R para Microbiología Industrial: Análisis de Datos y Diseño Experimental con un Enfoque Práctico

Fredy Ortiz

Miguel Pérez

Francisco León

2025-05-05

Tabla de contenidos

# 1. R para MI

# Prefacio

“R para Microbiología Industrial: Análisis de Datos y Diseño Experimental con un Enfoque Práctico”

En el campo de la [Microbiología Industrial](https://bucaramanga.udes.edu.co/estudia/pregrados/microbiologia-industrial) y el diseño de experimentos, la integración de herramientas estadísticas constituye un desafío pedagógico fundamental que requiere estrategias innovadoras de enseñanza-aprendizaje, y como profesores de estas áreas de aprendizaje hemos identificado que los estudiantes experimentan dificultades significativas al establecer conexiones entre los conceptos estadísticos y los resultados experimentales microbiológicos.

En respuesta a esta problemática, surge la propuesta del libro ” Aplicaciones del Software RStudio® en la Microbiología Industrial “, diseñado específicamente para articular las áreas de: Diseño de Experimentos y la Microbiología Industrial con ayuda de Rstudio®, utilizando a lo largo de contenido ejemplos concretos derivados de trabajos de grado y proyectos académicos desarrollados en la [Universidad de Santander - UDES](https://udes.edu.co/).

La obra integra además temas relacionados con Análisis Bibliométrico eInteligencia Artificial, reconociendo de este modo que la microbiología contemporánea demanda no solo competencias técnicas, sino adaptación de nuevas habilidades en una disciplina científica en constante evolución, contribuyendo de esta forma a la formación de profesionales capaces de afrontar los desafíos emergentes del campo de microbiológico industrial, tanto para el presente como su futuro profesional.

**Fredy Alejandro Ortiz Meneses**  
*Curso Microbiologia General y Microbiología II*

**Miguel Oswaldo Pérez Pulido**  
*Curso Proyecto II – Microbiología Industrial*  
*Maestría en Estadística Aplicada y Analítica de Datos*

**Francisco Javier León**  
*Curso Proyecto I – Profesor de Microbiología Industrial*  
*Maestría en Estadística Aplicada y Analítica de Datos*

|  |
| --- |
| Lo que significa este libro |
| La presente obra constituye nuestra contribución a la formación integral de los Microbiólogos Industriales en su desarrollo como científicos. Esperamos que su contenido no solo fortalezca su experiencia académica, sino que además les provea de las competencias prácticas indispensables para afrontar los desafíos contemporáneos y futuros del ámbito profesional. |

|  |
| --- |
| Para citar |
| Ortiz, F., Pérez, M., y León, F. (2025). *R para Microbiología Industrial: Análisis de Datos y Diseño Experimental con un Enfoque Práctico* Universidad de Santander. Vicerrectoría de Enseñanza.<https://udesanalitica.github.io/r-para-mi/>. https://doi.org/10.5281/zenodo.XXXXX |

@techreport{PerezPulido2025,  
 author = {Ortiz, F., Pérez, M., y León, F.},  
 title = {R para Microbiología Industrial: Análisis de Datos y Diseño Experimental con un Enfoque Práctico},  
 institution = {Universidad de Santander (UDES)},  
 year = {2025},  
 note = {Vicerrectoría de Enseñanza.   
 url = {https://udesanalitica.github.io/r-para-mi/}},  
 type = {e-book},  
 doi = {10.5281/zenodo.XXXXX},  
 url = {https://doi.org/10.5281/zenodo.XXXXX}

|  |
| --- |
| Derechos de Autor |
| Universidad de Santander (UDES) Calle 70 #N° 55-210 Bucaramanga, Santander, Colombia <https://www.udes.edu.co/> |

# 2. Autores

|  |
| --- |
| Tip |
| 2.1 Fredy Alejandro Ortiz Meneses  Microbiólogo con énfasis en Alimentos, Especialista en Pedagogía y Didácticas Específicas, y Magíster en Fitopatología. |

|  |
| --- |
| Tip |
| 2.2 Miguel Oswaldo Pérez Pulido  Director de Analítica Académica. Licenciado en Matemáticas y Magíster en Estadística. Actualmente se desempeña como Director de Analítica Académica, adscrito a la Vicerrectoría de Enseñanza. Está vinculado a la Universidad de Santander (UDES) desde 2011, donde ha sido docente en programas de pregrado y posgrado de la Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias. Es investigador Junior reconocido por Minciencias en la convocatoria 894 de 2021 y miembro del grupo de investigación CIBAS. |

|  |
| --- |
| Tip |
| 2.3 Francisco Javier León  Bacteriólogo y laboratorista clínico, con formación avanzada como Magíster en Estadística Aplicada, Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas y Especialista en Educación con Nuevas Tecnologías. Está vinculado a la Universidad de Santander (UDES) desde 2007, donde ha sido docente en la Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias. Actualmente, se desempeña como Coordinador de Analítica Académica, adscrito a la Vicerrectoría de Enseñanza. Es investigador Junior reconocido por Minciencias en la convocatoria 894 de 2021 y miembro del grupo de investigación CIBAS. |

