

REGRESSÃO NÃO LINEAR NO DESDOBRAMENTO DA INTERAÇÃO EM EXPERIMENTOS COM PARCELA SUBDIVIDIDA NO TEMPO

Alessandra dos SANTOS¹
Taciana Villela SAVIAN¹
Joel Augusto MUNIZ²

- RESUMO: Neste artigo apresenta-se o ajuste de um modelo de regressão não linear em um experimento com medida repetida no tempo. Considerou-se o ganho de peso, em quilos, de ovinos, machos e fêmeas, da raça Santa Inês em doze idades diferentes. Conduzido como parcela subdividida, em que os níveis do fator secundário são aleatorizados, a análise de variância necessita de correção dos graus de liberdade quando a condição de esfericidade não for satisfeita. A correção de Geisser e Greenhouse (G-G) foi utilizada para os efeitos da interação (tempo e sexo) e do tempo. O teste F na análise de variância apresentou resultado significativo para interação entre os fatores (tempo e sexo) e, no desdobramento da interação, para avaliação do efeito do fator tempo em cada nível do fator sexo foi proposto o ajuste do modelo Gompertz e um teste de aderência para o modelo. Pela análise proposta foi possível concluir que o modelo univariado, com medidas repetidas no tempo, pode ser utilizado em experimentos de crescimento animal, porém sua aplicação está sujeita à verificação da condição de esfericidade. Também foi verificado que incorporar, no desdobramento de interações, o ajuste do modelo Gompertz é um procedimento viável e permitiu avaliar a qualidade de ajuste do modelo aos dados, visto que o teste da falta de ajuste não foi significativo.
- PALAVRAS-CHAVE: Medida repetida; correção de Geisser Greenhouse; teste de aderência; modelo Gompertz.

¹Universidade São Paulo – USP, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ, Departamento Ciências Exatas, CEP: 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil. E-mail: alessandra.oi@yahoo.com.br / tacianavillela@gmail.com

²Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Ciências Exatas, Caixa Postal 3037 - CEP 37200-000 - Lavras, MG, Brasil. E-mail: joamuniz@dex.ufla.br

1 Introdução

Na análise dos dados experimentais, o pesquisador faz inferência com base nos diversos testes estatísticos. No entanto, para que as conclusões dos testes sejam corretos é de fundamental importância que o pesquisador conheça os tipos de fatores, as variáveis resposta, os tratamentos e o delineamento envolvido em seu trabalho (BERTOLDO, et. al. 2008). Ou seja, é necessário um bom planejamento experimental (BARBIN, 2003).

Segundo Devore (2006), a análise de variância (ANOVA) constitui um procedimento estatístico adequado para a avaliação de respostas quantitativas obtidas em experimentos planejados. Banzatto e Kronka (2006), destacam que a ANOVA permite a decomposição da variância total e seus graus de liberdade em uma parte atribuída a fatores controlados de causas conhecidas e a uma porção devida a fatores não controlados, de origem desconhecida e natureza aleatória, chamada de erro experimental. O uso correto da ANOVA exige que os resultados experimentais sejam descritos por um modelo aditivo, com erros independentes, homocedásticos e com distribuição normal.

Se a pesquisa consiste em investigar dois ou mais fatores de interesse, em todas as combinações dos níveis dos fatores, tem-se um experimento fatorial, que apresenta como vantagem o estudo da interação dos diferentes níveis dos fatores envolvidos (MONTGOMERY e RUNGER, 2003). No entanto em algumas situações envolvendo estudo de fatores, parte das exigências do modelo deixa de ser atendida. É o caso de experimentos com medidas repetidas tomadas em indivíduos no tempo, que segundo Steel e Torrie (1980) podem ser considerados como experimentos em parcela subdividida, nos quais são avaliadas as variações de respostas globais e individuais nos tempos, o que exige a definição de pelo menos um fator intra-indivíduos, indicando as variáveis que conterão as medidas repetidas (NEMEC, 1996).

Gomes (1990) considera que a estrutura do experimento em parcela subdividida é caracterizada por tratamentos principais ou primários atribuídos às parcelas, as quais são divididas em subparcelas que recebem os tratamentos secundários. Jones e Nachtsheim (2009) afirmam que o experimento em parcela subdividida apresenta estrutura de blocagem, sendo que as parcelas inteiras constituem unidades experimentais para um subconjunto do fator das subparcelas.

De acordo com a estrutura da aleatorização presente no experimento em parcelas subdivididas tem-se o erro experimental referente às observações feitas nas parcelas, bem como o erro experimental secundário associado às subparcelas. No caso de medidas tomadas no tempo, o erro da subparcela, além das exigências de independência, homocedasticidade e normalidade, deve atender a condição de esfericidade, ou seja, a matriz de covariância dos dados em relação ao fator secundário, o tempo, (Σ) deve satisfazer a condição de uniformidade, apresentando uma estrutura chamada de simetria composta, para que a distribuição F seja exata (Huynh e Feldt, 1970). Esta condição exige que as medidas da variável aleatória feitas nos diferentes tempos sejam igualmente correlacionadas e com variâncias

iguais, ou seja, que tenha a estrutura:

$$\Sigma = \begin{pmatrix} \sigma^2 + \sigma_1^2 & \sigma_1^2 & \cdots & \sigma_1^2 \\ \sigma_1^2 & \sigma^2 + \sigma_1^2 & \cdots & \sigma_1^2 \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \sigma_1^2 & \sigma_1^2 & \cdots & \sigma^2 + \sigma_1^2 \end{pmatrix}_{t \times t} \quad (1)$$

em que: σ^2 é a variância associada às subparcelas, ou intra-indivíduos, σ_1^2 é a variância associada às parcelas, ou entre indivíduos, t é o número de níveis do fator tempo e $j = (1, \dots, t)$.

A condição necessária e suficiente para validação da análise de variância de parcelas subdividida no tempo, denominada condição de Huynh-Feldt (H-F), exige que as variâncias da diferença entre pares de erros sejam todas iguais, ou seja, $\sigma_{jj'} = \frac{\sigma_j^2 + \sigma_{j'}^2}{2} - \lambda$, e $\sigma_{jj} = \sigma_j^2$, λ é uma constante positiva.

