EXPERIMENTAL DESIGNS: UM PACOTE R PARA ANÁLISE DE EXPERIMENTOS

Eric Batista Ferreira¹, Pórtya Piscitelli Cavalcanti¹, Denismar Alves Nogueira¹

Resumo: Os experimentos variam de uma pesquisa para outra; porém, todos eles são regidos por alguns princípios básicos, necessários para que as conclusões obtidas se tornem válidas. De acordo com os princípios necessários (repetição, casualização, controle local) têm-se os delineamentos experimentais. Uma situação de interesse é o estudo do efeito de um tratamento extra ou testemunha, conhecido como tratamento adicional - cuja análise pode ser trabalhosa. Para analisar experimentos, são amplamente utilizados softwares livres e gratuitos como o software R. Com a criação da biblioteca de funções ExpDes, que realiza a análise de variância, testes de comparação múltipla de médias e ajustes de modelos de regressão linear em uma só rodada, o tratamento estatístico dos dados experimentais se tornou mais rápido, prático e de fácil compreensão, principalmente para usuários não estatísticos.

Palavras-chave: Software R, Análise de variância, Tratamento adicional.

Introdução

Em cada experimento (ou ensaio) existem unidades experimentais ou parcelas, que serão medidas e que recebem níveis dos fatores em estudo, que são os tratamentos. O modo de alocar os tratamentos às parcelas chama-se delineamento experimental (experimental design). Os delineamentos experimentais mais conhecidos e utilizados na ciência são: inteiramente casualizado (DIC), em blocos casualizados (DBC), quadrado latino (DQL) [2, 12].

Existem casos em que dois ou mais fatores devem ser estudados simultaneamente, para que se possa conduzir a resultados de interesse. Para tanto, utilizam-se os experimentos fatoriais, que são aqueles nos quais são estudados, ao mesmo tempo, os efeitos de dois ou mais tipos de tratamentos e o interesse se dá pela interação entre estes. Quando, num mesmo ensaio, se quer testar dois (ou mais) fatores, mas em condições experimentais que apresentam restrições no processo de casualização devido a maneira de instalação do experimento, são utilizados os experimentos em parcelas subdivididas, onde as parcelas são divididas em subparcelas [2].

Para análise dos dados experimentais é muito comum o uso da Análise de Variância (ANAVA). É nessa hora que entram em cena softwares gratuitos, como Sisvar [7], WinStat [13], BioEstat [1], SAEG [18] e R [14]. Este último software disponibiliza uma grande variedade de métodos estatísticos (modelagem linear e não-linear, testes estatísticos frequentistas e Bayesianos, séries temporais, métodos multivariados, etc) e técnicas gráficas. Por ser de código aberto, ou seja, por permitir que seu usuário veja e altere seus códigos, o R estimula a otimização de suas funções, poupando tempo e facilitando a análise e entendimento dos resultados.

Para a análise de experimentos no software R, normalmente, uma série de comandos é necessária para que este informe a análise de variância do experimento e, separadamente, outros comandos para a realização de um teste específico ou análise de regressão. Sendo realizados

¹Instituto de Ciências Exatas - ICEx, Unifal-MG, eric.ferreira@unifal-mg.edu.br, portyapc@gmail.com, denismar.nogueira@unifal-mg.edu.br

separadamente, esses procedimentos podem ser bastante trabalhosos e, no caso da regressão, erros de interpretação e de análise podem facilmente ocorrer.

O software R dispõe de um conjunto de pacotes básicos e outro de pacotes adicionais ou contribuídos, que devem ser instalados separadamente e carregados no momento do uso. Quando se deseja fazer o teste de Tukey, por exemplo, pode-se usar a função HSD.test(), do pacote agricolae, que deve ser instalado e carregado separadamente. Além de exigir que o usuário digite mais uma linha de comando (que demanda que ele consulte o resultado da ANAVA anteriormente feita), a saída (output) da função HSD.test() é confusa e repetitiva.

