámetros

Exp.	Parámetro que varía	Tto. con el que se compara T_0	No. de diferencias significativas detectadas (P<0.05)
ICA	A	A_2	0
		A_3	146
		A_4	282
		A_5	300
	b	b_7	69
		b_8	143
		b_9	199
		b_10	252
	c	c_5	193
		c_6	278
		c_7	295
		c_8	300
BRASIL	A	A_6	272
		A_7	293
		A_8	299
		A_9	300
	b	b_17	193
		b_18	215
		b_19	233
		b_20	247
	c	c_12	233
		c_13	268
		c_14	284
		c_15	292

Exp.	Parámetro que varía	Tto. con el que se compara T_0	No. de diferencias significativas detectadas (P<0.05)
COLOMBIA	A	A_4	223
		A_5	292
		A_6	299
		A_7	300
	b	b_7	133
		b_8	209
		b_9	262
		b_10	295
	c	c_5	194
		c_6	273
		c_7	294
		c_8	300

El método fue capaz de detectar diferencias significativas en más del 95% de los casos para modificaciones del 5% del parámetro A, para el experimento del ICA y de Colombia, y del 7% para el experimento de Brasil. Para variaciones de más del 10% del parámetro *b* para el experimento del ICA, de más del 20% para Brasil y del 10% para el de Colombia. Para el parámetro *c* el método fue capaz de detectar diferencias en más del 95% de los casos en variaciones del 7% de ICA y Colombia, y del 15% en Brasil.

La dependencia de los valores de Δ con respecto a la variación de los parámetros es aproximadamente la de un polinomio de segundo orden como puede verse en la figura 7. En este caso, al igual que para *F*, la dispersión de los valores aumenta en la medida en que aumenta la diferencia entre los parámetros.

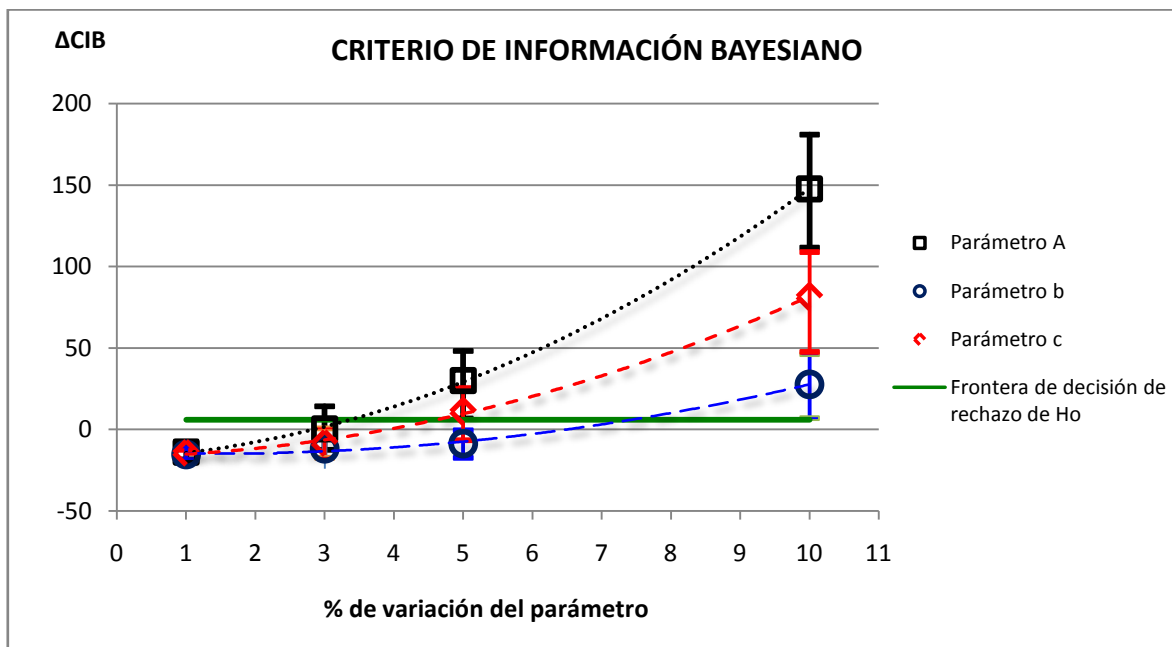


Figura 7. Valores ΔCIB y su tendencia por cada comparación.

Para diferencias hasta el 1% en las medias de las diferencias de A, hasta del 3% en b y hasta el 5% en c aparecen valores menores que cero. De acuerdo a la ecuación (23) el valor de Δ es menor que cero cuando se cumple la desigualdad:

$$(SCR_{reducido})^N < (SCR_{completo})^N N^K \quad (35)$$

Cuando los valores de las sumas de cuadrados de los modelos completo y reducido son muy próximos entre sí, la diferencia entre los CIB tendrá un resultado negativo.

Este método resulta menos sensible a la detección de diferencias significativas que el estadístico F para casi todas las comparaciones. Burnham y Anderson (2004) achacan este fenómeno al hecho de que la teoría del criterio de información bayesiano está basada en las probabilidades *a posteriori*.

3.2.2.3 Los criterios de información de Akaike y Akaike corregido

La tabla 11 muestra simultáneamente el comportamiento de los CIA y CIAC. Se ha procedido a mostrar los dos criterios a la vez por la similitud de ambos en su

naturaleza matemática con la única diferencia en la corrección por el número de puntos experimentales.

La frontera de decisión de ΔCIA y $\Delta CIAC$ correspondiente a estos criterios es similar al deducido en la ecuación (25) ya que la forma de determinar la probabilidad de cumplimiento de la hipótesis nula sigue la misma ecuación que en el criterio de información anterior.

Los promedios correspondientes a ΔCIA y $\Delta CIAC$ son mayores que ΔCIB , debido a que el factor que acompaña al logaritmo de la suma de cuadrados residuales es numéricamente mayor. No obstante todavía se encontraron valores negativos de CIA correspondientes al cumplimiento de la desigualdad:

$$\ln \left(\frac{SCR_{completo}}{SCR_{reducido}} \right) < \frac{2K}{N} \quad (36)$$

Tabla 11. Comportamiento del criterio de información de Akaike y Akaike corregido para las variaciones de los parámetros.

Exp.	Parámetro que varía	Tto. con el que se compara T ₀	Percentil 0.025		Mediana		No. de diferencias detectadas P<0.05	
			Δ CIA	Δ CIAC	Δ CIA	Δ CIAC	CIA	CIAC
ICA	A	A_1	-5.585	0.040	3.973	3.973	13	87
		A_2	1.153	6.778	2.692	8.317	1	299
		A_3	2.961	8.585	14.967	20.592	272	298
		A_4	12.917	18.541	29.357	34.982	300	300
	b	b_6	-2.284	3.340	7.299	12.924	165	274
		b_7	-0.679	4.945	10.140	15.764	225	288
		b_8	4.195	9.820	15.065	20.690	279	298
		b_9	32.469	11.711	18.811	24.435	292	299
	c	c_3	-3.469	2.155	5.347	10.971	136	238
		c_4	-0.248	5.377	10.699	16.323	226	290
		c_5	4.035	9.659	19.159	24.784	289	298
		c_6	10.998	16.623	26.308	31.932	299	299
BRASIL	A	A_3	-4.382	1.223	3.837	9.442	115	222
		A_4	-1.023	4.582	9.767	15.372	213	286
		A_5	2.485	8.089	16.102	21.706	274	296
		A_6	12.131	17.736	26.629	32.234	300	300
	b	b_14	-1.237	4.368	12.578	18.183	234	280
		b_15	0.363	5.967	13.396	19.001	255	292
		b_16	1.437	7.042	15.413	21.018	267	294
		b_17	3.717	9.322	18.474	24.079	282	300
		b_18	5.262	10.867	19.722	25.327	289	300
	c	c_7	-2.734	2.871	6.082	11.687	150	252
		c_8	-0.875	4.730	8.683	14.288	199	286
		c_9	-0.767	4.838	11.803	17.408	236	287
		c_10	2.739	7.344	172.15	177.75	300	300
COLOMBIA	A	A_1	-5.503	0.389	-1.654	4.238	17	104
		A_2	-3.983	1.910	3.451	9.343	104	228
		A_3	0.494	6.387	12.666	18.558	238	294
		A_4	8.511	14.404	25.000	30.893	297	300
	b	b_5	-4.372	1.521	3.705	9.598	98	214
		b_6	0.915	6.808	12.488	18.380	241	294
		b_7	3.735	9.628	17.885	23.778	282	298
		b_8	8.595	14.488	24.333	30.226	298	300
	c	c_3	-4.318	1.574	3.698	9.590	107	225
		c_4	1.137	7.030	14.814	20.707	261	294
		c_5	6.415	12.308	22.807	28.700	293	299
		c_6	16.306	22.199	33.058	38.951	299	300

En el parámetro A, el CIA detectó diferencias significativas en más del 95% de los casos para variaciones del 4% para el experimento del ICA, de Brasil, y de Colombia. Para el parámetro b , las diferencias fueron detectadas para variaciones del 9% en el ICA, del 18% en Brasil y del 8% en el experimento de Colombia. Para el parámetro c , para variaciones del 5% del experimento del ICA y de Colombia, y del 10% de Brasil.

Al igual que en el caso de la prueba de suma de cuadrados extra, el número de diferencias significativas detectadas que aparece en la penúltima columna sobrepasó el 95% de las diferencias detectadas cuando el valor de la media del criterio fue mayor que el valor de la frontera de decisión, demostrando la correspondencia entre la teoría y el experimento (Pierce 1980).

El comportamiento de la dependencia de los valores de ΔCIA con respecto a la variación de los parámetros es aproximadamente cuadrática al igual que en el ΔCIB . Existe también para este caso una dispersión mayor de los valores en la medida en que la diferencia entre los tratamientos es mayor, como se indica en la figura 8.

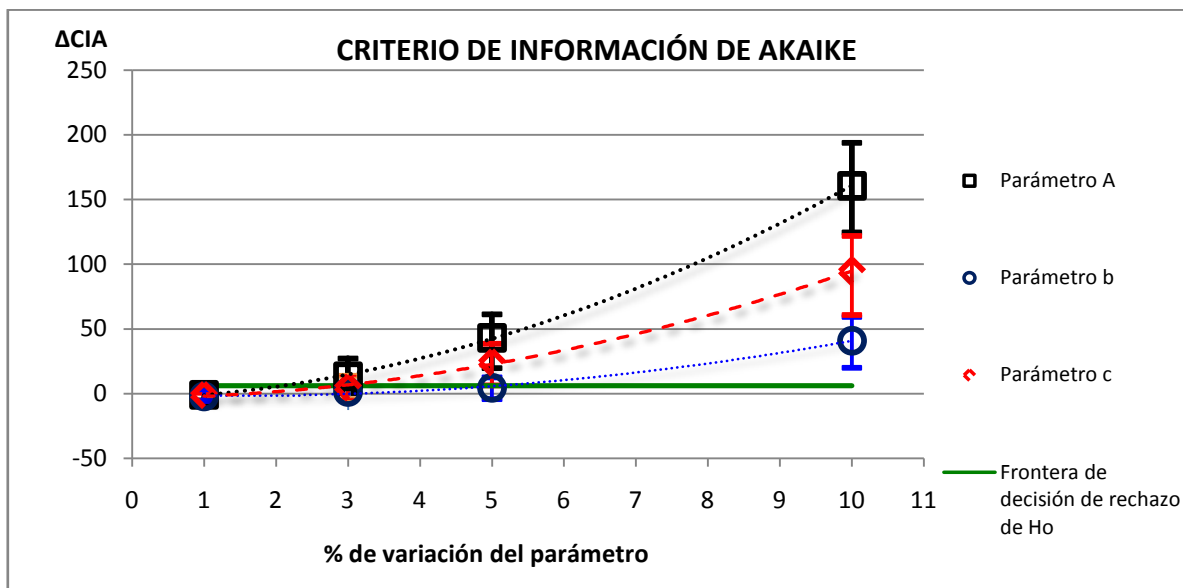


Figura 8. Valores ΔCIA y su tendencia por cada comparación.

En la última columna de la tabla 11 aparecen el número de diferencias detectadas por el CIAC. Se observa que el número de diferencias detectadas es mayor del 95% el parámetro A , en el 2% de las variaciones del experimento del ICA, en el 4% de Brasil, y en modificaciones del 3% de Colombia. Para variaciones del parámetro b , las diferencias fueron detectadas para variaciones del 7% para el ICA, del 15% para Brasil y de 6% para Colombia. Para el parámetro c las diferencias fueron detectadas para variaciones de 4% para el ICA, y Colombia y para el 8% del experimento Brasil.

La frontera de decisión calculada experimentalmente para $\Delta CIAC$ es mayor que el valor de frontera de decisión teórico para las variaciones del 2% en el parámetro A , del 3% para variaciones del parámetro b y de 2% para c ; sin embargo, no existe correspondencia entre estos valores y el número de diferencias detectadas, por lo que la corrección introduce una discrepancia en este caso, entre los resultados y la teoría, Hu (2007), explica que al aumentar el número de puntos experimentales, las iteraciones pueden afectar el sesgo que produce el método iterativo de estimación de la regresión no lineal, por lo que esta discrepancia no es más que la corrección de este aumento del sesgo.

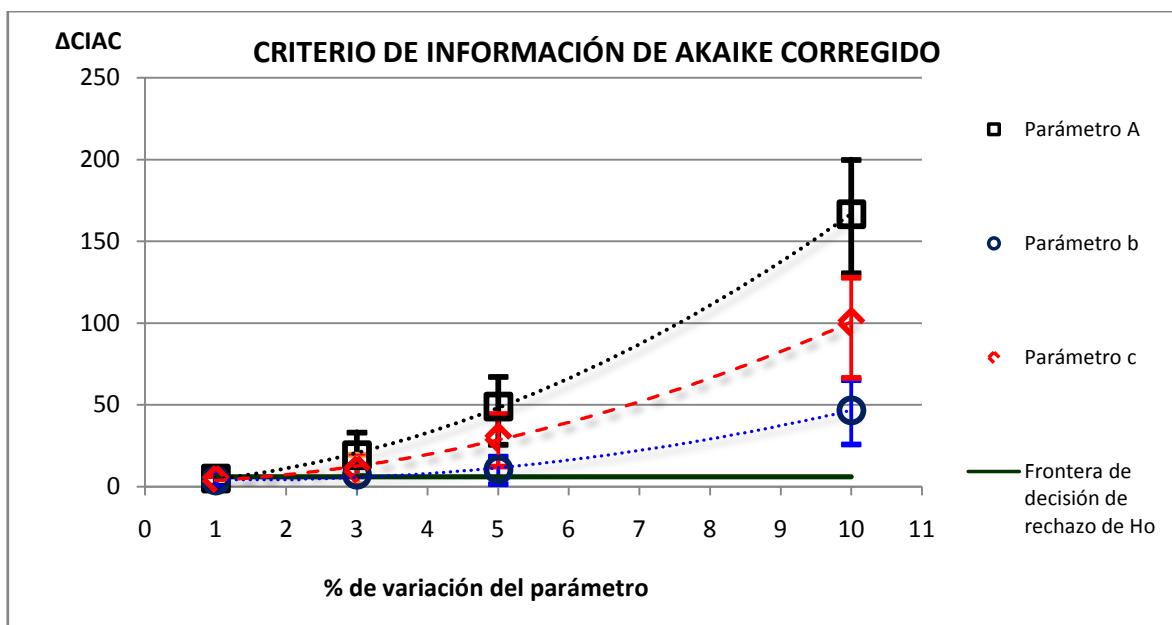


Figura 9. Valores $\Delta CIAC$ y su tendencia por cada comparación.