Fernandez (1991), afirma que dependendo da heterogeneidade de variâncias e covariâncias encontrada na matriz (Σ), o poder do teste pode ser reduzido, a probabilidade de ocorrência do erro tipo I pode aumentar e, em consequência, os resultados dos testes se tornam inválidos. Quando a condição de esfericidade da matriz Σ não é satisfeita os autores Box (1954), Geisser e Greenhouse (1958) e Huynh e Feldt (1976), sugerem, como alternativa, correções nos graus de liberdade para o fator tempo e para a interação entre tratamentos e tempo, possibilitando que esses testes possam ser usados, de forma aproximada.

Malheiros (2004), trabalhando com simulação de dados balanceados e desbalanceados com diferentes estruturas de variância e covariâncias, concluiu que tanto para efeito de tempo como para a interação, tratamento \times tempo, a correção de Huynh e Feldt para os testes F da análise da variância foram imprecisos, ou seja, mesmo com a correção, o teste foi influenciado pela estrutura da matriz Σ e do balanceamento ou não dos dados, apresentando resultados diferentes para as diferentes simulações. Já com a correção de Greenhouse e Geisser, os resultados foram considerados precisos, pois independente das simulações as análises F foram coerentes com o resultado esperado. Em um trabalho anterior, Littell, et al. (1998), também relataram este resultado.

Sendo significativa a interação entre o fator das parcelas e tempo, é interessante explorar mais as combinações dos fatores detalhando mais seus efeitos. Como o fator tempo é quantitativo o desdobramento da interação deve utilizar a técnica de regressão (BANZATO e KRONKA, 2006). No estudo de regressão de acordo com Souza (1998) existem os modelos lineares nos parâmetros e os não-lineares. Em geral, na ANOVA de experimentos com fator quantitativo, é mais comum a utilização de modelos lineares do tipo polinomial, embora nem sempre sejam mais adequados, sobretudo em estudos de crescimento de espécies.

Segundo Malhado, et al. (2008), curvas de crescimento podem ser utilizadas para descrever o crescimento do animal ao longo do tempo, auxiliando no estabelecimento de programas alimentares e na definição da idade ótima de abate.

Modelos matemáticos não-lineares, desenvolvidos empiricamente para relacionar peso e a idade, têm-se mostrado adequados para descrever a curva de crescimento em diferentes espécies de animais. Esses modelos permitem que conjuntos de informações em séries de peso por idade sejam condensados num pequeno número de parâmetros, para facilitar a interpretação e o entendimento do fenômeno (OLIVEIRA et al., 2000).

Santos et al. (2001), estudando o crescimento de ovinos da raça Santa Inês desde o nascimento, mostraram que, em condições ambientais adequadas, a curva descrita é do tipo sigmóide, havendo aceleração da sua velocidade até que a puberdade seja atingida, diminuindo gradativamente até a maturidade. Para estudos semelhantes, Sarmiento et al. (2006) e Guedes et al. (2004) obtiveram ajustes adequados do modelo de Gompertz para dados de pesos de ovinos desta mesma raça. Sendo encontrado inúmeros trabalhos na literatura referentes a curvas de crescimento, e a técnica de modelos mistos é utilizada para adequar a heterogeneidade encontrada em \sum sem necessitar de correção dos graus de liberdade. Segundo Hauser et al. (2009), assume-se que os coeficientes de regressão das curvas individuais são de efeitos aleatórios, variando de unidade experimental para unidade experimental e os coeficientes de regressão das curvas médias, efeitos fixos.

No entanto esta técnica não foi empregada neste estudo que teve como objetivo principal considerar o ajuste de um modelo de regressão não-linear aos dados de crescimento de ovinos, machos e fêmeas, da raça Santa Inês, provenientes de um experimento em parcela subdividida, em que foi realizado teste de aderência referente ao modelo não-linear Gompertz.

2 Material e métodos

Neste trabalho foram utilizados os pesos, em kg, de sete ovinos machos e sete fêmeas da raça Santa Inês, tomados em 12 tempos consecutivos. Considerou-se um delineamento inteiramente casualizado, em esquema de parcela subdividida, sendo sexo (macho e fêmea) o fator da parcela e tempo o fator tomado como subparcela na forma de medida repetida, anotando-se os pesos de cada animal em 12 ocasiões com intervalos de 30 dias.

Um modelo estatístico adequado para este tipo de experimento é dado por:

$$y_{ijk} = \mu + s_i + e_{(i)k} + t_j + st_{ij} + \varepsilon_{(ij)k} \quad (2)$$

em que: y_{ijk} refere-se ao peso do k -ésimo animal, do i -ésimo sexo, no j -ésimo tempo; μ é uma constante inerente a todas as observações; s_i é o efeito do i -ésimo sexo; $e_{(i)k}$ é o erro associado às parcelas, com distribuição normal de média zero e variância σ_1^2 ; t_j é o efeito do j -ésimo tempo de mensuração do peso; st_{ij} é o efeito da interação entre o i -ésimo sexo e j -ésimo tempo; $\varepsilon_{(ij)k}$ é o erro experimental associado às subparcelas, com distribuição normal de média zero e variância σ^2 ; $i = 1, 2$; $j = 1, 2, \dots, 12$ e $k = 1, 2, \dots, 7$.

As pressuposições em relação ao modelo foram avaliadas por meio de análises gráficas e testes estatísticos, sendo que a normalidade dos resíduos foi verificada pela inspeção gráfica do *Normal Plot* e pelo teste de Shapiro Wilk (1965), a homogeneidade de variâncias da variável resposta é observada pelos gráficos de dispersão, valores estimados e matriz de variâncias e covariâncias com relação ao tempo, analisando a falta de uniformidade por meio do teste de Mauchly (1940).

Como as avaliações de peso dos animais foram realizadas ao longo do tempo, espera-se que a pressuposição de esfericidade não seja satisfeita. Portanto, como artifício para análise, a correção nos graus de liberdade envolvendo o fator tempo é indicada, utilizando-se a correção de Geisser e Greenhouse, dada por:

$$\hat{G} = \frac{[tr(\mathbf{M}\hat{\Sigma}\mathbf{M}')]^2}{(t-1)tr(\mathbf{M}\hat{\Sigma}\mathbf{M}')^2} \quad (3)$$

em que: \mathbf{M} é a matriz de coeficientes dos contrastes ortogonais, sobre t medidas repetidas, tal que $t = 12$, e $\hat{\Sigma}$ matriz de covariâncias estimada.

Assim, por meio de soluções univariadas aproximadas, sob H_0 os testes F para os fatores tempo e sexo \times tempo têm distribuições aproximadas F centrais, com $(j-1)\hat{G}$ e $i(k-1)(j-1)\hat{G}$; $(g-1)(j-1)\hat{G}$ e $i(k-1)(j-1)\hat{G}$ graus de liberdade ajustados, respectivamente.