Quando os tratamentos são quantitativos e o usuário ajusta um modelo de regressão usando as funções lm() e anova(lm()), ele pode se esquecer que está fora do contexto de análise da variância, e não corrigir o coeficiente de determinação do modelo ajustado.

Experimentos que possuem tratamentos adicionais também exigem, tanto no R quanto em outros softwares, a execução de pelo menos duas análises separadas para posterior concatenação desses resultados em uma só tabela da ANAVA. Este tratamento adicional é realizado concomitantemente com o experimento, porém é analisado separadamente por contrastes entre ele e os tratamentos [11]. A análise desse tipo de experimento no software R (com apenas um tratamento adicional), exige pelo menos duas análises de variância - cada uma delas requerendo diversas linhas de comando, a saber: (1) do fatorial duplo com desdobramento da interação, caso seja significativa; (2) do delineamento simples, por exemplo um DIC, incluindo todos os tratamentos juntamente com o adicional.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi criar um pacote (biblioteca de funções) para analisar experimentos em delineamentos simples, ou seja, com apenas um fator, como experimentos em DIC, DBC e DQL; experimentos em esquemas fatoriais (duplo ou triplo), em DIC e DBC, com ou sem tratamento adicional; e em esquema de parcelas subdivididas, em DIC e DBC. Tais funções realizam análise de variância e testes de comparações múltipla de médias (teste de Tukey, teste de Student-Newman-Keuls, teste de Scott-Knott, teste de Duncan, teste t de Student, teste t com proteção de Bonferroni e teste de comparações múltiplas bootstrap) e ajuste de modelos de regressão linear. Todas as análises desejadas para um experimento são feitas em uma só rodada, ou seja, em uma única execução da função.

Material e Métodos

Para programar as funções foi utilizada linguagem R e os softwares R [14] e Tinn-R [21].

A função que analisa experimentos em fatorial duplo com um tratamento adicional, em DIC, bem como sua saída, foi ilustrada com um subconjunto de dados de um experimento sobre compostagem. O ensaio foi montado em casas de vegetação, para observar o desempenho da borra resultante da extração do biodiesel (fator 1, quantitativo: 5, 10, 15 e 20L), utilizando-se como fonte de carbono o capim napier e como fonte de nitrogênio, esterco de bovinos ou torta de mamona (fator 2, qualitativo), e o tratamento adicional (testemunha) sem inoculante e sem borra, na cultura do sorgo (Sorghum bicolor L. Moench) [17].

Resultados

Foram programadas funções em linguagem R para analisar experimentos em determinados delineamentos e esquemas de análise. Dentre estas funções tem-se: funções principais (rotinas) e funções secundárias ou auxiliares (sub-rotinas), que são utilizadas pelas principais.

As sub-rotinas permitem o ajuste de modelos sequenciais de regressão [4] e a comparação de médias: teste de Tukey [22], teste de Student-Newman-Keuls [2], teste de Scott-Knott [20], teste de Duncan [3], teste t [2], teste t com proteção de Bonferroni [15], teste bootstrap [16];

nomeadas, respectivamente, reg.poly (permite o ajuste de modelos lineares até o terceiro grau), HSD.TUKEY.test, HSD.SNK.test, HSD.SCOTTKNOTT.test, HSD.DUNCAN.test, HSD.LSD.test, HSD.LSDB.test, HSD.CCBOOT.test.

As rotinas programadas permitem analisar experimentos em delineamentos simples, em DIC, DBC e DQL, nomeadas, respectivamente, dic() [8], dbc() [9] e dql() [10], e em determinados esquemas de análise: experimentos em esquema de fatorial duplo, em DIC e DBC (fat2.dic() e fat2.dbc() [6]); em esquema de fatorial duplo com um tratamento adicional, em DIC e DBC (fat2.ad.dic() e fat2.ad.dbc()); em esquema de fatorial triplo, em DIC e DBC (fat3.dbc()); em esquema de fatorial triplo com um tratamento adicional, em DIC e DBC (fat3.ad.dic() e fat3.ad.dbc()); e em esquema de parcelas subdivididas, em DIC e DBC (psub2.dic() e psub2.dbc() [5]), em uma só rodada.