El comportamiento del estadístico con respecto a las variaciones en los tratamientos es cuadrático de forma similar a los restantes criterios de información.

El comportamiento de este criterio indica que la inclusión del término de corrección es importante en la detección de diferencias significativas en los modelos. La sensibilidad de este criterio resultó superior a las demás pruebas de homogeneidad en todos los experimentos, esto demuestra la robustez del método ante el incumplimiento de los supuestos de base. Este comportamiento robusto del CIAC ha sido reportado también por Lancelot *et al.* (2002) y Liddle (2008).

En el caso de la prueba de suma de cuadrados extra, se observa un comportamiento similar al CIAC, aunque con un poder de detección ligeramente inferior. Aunque teóricamente esta prueba debería ser capaz de detectar cualquier tipo de diferencia entre parámetros, este comportamiento puede explicarse debido a la alta dependencia de la prueba con el estricto cumplimiento de los supuestos en la regresión, de tal manera que en la medida que los datos se desvíen de las distribuciones ideales, la efectividad de las pruebas basadas en el cumplimiento de los mismos pierde efectividad.

Se hace evidente aquí como en otras ocasiones, que la verificación del cumplimiento de los supuestos, es determinante para determinar la efectividad en el uso de las pruebas paramétricas. Esta situación no ocurre con los criterios de información, los cuales parten de principios estadísticos menos estrictos (Hurvish y Tsai 1989).

Aunque el criterio menos agresivo es el bayesiano, no se debe despreciar la utilidad que adquiere esta prueba en experimentos que se realicen en condiciones en las que exista una gran variabilidad de los datos experimentales en repeticiones dentro de un mismo tratamiento.

El parámetro A fue el que reportó más influencia en la detección de diferencias significativas, este parámetro representa el valor de la asíntota de la función sigmoideal y en el experimento está relacionado con el volumen total de alimento

que se degradará. Esta fuerte dependencia es debida a que la relación de la variable dependiente con el parámetro A es lineal, mientras que la relación con los otros parámetros es logarítmica.

Biológicamente, en los experimentos de producción de gas, al presentarse diferentes tratamientos en las misma unidades experimentales, los parámetros que por lo general se afectan son el b y c .

3.3 Pruebas post hoc para comparación múltiple de curvas de regresión no lineal

3.3.1 Materiales y métodos

En el análisis de varianza, la comparación múltiple *post hoc* de medias entre el tratamiento j y el tratamiento k se realiza sobre la base del cálculo de la diferencia entre las estimaciones de las medias:

$$D_{j,k} = \bar{x}_j - \bar{x}_k \quad (37)$$

donde:

$\bar{x}_j, \bar{x}_k$: son las estimaciones de las medias del tratamiento j y k respectivamente.

En el caso de las comparaciones múltiples *post hoc* de las curvas de regresión, en lugar de las medias de la variable, se tienen las diferencias entre los valores de las funciones de regresión ajustadas.

$$D_{j,k} = \hat{f}_j(t_i) - \hat{f}_k(t_i) \quad (38)$$

donde:

$\hat{f}_j(t_i), \hat{f}_k(t_i)$: son los valores de las funciones de regresión j y k ajustadas en el punto t_i .

Cuando no existen diferencias estadísticamente significativas entre las curvas de regresión se cumple que:

$$\hat{f}_j(t_i) \approx \hat{f}_k(t_i), \forall t_i; \sum_i D_{j,k} \rightarrow 0. \quad (39)$$

Ahora bien, la diferencia entre dos puntos ajustados puede ser positiva para todos los valores de la variable predictora figura 10a, o pueden alternarse entre sí siendo positivos primeros, negativos después o viceversa figura 10b. En otras ocasiones, los signos de las diferencias pueden cambiar en varios segmentos de las curvas figura 10c.

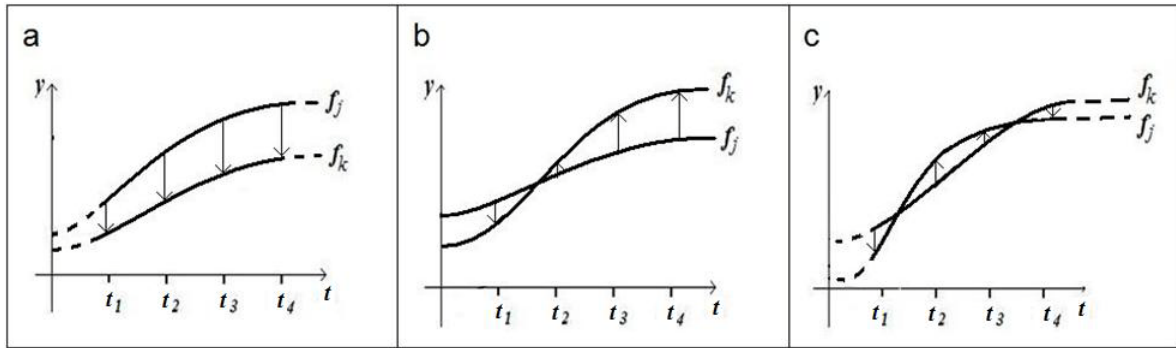


Figura 10. Diferentes comportamientos de la distancia entre curvas de regresión

A consecuencia de esta característica la suma de todas las $D_{j,k}$ puede ser cero en curvas que sean diferentes. Para solucionar esta situación se toma como medida entre las curvas de regresión la raíz de la distancia media cuadrática, según la fórmula:

$$d_{i,j,k} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_i D_{i,j,k}^2} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [\hat{f}_j(t_i) - \hat{f}_k(t_i)]^2} \quad (40)$$

Siendo n el número de puntos donde se realiza el ajuste de la curva.

De esta forma, $d_{j,k}$ tiende a cero sólo cuando no existen diferencias entre las curvas y su valor es aproximadamente igual al promedio del valor absoluto de las diferencias entre los valores ajustados de las curvas en el intervalo donde se realiza el ajuste.

Como la distancia $d_{j,k}$ está determinada a partir de las estimaciones $\hat{f}(t)$, el error estándar de su estimación va a depender del error de la estimación del modelo.

Teniendo en cuenta el teorema central del límite, se llega a que el error estándar de la estimación de $d_{j,k}$ es:

$$E.E.(d) = \sqrt{\frac{CMR_{Completo}}{n}} = \sqrt{\frac{1}{n} \left(\frac{SCR_{Completo}}{gl_{Completo}} \right)} \quad (41)$$

Donde:

$E.E.(d)$ = error estándar de la estimación de d ,

$CMR_{Completo}$ =Cuadrado medio residual del modelo completo,

$SCR_{Completo}$ =Suma de cuadrados residual del modelo completo,

$gl_{Completo}$ = grados de libertad residual del modelo completo, y

n = número de puntos experimentales.

Para analizar el comportamiento de esta distancia en la comparación múltiple de curvas, se simularon cuatro experimentos por el método de Monte Carlo tomando como base el experimento de Colombia descrito en el capítulo 2, cuyos tratamientos se construyen con modificaciones en los parámetros y con los residuos generados de acuerdo al método de remuestreo, cada simulación se repitió 20 veces, lo que permite obtener un conjunto de 20 comparaciones por estimación. Para las modificaciones a los parámetros se considera que cada variante constituye una modificación porcentual de orden i del parámetro original según la ecuación (30). Los parámetros correspondientes a cada simulación fueron:

3.3.1.1 Simulación 1:

Consta de cuatro tratamientos, en el primero, denominado tratamiento 0 (T_0), los valores de los parámetros se escogieron iguales a los del experimento original; en los tres restantes se realizaron variaciones en un 5% de un parámetro individual dejando los restantes parámetros iguales a los de la regresión original, como puede verse en la tabla 12. El valor del 5% fue escogido ya que con estas

variaciones en los parámetros se detectan diferencias significativas cuando se aplica la prueba de homogeneidad de medias.

Tabla 12. Valores de los parámetros de las curvas de la simulación 1.

Parámetros	Tratamientos			
	T_0	A_5	b_5	c_5
A	A_0	$1.05A_0$	A_0	A_0
b	b_0	b_0	$1.05b_0$	b_0
c	c_0	c_0	c_0	$1.05c_0$

3.3.1.2 Simulación 2:

En este caso se buscó ampliar más la diferencia entre los tratamientos lo que hace que aumente la distancia estimada entre las curvas, de forma tal que las pruebas de comparación múltiple más conservadoras puedan ubicar un número menor de tratamientos dentro de un mismo grupo. Para lograr esto se aumento la diferencia entre los parámetros hasta un 10%, siguiendo la misma estructura de los tratamientos que en la simulación anterior.

Tabla 13. Valores de los parámetros de las curvas de la simulación 2.

Parámetros	Tratamientos			
	T_0	A_10	b_10	c_10
A	A_0	$1.1A_0$	A_0	A_0
b	b_0	b_0	$1.1b_0$	b_0
c	c_0	c_0	c_0	$1.1c_0$

3.3.1.3 Simulación 3:

En función de aumentar el número de comparaciones en un mismo experimento se decidió incorporar una simulación en la que se incorporen curvas simuladas con los parámetros del experimento 1 y 2 simultáneamente, de tal manera que este experimento contenga siete tratamientos a comparar en lugar de los cuatro tratamientos de las simulaciones anteriores.

Tratamientos									
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
A_0	A_0	A_0	A_0	A_0	A_0	A_0	A_0	A_0	A_0
b_0	b_0	b_0	b_0	b_0	b_0	b_0	b_0	b_0	b_0
$1.01c_0$	$1.02c_0$	$1.03c_0$	$1.04c_0$	$1.05c_0$	$1.06c_0$	$1.07c_0$	$1.08c_0$	$1.09c_0$	$1.10c_0$

La lista completa de los valores de los parámetros puede encontrarse en el anexo 3.

Se realizó un análisis comparativo del comportamiento de las estimaciones de las distancias cuadráticas medias para cada experimento, con el propósito de determinar el nivel de influencia de los parámetros en las comparaciones entre las curvas y el rango de variación que puede existir en las estimaciones de la distancia media cuadrática. Estos análisis se realizaron a través del análisis exploratorio de datos de las estimaciones de las distancias entre las curvas (Hoaglin 2005).

En cada uno de los experimentos se realizaron las estimaciones de las fronteras de decisión de rechazo de la hipótesis de igualdad de curvas para siguientes décimas de comparación múltiple:

1. Distancia mínima significativa (LSD),
2. Distancia honestamente significativa de Tukey (HSD),
3. Distancia significativa de Scheffé (SSD), y
4. Distancia significativa de Bonferroni (BSD).

Se calculó la media y la desviación estándar de los valores de la frontera de decisión de rechazo de la hipótesis de igualdad de medias de cada una de las décimas a partir de las estimaciones obtenidas en cada comparación, se observó la variación de estas décimas de un experimento a otro, para comparaciones entre tratamientos simulados con el mismo grupo de parámetros y se realizó la

comparación del poder de diferenciación de tratamientos a partir de los valores de la frontera de decisión de cada dícima.

Se estudió la sensibilidad de cada dícima, considerada como la capacidad de detectar diferencias significativas entre el mayor número de tratamientos para un mismo experimento y se analizaron los grupos formados por cada dícima en cada una de las comparaciones.

3.3.2 Resultados y Discusión

3.3.2.1 Comportamiento estadístico de las distancia entre las curvas

La figura 11 muestra el diagrama de cajas de las estimaciones de la distancia entre la curva del tratamiento 0 y el resto de las curvas para las variaciones porcentuales de los parámetros para el experimento 4. En el eje horizontal se han colocado las variaciones porcentuales de los parámetros de acuerdo a la modificación porcentual (30), y en el eje vertical la distancia media cuadrática $d_{j,k}$ (40).

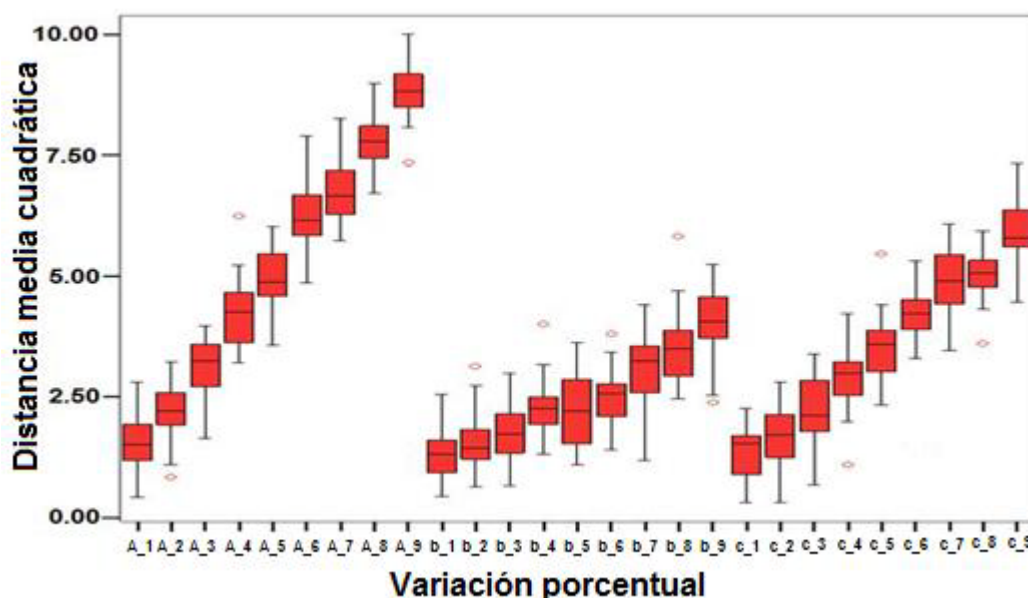
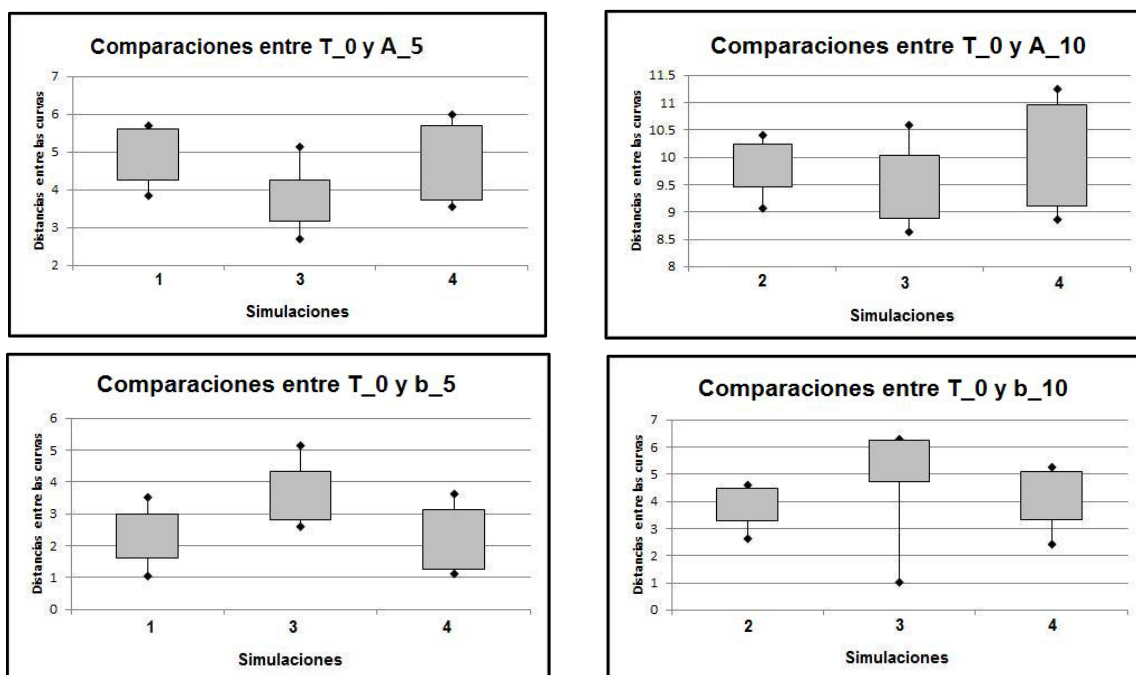


Figura 11. Comportamiento de la distancia entre el tratamiento 0 y el resto de las curvas del experimento 4 en relación con el aumento de la variación del valor de los parámetros.

