

1) – PPCM (procedimentos para comparações múltiplas)

Em que consistem os PPCM?

A regra é aparentemente simples. Consiste em estabelecer uma quantidade mínima significativa, denominada DMS (diferença mínima significativa). Se a diferença entre duas médias (em módulo) superar a DMS, a conclusão é que as duas médias diferem entre si.

Usando a terminologia adaptada de O'Neill & Wetherill (1971), usa-se: $DMS = q \times epm$, onde q é um valor tabelado, no geral é o valor esperado de uma amplitude padronizada em função das médias envolvidas e epm é o erro padrão das médias (suposto o mesmo ou uma média deles).

Vamos ilustrar um caso simples, comparando 2 tratamentos.

Supondo:

Média A (M_a) = 20

Média B (M_b) = 24 (diferença observada entre as médias é igual a 4)

$QM_{Residuo} = 2$

$r = n^\circ$ de repetições = 4

$GL_{residuo} = 6$

$$epm = \frac{\sqrt{QM_{residuo}}}{\sqrt{r}} = 0,71$$

$q_2 = 3,46$ (valor tabelado para 2 médias e 6 $GL_{Residuo}$)

Então, a DMS mínima, também conhecida como LSD (least differences significance) é:

$LSD = q_2 \times epm = 3,46 \cdot 0,71 = 2,76$

Portanto como a diferença observada (4) é maior que a LSD (2,76), as médias são estatisticamente diferentes.

A LSD (menor DMS) é exata para experimentos de comparação entre duas médias. Para comparação de mais médias é uma medida “frouxa”, pois podem ser detectadas comparações significativas, que de fato não são. As comparações usando LSD é o chamado teste t ou teste de Student.

Agora, um exemplo com 5 tratamentos. Supondo 5 tratamentos temos:

$QM_{Residuo} = 4$

$r = n^\circ$ de repetições = 4

$GL_{residuo} = 15$

$$epm = \frac{\sqrt{QM_{residuo}}}{\sqrt{r}} = 1$$

Para ilustrar, na Tabela a seguir temos apresentadas as médias dos 5 tratamentos e o ranking de classificação (ordenamento) das médias dos tratamentos:

Médias	Valores	Ranking das Médias
M_a	1	5º
M_b	7	4º
M_c	12	1º
M_d	8	3º
M_e	9	2º

Para esse caso poderíamos ainda usar a LSD, ou teste t, usando:

$q_2 = 3,01$ (valor tabelado para 2 médias e 15 $GL_{Residuo}$)

$LSD = q_2 \times epm = 3,01 \cdot 1 = 3,01$.

Ou como é também comum, usar a DMS máxima, também conhecida como HSD (honestly significant difference) que é o teste Tukey, calculado com:

$q_5 = 4,37$ (valor tabelado – para t médias, no caso 5 e 15 GL_{Resíduo})

$$HSD = q_5 \times e_{pm} = 4,37 \cdot 1 = 4,37$$

$$M_c - M_a = 12 - 1 = 11, \text{ assim } 11 > 4,37$$

Portanto como a diferença entre a maior e a menor média (amplitude) é maior que a HSD, podemos concluir que existe diferença entre essas duas médias.

É usual o esquema de colocar letras iguais para médias não diferentes ($p > 0,05$) e letras diferentes se ($p < 0,05$), conforme Tabela a seguir:

Médias	LSD=3,01	Médias	HSD=4,37
Mc=12	a	Mc=12	a
Me=9	ab	Me=9	ab
Md=8	b	Md=8	ab
Mb=7	b	Mb=7	b
Ma=1	c	Ma=1	c

Médias seguidas por letras iguais ($p > 0,05$)

A HSD (maior DMS) é exata para comparar diferenças entre a maior e a menor média de um grupo de tratamentos. Para outras comparações é uma medida conservadora, pois pode não detectar diferenças significativas que de fato existem. Na prática, é muito eficiente para eliminar as piores médias.

Preferencialmente, os tratamentos devem ter o mesmo número de repetições, pois caso contrário, cada média de tratamento terá um epm (erro padrão da média) diferente. Nesse caso, os tratamentos com menos repetições podem apresentar médias menos confiáveis e para aplicação do teste utilizam-se epm médios.

Usualmente apresentamos os resultados do teste T ou Tukey em Tabelas, onde as médias são ordenadas de forma decrescente, de forma que letras iguais indicam médias não significativamente diferentes e letras diferentes indicam diferenças significativas, ao nível α de significância estabelecido na escolha do valor tabelado q_i .