Com a interação sexo \times tempo significativa, o comportamento das respostas médias em função da idade para cada um dos sexos é de interesse. Portanto, ajusta-se o modelo não-linear Gompertz¹, descrito pela seguinte expressão:

$$\bar{y}_{ij} = \alpha_i + (\beta_i - \alpha_i) \exp\{-\exp(\gamma_i - \tau_i x_j)\} + e_{ij} \quad (4)$$

sendo: \bar{y}_{ij} o peso médio dos animais do i -ésimo sexo no j -ésimo tempo; x_j é o tempo de avaliação do peso, em dias; α_i representa o peso assintótico quando x_j tende a menos infinito; β_i é o valor de estabilização do peso em relação ao tempo; γ_i está relacionado com o intercepto, ou seja, com o peso ao nascimento, e τ_i taxa média de crescimento; e_{ij} é o erro experimental.

A estimação dos parâmetros de modelos não lineares é feita por métodos iterativos o que resulta na necessidade de valores iniciais. Portanto, para o modelo apresentado em (4), verifica-se que se $x_j = 0 \Rightarrow \hat{y}_{ij} = \hat{\alpha}_i + (\hat{\beta}_i - \hat{\alpha}_i) \exp\{-\exp(\hat{\gamma}_i)\}$, sendo uma estimativa do peso dos animais recém nascidos.

Para a obtenção dos valores iniciais dos parâmetros, que são necessários ao processo iterativo, com base em Souza (1998), considerou-se α_i e β_i como valores mínimos e máximos de pesagem, respectivamente, para cada sexo. Calculando-se o limite de \bar{y}_{ij} quando x_j tende a menos infinito e mais infinito, tem-se:

¹Dedução do modelo encontra-se no apêndice

$$\begin{aligned} \lim_{x_j \rightarrow -\infty} (\alpha_i + (\beta_i - \alpha_i) \exp\{-\exp(\gamma_i - \tau_i x_j)\}) &= \alpha_i + (\beta_i - \alpha_i) \cdot 0 = \alpha_i \\ \lim_{x_j \rightarrow \infty} (\alpha_i + (\beta_i - \alpha_i) \exp\{-\exp(\gamma_i - \tau_i x_j)\}) &= \alpha_i + (\beta_i - \alpha_i) \cdot 1 = \beta_i \end{aligned} \quad (5)$$

No entanto, na prática não se tem $x_j \rightarrow -\infty$, pois x_j é o tempo de pesagem definido para $0 \leq x_j \leq 330$ dias. Portanto espera-se que $x_j \rightarrow 0$, $(\hat{\beta}_i - \hat{\alpha}_i) \exp\{-\exp(\hat{\gamma}_i)\} \rightarrow 0 \Rightarrow \hat{y}_{ij} \rightarrow \hat{\alpha}_i$.

Os valores iniciais para os parâmetros γ_i e τ_i foram obtidos por meio da linearização da função Gompertz, como se segue:

$$\begin{aligned} \bar{y}_{ij} = \alpha_i + (\beta_i - \alpha_i) \exp\{-\exp(\gamma_i - \tau_i x_j)\} &\Leftrightarrow \frac{\bar{y}_{ij} - \alpha_i}{(\beta_i - \alpha_i)} = \exp\{-\exp(\gamma_i - \tau_i x_j)\} \\ &\Leftrightarrow \ln\left(\frac{\bar{y}_{ij} - \alpha_i}{(\beta_i - \alpha_i)}\right) = -\exp(\gamma_i - \tau_i x_j) \\ &\Leftrightarrow \ln\left(-\ln\left(\frac{\bar{y}_{ij} - \alpha_i}{(\beta_i - \alpha_i)}\right)\right) = \gamma_i - \tau_i x_j \\ &\Leftrightarrow Y_{ij}^* = \gamma_i + (-\tau_i)x_j \end{aligned} \quad (6)$$

Portanto, α_i^0 será o valor mínimo de \bar{y}_{ij} ; β_i^0 o valor máximo de \bar{y}_{ij} ; γ_i^0 e τ_i^0 , o intercepto e coeficiente angular da reta definida em (6), ou seja,

$$\theta^0 \underset{\sim}{=} \begin{bmatrix} \alpha_i^0 \\ \beta_i^0 \\ \gamma_i^0 \\ \tau_i^0 \end{bmatrix} \quad (7)$$

Assim, com o método dos mínimos quadrados e o método iterativo de Gauss Newton, ajusta-se o modelo Gompertz (eq. 4) aos dados de pesagem de ovinos e verifica-se a qualidade desta modelagem pelo teste da falta de ajuste, ou teste de aderência dentro da análise de variância conforme procedimento apresentado por Savian et al. (2007) em experimentos de degradabilidade ruminal, onde se avaliou o ajuste do modelo não-linear de Orskov & McDonald. Em Gomes (1990) também se encontra o teste para falta de ajuste para o modelo de Mitscherlich considerando um experimento de adubação segundo esquema fatorial, no entanto, o autor, obteve as estimativas dos parâmetros com base a deduções conhecidas e não em procedimentos iterativos.

As análises deste trabalho foram realizadas considerando o nível nominal de significância de 5%.

3 Resultados e discussão

Conforme a metodologia proposta, foram realizadas as análises do experimento, obtendo-se os resultados que seguem:

3.1 Análise exploratória dos dados e pressuposições do modelo

Pelo gráfico de dispersão (Figura 1), observa-se o crescimento dos animais conforme o sexo. Nota-se que os pesos das fêmeas, em geral, são inferiores aos pesos dos machos. Em relação a variação dos pesos verifica-se, que há diferença na dispersão dos dados em função do tempo, sendo que os animais quando mais novos, apresentam pesos semelhantes e à medida que a idade avança a variabilidade dos pesos aumenta, o que pode ser decorrente do efeito ambiental, visto que inicialmente todos tem efeito genético parecido, pois são provenientes da mesma raça e grau de parentesco. Observa-se ainda, que os pesos das fêmeas são, como um todo, menos dispersos que o peso dos machos, porém a mediana é praticamente a mesma para ambos os sexos.