A quase totalidade das funções citadas realizam o teste de normalidade dos resíduos [19].

Pacote

Por fim, criou-se um pacote, ou seja, uma biblioteca para comportar as funções programadas, que foi nomeado ExpDes (*Experimental Designs*).

A biblioteca ExpDes foi divulgada no dia 5 de novembro de 2010 na X Semana da Matemática e II Semana da Estatística da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Campus Ouro Preto.

Com a intenção de proteger os direitos autorais do pacote *ExpDes*, foi procurado o Núcleo de Inovação e Propriedade Intelectual da Unifal-MG para orientações sobre o registro de "Programa de Computador" no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI). O processo está em andamento, contudo os autores vão disponibilizar o pacote de forma inteiramente gratuita, mantendo o código das funções aberto, conforme a filosofia do software R.

Ilustração com dados reais

A função fat2.ad.dic() permite analisar ensaios em DIC e esquema fatorial duplo com um tratamento adicional e recebe 10 argumentos, nesta ordem:

fat2.ad.dic(fator1, fator2, repet, resp, respAd, quali=c(TRUE, TRUE),

```
mcomp="tukey", fac.names=c("F1", "F2"), sigT=0.05, sigF=0.05)
fator1
              vetor com os níveis do fator 1;
fator2
              vetor com os níveis do fator 2;
repet
              vetor com as repetições;
              vetor com a variável-resposta;
resp
respAd
              vetor com a variável-resposta do tratamento adicional;
              variável lógica, se TRUE (default) na primeira posição, os níveis do fator 1 são
quali
              designados como qualitativos, se FALSE, quantitativos; da mesma forma, a se-
              gunda posição é referente aos níveis do fator 2;
              variável que permite escolher o teste de comparação múltipla; o default é o teste
mcomp
              de Tukey, contudo tem-se como outras opções: o teste t ("1sd"), o teste t com
              proteção de Bonferroni ("1sdb"), o teste de Duncan ("duncan"), o teste de
              SNK ("snk"), o teste de Scott-Knott ("sk") e o teste de bootstrap ("ccboot");
fac.names
              permite nomear os fatores 1 e 2;
              significância do teste de comparação múltipla de médias; o default é 0,05 (só
siqT
              válida para tratamentos qualitativos);
              significância do teste F da ANAVA; o default é 0,05.
sigF
```

A função fat2.ad.dic() está aqui sendo exemplificada pelos dados reais descritos em Material e Métodos. A expressão exata utilizada para a execução da análise foi:

Na Figura 1 podem ser observados: a legenda, contendo os nomes que o pesquisador deseja atribuir aos dois fatores; o quadro da análise de variância (destancando-se o contraste entre o fatorial e o tratamento adicional) e o teste de normalidade dos resíduos.

Note que a interação entre Inoculante e Biodiesel pode ser considerada significativa a 5% de probabilidade. Como o pesquisador informou que deseja adotar 5% de significância para o teste F (sigF=0.05), tal interação será desdobrada automaticamente pela função.

Nota-se também que os resíduos não foram considerados normais pelo teste de Shapiro-Wilk, a 5% de significância. Caberia, portanto, ao pesquisador dar prosseguimento à interpretação dos resultados, proceder transformações nos dados e repetir a análise, partir para a modelagem por meio de modelos generalizados etc.