Para las modificaciones en el parámetro A , se encontraron las mayores distancias entre las curvas, alcanzando en la comparación con A_{10} , una media de 9.94. El parámetro b fue el de menor distancia entre curvas por cada variación porcentual teniendo la menor variación una media de 1.32 para comparaciones con el tratamiento b_1 .

En la figura 12 se muestra el comportamiento de las distancias entre las curvas para comparaciones entre los mismos tratamientos en las diferentes simulaciones. Las barras horizontales indican los intervalos de confianza del 95% en la estimación.

Es apreciable la correspondencia en las estimaciones de las distancias entre una simulación y otra, lo que indica que la distancia propuesta muestra el mismo comportamiento independientemente del número de tratamientos incluido en la comparación. No se encontraron grandes variaciones en el nivel de dispersión de las estimaciones, las desviaciones estándar estuvieron en el rango entre 0.57 y 0.87 para todas las comparaciones. Siendo por tanto un buen indicador de las distancias entre los tratamientos.



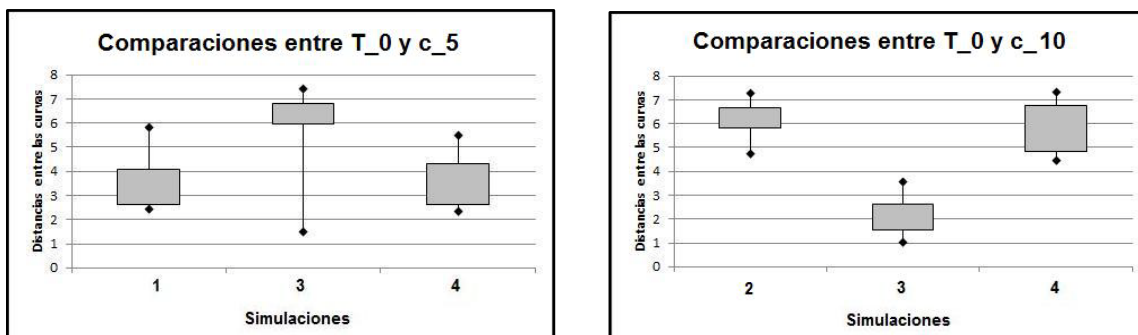


Figura 12. Distribución de las muestras de las distancias entre las curvas para seis de los tratamientos.

3.3.2.2 Comportamiento estadístico de las dójimas de comparación múltiple

La tabla 16 muestra la media y la desviación estándar de las dójimas calculadas en todas las simulaciones. Los datos obtenidos en la misma coinciden con el comportamiento para la comparación de medias (Dean y Voss 1999, Gamst *et al.* 2008).

Tabla 16. Estadígrafos de las estimaciones de las dójimas de comparación múltiple de las cuatro simulaciones.

Simulación	Dójima	Media	D. E.
1	LSD	1.435	0.370
	HSD	2.690	0.698
	SSD	4.760	1.236
	BSD	8.610	2.222
2	LSD	1.447	0.371
	HSD	2.151	0.555
	SSD	3.806	0.983
	BSD	8.683	2.226
3	LSD	1.448	0.375
	HSD	2.876	0.745
	SSD	5.513	1.428

		BSD	30.402
			7.865
Simulación	Dócima	Media	D. E.
4	LSD	1.443	0.377
	HSD	3.528	0.927
	SSD	9.781	2.571
	BSD	670.990	175.468

La media estimada del estadístico de la dócima LSD fue de 1.44 en todas las simulaciones, teniendo los menores valores para el rechazo de la hipótesis de igualdad de medias, este comportamiento se debió a la forma de cálculo del estadístico de la dócima en el que se puede apreciar la posibilidad de inflación de la probabilidad de error de tipo I en la medida que aumente el número de tratamientos como lo reportaron Hochberg y Tahmane (1987) y DeVeaux (2001).

Las medias estimadas del estadístico de la dócima HSD tuvieron, para todas las simulaciones, valores mayores al estadístico de la dócima LSD. Esto hace que la dócima HSD sea más conservadora que la anterior, lo que estuvo dado por la presencia en el cálculo de la misma del coeficiente de los rangos estudentizados, para evitar la inflación de la probabilidad del error de tipo I (Toutenbourg 2002, Gamst *et al.* 2008) .

Como la SSD depende directamente de la raíz del estadístico de Fisher (F) multiplicado por los grados de libertad, en la medida que los grados de libertad aumentan, aumentará el valor de la dócima y por tanto, el valor del estadístico de la dócima para el rechazo de la hipótesis de igualdad de medias será mayor en la medida que aumenta la cantidad de tratamientos. No obstante, aún cuando el estadístico de la dócima aumente en los experimentos con el aumento de los tratamientos, se observa que la dispersión en las estimaciones se mantiene estable en cada uno de los experimentos.

La dócima BSD tuvo un comportamiento similar al SSD, pero con una dependencia mucho mayor del número de tratamientos, debido a la multiplicación por las combinaciones de los tratamientos. Al tener las mayores estimaciones del valor del estadístico de rechazo de la igualdad de medias, fue la dócima más conservadora de todas las estudiadas, siendo la más utilizada en experimentos en los cuales se necesita ser muy conservador en la comparación de tratamientos (Montgomery 2004).

A continuación se presentan los valores de las estimaciones de las medias de las dócimas y las medias de las distancias entre las curvas, calculadas para cada simulación y se analiza el comportamiento de las dócimas en la aceptación o rechazo de la hipótesis nula de igualdad de medias en cada una de las comparaciones realizadas.

Simulación 1 (Variación porcentual de 5%). En la tabla 17 se muestran el promedio de las distancias estimadas entre las curvas y los valores medios de las estimaciones de las dócimas correspondientes a la simulación 1, como la matriz de las distancias es simétrica solo aparecen los valores de la diagonal superior.

Tabla 17. Promedio de los estadísticos de las dócimas de comparación múltiple y de las distancias entre las curvas estimadas para la simulación 1.

Dócimas*	Medias Estimadas	Desviación Estándar	Distancias entre las curvas			
			T_0	A_5	b_5	c_5
LSD	1.44	0.08	T_0	4.97	2.36	3.47
HSD	2.69	0.11	A_5		6.34	3.35
SSD	4.76	0.19	b_5			5.42
BSD	8.61	0.45	c_5			

*Las dócimas fueron estimadas por el estadístico para un nivel de significación $p < 0.05$.

Para la decisión de aceptación o rechazo de la hipótesis nula, cada una de las distancias entre las curvas se compara con el estadístico de la dócima correspondiente. La hipótesis nula fue rechazada cuando la distancia entre las curvas fue mayor que el valor del estadístico de la dócima. Las comparaciones se

realizaron para cada par de curvas. En esta simulación se realizaron seis comparaciones.

El valor de la dística LSD (1.44) fue inferior a la distancia entre cada par de curvas, lo que indica diferencias significativas entre todas las curvas, mientras que la estimación de la media de la dística BSD (8.61), al ser mayor que todas las distancias entre las curvas, indicó la formación de un solo grupo, por lo que constituyó la prueba más conservadora de todas.

La estimación de la media de la dística HSD (2.36) indicó que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos T_0 y b_5, lo que llevó a la formación de tres grupos, colocando a T_0 y b_5 en un mismo grupo y los restantes tratamientos en grupos diferentes.

La estimación de la media de la dística SSD (4.76) fue mayor que las distancias entre las curvas T_0 y b_5, T_0 y c_5; y, finalmente entre A_5 y c_5. Entre estas curvas no se rechaza la hipótesis nula lo que indica que no existen diferencias significativas entre las mismas creándose por tanto los siguientes grupos: T_0 y b_5, T_0 y c_5; y, finalmente, A_5 y c_5. El resumen de los resultados de estas comparaciones se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Resultados de las comparaciones múltiples de cada una de las dísticas para la simulación 1.

		Dísticas de comparación múltiple			
		LSD	HSD	SSD	BSD
Curvas a comparar	T_0 ^a	T_0 ^a	T_0 ^a	T_0 ^{ab}	T_0 ^a
	A_5 ^b	A_5 ^b	A_5 ^b	A_5 ^c	A_5 ^a
	b_5 ^c	b_5 ^a	b_5 ^a	b_5 ^a	b_5 ^a
	c_5 ^d	c_5 ^c	c_5 ^c	c_5 ^{bc}	c_5 ^a
Letras diferentes indican diferencias significativas en las dísticas correspondientes (p<0.05)					

Simulación 2 (variación porcentual del 10%)

Simulación 3 (Incluye los tratamientos de la simulación 1 y 2).

Tabla 21. Promedio de los estadísticos de las dójimas de comparación múltiple y de las distancias entre las curvas estimadas para la simulación 3.

Dójimas	Medias	D. E.	Distancias						
			T_0	A_10	b_10	c_10	A_5	b_5	c_5
LSD	1.44	0.06	T_0	9.53	3.82	6.40	5.36	2.18	3.69
HSD	2.88	0.09	A_10		4.80	6.65	8.18	4.04	4.84
SSD	5.51	0.17	b_10			11.31	12.7	8.07	7.26
BSD	30.40	1.28	c_10				2.06	5.56	8.33
			A_5					7.17	9.96
			b_5						3.01
			c_5						

En esta última simulación, el estadístico de la dójima LSD siguió siendo el de menor valor de la por lo que encontró diferencias significativas entre todas las curvas, formando grupos para cada tratamiento, en total siete grupos. La dójima HSD, no encontró diferencias significativas entre las curvas correspondientes a los tratamientos T_0 y b_5 en congruencia con los resultados de la simulación 1 y tampoco detectó diferencias significativas entre las curvas de los tratamientos A_5 y c_10. La media estimada del estadístico de la dójima SSD no detectó diferencias significativas entre las curvas correspondientes a las comparaciones entre los tratamientos T_0, con b_10, A_5, b_5 y c_5; A_10 con b_10, b_5 y c_5; c_10 con A_5 y b_5 con c_5. La dójima BSD, agrupa todos los tratamientos pues el número de combinaciones hace que se eleve el valor de la dójima que en este caso fue de 30.40. La tabla resumen de las comparaciones se muestra a continuación.

Tabla 22. Resultados de las comparaciones múltiples de cada una de las dójimas para la simulación 3.

	Dójimas de comparación múltiple			
	LSD	HSD	SSD	BSD
Curvas a comparar	T_0 ^a	T_0 ^a	T_0 ^{abc}	T_0 ^a
	A_10 ^b	A_10 ^b	A_10 ^{de}	A_10 ^a
	b_10 ^c	b_10 ^c	b_10 ^a	b_10 ^a

c_10 ^d	c_10 ^d	c_10 ^f	c_10 ^a
A_5 ^e	A_5 ^d	A_5 ^{bf}	A_5 ^a
b_5 ^f	b_5 ^a	b_5 ^{ce}	b_5 ^a
c_5 ^g	c_5 ^e	c_5 ^{ce}	c_5 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas en las d́cimas correspondientes ($p < 0.05$)

Simulación 4

La matriz de las distancias entre las curvas para la comparaciones entre los 31 tratamientos se encuentra en el anexo 4. La figura 13 muestra la relación entre las d́cimas y las distancias para el simulación 4. En el eje horizontal se encuentra la variación porcentual de los respectivos parámetros de las curvas y en el eje vertical se muestra el promedio de las distancias entre los 20 pares de curvas simuladas con estos parámetros. Las líneas horizontales se corresponden a los valores de las distancias de las d́cimas del 95% de las d́cimas LSD, HSD y SSD respectivamente. Como la cantidad de tratamientos comparados en este experimento fue de 31, el valor correspondiente de la d́cima de Bonferroni fue de 714.64, que al estar tan alejado de las distancias experimentales no se incluyó en el gráfico.

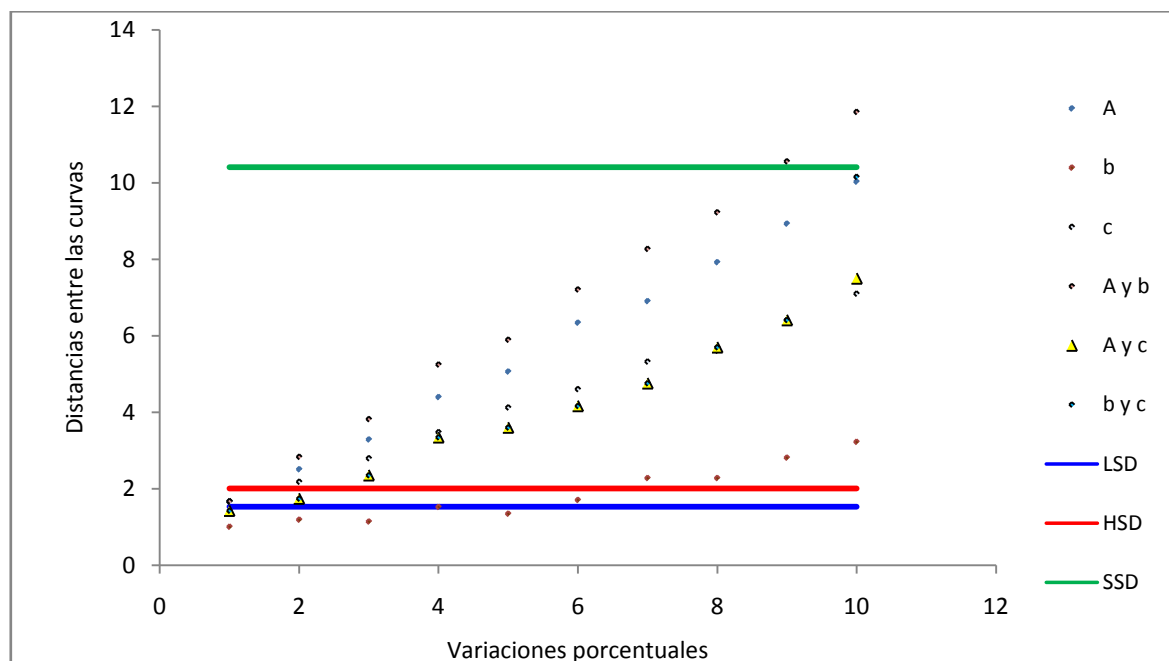


Figura 13. Relación entre las diferencias en los parámetros y las distancias entre las curvas para el experimento 4

Se aprecia la similitud en las distancias críticas LSD y HSD, siendo la primera la menor, no obstante ambas tienen aproximadamente la misma capacidad de detección. Lo que indica que para este tipo de experimento la corrección de los rangos estudentizados no afecta en gran medida los resultados.