A seguir, um exemplo da aplicação do teste Tukey em um experimento de seleção de progênies, instalado em DIC, com 4 repetições.

Na Tabela a seguir estão apresentados dados de parcelas de um experimento de 10 progênies, com 4 repetições clonadas via enraizamento de estacas (usual em cana-de-açúcar, mandioca, eucalipto, frutíferas e outras espécies).

Progênies	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	Total
	16,0	14,3	14,7	13,6	11,6	11,0	13,1	10,3	8,5	8,2	
	16,4	14,5	15,6	13,1	10,5	15,0	10,3	13,2	8,6	8,4	
	14,1	13,8	11,6	14,7	15,9	10,7	14,3	10,2	9,5	9,3	
	11,7	14,6	15,0	15,1	14,0	13,0	10,5	13,0	9,4	9,2	
Total	58,2	57,2	56,9	56,5	52,0	49,7	48,2	46,7	36,0	35,1	496,5
Média	14,55	14,30	14,22	14,12	13,00	12,42	12,05	11,67	9,00	8,80	

$$SQ \text{ Total} = (16,0^2) + (16,4^2) + (14,1^2) + \dots + (9,2^2) - (496,5^2)/40 = 238,54$$

$$SQ \text{ Tratamentos} = (58,2^2)/4 + (57,2^2)/4 + (56,9^2)/4 + \dots + (35,1^2)/4 - (496,5^2)/40 = 160,98$$

A partir desses dados podemos construir a seguinte tabela de análise de variância:

FV	GL	SQ	QM	F
Progênies (tratamentos)	9	160,98	17,89	6,91*
Resíduo	30	77,56	2,59	
Total	39	238,54		

*= ($p < 0,05$)

Como:

$$s = \sqrt{QM_{\text{Resíduo}}} = \sqrt{2,59} = 1,61$$

$$q(t; GL_{\text{Resíduo}}) = q(10;30) = 4,82$$

$$epm = \frac{\sqrt{QM_{\text{resíduo}}}}{\sqrt{r}} = 1,61 / \sqrt{4} = 0,805$$

Pelo teste de Tukey temos:

$$HSD = q_{10} \cdot epm = 4,82 \cdot 0,805 = 3,88$$

$$\text{Amplitude} = (\text{maior média}) - (\text{menor média}) = 14,55 - 8,80 = 5,75$$

Como a amplitude observada (= 5,75) > HSD (=3,88), pode concluir que existe diferença significativa para esse contraste de médias (maior média – menor média).

Agora podemos organizar em ordem decrescente as médias dos tratamentos, para maior facilidade de comparação, e usar a mesma HSD. Os resultados podem ser resumidos pelas letras colocadas ao lado das médias. Letras iguais indicam diferenças não significativas, ao nível de significância dada pela HSD, e letras diferentes indicam diferenças significativas a esse nível de probabilidade.

Progênes	Médias	LETRAS	HSD=3,88
P1	14,55	A	
P2	14,30	A	
P3	14,22	A	
P4	14,12	A	
P5	13,00	A	
P6	12,42	AB	
P7	12,05	AB	
P8	11,67	AB	
P9	9,00	B	
P10	8,80	B	

Médias seguidas por letras iguais (p<0,05)

No caso, entre as progênes de 1 a 5 não existem diferenças significativas para enraizamento.

As progênes de 1 a 8 possuem médias de enraizamento significativamente maiores que as progênes 9 e 10. As progênes 6, 7 e 8 formam um grupo intermediário.

Portanto, para uma seleção onde se preferem progênes com respostas maiores seriam selecionados as progênes 1 a 5.

2) BALANCEAMENTO/ DESBALANCEAMENTO

Quando o número de repetições dos tratamentos é o mesmo, é dito que os dados são balanceados e podem ser usados os esquemas citados até aqui.