Além disso, o contraste entre a testemunha e o fatorial foi significativo (p-valor = 10^{-4}). Sendo assim, a função apresenta a média do esquema fatorial, a média do tratamento adicional e letras diferentes atribuídas a elas.

```
Legenda:
   FATOR 1: Inoculante
   FATOR 2: Biodiesel
   Quadro da analise de variancia
                              SQ QM Fc Pr>Fc
   Inoculante 1 0.13054 0.13054 46.4363 0
Biodiesel 3 0.01575 0.00525 1.8671 0.1714
   Inoculante*Biodiesel 3 0.02808 0.00936 3.3295 0.0429
   Ad vs Fatorial 1 0.07370 0.07370 26.2189 1e-04
   Residuo
                        18 0.05060 0.00281
                        26 0.29867 0.01149
Teste de normalidade dos residuos (Shapiro-Wilk)
p-valor: 0.02718233
ATENÇAO: a 5% de significancia, os residuos nao podem ser considerados normais!
Contraste do tratamento adicional com o fatorial
          Medias
Adicional 0.11000 a
Fatorial 0.27625 b
```

Figura 1: Legenda, quadro da análise de variância e teste de normalidade de Shapiro-Wilk.

O primeiro desdobramento sugerido pela função é do Fator 1 dentro de cada nível do Fator 2, neste caso, Inoculante dentro de cada nível de Biodiesel (Figura 2).

Os níveis de Inoculante puderam ser considerados diferentes entre si nos níveis 5, 10 e 15 litros de Biodiesel. Apenas aos 20 litros de Biodiesel parece não fazer diferença entre os inoculates (p-valor = 0.141).

Pode-se notar que, na tabela de análise de variância do desdobramento, são mantidas as linhas do Biodiesel, do tratamento adicional, do resíduo original e do total, para que fique

claro que apenas as fontes de variação Inoculante e a interação foram repartidas para gerar esse desdobramento.

Figura 2: Desdobramento da interação de Inoculante dentro de Biodiesel.

Na Figura 3 são apresentados os testes de Tukey - conforme escolhido pelo pesquisador - para diferenciar os níveis de Inoculante em cada nível significativo de Biodiesel. Para 20 litros de Biodiesel, que não se apresentou significativo, as médias são apresentadas para usufruto do pesquisador.

```
Inoculante dentro do nivel 5 de Biodiesel
 Teste de Tukev
 Grupos Tratamentos Medias
 a 2 0.3133333
b 1 0.1966667
              0.1966667
 Inoculante dentro do nivel 10 de Biodiesel
 Teste de Tukey
 Grupos Tratamentos Medias
       2 0.4466667
               0.1933333
 Inoculante dentro do nivel 15 de Biodiesel
 Teste de Tukey
 Grupos Tratamentos Medias
 a 2 0.34
b 1 0.1866667
Inoculante dentro do nivel 20 de Biodiesel
De acordo com o teste F, as medias desse fator sao estatisticamente iguais.
  Niveis Medias
1 0.2333333
2 0.3000000
                    _____
```

Figura 3: Teste Tukey para a comparação múltipla de médias para os casos significativos.

Na Figura 4 pode-se ver o desdobramento dos níveis de Biodiesel dentro de cada nível de Inoculante, cuja significância é vista apenas para o inoculante mamona, para o qual é ajustado um modelo de regressão.

```
Desdobrando Biodiesel dentro de cada nivel de Inoculante
Ouadro da analise de variancia
                             GL
                                     SQ
                                             OM
                                                     Fc Pr>Fc
Inoculante
                             1 0.13054 0.13054 46.4363
Inoculante:Biodiesel esterco 3 0.00396 0.00132
                             3 0.03987 0.01329
Inoculante:Biodiesel mamona
                                                4.7273 0.0133
                             1 0.07370 0.07370 26.2189
Ad vs Fatorial
Residuo
                             18 0.05060 0.00281
Total
                             26 0.29867 0.01149
```

Figura 4: Quadro de análise de variância do desdobramento de Biodiesel dentro de cada nível de Inoculante.

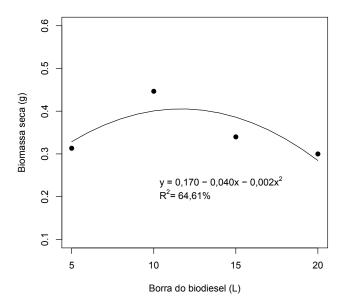


Figura 5: Modelo parábola ajustado para explicar a quantidade de biomassa seca em função da quantidade de borra.