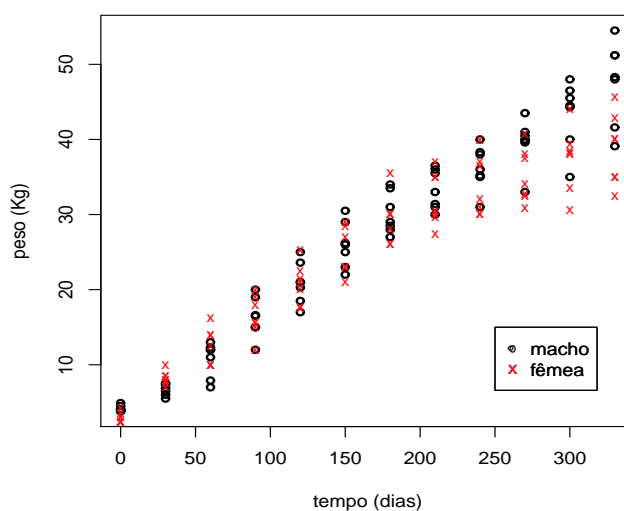


Figura 1 - Dispersão dos valores amostrados, conforme tempo e sexo.

Os valores de média e variância das pesagens para cada tempo, podem ser observados na Tabela 1 onde se verifica, para ambos os sexo, o aumento na variabilidade das pesagens em função do tempo de avaliação, bem como uma ligeira inferioridade dos pesos médios das fêmeas em relação ao peso médio dos machos. Nota-se ainda que até 270 dias a variabilidade dos machos é inferior a das fêmeas. A partir desta idade o comportamento se inverte.

Tabela 1 - Valores médios e variância (kg) dos ovinos, na combinação dos níveis dos fatores (tempo e sexo)

Dias	macho		fêmea	
	variância	média	variância	média
0	0,17	4,14	0,46	2,99
30	0,61	6,74	0,90	8,21
60	5,47	10,74	6,14	12,39
90	7,16	16,30	7,36	16,44
120	7,57	20,91	7,24	20,74
150	9,21	25,96	10,04	24,93
180	7,56	30,14	10,56	29,36
210	7,04	33,34	12,69	32,07
240	8,60	36,21	15,78	33,77
270	10,29	39,63	13,04	35,16
300	19,89	43,40	18,53	37,46
330	30,39	47,70	22,48	38,69

Na Figura 2 visualiza-se a adequação da distribuição normal aos erros, em que a não significância do teste de Shapiro-Wilk ($p=0,4695$) e o comportamento dos resíduos apresentado na Figura 2 indicam que os erros tem distribuição aproximadamente normal.

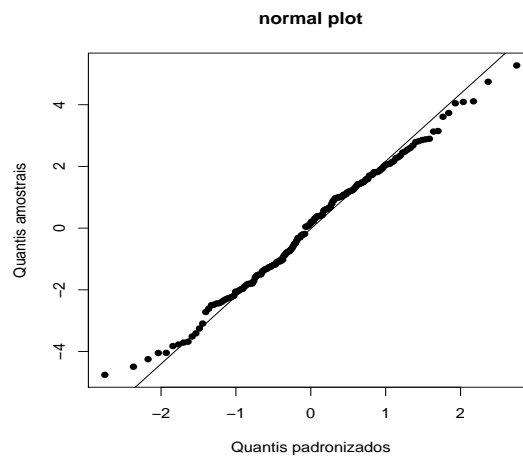


Figura 2 - Normal plot dos resíduos da subparcela.

Observa-se na Figura 3 a dispersão dos resíduos, que estão compreendidos entre -4,5 e 4,5, o que é superior ao valor esperado que seria de -3 a 3 ao nível de significância de 5%. Além disso, nota-se uma heterogeneidade na combinação sexo × tempo, o que era de se esperar, visto que um dos fatores é o tempo e já observado nas variâncias apresentadas na Tabela 1.

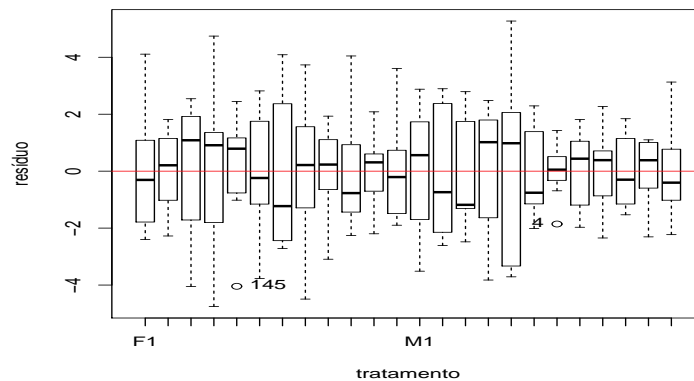


Figura 3 - Box-plot dos resíduos amostrados versus tratamentos, começando com a combinação fêmea no tempo 1, até macho no tempo 12.

A matriz a seguir apresenta na parte superior os valores das covariâncias, na diagonal as variâncias e na parte inferior as correlações dos valores amostrados com relação ao tempo.

$$\begin{bmatrix}
 \mathbf{0,65} & -0,36 & -0,46 & -0,02 & 0,26 & 0,60 & 0,56 & 0,74 & 1,08 & 1,74 & 2,21 & 3,38 \\
 -0,39 & \mathbf{1,28} & 2,12 & 1,63 & 1,06 & 0,72 & 0,12 & -0,72 & -1,42 & -1,82 & -1,76 & -2,35 \\
 -0,23 & 0,76 & \mathbf{6,09} & 4,47 & 2,60 & 3,54 & 1,78 & -0,03 & -0,62 & -0,27 & 0,92 & -0,94 \\
 -0,01 & 0,55 & 0,70 & \mathbf{6,71} & 5,97 & 6,68 & 4,42 & 2,16 & 1,96 & 2,36 & 4,17 & 4,73 \\
 0,12 & 0,36 & 0,40 & 0,88 & \mathbf{6,84} & 6,85 & 5,71 & 3,76 & 4,22 & 4,40 & 6,43 & 7,97 \\
 0,24 & 0,21 & 0,47 & 0,85 & 0,86 & \mathbf{9,17} & 6,87 & 4,42 & 4,61 & 5,50 & 8,42 & 8,72 \\
 0,24 & 0,03 & 0,24 & 0,58 & 0,75 & 0,77 & \mathbf{8,53} & 7,78 & 7,89 & 8,23 & 10,13 & 11,21 \\
 0,30 & -0,20 & 0,00 & 0,27 & 0,46 & 0,47 & 0,86 & \mathbf{9,54} & 10,20 & 10,05 & 10,26 & 12,21 \\
 0,37 & -0,35 & -0,07 & 0,21 & 0,45 & 0,42 & 0,75 & 0,92 & \mathbf{12,86} & 13,31 & 14,17 & 16,73 \\
 0,54 & -0,40 & -0,03 & 0,22 & 0,42 & 0,45 & 0,70 & 0,81 & 0,92 & \mathbf{16,15} & 19,55 & 23,81 \\
 0,52 & -0,30 & 0,07 & 0,31 & 0,47 & 0,53 & 0,66 & 0,63 & 0,75 & 0,79 & \mathbf{27,24} & 33,25 \\
 0,61 & -0,30 & -0,05 & 0,27 & 0,45 & 0,42 & 0,56 & 0,58 & 0,68 & 0,87 & 0,93 & \mathbf{46,28}
 \end{bmatrix} \quad (8)$$