Para o caso de desbalanceamento, o procedimento correto exige cálculos par a par e não será explicado aqui.. Na prática, é usual utilizar análises aproximadas, usando um número de rh = repetições harmônico (média harmônica). Se há t tratamentos, a fórmula é

$$(1/rh) = (1/t) (1/r_1 + 1/r_2 + \dots + 1/r_t).$$

Exemplo: Seja um experimento com 6 tratamentos em DIC, em que o Quadrado Médio do Resíduo = 4,00, apresentando as médias, repetições e totais dados a seguir:

Tratamentos	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Médias	14	15	18	22	13	12
Repetições	2	3	5	4	4	2

Totais	28	45	90	88	52	24
--------	----	----	----	----	----	----

Uma análise de variância para esses dados poderá ser:

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F calculado	F tabelado5%
Tratamentos (modelo uma média por tratamento)	5	240,55	48,11	12,03*	2,96
Resíduo	14	56,00	4,00		
Total	19				

Ns= (p>0,05); *= (p<0,05)

$$SQ(\text{tratamentos}) = (28^2)/2 + (45^2)/3 + (90^2)/5 + (88^2)/4 + (52^2)/4 + (24^2)/2 - (327^2)/20 = 392 + 675 + 1620 + 1936 + 676 + 288 - 5346,45 = 5587 - 5346,45 = 240,55$$

Como F calculado=12,03> F tabelado=2,96, os tratamentos não são todos iguais (p<0,05).

Para aplicação do teste de comparações múltiplas, pode-se trabalhar-se com o número de repetições aproximado (usual: rh= média harmônica das repetições) e também com o epmh= erro padrão das média, calculado com rh.

Como há t=6 tratamentos, o cálculo de rh é feito como se segue

$$(1/rh) = (1/t) (1/r_1 + 1/r_2 + \dots + 1/r_t) = (1/6) (1/2 + 1/3 + 1/5 + 1/4 + 1/4 + 1/2), \text{ ou seja, } rh = 2,96$$

Para LSD (5%):

$$s = \sqrt{QM_{\text{Resíduo}}} = \sqrt{4,00} = 2,00$$

$$q(2; GL_{\text{Resíduo}}) = q(2; 14) = 3,03$$

$$epmh = \frac{\sqrt{QM_{\text{resíduo}}}}{\sqrt{rh}} = 2,00 / \sqrt{2,96} = 1,16$$

$$LSD = q_2 \cdot epmh = 3,03 \cdot 1,16 = 3,511,76$$

As médias ordenadas e as letras do teste, usando o LSD aproximado= 1,76, serão

Tratamentos	Médias	Letras do teste LSD(5%)
A4	22	A
A3	18	B
A2	15	BC
A1	14	C
A5	13	C
A6	12	C

Médias seguidas por letras iguais (p>0,05)

3) SOMAS DE QUADRADOS ENTRE E DENTRO DE GRUPOS. Comparações preferenciais

Teoricamente, os procedimentos de comparações múltiplas (t, Tukey e outros) são corretos quando não há pré-suposição a respeito dos tratamentos. Todos, em princípio, podem ser iguais e não há em princípio comparações preferenciais. São então feitas todas as comparações 2 a 2, tentando decifrar o que diferencia os tratamentos (O'NEILL & WETHERILL, 1971).

Por exemplo, se no caso anterior é dado a informação que os tratamentos são de grupos diferentes:

G1= linhagens melhoradas (tratamentos A1,A2,A3 e A4). Total de G1= 28+45+90+88=251,com 14 repetições.

G2= linhagens antigas (A4 e A5). Total de G2= 52+24=76, com 6 repetições.

Uma melhor análise de variância deveria refletir as comparações de maior interesse. Por exemplo:

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F calculado	F tabelado5%
Entre grupos (G1 versus G2)	1	116,29	116,29	29,07*	4,60
Dentro do grupo G1	3	122,93	40,98	10,24*	3,34
Dentro do grupo G2	1	1,33	1,33	0,33 Ns	4,60
Resíduo	14	56,00	4,00		
Total	19				

Ns = (p>0.05); * = (p<0,05)

Entre grupos, trabalha-se com totais de grupos:

$SQ(\text{Entre grupos}) = ((\text{Total G1})^2)/(2+3+5+4) + ((\text{Total G2})^2)/(4+2) - ((\text{Total G1}+\text{Total G2})^2)/20 = (251^2)/14+(76^2)/6-(327^2)/40 = 4500,07+962,67-5346,45=116,29.$

Dentro dos grupos, trabalha-se dentro dos grupos

$SQ(\text{Dentro do G1}) = (28^2)/2+(45^2)/3+(90^2)/5+(88^2)/4 - (251^2)/14 = 392+675+1620+1936-4500,07=122,93.$

$SQ(\text{Dentro do G2}) = (52^2)/4+(24^2)/2 - (76^2)/6 = 676+288-962,67=1,33.$

Portanto, a nova análise de variância mostra que há diferenças entre os dois grupos (G1 mostra média significativamente maior que a média de G2). Há diferenças entre tratamentos dentro de G1 e não há diferenças entre tratamentos dentro de G2.