La SSD se encuentra más alejada y solo es capaz de detectar diferencias significativas en la comparación de dos tratamientos, en las curvas que están más alejadas por tener grandes variaciones en el parámetro A , que es el que más influye en la variación de la curva, como ya se había señalado antes.

En estudios de producción de gas, donde las condiciones están controladas y la dispersión aleatoria de los puntos experimentales es relativamente pequeña no se considera de gran utilidad la BSD, sobre todo cuando se comparen más de cinco tratamientos, sin embargo en otro tipo de experimentos, como pueden ser los estudios de degradabilidad *in situ* o estudios *in vivo* en los cuales la variabilidad de los datos es mucho mayor, entonces estos criterios serán de gran utilidad, siendo entonces el LSD o el HSD de menor utilidad.

3.4 Conclusiones del capítulo

Hasta aquí se observó que los criterios de información se muestran como una herramienta muy útil en las pruebas de homogeneidad de modelos de regresión de experimentos de producción de gas. Estas pruebas permiten un mayor desarrollo de la evaluación de los alimentos de rumiantes y la comparación de los tratamientos en este tipo de experimentos.

Las pruebas de comparación múltiple pueden ser de utilidad en la comparación de tratamientos en modelos de regresión no lineal. Pues reportan valores estables dentro de un mismo tratamiento.

Para la selección de la prueba que se tomará como medida se debe tener en cuenta la variabilidad de los puntos experimentales, la cantidad de tratamientos a comparar y la diferencia detectada en los mismos.

La raíz de la distancia media cuadrática entre los valores predichos de la curva es una medida estable de las diferencias entre éstas y puede ser empleado en las comparaciones múltiples entre tratamientos una vez que se han detectado diferencias significativas en el experimento.

CAPÍTULO 4. VALIDACIÓN Y APLICACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE COMPARACIÓN DE CURVAS A TRAVÉS DE EXPERIMENTOS DE PRODUCCIÓN DE GAS.

4.1 Introducción

Una vez que se han obtenido los resultados del comportamiento de las pruebas de comparación de curvas y las medidas de agrupamiento, a través de experimentos simulados, se debe proceder a la validación de los métodos con datos experimentales reales.

Después de validadas todas las pruebas correspondientes se puede llegar a establecer la metodología para la comparación de tratamientos en los experimentos de producción de gas.

En el presente capítulo se evalúa el comportamiento de los estadísticos empleados en las pruebas de hipótesis de homogeneidad de curvas y las pruebas de comparación múltiple a través de dos experimentos con diferente cantidad de unidades experimentales y de tratamientos. Posteriormente se presenta la metodología desarrollada, así como la aplicación en un experimento perteneciente a un proyecto del Instituto de Ciencia Animal (Marrero 2005).

4.2 Validación de la metodología de comparación de curvas a través de experimentos de producción de gas.

4.2.1 Materiales y métodos

Los datos proceden de los siguientes experimentos de producción de gas:

4.2.1.1 Experimento “Leguminosas”

Experimento realizado como parte de la tesis doctoral de Rodríguez (2010), en el Departamento de Fisiología de la Universidad de Zaragoza para analizar el valor nutritivo y los efectos antinutricionales de cuatro leguminosas arbóreas tropicales con potencialidades como suplementos del *Pennisetum purpureum*.

Capítulo 4. Validación y aplicación de la metodología...

Las mediciones se realizaron a partir de interfaz de pantalla digital conectada a manómetro acoplado a los frascos de fermentación. Consta de 3 tratamientos con cuatro repeticiones cada uno. Se realizaron 23 lecturas a diferentes intervalos por 96 horas.

4.2.1.2 Experimento “*Aspergillus*”

Experimento realizado en el Departamento de Fisiología del Instituto de Ciencia Animal de Cuba (Sosa *et al.* 2010) con el objetivo de determinar el efecto de *Aspergillus oryzae* en la fermentación ruminal del *Pennisetum purpureum*.

Las mediciones se realizaron de forma directa a jeringuillas insertadas a la botella contenedora del sustrato con la disolución búfer. Se realizaron cuatro tratamientos con dos repeticiones cada uno. Se llevaron a cabo 21 lecturas durante 77 horas.

4.2.1.3 Método de validación

Se empleó el método de validación cruzada descrito por Montgomery *et al.* (2005). Los datos experimentales fueron divididos en dos sub-muestras las cuales van a ser consideradas independientes. Se realizan las comparaciones en las dos sub-muestras por separado y se evalúan las coincidencias que se encuentren en estas comparaciones. La validez del método propuesto será mayor mientras más coincidentes sean los resultados entre una y otra sub-muestra.

4.2.1.4 Comparación de los modelos

Los datos fraccionados de los dos experimentos fueron ajustados por regresión no lineal a la ecuación de Gompertz tanto en la variante del modelo completo como en el modelo reducido (Seber y Wild 2003).

Tomando los resultados de la regresión del modelo completo, se evaluó el cumplimiento de los supuestos de base de la regresión.

Una vez que se determinó la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, se procedió a aplicar las pruebas de comparaciones múltiples empleando las medidas de distancia LSD, Tukey, Scheffé y Bonferroni para evaluar su eficacia en cada caso.

4.2.1.5 Evaluación de la metodología

Se analiza el comportamiento de los siguientes indicadores entre las dos muestras experimentales:

Significación de la prueba de comparación de modelos por la prueba F de suma de cuadrados extra y el criterio de información de Akaike corregido.

Distancias críticas *post hoc*.

Distancias medias cuadráticas entre las curvas.

Grupos de tratamientos formados por los diferentes criterios.

4.2.2 Resultados y discusión

La tabla 23 muestra los resultados de la regresión de las sub-muestras a considerar:

Como se explicó en el Capítulo 3, la normalidad de los residuos es de gran importancia en la decisión de qué prueba emplear en la comparación de tratamientos. Cuanto más cerca está la distribución de los residuos más efectiva será la prueba suma de cuadrados extra, pero en la medida que estos valores se van alejando de la distribución normal la prueba extra suma va perdiendo efectividad y es más aconsejable trabajar con el criterio de información de Akaike corregido.

Por lo que en el presente trabajo se procedió a analizar el cumplimiento de los residuos de las curvas a evaluar, el grafico de distribución cuantil-cuantil se presentan en la figura 14.

Dhanoa *et al.* (2000) y Liu (2011) refieren que el cumplimiento de los supuestos de la regresión en los modelos de fisiología deben acercarse lo más posible a la curva normal, como consecuencia de que las el control de las condiciones en el laboratorio limitan la ocurrencias de errores.

Tabla 23. Criterios de bondad de ajuste de las muestras en los experimentos de validación.

Criterios a considerar	Experimentos			
	Leguminosas		Aspergillus	
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2
Método de Ajuste	Levenberg-Marquardt			
Significación del modelo	todos<0.001			
Significación de los parámetros	todos<0.001			
Coeficiente de determinación (R^2)	0.972	0.969	0.994	0.993
Suma de cuadrados del error	4782.7	4307.4	4087.7	4302.5
Error estándar de la estimación	21.4	24.2	26.2	29.6

No obstante, se mantiene el peligro de autocorrelación de los errores como resultado de que las mediciones se repiten en la misma unidad experimental. Por lo que en el mejor de los casos los residuos deben describir un comportamiento discretamente normal (Yoshihara y Kanagawa 2009).

En este caso la condición de normalidad de los residuos no fue grandemente afectada por lo que se procedió a establecer las pruebas de suma de cuadrados extra para la comparación de los modelos.

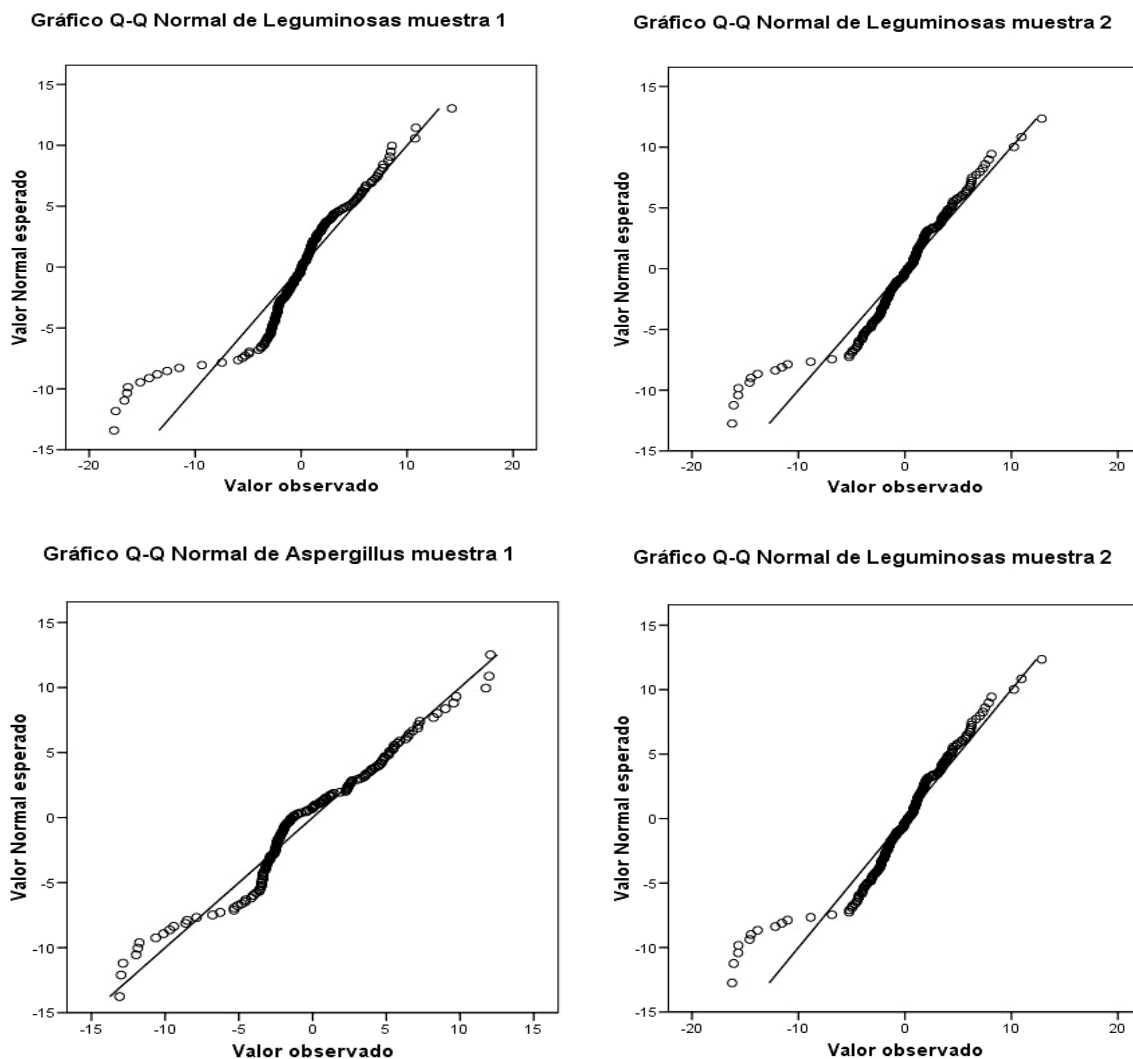


Figura 14. Gráficos cuantil-cuantil para evaluar la normalidad de los residuos de los experimentos de la validación

4.2.2.1 Comparación de los modelos

Los resultados de las pruebas de hipótesis para los modelos completo y reducido evaluadas para cada experimento se expresan a continuación. Las hipótesis de base son las siguientes:

$$\begin{cases} H_0 : PG_{Tto i} = PG_{Tto j} \\ H_1 : PG_{Tto i} \neq PG_{Tto j} \end{cases} \quad \forall i \neq j \quad \text{para al menos una } i \neq j \quad (1)$$

Capítulo 4. Validación y aplicación de la metodología...

La comparación de tratamientos se llevó a cabo a través de la prueba suma de cuadrados extra y del criterio de información de Akaike corregido. Se emplearon las dos pruebas simultáneamente con el objetivo de encontrar coincidencias o discrepancias en los métodos. El comportamiento de las pruebas de homogeneidad de modelos se muestra a continuación.

Tabla 24. Resultados para las pruebas suma de cuadrados extra en los experimentos de validación.

Leguminosas										
Muestra 1						Muestra 2				
Modelo	SCR	gl	CMR	F	Sig.	SCR	gl	CMR	F	Sig.
Completo	4782.7	198	24.2	290.61	***	4307.4	198	21.75	339.9	***
Reducido	46900	204	229.9			48675.24	204	238.60		
Diferencia	42118	6	7019.6			44367.88	6	7394.6		

Aspergillus										
Muestra 1						Muestra 2				
Modelo	SCR	gl	CMR	F	Sig.	SCR	gl	CMR	F	Sig.
Completo	4087.7	324	12.6	6.99	***	4302.5	324	13.3	6.45	***
Reducido	4882.0	333	14.7			5078.0	333	15.2		
Diferencia	794.2	9	88.2			775.5	9	86.2		

*** Indica nivel de significación ($P < 0.001$)

Tabla 25. Resultados de la comparación con el uso del criterio de información de Akaike corregido en los experimentos de validación.

Leguminosas								
Muestra 1					Muestra 2			
Modelo	SCR	CIAC	Δ CIAC	Sign.	SCR	CIAC	Δ CIAC	Sign.
Completo	4782.7	662.4	466.2	***	4307.4	640.7	495.6	***
Reducido	46900.5	1128.7			48675.2	1136.4		

Aspergillus								
Muestra 1					Muestra 2			
Modelo	SCR	CIAC	Δ CIAC	Sign.	SCR	CIAC	Δ CIAC	Sign.
Completo	4087.8	548.7	23.5	***	4302.5	557.3	21.5	***
Reducido	4882.0	572.2			5078.0	578.8		

*** Indica nivel de significación ($P < 0.001$)

Capítulo 4. Validación y aplicación de la metodología...