Os valores das covariâncias, elementos acima da diagonal principal da matriz (eq. 8), para o fator tempo, são diferentes e revelam a existência de correlação, o que pode ser observado pelos elementos abaixo da diagonal principal. Nota-se, com as correlações, que entre os tempos maiores elas são mais fortes e positivas, exemplo a correlação entre 300 e 330 dias é de 0,93, já entre tempos menores e mais distantes há uma grande variação entre correlações fracas e moderadas, positivas e negativas, veja que a correlação entre 60 e 330 dias é de -0,05 e a entre 60 e 90 dias é de 0,70. Portanto, conforme a distância entre os tempos aumenta a correlação tende a ser fraca e a correlação entre tempos mais próximos e mais elevados tende a

ser cada vez mais forte, salvo algumas excessões. Isso acontece devido ao aumento da variância, observada na Tabela 1 e na diagonal principal da eq. 8, e do aumento em valor absoluto da covariância (elementos acima da diagonal principal da matriz da eq. 8). Verifica-se no teste de esfericidade que a estatística de Mauchly é muito pequena ($W=0$), o que resulta em um nível descritivo de $3,121.10^{-11}$. Portanto não é satisfeita a condição de esfericidade do modelo, sendo que a análise em parcela subdividida deve ser realizada com a correção dos graus de liberdade das causas de variação referentes a subparcela. O fator de correção dos graus de liberdade obtido pelo método de Geisser e Greenhouse (G-G) é dado por $\hat{G} = 0,2719$.

Os resultados obtidos com o teste de esfericidade foram concordantes com estudos envolvendo medidas ao longo do tempo realizadas com cana-de-açúcar (FREITAS, et. al.,2008) e em testes de coagulação (PARK, CHO e KI, 2009). Estes também apresentaram heterogeneidade na estrutura da matriz de covariâncias e rejeição do teste de Mauchly.

3.2 Análise de variância com correção G-G dos graus de liberdade

Satisfeitas parcialmente as pressuposições da ANOVA e verificada a necessidade de correção dos graus de liberdade, ajustou-se o modelo (2) com as seguintes hipóteses:

$$H_0: (st)_{11} = (st)_{12} = \dots = (st)_{112} = (st)_{21} = \dots = (st)_{212} = 0$$

$$H_a: \text{existe pelo menos um efeito } (st)_{ij} \text{ diferente de zero, } i = 1, 2 \text{ e } j = 1, 2, \dots, 12.$$

Pela Tabela 2, pode-se verificar que a variabilidade associada à interação (tempo \times sexo) é 6,53 vezes superior a variabilidade devido ao acaso, ou a variabilidade residual associada a subparcela, isso corresponde a um nível descritivo de 0,0012, o que indica haver diferença significativa entre a combinação dos fatores, rejeitando a hipótese nula. Este resultado também foi verificado por Costa Jr. et al. (2006), que pesquisou o efeito da interação sexo e tempo (3 idades diferentes) tanto para o peso corporal quanto para as medidas morfométricas desta raça. Perceba que a correção GG, aplicada as causas de variação envolvendo tempo, interferem diretamente no valor p ou nível descritivo dos teste e não nos valores de F_{calc} , pois estes são os mesmo para a análise com ou sem a correção, visto que:

$$F_{\text{calc}}(\text{tempo}) = \frac{Q.M.(\text{tempo})}{Q.M.(\text{erros sub.})} = \frac{\frac{S.Q(\text{tempo})}{11 \times \hat{G}}}{\frac{S.Q.(\text{erros sub.})}{132 \times \hat{G}}} = \frac{\frac{S.Q(\text{tempo})}{11}}{\frac{S.Q.(\text{erros sub.})}{132}}.$$

Assim, podemos dizer que a correção influencia diretamente na conclusão do teste da análise de variância.

Tabela 2 - Quadro da ANOVA com correção G-G para os dados de peso de ovinos

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F _{calc}	valor p
Sexo	1	154,68	154,68	2,50 ^{n.s.}	0,140
Erro parcela	12	741,31	61,77		
Tempo	2,99	27192,60	9094,51	470,58*	< 0,001
Tempo × sexo	2,99	377,60	126,29	6,53*	0,001
Erro subparcela	35,90	693,90	19,32		
Total	167	29160,14			

n.s = não significativo; * = difere ao nível de 5%.

Uma vez verificado um efeito significativo da interação entre os fatores, o próximo passo consiste em realizar o desdobramento para estudar o comportamento das médias do tempo em cada nível do fator sexo, testando as seguintes hipóteses:

H_{01} : $(st)_{11} = (st)_{12} = \dots = (st)_{112} = 0$, ou seja, os efeitos dos diferentes níveis de tempo nos pesos dos ovinos machos são todos nulos.

H_{a1} : existe pelo menos um $(st)_{1j}$ que difere dos demais.

H_{02} : $(st)_{21} = (st)_{22} = \dots = (st)_{212} = 0$, ou seja, não há efeito significativo do peso nos ovinos fêmeas com relação aos tempos.

H_{a2} : existe pelo menos um $(st)_{2j}$ que difere dos demais.

Assim, por meio da Tabela 3, verifica-se que o efeito do tempo nos pesos médios dos animais (machos e fêmeas) foi significativo. Era de se esperar dado o comportamento dos dados no gráfico de dispersão (Figura 1).