CONTRASTES

Teoricamente, os procedimentos de comparações múltiplas (t, Tukey e outros) são corretos quando não há pré-suposição a respeito dos tratamentos. Todos, em princípio, podem ser iguais e não há comparações preferenciais. São então feitas todas as comparações 2 a 2, tentando decifrar o que diferencia os tratamentos (O'Neill&Wetherill, 1971). Contrastes são muito úteis para avaliar comparações direcionadas ou estruturadas. Ou seja, a priori há alguma estruturação nos tratamentos, de modo que certas comparações, preferencialmente independentes (ortogonais), são mais informativas e facilitam a interpretação do experimento.

Definição de contraste entre médias de tratamentos:

Sejam t estimadores das médias (m_1, m_2, \dots, m_t) de t tratamentos:

$C = c_1 m_1 + c_2 m_2 + \dots + c_t m_t$ é uma função linear das médias e se a soma dos coeficientes ($c_1 + c_2 + \dots + c_t$)=0, C é denominado contraste entre as médias.

A variância de um contraste, supondo independência dos tratamentos, é :

$$V(C) = \sum c_i V(m_i).$$

No caso da análise de variância, com independência e homogeneidade da variância dentro dos tratamentos, $V(m_i)$ é estimada por $QMRES/rep$, onde $QMRES$ = quadrado médio do resíduo e rep = número de repetições.

A soma de quadrados de um contraste, com um grau de liberdade, é obtida por:

$SQ = (\sum c_i T_i)^2 / (\sum c_i^2 \cdot rep)$, onde T_i é o total do tratamento i .

Dois contrastes são independentes se a covariância entre eles for nula.

Se as variâncias e o número de repetições forem todos iguais, a condição de independência torna-se igual a condição de ortogonalidade entre matrizes:

$$\sum a_i = \sum b_i = 0$$

$$\sum a_i \cdot b_i = 0$$

Exemplo: Seja um experimento hipotético com 4 tratamentos e 3 repetições, em DIC, com os seguintes totais: $T_1=15$, $T_2=18$, $T_3=21$, $T_4=30$ e somas de quadrados: $SQ_{\text{Tratamentos}}= 42$ e $SQ_{\text{RES}}=24$.

Caso hipotético 1: T_1 e T_2 são sulfas (S_1 e S_2) e T_3 e T_4 são antibióticos. Uma análise de variância interessante, com três contrastes ortogonais, é :

FONTES DE VARIAÇÃO	c_1	c_2	c_3	c_4	GL	SQ	R^2
C1: Sulfas versus Antibióticos	-1	-1	1	1	1	27,0	64,3
C2: Entre sulfas	-1	1	0	0	1	1,5	3,6
C3: Entre antibióticos	0	0	-1	1	1	13,5	32,1
Resíduo					8	24	

Obs: c_i coeficientes dos contrastes, GL=grau de liberdade, SQ=soma de quadrados, R^2 = porcentagem da soma de quadrados de tratamentos =42.

Os valores de R^2 mostram a importância relativa de cada contraste.

Nesse caso, a maior diferença está em C1, seguido de C3.

Caso hipotético 2: T_1 é placebo, T_2 e T_3 são sulfas (S_1 e S_2) e T_4 é um antibiótico.

Uma análise de variância interessante, com três contrastes ortogonais, é :

FONTES DE VARIAÇÃO	c_1	c_2	c_3	c_4	GL	SQ	R^2
C1: Placebo versus Demais	-3	1	1	1	1	16,0	38,1
C2: Sulfas versus Antibióticos	0	-1	-1	2	1	24,5	58,3
C3: Entre Sulfas	0	-1	1	0	1	1,5	1,5
Resíduo					8	24	

Obs: c_i coeficientes dos contrastes, GL=grau de liberdade, SQ=soma de quadrados, R^2 = porcentagem da soma de quadrados de tratamentos =42.
Os valores de R^2 mostram a importância relativa de cada contraste.

Caso hipotético 3: Os tratamentos são combinações fatoriais de dois produtos(A e B) , em duas doses (1 e 2): T1 =a1b1, T2=a1b2, T3=a2b1 e T4= a2b2.