En el experimento “*Leguminosas*” se aprecia mayor variabilidad entre tratamientos que en el experimento “*Aspergillus*”, mientras que la variabilidad dentro de un mismo tratamiento es aproximadamente igual en los dos experimentos. Este comportamiento es indicador de que debe existir una diferencia más marcada entre las curvas correspondientes a diferentes tratamientos en el experimento *Leguminosas* que en el experimento *Aspergillus*. En ambos experimentos la significación de las diferencias detectadas es inferior a 0.0001, con valores del estadístico F y $\Delta CIAC$ muy similares entre las muestras de un mismo experimento.

4.2.2.2 Distancias *post hoc* críticas

La tabla de análisis de varianza de la regresión del modelo completo ofrece la información necesaria para calcular los valores de las fronteras de decisión de las distancias *post hoc* de cada uno de los experimentos.

Tabla 26. Distancias de las fronteras de decisión para las comparaciones múltiples de las muestras de los experimentos de validación

Distancias	Leguminosas		Aspergillus	
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 1	Muestra 2
LSD	1.46	1.39	1.08	1.08
HSD	2.49	2.37	1.85	1.85
SSD	3.07	2.91	2.52	2.52
BSD	8.77	8.32	6.48	6.48

Se mantiene el mismo comportamiento visto en el capítulo anterior en las simulaciones. Al ser menor la cantidad de tratamientos, el número de combinaciones es menor y por eso no se aleja tanto la distancia de Bonferroni. Una vez más con esta sola aproximación no es posible determinar cuál es el mejor indicador para la comparación múltiple. Se hace necesario entonces recurrir al cálculo de las distancias entre las curvas ajustadas para conocer la medida óptima de comparación múltiple.

4.2.2.3 Distancias entre las curvas ajustadas

Los valores de las distancias entre las curvas se representan a través de matrices. Como son matrices simétricas solo se muestran los datos en la parte superior de la matriz.

Tabla 27. Comportamiento de las distancias entre las curvas del experimento de validación “Leguminosas”.

	Muestra 1					Muestra 2			
	T_1	T_2	T_3	E.E.		T_1	T_2	T_3	E.E.
T_1 ^a	0	39.58	30.44	0.339	T_1 ^a	0	38.35	30.61	0.322
T_2 ^b		0	35.33		T_2 ^b		0	34.64	
T_3 ^c			0		T_3 ^c			0	

En este caso las distancias entre las curvas son superiores a cualquiera de las distancias críticas propuestas. Ello corrobora lo que se trató en la sección anterior acerca las diferencias entre los tratamientos de este experimento.

Se aprecia que existen diferencias significativas por cualquiera de los criterios de comparación múltiple para un nivel de significación mayor del 95%, entre los tres tratamientos.

El error estándar reportado en este caso se calculó a partir de la ecuación (32).

En el experimento *Aspergillus*, los tratamientos tuvieron una distancia relativamente menor entre ellos.

Tabla 28. Comportamiento de las distancias entre las curvas del experimento de validación “Aspergillus”.

	Muestra 1						Muestra 2				
	T_0	T_1	T_2	T_3	E.E.		T_0	T_1	T_2	T_3	E.E.
T_0 ^a	0	1.83*	3.21	5.50	0.388	T_0 ^a	0	1.78*	3.44	5.76	0.398
T_1 ^{ab}	0	0	1.68*	4.18		T_1 ^{ab}	0	0	1.80*	4.13	
T_2 ^b	0	0	0	6.30		T_2 ^b	0	0	0	5.52	
T_3 ^c				0		T_3 ^c				0	

^{a,b,c} Letras diferentes en la misma columna indican grupos diferentes por HSD y SSD

Todas las distancias entre las curvas son mayores que el LSD y menores que el BSD. En un punto intermedio quedan de forma equivalente HSD y SSD formando los mismos grupos que se muestran en la primera columna de cada matriz.

Hasta aquí se puede apreciar nuevamente la fuerte estabilidad de la medida de la distancia entre las curvas. En cuanto a la distancia crítica se puede observar que la distancia LSD es muy exclusiva y carece de efectividad en este tipo de experimentos. Lo mismo sucede con la distancia de Bonferroni, que al ser tan conservadora es muy inclusiva llegando a formar un solo grupo en experimentos en los cuales se han detectado diferencias significativas, sea por suma de cuadrados extra o por el CIAC.

La distancia SSD aun cuando es más flexible, no se aleja mucho en sus características de la distancia HSD por lo que se recomienda cuando se quiera establecer diferencias en tratamientos en los que *a priori* se conoce que existen diferencias grandes entre un tratamiento u otro.

La dócima de Tukey vuelve a mostrar sus potencialidades, sobre todo en el caso en que se cumplan los supuestos de normalidad de los residuos, siendo más inclusivo que LSD, pero sin depender tan fuertemente del número de tratamientos que entren en juego en el experimento. Esta es la medida que se recomienda en el presente trabajo.

4.3 Aplicación de la metodología a un experimento específico de producción de gas in vitro.

4.3.1 Materiales y métodos

4.3.1.1 Estructura de la metodología

A continuación se presenta el orden de procedimientos de la metodología desarrollada a partir de los resultados de los capítulos anteriores:

Capítulo 4. Validación y aplicación de la metodología...

1. Definición de la ecuación de mejor bondad de ajuste de los puntos experimentales.
2. Aplicación de la regresión no lineal a los modelos completo y reducido.
3. Evaluación del cumplimiento de la normalidad de los residuos.
4. En caso de cumplimiento satisfactorio de la condición de normalidad de los residuos aplicación de la prueba de extrasuma de cuadrados.
5. En caso de no cumplimiento del supuesto de normalidad, cálculo de la diferencia de los criterios de información de Akaike.
6. En caso de encontrarse diferencias significativas entre los modelos y tener más de dos tratamientos, cálculo de la distancia cuadrática media entre las curvas.
7. En dependencia de la variabilidad de los puntos experimentales, aplicación de una de las pruebas de comparación múltiple *post-hoc*.

La figura 15 muestra el algoritmo de ejecución de la metodología.

4.3.1.2 Los datos

Los datos proceden del Proyecto Nacional 300292 “Obtención y evaluación de productos activadores de la fermentación ruminal a partir de levaduras y *Aspergillus oryzae* en vacas que consumen dietas fibrosas”. Se compararon 17 cepas diferentes de levaduras, con cuatro repeticiones por tratamiento y ocho puntos experimentales por cada repetición, en diseño completamente aleatorizado.

La ecuación de ajuste de la regresión escogida fue la ecuación de Gompertz.

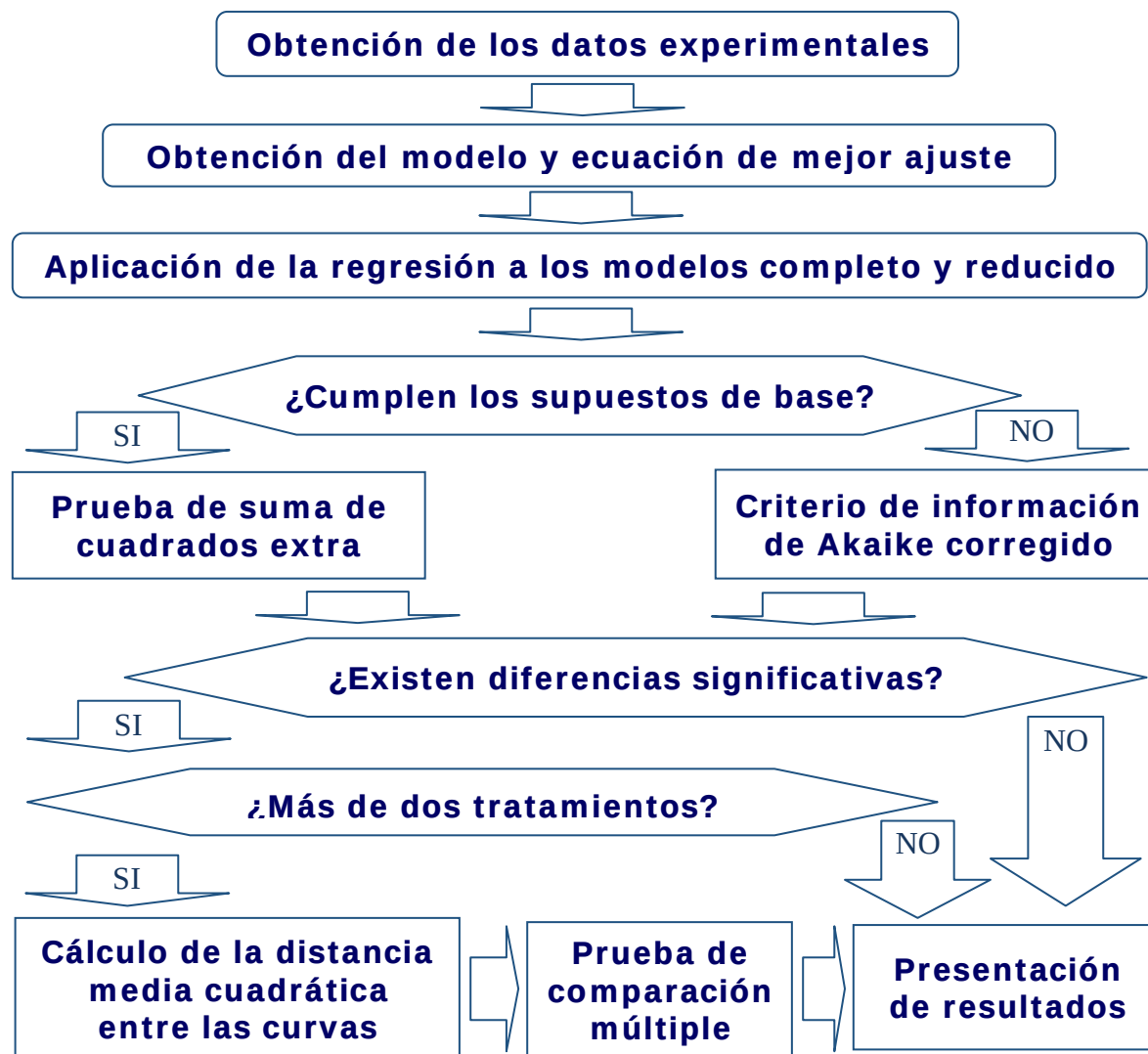


Figura 15. Algoritmo de la comparación de tratamientos entre curvas de regresión no lineal para experimentos de producción de gas.

4.3.2 Resultados y Discusión

La figura 16 muestra el ajuste de los datos al modelo completo según la ecuación de Gompertz.

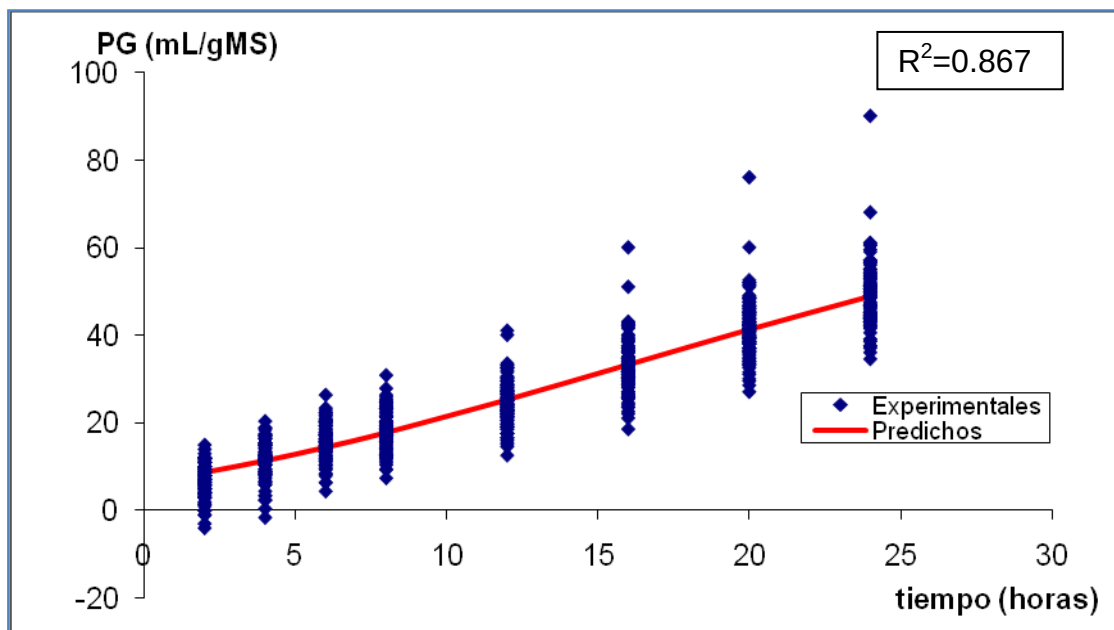


Figura 16. Ajuste del modelo completo a los datos experimentales del experimento del proyecto 300292.

En la tabla 29 se muestran los criterios de bondad de ajuste del modelo reducido a los datos.

Tabla 29. Criterios de bondad de ajuste de la ecuación de Gompertz ajustada al modelo reducido del experimento del proyecto 300292.

	A	b	c	R²	Sig.	CME
Parámetros	59.51	2.893	0.165	0.853	***	41.56
E. E. (±)1	1.29	0.136	0.009			
Sig. Parám.	***	***	***			

En la figura 17 se muestra la distribución de los residuos. Como puede verse los residuos se distribuyen de manera aproximadamente normal, lo que conduce a la decisión de aplicar la prueba de suma de cuadrados extra. La que arroja los siguientes resultados:

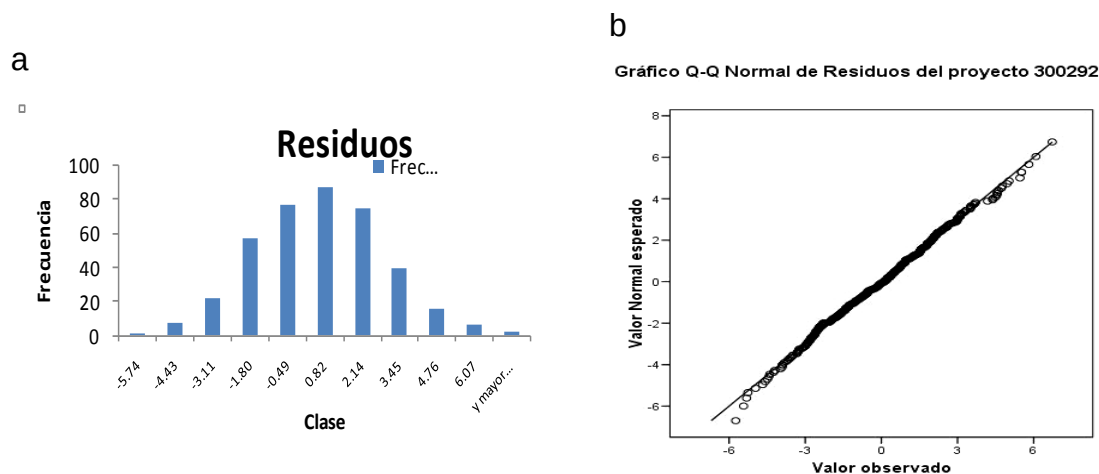


Figura 17. Distribución de los residuos del modelo completo a) Histograma, b) gráfico cuantil-cuantil.