Tabela 3 - Quadro da ANOVA com desdobramento da interação tempo dentro de sexo utilizando a correção G-G

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F _{calc}	valor p
Sexo:tempo	5,98	27570,30	4607,33	238,40*	< 0,001
Tempo:sexo-macho	2,99	16346,70	5467,12	282,89*	< 0,001
Tempo:sexo-fêmea	2,99	11223,60	3753,71	194,23*	< 0,001
Erro (B)	35,89	693,90	19,32		

n.s = não significativo; * = difere ao nível de 5%.

Avaliar o efeito do fator tempo sobre a variável resposta, peso de ovinos dada sua natureza quantitativa, pode ser feita de forma mais adequada por meio de modelos de regressão. Em geral, os dados sugerem o tipo de modelo a ser ajustado. Uma inspeção mais detalhada do gráfico de dispersão (Figura 1) evidencia uma evolução do peso dos animais até aproximadamente 280 dias. A partir deste tempo de pesagem os incrementos em peso tendem a diminuir, sendo este comportamento mais evidente para fêmeas.

3.3 Desdobramento em regressão não linear

Os modelos de Gompertz ajustados aos pesos de ovinos machos e fêmeas foram os seguintes:

$$\begin{aligned}\hat{y}_{1j} &= -13,106 + (67,233 + 13,106) \exp\{-\exp(0,461 - 0,005x_j)\} \\ \hat{y}_{2j} &= -5,171 + (42,542 + 5,171) \exp\{-\exp(0,545 - 0,009x_j)\}\end{aligned}\quad (9)$$

As estimativas dos parâmetros do modelo Gompertz ajustado aos pesos de ovinos são apresentados na Tabela 4, bem como os respectivos erros-padrão, significância dos parâmetros e intervalos de 95% de confiança. Verifica-se que os parâmetros α_i e γ_i não são significativos para os modelos, isso é aceitável, pois o o peso ao nascer dos animais é muito pequeno quando comparado ao valor encontrado após 330 dias, nota-se isso com $\Pr(> |t|)$ que apresenta o nível significativo do valor encontrado pelo teste T (T_{calc}) e com o IC-95% que apresenta intervalos contendo o valor zero.

Além disso, pela dedução do modelo gompertz, γ_i está relacionado com o peso ao nascer dos animais (\hat{y}_0), logo: $\gamma_i \approx 0$. Ainda na Tabela 4, o valor máximo esperado para o peso dos animais (β_i) é de aproximadamente 67,2 kg para os machos, enquanto que para as fêmeas é de 42,5kg. Porém a taxa de crescimento é maior para as fêmeas, sendo de 0,009, o que significa que elas atingem esta estabilização máxima mais rapidamente que os machos. No entanto o erro padrão dos parâmetros para macho é superior ao das fêmeas, o que a princípio deve-se observar melhor o modelo e fazer teste para verificar se o ajuste deste modelo realmente é bom para explicar os dados.

Tabela 4 - Estimativas dos parâmetros do modelo Gompertz com os respectivos erros-padrão, significância e intervalo de 95% de confiança

	Par.	Estimativa	Erro padrão	T_{calc}	$\Pr(> t)$	IC-95%
machos	α_1	-13,106	18,685	-0,701	0,503	[-49,728; 23,517]
	β_1	67,233	14,419	4,663*	0,001	[38,971; 95,494]
	γ_1	0,461	0,443	1,041	0,328	[- 0,407; 1,328]
	τ_1	0,005	0,002	2,316*	0,049	[0,001; 0,009]
fêmea	α_2	-5,171	5,010	-1,032	0,332	[-14,991; 4,649]
	β_2	42,543	1,605	26,502*	0,000	[39,396; 45,689]
	γ_2	0,545	0,238	2,287	0,051	[0,077; 1,013]
	τ_2	0,009	0,001	7,351*	0,000	[0,006; 0,011]

Na Figura 4 fica ilustrado o ajuste do modelo Gompertz para cada sexo, observando as afirmações feitas anteriormente, pela interpretação dos parâmetros e verificando que as curvas, para macho e fêmea, estão entre os pontos médios e indicam um bom ajuste.

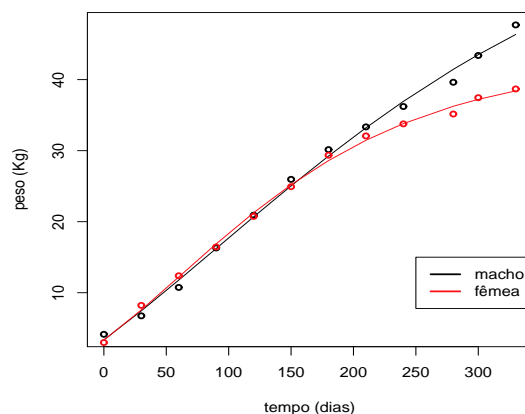


Figura 4 - Ajuste do modelo Gompertz aos pesos médios de ovinos machos e fêmeas.

Com a Tabela 5 é apresentada a análise de variância para o experimento em parcela subdividida considerando no desdobramento da interação entre os fatores (sexo \times tempo) o ajuste do modelo de regressão não linear proposto, ou seja, o modelo de Gompertz, em que para o sexo macho tem-se as seguintes hipóteses:

H_{01} : O modelo não é significativo, ou seja, o modelo Gompertz ajustado não é adequado.

H_{a1} : O modelo ajustado para os ovinos machos é significativo.

H_{02} : Não há falta de ajustamento do modelo para machos, ou seja, desvios de regressão não são significativos.

H_{a2} : Há falta de ajustamento para o modelo do sexo macho.

As mesmas hipóteses são testadas no desdobramento da interação do tempo dentro do sexo fêmea em regressão não linear.

Por meio dos resultados da análise de variância (Tabela 5), é possível verificar que o modelo Gompertz (modelo corrigido pela média) é significativo para o ajuste dos dados de peso dos animais de ambos os sexos, sendo que a variabilidade explicada pelo modelo Gompertz para os machos, é 1032,31 vezes superior a variabilidade atribuída ao acaso do resíduo da subparcela, e para as fêmeas, a razão entre as variabilidade associadas ao modelo e ao acaso é da ordem de 710,26 vezes. Além disso, nota-se que os desvios de regressão não são significativos, ou seja, não há evidências para se rejeitar a hipótese de nulidade que diz não haver falta de ajuste do modelo.

Foi feito o teste da falta de ajuste do modelo aos dados de peso de machos e fêmeas e verificou-se adequado o modelo Gompertz aos dados, não havendo falta de ajuste.