Para o nível Mamona de inoculante, escolheu-se o modelo de regressão quadrático, pois esse foi o polinômio de mais alto grau (diferente de 100%) que apresentou estimativas de coeficientes significativas. A rigor, se for considerado o nível de significância de 5%, o intercepto (b0) do modelo quadrático seria considerado não significativo. Além diso, tal modelo apresentou um coeficiente de determinação R^2 de 64,61%, que pode ser considerado pequeno para alguns fenômenos (variáveis). Mesmo assim, o modelo de segundo grau foi aqui escolhido pois, o efeito linear não foi significativo e o modelo cúbico deixa zer graus de liberdade para os desvios de regressão, o que prejudica a inferência.

```
Biodiesel dentro do nivel esterco de Inoculante
De acordo com o teste F, as medias desse fator sao estatisticamente iguais.
   Niveis Medias
       10 0.1933333
      15 0.1866667
3
      20 0.2333333
       5 0.1966667
 Biodiesel dentro do nivel mamona de Inoculante
 Ajuste de modelos polinomiais de regressao
 $`Modelo linear
    Estimativa Erro.padrao
                             tc p.valor
 b0 0.38666667 0.03749 10.31366 0.00000
b1 -0.00293333 0.00274 -1.07137 0.29816
 $'R2 do modelo linear'
 [1] 0.08092969
 $'Analise de variancia do modelo linear'
 GL SQ QM Fc p.valor
Efeito linear 1 0.00323 0.00323 1.15 0.29816
 Desvios de Regressão 2 0.03664 0.01832 6.52 0.00743
                     18 0.05060 0.00281
 $`Modelo quadratico
    ______
    Estimativa Erro.padrao to p.valor
 b0 0.17000000 0.08522 1.99489 0.06142
 b1 0.04040000 0.01555 2.59832 0.01816
b2 -0.00173333 0.00061 -2.83122 0.01107
 $'R2 do modelo quadratico'
 [1] 0.6460998
 $`Analise de variancia do modelo quadratico`
                GL SQ QM Fc p.valor
 Efeito linear 1 0.00323 0.00323 1.15 0.29816
Efeito quadratico 1 0.02253 0.02253 8.02 0.01107
Desvios de Regressao 1 0.01411 0.01411 5.02 0.03792
 Residuos 18 0.05060 0.00281
 $`Modelo cúbico
    Estimativa Erro.padrao to p.valor
 0.21111111
                   0.07778 2.71435 0.01421
                   0.00687 -2.48345 0.02309
 b2 -0.01706667
                  0.00018 2.24013 0.03794
 b3 0.00040889
$'R2 do modelo cúbico'
[1] 1
 $`Analise de variancia do modelo cúbico`
                     GL SQ QM Fc p.valor
 Efeito linear 1 0.00323 0.00323 1.15 0.29816
Efeito quadratico 1 0.02253 0.02253 8.02 0.01107
                      1 0.01411 0.01411 5.02 0.03794
 Efeito cúbico
 Desvios de Regressão 0 0.00000 0.00000
                      18 0.05060 0.00281
```

Figura 6: Quadro de médias para o nível *Esterco* e modelos de regressão para mamona.

Considerações finais

A biblioteca *ExpDes* foi divulgada pela primeira vez no dia 5 de novembro de 2010, na X Semana da Matemática e II Semana da Estatística da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Campus Ouro Preto.

Com a intenção de proteger os direitos autorais do pacote *ExpDes*, sua patente foi depositada no Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI). O processo está em andamento, contudo os autores já disponibilizam o pacote de forma inteiramente gratuita, mantendo o código das funções aberto, conforme a filosofia do software R. O endereço eletrônico em que se pode encontrar o pacote é: https://sites.google.com/site/ericbferreira.