En la tabla 30 se muestran los resultados de las pruebas de homogeneidad del modelo ante los diferentes tratamientos. Las dos pruebas indican el rechazo de la hipótesis de homogeneidad de curvas con un nivel de significación $p < 0.0001$.

Tabla 30. Resultados de la aplicación de la prueba de suma de cuadrados extra y el criterio de información de Akaike corregido a los datos del proyecto 300292.

	Modelos	
	Completo	Reducido
Suma de cuadrados	18628.4	24122.3
Grados de libertad	765	813
F calculada	3.858	
Nivel de significación para la prueba F.	<0.0001	
$\Delta CIAC$	604.8	
Nivel de significación para $\Delta CIAC$	<0.0001	

Una vez determinado que existen diferencias entre los tratamientos se procedió a aplicar la prueba de comparaciones múltiples, en este caso la prueba escogida fue la Tukey.

Capítulo 4. Validación y aplicación de la metodología...

En la tabla 31 se han puesto todos los tratamientos, las letras indican la pertenencia a grupos. Se formaron ocho grupos, que agrupan desde seis tratamientos hasta grupos formados por un solo tratamiento.

Estos resultados permitieron en esta investigación la caracterización del comportamiento de las cepas de levaduras presentes en el cepario del ICA con potencialidad de uso en la obtención de productos biológicos activadores de la fermentación ruminal.

Con estos resultados se logró evaluar a escala productiva de preparados biológicos, capaces de activar la fermentación ruminal, incrementar la degradación de la fibra y la eficiencia de utilización de los nutrientes por la vaca lechera, lo que se traducirá en un mayor consumo de alimento base.

Tabla 31. Resultados de los grupos formados por las comparaciones múltiples aplicando la distancia honestamente significativa de Tukey.

	a	b	c	d	e	f	g	h	E.E.
C_11	a								0.1184
C_13		b							
C_15			c						
C_17				d					
C_22				d					
C_28		b			e				
C_18B						f			
C_18R						f			
C_23		b			e		g		
C_24	a	b			e				
C_29	a				e				
C_33						f	g		
C_27								h	
CLLSc	a								
C_25		b				f	g		
Cs ICIDC		b			e		g		

4.4 Conclusiones del capítulo

La aplicación de la metodología en experimentos reales de producción de gas permitió evaluar la efectividad del método de comparación de las curvas, así como la utilidad de la medida de distancia entre las curvas propuesta. Siendo en efecto una medida que da una correcta evaluación de los efectos que producen diferentes tratamientos sobre las curvas ajustadas por el método de regresión no lineal.

CONCLUSIONES

La metodología de comparación de modelos a partir de las variantes modelo completo y modelo reducido es eficaz para llevar a cabo la prueba de hipótesis de homogeneidad de curvas de regresión en experimentos de producción de gas *in vitro*.

El criterio de información de Akaike corregido, y la prueba de suma de cuadrados extra en el caso de cumplimiento estricto de los supuestos de la regresión lineal paramétrica resultaron las más eficientes para probar la homogeneidad de los modelos de las curvas de producción de gas *in vitro*.

La raíz de la distancia media cuadrática es una buena medida para la realización de las comparaciones múltiples post hoc entre curvas una vez que se hayan detectado diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

La medida de comparación de distancias que mejor comportamiento tiene en la realización de comparaciones múltiples en experimentos de producción de gas *in vitro* es la distancia honestamente significativa de Tukey.

RECOMENDACIONES

Ampliar las aplicaciones de la simulación por Monte Carlo aplicadas a modelos de regresión no lineal para la solución de problemas de la estadística aplicada a la ciencia animal, en especial como alternativa ante los experimentos cuyo desarrollo implique un alto costo de recursos materiales o de tiempo.

Continuar con el estudio de las pruebas de homogeneidad en otros tipos de experimentos en los cuales se empleen modelos no lineales, tales como los estudios curvas de crecimiento, experimentos de degradabilidad ruminal *in situ*, entre otros.

Estudiar el comportamiento de las dójimas de comparación múltiple de rango variable (Duncan, Student-Newman-Keuls, etc.), en las comparaciones múltiples de curvas de regresión.

Integrar la metodología de comparación de tratamientos sobre la base de modelos de regresión no lineal, a alguna aplicación informática que automatice el proceso y lo haga más asequible al personal no estadístico.

BIBLIOGRAFÍA

Abdi, H. y Molin, P. 2007. Lilliefors/Van Soest's test of normality. En: Encyclopedia of measurements and statistics. N. J. Salkind Ed. Sage Publications. Thousand Oaks. 540-544.

Adesogan, A. T., Krueger, N. K. y Kim, S. C. 2005. A novel, wireless, automated system for measuring fermentation gas production kinetics of feeds and its application to feed characterization. *Animal Feed Science and Technology*. 123-124: 211-223

Akaike, H. 1981. Likelihood of a model and information criteria. *Journal of Econometrics*. 16: 3-14

Begun, J. M. y Gabriel, K. R. 1981. Closure of the Newman keuls multiple comparison procedure. *Journal of the American Statistical Association*. 76: 241-245

Belsley, D. A., Kuh, E. y Welsch, R. E. 2004. *Regression Diagnostics*. John Wiley & Sons. New York. 314 pp.

Bender, E. A. 1978. *An introduction to mathematical modelling*. John Wiley & Sons. New York. 269 pp. 173-200.

Beuvink, J. M. y Kogut, J. 1993. Modelling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid. *Journal of Animal Science*. 71: 1041-1046

Bingman, N. H. y Fry, J. M. 2010. *Regression. Linear models in statistics*. Springer-Verlag. London. 293 pp.

Bibliografía

Burguillo, F. J. 2005. Ajuste de ecuaciones a curvas Conferencia impartida en Universidad de Salamanca. Universidad de Salamanca

Burnham, K. P. y Anderson, D. R. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. Springer. New York. 570 pp.

Burnham, K. P. y Anderson, D. R. 2004. Multimodel inference. Understanding AIC and BIC in model selection. Sociological methods research. 33: 261-303

Calabro, S., Lopez, S., Piccolo, V., J.Dijkstra, Dhanoa, M. S. y France, J. 2005. Comparative Analysis of gas production profiles obtained with buffalo and sheep ruminal fluid as the source of inoculum. Animal Feed Science and Technology. 123-124 51-65

Carro, M. D., López, S., Valdés, C. y Ranilla, M. J. 1999. Efecto de la suplementación nitrogenada sobre la fermentación ruminal in vitro de forrajes deficientes en nitrógeno. Archivos de Zootecnia. 48: 295-306

Collins, G. W. 2003. Fundamental numerical methods and data analysis. Case Western Reserve University. Cleveland. 261 pp.

Cone, J. W., Gelder, A. H. V., Schooten, H. A. V. y Groten, J. A. M. 2008. Effects of chop length and ensiling period of forage maize on in vitro rumen fermentation characteristics. National Journal of Agricultural Sciences. 55: 155-167

Corral, J. J., Diéguez, U., Corral, S. y Castedo, F. 2007. A merchantable volumen system for major pine species in El Salto, Durango. Forest Ecology and Management. 238: 118-129

Dalziel, S. 2008. Numerical methods natural sciences tripos 1B. Lecture Notes. Conferencia impartida en University of Cambridge. Department of Mathematics and Theoretical Physics

Bibliografía

Dean, A. y Voss, D. 1999. Design and analysis of experiments. Springer-Verlag. New York. 764 pp. 78-113.

DeLean, A., Munson, P. J. y Rodbard, D. 1978. Simultaneous analysis of families of sigmoidal curves: application to bioassay, radioligand assay and physiological dose-response curves. *American Journal of Physiology*. 235: 97-102

DeVeaux, D. 2001. Elements of experimental design. Wiliam College. Londres. 222 pp. 32-40.

Dey, D. K., Ghosh, S. y Mallick, B. K. 2011. bayesian modelling in bioinformatics. Chapman & Hall/CRC. Boca Raton. 468 pp.

Dhanao, M. S., Lopez, S., Dijkstra, J., Davies, D. R., Sanderson, R., Williams, B. A., Sileshi, Z. y France, J. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed in vitro: comparison of models. *British Journal of Nutrition* 83: 131-142

Dijkstra, J., Kebreab, E., Bannik, A., France, J. y Lopez, S. 2005. Application of the gas production technique to feed evaluation systems for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*. 123-124: 561-578

Dijkstra, J., Kebreab, E., Bannink, A., Crompton, L. A., López, S., Abrahamse, P. A., Chilibroste, P., Mills, J. A. N. y France, J. 2008. Comparison of energy evaluation systems and a mechanistic model for milk production by dairy cattle offered fresh grass-based diets. *Animal Feed Science and Technology*. 143: 203-219

Dimov, I. T. 2008. Monte Carlo methods for applied scientists. World Scientific. New Jersey. 308 pp.

Bibliografía

Draper, N. R. y Smith, H. 1981. Applied regression analysis. John Wiley and Sons. New York. 588 pp.

Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple F tests. Biometrics. 11: 1-42

Dunn, O. J. 1961. Multiple comparisons among means. Journal of the American Statistical Association. 56: 52-64

Durmic, Z., Hutton, P., Revell, D. K., Emms, J., Hughes, S. y Vercoe, P. E. 2010. In vitro fermentative traits of Australian woody perennial plant species that may be considered as potential sources of feed for grazing ruminants. Animal Feed Science and Technology. 160: 98-109

Efron, B. y Tibshirani, R. J. 1993. An introduction to the bootstrap. Chapman & Hall. New York. 436 pp.

FAO. 2010. FAO STAT. Disponible en: www.fao.org. Consultado: febrero 2011

Feelders, A. J. 2007. Statistical concepts. En: Intelligent data analysis. M. Bertholdy D. J. Hand Ed. Springer Verlag. Berlín. 17-68.

Fernández, L. 2004. Modelos estadísticos matemáticos que describen la curva de lactancia y factores que la afectan en el genotipo Siboney de Cuba. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias. Departamento Departamento de Ciencias Básicas. La Habana. 120 pp.

Fernández, L., Buxadera, A. M. y Guerra, C. W. 2004. Estudio comparativo de diferentes funciones para el análisis de la curva de lactancia en el genotipo Siboney de Cuba. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 38: 351-359

Findley, D. F. y Wei, C. Z. 2002. AIC overfitting principles, and the boundedness of moments of inverses matrices for vectors autoregressions and related methods. Journal of Multivariate Analysis. 83: 415-450

Bibliografía

Fletcher, R. y Powell, M. J. D. 1963. A rapidly convergent descent method form minimization. The computer journal. 6: 163-168

France, J., Lopez, S., Kebreab, E., Bannik, A., Dhanoa, M. S. y Dijkstra, J. 2005. A general compartmental model for interpreting gas production profiles. Animal Feed Science and Technology. 123-124: 473-485

Frees, E. W. 2010. Regression modelling with actuarial and financial applications. Cambridge University Press. Cambridge. 585 pp.

Freund, R. J., Wilson, W. J. y Sa, P. 2006. Regression analysis. Elsevier. San Diego. 481 pp.

Fujii, T. y Konishi, S. 2006. Nonlinear regression modeling via regularized wavelets and smoothing parameter selection. Journal of Multivariate Analysis. 97: 2023-2033

Galindo, J., Marrero, Y., Gonzalez, N. y Aldana, A. I. 2003. Efecto del follaje de dos árboles tropicales en la población microbiana ruminal en condiciones in vitro: I. Brosimum allicastrum y Leucaena leucocephala. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 37: 389

Galton, F. 1892. Hereditary Genius. Mc Millan and Co. London. pp. 423.

Gamst, G., Meyers, L. S. y Guarino, A. J. 2008. Analysis of variance designs. Cambridge University Press. Cambridge. pp. 596.

García-Rodríguez, A., Mandaluniz, N., Flores, G. y Oregui, L. M. 2005. A gas production technique as a tool to predict organic matter digestibility of grass and maize silage. Animal Feed Science and Technology. 123-124: 267-276

Giordano, F. R., Weir, M. D. y Fox, W. P. 2003. A first course in mathematical modeling. China machine press. Beinjing. 553 pp.

Bibliografía

Goldstein, H. 2011. Multilevel statistical models. John Wiley & Sons. Chinchester. 384 pp.

Gorgens, T. 2002. Nonparametric comparison of regression curves by local linear fitting. *Statistics & Probability Letters*. 60: 81-89

Grings, E. E., Blümmel, M. y Südekum, K. H. 2005. Methodological considerations in using gas production techniques for estimating ruminal microbial efficiencies for silage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*. 123-124: 527-545

Guerra, C. W., Cabrera, A. y Fernández, L. 2003. Criterios para la selección de modelos estadísticos en la investigación científica. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 37: 3-10

Hartley, H. O. 1961. The modified Gauss-Newton method for fitting of non-linear regresion functions by least squares. *Technometrics*. 3: 269-280

Hazelton, M. L. 2005. Nonparametric regression. En: *Encyclopedia of Biostatistics*. T. Colton Ed. John Wiley and Sons Inc. New York. 4017-4018.

Heijden, F. v. d., Duin, R. P. W., Ridder, D. d. y Tax, D. M. J. 2004. Classification, parameter estimation and state estimation. Wiley & Sons. Inc. New Jersey. pp. 45-79.

Hoaglin, D. C. 2005. Data exploratory analysis. En: *Biostatistics enciclopaedia*. T. Colton Ed. John Wiley and Sons. New York. 2034-2037.

Hoch, T. y Agabriel, J. 2004. A mechanistic dynamic model model to estimate beef cattle growth and body composition. *Agricultural Systems*. 81: 1-15

Hochberg, Y. y Tamhane, A. C. 1987. Multiple comparison procedures. John Wiley & Sons. New York. 487 pp.

Bibliografía

Hu, S. 2007. Akaike Information Criterion. Conferencia impartida en North Carolina State University. Center of research in scientific computing

Huet, S., Jolivet, E. y Messean, A. 1990. Some simulation results about confidence intervals and bootstrap methods in nonlinear regression. *Statistics*. 21: 369-432

Hurvish, C. M. y Tsai, C. L. 1989. Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*. 76: 297-307

Ingvartsen, K. L. 1994. Models of voluntary food intake in cattle. *Livestock Production Science*. 39: 19-38

Jalilvand, G., Odongo, N. E., López, S., Naserian, A., Valizadeh, R., Shahrodi, F. E., Kebreab, E. y France, J. 2008. Effects of different levels of an enzyme mixture on in vitro gas production parameters of contrasting forages. *Animal Feed Science and Technology*. 146: 289-301

Jay, O. y Torres, J. P. 2009. Aplicación de la técnica de remuestreo Jackknife para mejorar las estimaciones de los modelos no lineales de producción de gas in vitro. *Scientia-CUCBA*. 11: 77-82

Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y., Erol, A. y Ozay, O. 2005. Effect of maturity stage on chemical composition, in vitro and in situ dry matter degradation in tumbleweed hay (*Gundelia tournefortii* L.). *Small Ruminant Research*. 58: 149-156

Kardaun, O. J. W. F. 2005. Classical methods of statistics. Springer-Verlag. Berlín. 396 pp. 150-157.