Tabela 5 - Desdobramento da ANOVA em regressão não linear

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F _{calc}	valor p
Sexo	1	154,68	154,68	2,50 ^{n.s.}	0,140
Erro parcela	12	741,31	61,77	—	
Sexo:tempo	5,98	27570,30	4607,33	238,40*	< 0,001
Macho:Tempo	2,99	16346,70	5467,12	282,89*	< 0,001
Modelo não corrigido	1,09	74244,83	68264,83	—	
Constante	0,27	57965,23	213185,80	—	
Modelo corrigido	0,81	16279,60	19950,49	1032,31*	< 0,001
Desvios de regressão	2,17	67,10	30,84	1,59 ^{n.s.}	0,210
Fêmea:Tempo	2,99	11223,60	3753,71	194,23*	< 0,001
Modelo não corrigido	1,09	61005,63	56091,97	—	
Constante	0,27	49805,49	183175,80	—	
Modelo corrigido	0,81	11200,14	13725,66	710,26*	< 0,001
Desvios de regressão	2,17	23,46	10,78	0,56 ^{n.s.}	0,590
Erro subparcela	35,90	693,90	19,32		

n.s = não significativo; * = difere ao nível de 5%.

Conclusões

A análise dos dados do referido experimento permitiu as seguintes conclusões:

- i) O modelo univariado com esquema de parcelas subdivididas pode ser utilizado em experimentos de crescimento de ovinos, onde são avaliados tempo e sexo, porém, sua aplicação está sujeita a verificação de esfericidade e caso não satisfeita deve-se recorrer a técnicas de correção dos graus de liberdade ou uma outra proposta seria os modelos mistos (não apresentado neste trabalho).
- ii) A correção dos graus de liberdade influencia diretamente no resultado do teste F que apresenta valores alterados pela heterogeneidade das variâncias e covariâncias dos dados.
- iii) Para a raça Santa Inês, encontram-se efeitos significativos na comparação dos tempos combinados com o sexo e a combinação peso por tempo apresenta comportamento sigmoidal.
- iv) Incorporar o ajuste do modelo não linear Gompertz no desdobramento da interação da análise de variância (quando esta é significativa) é bastante viável e permite verificar se realmente o modelo explica bem o conjunto de dados.
- v) O modelo não-linear Gompertz é indicado para estudar a curva de crescimento de ovinos da raça Santa Inês, pois fornece bons ajustes e interpretação prática dos parâmetros.

Agradecimentos

Ao programa de pós-graduação em Estatística e Experimentação Agronômica da ESALQ/USP pela oportunidade e ao CNPq pelo apoio financeiro.

SANTOS, A.; SAVIAN, T. V.; MUNIZ, J. A. Nonlinear regression in the unfolding of the interaction in experiments with split-plots in time. *Rev. Bras. Biom.*, São Paulo, v.31, n.3, p.379-396, 2013.

■ **ABSTRACT:** *This paper presents a way to fit a nonlinear regression model in an experiment with repeated measurements over time. In the experiment, the weight gain of male and female Santa Inês breed sheep, in pounds, in twelve different ages is measured. Conducted in a split-plot design, as the time factor was not randomized, the analysis of variance requires correction of the degrees of freedom, as the sphericity condition is not satisfied. The Greenhouse and Geisser correction (G-G) was used for the purposes of interaction and time. The F test in the analysis of variance showed a significant result for the interaction between the factors and the splitting of the interaction. In order to evaluate the effect of the time factor at each level of the gender factor, a Gompertz model was proposed, as well as a test of model adherence. For the proposed analysis, we concluded that the univariate model, with split-plot design, can be used in experiments of animal growth, but its application is prone to verification of the sphericity condition. They also found that the incorporation of the splitting of interactions, by adjusting the Gompertz model, is a viable procedure and allowed to evaluate the real quality of fit.*

■ **KEYWORDS:** *Repeated measure; Geisser Greenhouse correction; Adhesion test; Gompertz model.*

Referências

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. *Experimentação agrícola*. 4.Ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237p.

BARBIN, D. *Planejamento e análise estatística de experimentos agronômicos*. Araçatuba: Ed. Midas Ltda. 2003. 194p.

BERTOLDO, J. G.; COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; MANTOVANI, A.; VALE, N. M. do. Problemas relacionados com o uso de testes de comparação de médias em artigos científicos. *Revista Biotemas*, Florianópolis, v.21, n.2, p.145-153, 2008.

BOX, G. E. P. Some theorems on quadratic forms applied to the study of analysis of variance problems. *Annals of Mathematical Statistics*, v.25, n.2, p.290-302, 1954.

COSTA Jr., G. da S.; CAMPELO, J. E. G.; AZEVÊDO, D. M. M. R.; MARTINS Filho, R.; CAVALCANTE, R. R.; LOPES, J. B.; OLIVEIRA, M. E. de. Caracterização morfométrica de ovinos da raça Santa Inês criados nas microrregiões

de Teresina e Campo Maior, Piauí. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa, v.35, n.6, p.2260-2267, 2006.

DEVORE, J. L. *Probabilidade e estatística: para engenharia e ciências*. Tradução de MGS Language Services e Joaquim Pinheiro Nunes da Silva. 6. ed. São Paulo: Pioneira Thomson, 2006.

FERNANDEZ, G. C. J. Repeated measure analysis of line-source sprinkler experiments. *HortScience*, Alexandria, v.26, n.4, p.339-342, 1991.

FREITAS, E. G. de; BARBIN, D.; BARBOSA, G. V. de S.; CARNEIRO, M. S.; BASSINELLO, A. I. Modelo univariado aplicado a dados longitudinais de cana de açúcar. *Revista Brasileira de Biometria*, São Paulo, v.26, n.2, p.93-106, 2008.

GEISSER, S. GREENHOUSE, S. W. An extension of Box's results on the use of the F distribution in multivariate analysis. *Annals Mathematical Statistics*, An. Arbor, v.29, p. 855-91, 1958.

GOMES, F. P. *Curso de estatística experimental*. 13^a ed. Piracicaba, SP: 1990. 468p.

GUEDES, M. H. P.; MUNIZ, J. A.; PEREZ, J. R. O.; SILVA, F. F. e; AQUINO, L. H. de; SANTOS, C. L. dos. Estudo das curvas de crescimento de cordeiros das raças Santa Inês e Bergamácia considerando heterogeneidade de variâncias. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.28, n.2, p.381-388, 2004.

HAUSER, L.; VIGO, A.; KIELING, C.; JARDIM, L. B.; CAMEY, S. A.; LEOTTL, V. B. Curvas de crescimento usando modelo misto: Uma aplicação na progressão da doença de Machado-Joseph. *Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre*, Porto Alegre, v.29, n.1, p.05-17, 2009.