Uma análise de variância interessante, com três contrastes ortogonais, é :

FONTES DE VARIAÇÃO	c_1	c_2	c_3	c_4	GL	SQ	R^2
C1: Fator A	-1	-1	1	1	1	27,0	64,3
C2: Fator B	-1	1	-1	1	1	12,0	28,6
C3: Interação: AxB	1	-1	-1	1	1	3,0	7,1
Resíduo					8	24	

Obs: c_i coeficientes dos contrastes, GL=grau de liberdade, SQ=soma de quadrados, R^2 = porcentagem da soma de quadrados de tratamentos =42.
Os valores de R^2 mostram a importância relativa de cada contraste.

Caso hipotético 4: T1 , T2, T3 e T4 são doses equidistantes de um antibiótico.

Uma análise de variância interessante, com três contrastes ortogonais, é :

FONTES DE VARIAÇÃO	c_1	c_2	c_3	c_4	GL	SQ	R^2
C1: Efeito linear	-3	-1	1	3	1	38,4	91,4
C2: Quadrático após linear	1	-1	-1	2	1	3,0	7,1
C3: Cúbico após C1 e C2	-1	3	-3	1	1	0,6	1,4
Resíduo					8	24	

Obs: c_i coeficientes dos contrastes, GL=grau de liberdade, SQ=soma de quadrados, R^2 = porcentagem da soma de quadrados de tratamentos =42.
Os valores de R^2 mostram a importância relativa de cada contraste.
No caso, todo efeito de doses é praticamente linear (91,4%).

Técnicas práticas para construção dos contrastes independentes (ortogonais).

Se há t tratamentos, há (t- 1) contrastes independentes e soma das suas somas de quadrados é igual a soma de quadrados de tratamentos.

,

1)Esquema de bipartição não superposta.

Se há t tratamentos, há $(t - 1)$ bipartições não superpostas ou não entrelaçadas. Inicia-se com um contraste, dividindo os t tratamentos em dois grupos, na sequência cada novo contraste é obtido por bipartição do subgrupo até que formem subgrupos unitários. Esse esquema pode ser visto nos casos 1 e 2.

Nesse caso, pode-se também usar o esquema de partição entre grupos e dentro de grupos, conforme será ilustrado na aula.

2) Esquema de contrastes e suas interações, criam-se contrastes ortogonais para efeitos principais e para interações, pelo produto dois a dois, usado no caso 3.

3) Esquema de polinômios ortogonais, usado no caso 4. Na literatura esse assunto pode ser visto (p. ex.: polinômios de Fisher, para o caso de equidistância das doses, polinômios de Robson, para o caso geral).

4) Esquemas de matrizes ortogonais, usadas em matemática (p. ex: Helmert, Hadamard, Profile, Means e outras). Em modelos lineares, essas matrizes são estudadas com detalhes.

Balanceamento/ desbalanceamento

Quando o número de repetições dos tratamentos é o mesmo, é dito que os dados são balanceados e podem ser usados os esquemas citados até aqui.

Para o caso de desbalanceamento, o procedimento correto exige técnicas de modelos lineares, construindo contrastes cuja covariância seja nula. Na prática, é usual utilizar análises aproximadas, usando um número de $r_h =$ repetições harmônico (média harmônica). Se há t tratamentos, a fórmula é

$$(1/r_h) = (1/t) (1/r_1 + 1/r_2 + \dots + 1/r_t).$$

Contrastes não independentes

Eventualmente podem ser usados contrastes não independentes, mas o fato da covariância entre eles não ser nula, leva a diferentes intensidades de dependência, e torna-se difícil calcular o nível de significância global ou conjunta.

Modelos lineares e usos em pacotes computacionais

Para calcular contrastes , usando modelos lineares, uma forma interessante é a criação de variáveis auxiliares. Cria-se uma variável auxiliar que recebe um valor diferente, em cada subgrupoda bipartição. Perecine et al. (2000) mostram vários exemplos dessa técnica. Ver exemplo anexo.

Referências

O'NEILL, R, & WETHERILL, G.B. The present state of multiple comparison methods. J.RoyalStat. Soc., B. 33: 218-250, 1971.

PERECIN, D., MALHEIROS, E.B., PEREIRA, G.T. Variáveis auxiliares para expressar desdobramento de graus de liberdade e contrastes com o programa SAS. In: RBRAS, 45, São Carlos/SP. 2000. Anais ...p.137-140.