Referências

- [1] AYRES, M.; AYRES-JR., M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. L. *BioEstat 5.0*: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Sociedade Civil de Mamirauá. Belém, Pará, Brasil. 2007.
- [2] Banzatto, D. A.; Kronka, S. N. "Experimentação Agrícola". Jaboticabal: FUNEP. 2006. 237p.
- [3] Duncan, D. B. Multiple Range and Multiple F Tests, *Biometrics*, Washington, v.11, n.1, p.1-42, 1955.
- [4] Draper, N. R.; Smith, H. "Applied Regression Analysis". 3^a ed. New York: J. Wiley. 1998. 706p.
- [5] FERREIRA, E. B., CAVALCANTI, P. P. R functions for analysing split-plot schemes. In: XXV International Biometric Conference, 2010, Florianópolis, SC. *Annals* of the XXV Internation Biometric Conference, 2010. p.1-1.
- [6] FERREIRA, E. B., CAVALCANTI, P. P., NOGUEIRA, D. A. R functions for analysing factorial schemes and fitting polynomial regression models in ANOVA. In: XII Escola de Modelos de Regressão, 2011, Fortaleza, CE. Anais da XII Escola de Modelos de Regressão, 2011. p.1-5.
- [7] FERREIRA, D. F. SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium*. Lavras, v.6, p. 36-41, 2008.
- [8] FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P. Função em código R para analisar experimentos em DIC simples, em uma só rodada. In: 54^a Reunião da Região Brasileira da Sociedade Internatcional de Biometria, 13^o Simpósio de Estatística Aplicada à Experimentação Agronômica, 2009, São Carlos. Programas e resumos... São Carlos, SP: UFSCar, 2009. p. 1-5.
- [9] FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. Função em código R para analisar experimentos em DBC simples, em uma só rodada. In: 2^a Jornada Científica da Universidade Federal de Alfenas, 2., 2009, Alfenas. Resumos... Alfenas: Unifal-MG, 2009.
- [10] FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. Função em código R para analisar experimentos em DQL simples, em uma só rodada. In: 18º Congresso de Pósgraduação da Universidade Federal de Lavras, 2009, Lavras. Resumos... Lavras: UFLA, 2009.
- [11] Healy, M. J. R. The analysis of a factorial experiment with additional treatments. *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, v. 47, p. 205-206. 1956.

- [12] PIMENTEL-GOMES, F. P. "Curso de Estatística Experimental". 15^a ed. Piracicaba: ESALQ/USP. 2009. 451p.
- [13] MACHADO, A. Sistema de Análise Estatístico para o Windows (WINSTAT). Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, 2001.
- [14] R DEVELOPMENT CORE TEAM R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011. ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.R-project.org/.
- [15] RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. DE "Experimentação em Genética e Melhoramento de Plantas". 2ª ed. Lavras: Editora UFLA, 2005. 322 p.
- [16] Ramos, P. S.; Ferreira, D. F. Agrupamento de médias via bootstrap de populações normais e não-normais, *Revista Ceres*, v. 56, p. 140-149, 2009.
- [17] REZENDE, F. A. DE. "Aproveitamento da Casca de Café e Borra da Purificação de Gorduras e Óleos Residuários em Compostagem." 2010. 74p. Dissertação (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2010.
- [18] SAEG Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes UFV
 Viçosa, 2007.
- [19] Shapiro, S. S.; Wilk, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality (complete samples), *Biometrika*, London, v.52, n.3-4, p. 591-611, Dec. 1965.
- [20] SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sep. 1974.
- [21] FARIA, J. C.; GROSJEAN, P.; JELIHOVSCHI, E. *Tinn-R*: GUI/Editor for R language and environment statistical computing, 2008. URL http://sourceforge.net/projects/tinn-r.
- [22] Tukey, J. W. Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, v.5, p.99-114, 1949.

Agradecimentos

Agradecimentos especiais aos organizadores da X Semana da Matemática e II Semana da Estatística da Universidade Federal de Ouro Preto e à Universidade Federal de Alfenas (Unifal-MG), pelo apoio financeiro e administrativo.