Kariuki, S. N., Moore, J. G., Kirou, K. A., Crow, M. K., Utset, T. O. y Niewold, T. B. 2009. Age and gender specific modulation of serum osteopontin and interferon alfa

Bibliografía

by osteopontin genotype in systemic lupus erythematosus *Genes and immunity*. 10: 487-494

Karlsson, L., Hetta, M., Udén, P. y Martinsson, K. 2009. New methodology for estimating rumen protein degradation using the in vitro gas production technique. *Animal Feed Science and Technology*. 153: 193-202

Kass, R. E. y Raftery, A. E. 1995. Bayesian factors. *Journal of the American Statistical Association*. 90: 773-795

Kendall, M. y Stuart, A. 1976. *The advanced Theory of Statistics*. Charles Griffin y Co. Londres. pp.

Kilpatrick, D. J. y Steen, R. W. J. 1999. A predictive model for beef cattle growth and carcass composition. *Agricultural Systems*. 61: 95-107

Kleinbaum, D. G. y Klein, M. 2010. *Logistic Regression*. Springer. New York. 709 pp.

Konishi, S. y Kitagawa, G. 2008. *Information criteria and statistical modeling*. Springer. New York. pp. 282.

Kutner, M. H., Nachtsheim, C. J., Neter, J. y Li, W. 2005. *Applied linear statistical models*. Mc Graw Hill & Irwin. New York. 1415 pp. 154-175.

L'Ecuyer, P. 2004. Random number generation. En: *Handbook of computational statistics*. J. E. Gentle Ed. Springer. Heidelberg. 35-71.

La-O, O., Valenciaga, D., Ruiz, T. E., Ruiz, O., Castillo, Y., González, H., Rodríguez, C., Hernández, D., Chongo, B., Arzola, C. y Cairo, J. 2008. Efecto de la edad de corte en la capacidad fermentativa in vitro y la dinámica de degradación ruminal in situ de *Tithonia diversifolia*. *Zootecnia Tropical*. 26: 243-247

Bibliografía

Lancelot, R., Lesnoff, M. y McDermott, J. J. 2002. Use of the Akaike Information Criteria for model selection and inference. An application to asses prevention of gastrointestinal parasitism and respiratory mortality of Guinean goats in Kolda, Senegal. *Preventive Veterinary Medicine*. 55: 217-240

Larduet, R. 2009. Modelación y simulación del crecimiento de cerdos al destete. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias. Departamento Biomatemática. La Habana. 120 pp.

Lee, Y.-W. y Sampson, D. B. 2005. Monte Carlo Evaluation of a nonlinear regression estimator for aggregated length-weight data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 62: 362-373

Leenhardt, D., Wallach, D. y Moigne, P. L. 2006. Using crop models for multiple fields. En: *Working with dynamic crop models*. D. Wallach Ed. Elsevier. Amsterdam. 209-248.

Liddle, A. R. 2008. Information Criteria for astrophysical model selection. *Astrophysical Journal*. 0701113: 5

Liu, J. X., Susenbeth, A. y Sudekum, K. H. 2002. In vitro gas production measurements to evaluate interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay and mulberry leaves. *Journal of Animal Science*. 80: 517-524

Liu, W. 2011. Simultaneous inference in regression. Chapman & Hall. Boca Ratón. 292 pp. 113-149.

Logan, J. D. y Wolessensky, W. R. 2009. Mathematical models in biology. John Wiley and Sons. New Jersey. 531 pp.

Bibliografía

Lopez, S., France, J., Dijkstra, J. y Dhanoa, M. S. 2000. Models to interpret degradation profiles obtained from in vitro and in situ incubation of ruminant feeds. En: Modelling nutrient utilization in farm animals. Ed. CAB International. Oxon. 73-87.

López, S., Dhanoa, M. S., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E. y France, J. 2007. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. *Animal Feed Science and Technology*. 135: 139-156

Llavador, F. 2005. Modelos Matemáticos de Sistemas Variables en el Tiempo. Conferencia impartida en Entidad Pública de Saneamiento de Aguas Residuales de la Comunidad Valenciana. Valencia

Mammen, E. y Nandi, S. 2004. Bootstrap and resampling. En: Handbook of computational statistics. J. E. Gentle Ed. Springer. Heidelberg. 479-484.

Marquardt, D. W. 1963. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *Journal of the Society for Industrial and Applied Mathematics*. 11: 431-441

Marrero, Y., Galindo, J. y Aldana, A. I. 2002. Efecto del *Arachis pintoii* en la población microbiana ruminal y su actividad bajo condiciones in vitro. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 36: 4-12

Marrero, Y. 2005. Las levaduras como mejoradores de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias. Departamento Ciencias Biofisiológicas. La Habana. 151 pp.

Marrero, Y. 2010. Datos de producción de gases para investigaciones de activadores de la fermentación ruminal. Información perteneciente a: I. d. C. Animal. San José de las Lajas, Mayabeque

Bibliografía

McNamara, J. P., France, J. y Beever, D. E. 2000. Modelling nutrient utilization in farm animals. CABI Publishing. Oxon. 418 pp.

Menchaca, M. A. y Ruiz, R. 1990. Simulación del consumo de materia seca, fibra bruta, y energía metabolizable en un experimento con vacas lecheras en pasto bermuda cruzada I (*Cynodon dactylon* Pers). Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 24: 255

Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steinglass, H., Fritz, D. y Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. Journal of Animal Science. 93: 217-222

MicroSoft_Corporation. 2008. Microsoft Office Excel 2007 SP 2.

Min, B. R., Pinchak, W. E., Fulford, J. D. y Puchala, R. 2005. Wheat pasture bloat dynamics, in vitro ruminal gas production, and potential bloat mitigation with condensed tannins. Journal of Animal Science. 83: 1322-1331

Miranda, I. 2004. Estudio poblacional y modelación de *tetranychus urticae* koch. Fitosanidad. 8: 76-77

Mishra, n., Okimoto, R., Pasquino, A. T., Sargeant, L. S., Sorensen, A., Steele, M. R., Zhao, X., Womack, J. E. y Hoeshele, I. 1995. Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. Genetics. 139: 907-920

Moberg, G. P. y Mench, J. A. 2000. The biology of animal stress. CABI Publishing. Oxon. 310 pp.

Montgomery, D. C. 2004. Diseño y Análisis de Experimentos. Limusa-Wiley. México D. F. 692 pp.

Bibliografía

Montgomery, D. C., Peck, E. A. y Vining, G. G. 2005. Introducción al análisis de regresión lineal. Compañía Editorial Continental. México. 588 pp.

Morgan, B. J. T. 2005. Simulación. En: Enciclopedia de Bioestadística. T. Colton Ed. John Wiley and Sons Inc. New York. 5370-5375.

Motulsky, H. J. y Christopoulos, A. 2003. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression. Graph Pad Software. San Diego. 351 pp.

Murtaugh, P. A. 2009. Performance of several variable selection methods applied to real ecological data. Ecology letters. 12: 1061-1068

Neumeyer, N. y Sperlich, S. 2006. Comparison of separable components in different samples. Scadinavian Journal of Statistics. 33: 477-503

Newman, D. 1939. The distribution of range in samples from a normal population expressed in terms of an independent estimate of the standard deviation. Biometrika. 31: 20-30

Oltjen, J. W., Bywater, A. C., Baldwin, R. L. y Garrett, W. N. 1986. Development of a dynamic model of beef cattle growth and composition. Journal of Animal Science. 62: 86-97

Ørskov, E. R. y McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. The Journal of Agricultural Science. 92: 499-503

Ortiz, R. J. 2000. Modelación y simulación matemática del reciclaje del N, P, K, en sistemas de pastoreo vacuno. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias. Departamento Biomatemática. La Habana. 138 pp.

Owen, A. B. 2001. Empirical likelihood. Chapman & Hall/CRC. Boca Ratón. 289 pp. 89-121.

Bibliografía

Pardo-Fernández, J. C., Keilegom, I. V. y Manteiga, W. G. 2004. Testing the equality of k regression curves. Departamento de estadística e Investigación de operaciones. Universidad de Vigo. Vigo. 32 pp.

PCC. 2011. Lineamientos de la política económica y social del Partido y la Revolución. Partido Comunista de Cuba. La Habana. 38 pp.

Pedraza, R. 2001. Estimación del valor nutritivo de los alimentos para rumiantes con énfasis en las técnicas in sacco y de producción de gas in vitro. Artículo reseña. Revista de Producción Animal. 13: 45-51

Pierce, J. R. 1980. An introduction to Information Theory. Dover Publications Inc. New York. 332 pp. 19-45.

Pitroff, W. y Kothmann, M. M. 2001. Quantitative prediction of feed intake in ruminants: II Conceptual and mathematical analysis of models for cattle. Livestock Production Science. 71: 151-169

Rawlings, J. O., Pantula, S. G. y Dickey, D. A. 1998. Applied regression analysis: a research tool. Springer-Verlag. New York. 671 pp.

Reuter, H., Jopp, F., Breckling, B., Lange, C. y Weigmann, G. 2011. How valid are model results? Assumptions, validity range and documentation. En: Modelling complex dynamics systems. F. Jopp Ed. Springer. Heidelberg. 323-341.

Rienzo, J. A. D., Casanoves, F., González, L. A., Tablada, E. M., Díaz, M. d. P., Robledo, C. W. y Balzarini, M. G. 2005. Estadística para las ciencias agropecuarias. Universidad de Córdoba. Córdoba. 347 pp.

Robert, C. P. y Casella, G. 2004. Monte Carlo Statistical Methods. Springer. New York. 647 pp. 1-32.

Bibliografía

Rodríguez, R. 2010. Estudio in vitro del valor nutritivo y de los efectos antinutricionales de cuatro leguminosas arbóreas tropicales con potencialidades como suplementos del pennisetum purpureum. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias. Departamento Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Zaragoza. 292 pp.

Rubinstein, R. Y. y Kroese, D. P. 2008. Simulation and the Monte Carlo method. John Wiley & Sons Inc. New Jersey. 377 pp.

Rykov, V. V., Balakrishnan, N. y Nikulin, M. S. 2010. Mathematical and statistical models and methods in reliability. Springer. New York. 485 pp.

Rymer, C., Huntington, J. A., Williams, B. A. y Givens, D. I. 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological considerations and challenges. Animal Feed Science and Technology. 123-124: 9-30

Schabenberger, O., Tharp, B. E., Kells, J. J. y Penner, D. 1999. Statistical Test for Hormesis and Effective Dosages in Herbicide Dose Response. Agronomical journal. 91: 713-721

Schabenberger, O. y Pierce, F. J. 2002. Contemporary statistical models. CRC Press. Boca Raton. pp. 195.

Scheffé, H. 1953. A method for judging all contrasts in the analysis of variance Biometrika. 40: 87-104

Schofield, P., Pitt, R. E. y Pell, A. N. 1994. Kinetics of fiber digestion from in vitro gas production. Journal of Animal Science. 72: 2980-2991

Schwarz, G. 1978. Estimating the dimension of a model. The annals of statistics. 6: 462-464

Bibliografía

Seber, G. A. F. y Wild, C. J. 2003. Nonlinear regression. John Wiley & Sons. New York. 512 pp.

Sewell, M. 2008. Model Selection. University College of London. Department Computer Science. 7 pp.

Sheater, S. J. 2009. A modern approach to regression with R. Springer. Heidelberg. 397 pp.

Sheskin, D. J. 2004. Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures. CRC Press. Boca Raton. 1184 pp.

Shonkwiler, R. W. y Mendivil, F. 2009. Explorations in Monte Carlo methods. Springer. Dordrecht. 248 pp.

Snee, R. D. 1977. Validation of regression models: Methods and examples Technometrics. 19: 415-428

Sniffen, C. J., O'Connor, J. D., Soest, P. J. V., Fox, D. G. y Russell, J. B. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets Journal of Animal Science. 70: 3562-3577

Sobol, I. M. 1974. The Monte Carlo method. The University of Chicago Press. Chicago. 72 pp. 1-7.

Sobol, I. M. 1994. A primer for the Monte Carlo method. CRC Press. Boca Raton. 124 pp.

Sokal, R. y Rohlf, J. 1995. Biometry: the principles of statistic en biological research. W. H. Freeman and Co. New York. 353 pp.

Bibliografía

Sosa, A., Elías, A., García, O. A. y Sarmiento, M. 2004. Aislamiento y caracterización fenotípica parcial de cepas de rizobios que nodulan leguminosas rasteras. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 38: 197

Sosa, A., Galindo, J., Bocourt, R., Rodríguez, R., Albelo, N. y Oramas, A. 2010. Efecto de *Aspergillus oryzae* en la fermentación ruminal del *Pennisetum purpureum* mediante la técnica de producción de gas in vitro. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 44: 155-161

Sosa, A. 2011. *Aspergillus oryzae* H/6.28.1 como activador ruminal de alimentos fibrosos en condiciones in vitro. Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias. Departamento Fisiología. San José, Mayabeque. 121 pp.

SPSS_Inc. 2006. SPSS.

Steyeberg, E. W. y Harrell, F. E. 2011. Validation of predictive regression model. Conferencia impartida en Erasmus University Medical Center. Rotterdam

Thornley, J. H. M. y France, J. 2007. *Mathematical Models in Agriculture*. CAB International. Oxon. 889 pp.

Toro, E. F. 2009. *Rieman solvers and numerical methods for fluid dynamics*. Springer. Berlin. pp.

Torres, V. y Ortiz, J. 2005. Aplicaciones de la modelación y simulación a la producción y alimentación de animales de granjas. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 39: 397-405

Toutenbourg, H. 2002. *Statistical analysis of designed experiments*. Springer-Verlag. New York. pp. 517.

Tung, K. K. 2004. *Topics in mathematical models*. University of Washington. 196

Bibliografía

Velten, K. 2009. Mathematical modeling and simulation. Introduction for scientist and engineers. Wiley-VCH Verlag GmbH. & Co. Weinheim. 364 pp.

Wasserman, L. 2006. All of nonparametric statistics. Springer New York. 272 pp.