HUYNH, H.; FELDT, L. S. Condition under which mean square ratios in repeated measurements designs have exact F-distributions. *Journal of the American Statistical Association*, Alexandria, v.65, n.332, p.1582-1589, 1970.

HUYNH, H.; FELDT, L. S. Estimation of the Box correction for degrees of freedom from sample data in the randomized block and split-plot designs. *Journal of Educational and Behavioral Statistics*, v.1, p.69-82, 1976.

JONES, B.; NACHTSHEIM, C. J. Split-plot designs: what, why, and how. *Journal of Quality Technology*, v.41, n.4, p.340-361, 2009.

LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal Animal Science*, Champaign, v.76, p.1216-1231, 1998.

MALHADO, C. H. M.; CARNEIRO, P. L. S.; SANTOS, P. F.; AZEVEDO, D. M. M.; SOUZA, J. C. de; AFFONSO, P. R. M. Curvas de crescimento em ovinos mestiços Santa Inês x Texel criados no Sudoeste do Estado da Bahia. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v.9, n.2, p.210-218, 2008.

MALHEIROS, E. B. Precisão de testes F univariados usados em experimentos com medidas repetidas no tempo, quando a condição de esfericidade da matriz

de covariâncias não é verificada. *Revista de Matemática e Estatística*, São Paulo, v.22, n.2, p.23-29, 2004.

MAUCHLY, J. W. Significance test for sphericity of a normal n-variate distribution. *Annals of Mathematical Statistics*, Beachwood, v.11, n.2, p. 204-209, 1940.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. *Estatística aplicada e probabilidades para engenheiros*. 2. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos - LTC, 2003.

NEMEC, A. F. L. *Analysis of repeated measures and time series: an introduction with forestry examples*. Victoria, B.C.: Biometric Information Handbook, 1996, n.6. 83p.

OLIVEIRA, H.N.; LÔBO, R.B.; PEREIRA C.S. Comparação de modelos não lineares para descrever o crescimento de fêmeas da raça Guzerá. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.35, n.9, p.1843-1851,2000.

PARK, E.; CHO, M.; KI, C.-S. Correct use of repeated measures analysis of variance. *Review General Laboratory Medicine*, Korean, v.29, p.1-9, 2009.

SANTOS, C.L. dos; PÉREZ, J.R.O; MUNIZ, J.A.; GERASEEV, L. C.; SIQUEIRA, E. R. Desenvolvimento relativo dos tecidos ósseo, muscular e adiposo dos cortes da carcaça de cordeiros Santa Inês. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.30, n.2, p.487-492, 2001.

SARMENTO, J. L. R.; REGAZZI, A. J.; SOUSA, W. H.; TORRES, R. de A.; BREDÁ, F. C.; MENEZES, G. R. de O. Estudo da curva de crescimento de ovinos Santa Inês. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v.35, n.2, p. 435-442, 2006.

SAVIAN, T. V.; MUNIZ, J. A.; AQUINO, L. H. de; BANYS, V. L.; FERREIRA, D. F. Degradability study of neutral detergent fiber of coast cross (*Cynodon dactylon* × *Cynodon nlemfunensis*). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.31, n.4, p.1184-1190, 2007.

Shapiro, S. S.; Wilk, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, v.52, n.3/4, p.591-611, 1965.

SOUZA, G. da S. *Introdução aos modelos de regressão linear e não linear*. Brasília: Embrapa - SPI/ Embrapa - SEA, 1998. 489p.

STEEL, R. G. D. & TORRIE, J. H. *Principles and procedures of statistics a biometrical approach*. 2 ed. New York: McGrawHill Book, 1980. 633p.

Recebido em 27.08.2013.

Aprovado após revisão em 18.12.2013.

APÊNDICE

No modelo Gompertz, admite-se que a taxa do crescimento (dy/dx , tal que $y = f(x)$) é proporcional ao valor presente (y) com o logaritmo do complemento para alcançar a taxa máxima teórica ($\ln(\beta) - \ln(y)$). Assim, tem-se que:

$$\begin{aligned}\frac{dy}{dx} &= \tau y(\ln(\beta) - \ln(y)) \\ &= \tau y(\ln(\beta/y))\end{aligned}$$

Portanto:

$$\begin{aligned}\frac{dy}{dx} = \tau y \ln(\beta/y) &\Leftrightarrow \frac{dy}{y \ln(\beta/y)} = \tau dx \\ &\Leftrightarrow \int_{y_0}^y \frac{1}{y \ln(\beta/y)} dy = \int_0^x \tau dx\end{aligned}$$

Seja $z = \ln(\beta/y) \Rightarrow dz = \frac{y}{\beta} \frac{-\beta}{y^2} dy = -\frac{1}{y} dy$.

Então:

$$\begin{aligned}\int_{y_0}^y \frac{1}{y \ln(\beta/y)} dy &= - \int \frac{1}{z} dz \\ &= -\ln(z) \\ &= -\ln(\ln(\beta/y)) \Big|_{y_0}^y \\ &= -\ln(\ln(\beta/y)) + \ln(\ln(\beta/y_0)) \\ &= -(\ln(\ln(\beta/y)) - \ln(\ln(\beta/y_0)))\end{aligned}$$

Logo:

$$\begin{aligned}\ln(\ln(\beta/y)) - \ln(\ln(\beta/y_0)) &= -\tau x \\ \ln(\ln(y/\beta)^{-1}) &= \ln(\ln(\beta/y_0)) - \tau x \\ -\ln(y/\beta) &= \exp(\ln(\ln(\beta/y_0)) - \tau x) \\ \ln(y/\beta) &= -\exp(\ln(\ln(\beta/y_0)) - \tau x) \\ y/\beta &= \exp\{-\exp(\ln(\ln(\beta/y_0)) - \tau x)\} \\ y &= \beta \exp\{-\exp(\ln(\ln(\beta/y_0)) - \tau x)\}\end{aligned}$$

Admitindo $\gamma = \ln(\ln(\beta/y_0))$, tem-se:

$$y = \beta \exp\{-\exp(\gamma - \tau x)\} \quad (10)$$

Por isso, dizemos que γ está relacionado com o intercepto (y_0).

Este é um modelo de curva sigmóide parecido com o modelo Logístico, porém, este não apresenta simetria com relação ao ponto de inflexão.