Yoshihara, K.-I. y Kanagawa, S. 2009. Change point problems in nonlinear regression estimation with dependent observations. *Nonlinear Analysis*. 71: 2152-2163

Yu, Q., Nosonovsky, M. y Esche, S. K. 2008. On the accuracy of Monte Carlo pots models for grain growth. *Journal of computational methods in sciences and engineering*. 8: 227-243

ANEXO 1

Valores de los parámetros de cada curva simulada para evaluar la sensibilidad de las pruebas de homogeneidad de modelos

Tabla A1 Experimento CUBA

Tratamientos	Variación del parámetro	Parámetros simulados		
		A*	b*	c*
0	T_0	174.467	4.753	0.077
1	A_1	176.212	4.753	0.077
2	A_2	177.956	4.753	0.077
3	A_3	179.701	4.753	0.077
4	A_4	181.446	4.753	0.077
5	A_5	183.190	4.753	0.077
6	A_6	184.935	4.753	0.077
7	A_7	186.680	4.753	0.077
8	A_8	188.424	4.753	0.077
9	A_9	190.169	4.753	0.077
10	A_10	191.914	4.753	0.077
11	b_1	174.467	4.801	0.077
12	b_2	174.467	4.848	0.077
13	b_3	174.467	4.896	0.077
14	b_4	174.467	4.943	0.077
15	b_5	174.467	4.991	0.077
16	b_6	174.467	5.038	0.077
17	b_7	174.467	5.086	0.077
18	b_8	174.467	5.133	0.077
19	b_9	174.467	5.181	0.077
20	b_10	174.467	5.228	0.077
21	c_1	174.467	4.753	0.078
22	c_2	174.467	4.753	0.079
23	c_3	174.467	4.753	0.079
24	c_4	174.467	4.753	0.080
25	c_5	174.467	4.753	0.081
26	c_6	174.467	4.753	0.082
27	c_7	174.467	4.753	0.082
28	c_8	174.467	4.753	0.083
29	c_9	174.467	4.753	0.084
30	c_10	174.467	4.753	0.085

ANEXO 1 (Continuación)

Tabla A2 Experimento BRASIL

Tratamientos	Variación del parámetro	Parámetros simulados		
		A*	b*	c*
0	Control	335.434	3.753	0.096
1	A_1	335.434	3.753	0.096
2	A_2	335.434	3.753	0.096
3	A_3	335.434	3.753	0.096
4	A_4	335.434	3.753	0.096
5	A_5	335.434	3.753	0.096
6	A_6	335.434	3.753	0.096
7	A_7	335.434	3.753	0.096
8	A_8	335.434	3.753	0.096
9	A_9	335.434	3.753	0.096
10	A_10	335.434	3.753	0.096
11	b_11	335.434	3.753	0.096
12	b_12	335.434	3.753	0.096
13	b_13	335.434	3.753	0.096
14	b_14	335.434	3.753	0.096
15	b_15	335.434	3.753	0.096
16	b_16	335.434	3.753	0.096
17	b_17	335.434	3.753	0.096
18	b_18	335.434	3.753	0.096
19	b_19	335.434	3.753	0.096
20	b_20	335.434	3.753	0.096
21	c_6	335.434	3.753	0.096
22	c_7	335.434	3.753	0.096
23	c_8	335.434	3.753	0.096
24	c_9	335.434	3.753	0.096
25	c_10	335.434	3.753	0.096
26	c_11	335.434	3.753	0.096
27	c_12	335.434	3.753	0.096
28	c_13	335.434	3.753	0.096
29	c_14	335.434	3.753	0.096
30	c_15	335.434	3.753	0.096

ANEXO 1 (Continuación)

Tabla A3 Experimento COLOMBIA

Tratamientos	Variación del parámetro	Parámetros simulados		
		A*	b*	c*
0	Original	17.970	3.210	0.130
1	A_1	18.150	3.210	0.130
2	A_2	18.513	3.210	0.130
3	A_3	19.068	3.210	0.130
4	A_4	19.831	3.210	0.130
5	A_5	20.822	3.210	0.130
6	A_6	22.072	3.210	0.130
7	A_7	23.617	3.210	0.130
8	A_8	25.506	3.210	0.130
9	A_9	27.802	3.210	0.130
10	A_10	30.582	3.210	0.130
11	b_1	17.970	3.242	0.130
12	b_2	17.970	3.274	0.130
13	b_3	17.970	3.306	0.130
14	b_4	17.970	3.338	0.130
15	b_5	17.970	3.371	0.130
16	b_6	17.970	3.403	0.130
17	b_7	17.970	3.435	0.130
18	b_8	17.970	3.467	0.130
19	b_9	17.970	3.499	0.130
20	b_10	17.970	3.531	0.130
21	c_1	17.970	3.210	0.131
22	c_2	17.970	3.210	0.133
23	c_3	17.970	3.210	0.134
24	c_4	17.970	3.210	0.135
25	c_5	17.970	3.210	0.137
26	c_6	17.970	3.210	0.138
27	c_7	17.970	3.210	0.139
28	c_8	17.970	3.210	0.140
29	c_9	17.970	3.210	0.142
30	c_10	17.970	3.210	0.143

ANEXO 2

Comportamiento de las pruebas de homogeneidad de modelos para las simulaciones.

Tabla A4 Comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra. Experimento CUBA

Parámetro que varía	Diferencia (%)	No. de diferencias detectadas ($P < 0.05$)
A	A_1	51
	A_2	231
	A_3	295
	A_4	300
	A_5	300
	A_6	300
	A_7	300
	A_8	300
	A_9	300
	A_10	300
b	b_1	13
	b_2	31
	b_3	63
	b_4	121
	b_5	193
	b_6	243
	b_7	278
	b_8	296
	b_9	298
	b_10	300
c	c_1	32
	c_2	113
	c_3	214
	c_4	276
	c_5	296
	c_6	300
	c_7	300
	c_8	300
	c_9	300
	c_10	300

ANEXO 2 (Continuación)

Tabla A5. Comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra.
Experimento BRASIL

Parámetro	Diferencia (%)	No. de diferencias detectadas ($P < 0.05$)
A	A_1	31
	A_2	84
	A_3	184
	A_4	270
	A_5	294
	A_6	300
	A_7	300
	A_8	300
	A_9	300
	A_10	300
b	b_11	230
	b_12	252
	b_13	264
	b_14	268
	b_15	282
	b_16	290
	b_17	298
	b_18	298
	b_19	300
	b_20	300
c	c_6	176
	c_7	226
	c_8	256
	c_9	280
	c_10	300
	c_11	298
	c_12	299
	c_13	300
	c_14	300
	c_15	300

ANEXO 2 (Continuación)

Tabla A6. Comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra.
Experimento COLOMBIA

Parámetro	Diferencia (%)	No. de diferencias detectadas ($P < 0.05$)
A	A_1	71
	A_2	183
	A_3	280
	A_4	300
	A_5	300
	A_6	300
	A_7	300
	A_8	300
	A_9	300
	A_10	300
b	b_1	13
	b_2	50
	b_3	96
	b_4	181
	b_5	184
	b_6	284
	b_7	297
	b_8	300
	b_9	300
	b_10	300
c	c_1	36
	c_2	128
	c_3	192
	c_4	290
	c_5	299
	c_6	300
	c_7	300
	c_8	300
	c_9	300
	c_10	300

ANEXO 2 (Continuación)

Tabla A7. Comportamiento de los criterios de información. Experimento CUBA

Tto	CIA	No. dif. detect.	CIAC	No. dif. detect.	CIB	No. dif. detect.
A_1	-5.585	13	0.040	87	-14.957	2
A_2	1.153	1	6.778	299	-8.219	0
A_3	2.961	272	8.585	298	-6.411	146
A_4	12.917	300	18.541	300	3.545	282
A_5	25.034	300	30.659	300	15.662	300
A_6	39.474	300	45.099	300	30.102	300
A_7	51.629	300	57.254	300	42.257	300
A_8	72.060	300	77.685	300	62.688	300
A_9	89.850	300	95.474	300	80.478	300
A_10	498.875	300	504.499	300	489.503	300
b_1	-5.833	4	-0.208	25	-15.205	4
b_2	-5.569	4	0.056	52	-14.941	0
b_3	6.241	23	0.438	106	-14.558	0
b_4	-4.518	53	1.107	167	-13.890	4
b_5	-4.034	100	1.591	224	-13.406	17
b_6	-2.284	165	3.340	274	-11.656	37
b_7	-0.679	225	4.945	288	-10.051	69
b_8	4.195	279	9.820	298	-5.177	143
b_9	32.469	292	11.711	299	-3.285	199
b_10	38.267	298	15.242	298	0.246	252
c_1	-5.673	7	-0.048	51	-15.045	0
c_2	-5.169	41	0.456	148	-14.541	1
c_3	-3.469	136	2.155	238	-12.841	23
c_4	-0.248	226	5.377	290	-9.619	83
c_5	4.035	289	9.659	298	-5.337	193
c_6	10.998	299	16.623	299	1.626	278
c_7	17.024	300	22.649	300	7.652	295
c_8	27.157	300	32.782	300	17.785	300
c_9	75.184	300	39.817	300	24.820	300
c_10	89.770	300	49.677	300	34.681	300

ANEXO 2 (Continuación)

Tabla A8. Comportamiento de los criterios de información. Experimento BRASIL

Tto	CIA	No. dif. detect.	CIAC	No. dif. detect.	CIB	No. dif. detect.
A_1	-5.779	8	-0.174	44	-15.004	0
A_2	-5.147	28	0.457	119	-14.373	1
A_3	-4.382	115	1.223	222	-13.608	18
A_4	-1.023	213	4.582	286	-10.249	76
A_5	2.485	274	8.089	296	-6.741	157
A_6	12.131	300	17.736	300	2.906	272
A_7	15.664	300	21.269	300	6.438	293
A_8	24.984	300	30.589	300	15.759	299
A_9	33.766	300	39.371	300	24.541	300
A_10	43.224	300	48.829	300	33.998	300
b_11	-3.636	157	1.968	258	-12.862	38
b_12	-2.755	183	2.850	270	-11.980	64
b_13	-1.471	197	4.134	282	-10.697	60
b_14	-1.237	234	4.368	280	-10.463	112
b_15	0.363	255	5.967	292	-8.863	122
b_16	1.437	267	7.042	294	-7.788	153
b_17	3.717	282	9.322	300	-5.509	193
b_18	5.262	289	10.867	300	-3.963	215
b_19	6.955	296	12.560	300	-2.270	233
b_20	7.058	295	12.662	300	-2.168	247
c_6	-4.422	98	1.183	213	-13.648	12
c_7	-2.734	150	2.871	252	-11.959	28
c_8	-0.875	199	4.730	286	-10.100	61
c_9	-0.767	236	4.838	287	-9.993	103
c_10	2.739	300	7.344	300	92.514	150
c_11	4.739	281	9.759	300	-5.072	201
c_12	6.381	294	11.986	300	-2.844	233
c_13	10.251	298	15.856	300	1.026	268
c_14	13.293	299	18.897	300	4.067	284
c_15	15.273	300	20.877	300	6.047	292

ANEXO 2 (Continuación)

Tabla A9. Comportamiento de los criterios de información. Experimento COLOMBIA

Tto	CIA	No. dif. detect.	CIAC	No. dif. detect.	CIB	No. dif. detect.
A_1	-5.503	8	0.389	44	-18.530	1
A_2	-3.983	28	1.910	119	-17.009	7
A_3	0.494	115	6.387	222	-12.532	76
A_4	8.511	213	14.404	286	-4.515	223
A_5	19.763	274	25.656	296	6.736	292
A_6	34.233	300	40.126	300	21.207	299
A_7	55.081	300	60.974	300	42.055	300
A_8	77.061	300	82.954	300	64.035	300
A_9	96.025	300	101.918	300	82.999	300
A_10	124.580	300	130.472	300	111.553	300
b_1	-5.811	157	0.082	258	-18.837	1
b_2	-5.550	183	0.343	270	-18.576	0
b_3	-5.340	197	0.553	282	-18.366	1
b_4	-3.632	234	2.261	280	-16.659	5
b_5	-4.372	255	1.521	292	-17.399	6
b_6	0.915	267	6.808	294	-12.111	75
b_7	3.735	282	9.628	300	-9.291	133
b_8	8.595	289	14.488	300	-4.431	209
b_9	11.842	296	17.735	300	-1.184	262
b_10	19.932	295	25.824	300	6.905	295
c_1	-5.788	98	0.104	213	-18.815	1
c_2	-4.875	150	1.017	252	-17.902	0
c_3	-4.318	199	1.574	286	-17.345	9
c_4	1.137	236	7.030	287	-11.889	82
c_5	6.415	300	12.308	300	-6.611	194
c_6	16.306	281	22.199	300	3.280	273
c_7	22.872	294	28.765	300	9.846	294
c_8	32.439	298	38.331	300	19.412	300
c_9	49.466	299	55.359	300	36.440	300
c_10	60.683	300	66.576	300	47.657	300

ANEXO 3

Parámetros correspondientes a los experimentos empleados en las pruebas de comparación múltiple

Tabla A10. Simulación 1

Tratamientos	Variación del parámetro	Parámetros simulados		
		A*	b*	c*
0	Original	17.970	3.210	0.130
1	A_10	30.582	3.210	0.130
2	b_10	17.970	3.531	0.130
3	c_10	17.970	3.210	0.143

Tabla A11. Simulación 2

Tratamientos	Variación del parámetro	Parámetros simulados		
		A*	b*	c*
0	Original	17.970	3.210	0.130
1	A_5	20.822	3.210	0.130
2	b_5	17.970	3.371	0.130
3	c_5	17.970	3.210	0.137

Tabla A12. Simulación 3

Tratamientos	Variación del parámetro	Parámetros simulados		
		A*	b*	c*
0	Original	17.970	3.210	0.130
1	A_5	20.822	3.210	0.130
2	A_10	30.582	3.210	0.130
3	b_5	17.970	3.371	0.130
4	b_10	17.970	3.531	0.130
5	c_5	17.970	3.210	0.137
6	c_10	17.970	3.210	0.143

ANEXO 3 (Continuación)

Tabla A13 Simulación 4

Tratamientos	Variación del parámetro	Parámetros simulados		
		A*	b*	c*
0	Original	17.970	3.210	0.130
1	A_1	18.150	3.210	0.130
2	A_2	18.513	3.210	0.130
3	A_3	19.068	3.210	0.130
4	A_4	19.831	3.210	0.130
5	A_5	20.822	3.210	0.130
6	A_6	22.072	3.210	0.130
7	A_7	23.617	3.210	0.130
8	A_8	25.506	3.210	0.130
9	A_9	27.802	3.210	0.130
10	A_10	30.582	3.210	0.130
11	b_1	17.970	3.242	0.130
12	b_2	17.970	3.274	0.130
13	b_3	17.970	3.306	0.130
14	b_4	17.970	3.338	0.130
15	b_5	17.970	3.371	0.130
16	b_6	17.970	3.403	0.130
17	b_7	17.970	3.435	0.130
18	b_8	17.970	3.467	0.130
19	b_9	17.970	3.499	0.130
20	b_10	17.970	3.531	0.130
21	c_1	17.970	3.210	0.131
22	c_2	17.970	3.210	0.133
23	c_3	17.970	3.210	0.134
24	c_4	17.970	3.210	0.135
25	c_5	17.970	3.210	0.137
26	c_6	17.970	3.210	0.138
27	c_7	17.970	3.210	0.139
28	c_8	17.970	3.210	0.140
29	c_9	17.970	3.210	0.142
30	c_10	17.970	3.210	0.143

ANEXO 4

Tabla A14. Matriz de las distancias entre las curvas para la simulación 4.

[illegible]

ANEXO 4 (Continuación)

[illegible]

ANEXO 4 (Continuación)

[illegible]