# 3. Agradecimientos

En primer lugar, queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a todos los estudiantes y profesores del programa de Microbiología que, a lo largo del tiempo, han compartido con nosotros sus inquietudes y retos al intentar conectar el análisis estadístico con la microbiología industrial.

Nuestro agradecimiento se extiende a los colegas académicos, especialmente a los profesores: Christian Andrey Chacín Zambrano y Daniel Adyro Martinez; y a los estudiantes graduados que generosamente compartieron sus experiencias y bases de datos, provenientes de importantes experimentos académicos. Sus aportes han sido fundamentales para dar vida a este manual y hacerlo relevante y aplicable a situaciones reales dentro del contexto de la microbiología industrial.

Asimismo, manifestamos gratitud a Robert Gentleman y Ross Ihaka, creadores del software R, así como a todos los colaboradores de la comunidad de R y RStudio®. Gracias a su compromiso y dedicación, estas herramientas se han mantenido accesibles para la comunidad científica.

A la Universidad de Santander (UDES) y a su Departamento de Desarrollo Profesoral, por la apertura de la Convocatoria Interna **Producción de Material Profesoral (2025)**, gracias a esta iniciativa, hemos encontrado un espacio de apoyo institucional que valora la producción material educativo de calidad, gracias a ello, nos sentimos motivados a seguir desarrollando herramientas que fortalezcan una enseñanza efectiva en los campos de la Microbiología Industrial y la Estadística Aplicada.

# 4. Introducción

En el ámbito de la microbiología industrial, donde los requerimientos analíticos varían según el tipo de experimento y los objetivos investigativos, R y RStudio® ofrecen una flexibilidad sobresaliente. La comunidad global de usuarios provee soporte constante y recursos actualizados, mientras que la amplia disponibilidad de paquetes especializados permite realizar análisis complejos con mayor precisión y eficiencia (Wickham & Grolemund, 2017). Esta combinación de potencia analítica, reproducibilidad y accesibilidad convierte a R en una herramienta idónea para el análisis de datos experimentales, el diseño de experimentos y la optimización de procesos biotecnológicos.

El presente libro está estructurado en tres partes principales.

* La Parte I aborda la instalación, configuración y manejo del entorno RStudio®, junto con un inventario de librerías esenciales para el análisis de datos en microbiología industrial.
* La Parte II desarrolla aplicaciones prácticas de R en el diseño experimental, con ejemplos reproducibles de diseños completamente al azar, en bloques y con mediciones repetidas en el tiempo.
* La Parte III introduce el uso de inteligencia artificial y simulación de datos, explorando cómo los modelos generativos y las herramientas computacionales pueden complementar la investigación microbiológica moderna.

De este modo, el libro ofrece una guía integral que combina fundamentos teóricos, práctica aplicada y perspectivas innovadoras, contribuyendo a fortalecer las competencias analíticas de los estudiantes y profesionales de la microbiología industrial.

# 5. Capítulo 1 Introducción al software R y la interfaz RStudio

El software **R** es un entorno de programación especializado en análisis estadístico, visualización de datos y modelado científico, ampliamente utilizado en la investigación y la industria. Su integración con **RStudio**, una interfaz de desarrollo amigable y versátil, facilita la escritura de código, la gestión de proyectos y la interpretación de resultados. A continuación, se describe el proceso de **instalación y configuración** del software R y de la interfaz **RStudio**, así como los pasos iniciales para familiarizarse con sus principales componentes y herramientas de trabajo.

## 5.1 Instalación y configuración

La instalación del software R y la interfaz RStudio (ahora llamado *Posit RStudio®*) es un proceso sencillo que puede completarse en unos pocos pasos; primero, se debe descargar e instalar R desde el sitio web oficial del Proyecto R ([https://www.r-project.org](#X6589fc6ab0dc82cf12099d1c2d40ab994e8410c)); una vez instalado R, se puede proceder a descargar e instalar RStudio® desde su sitio web ([https://posit.co/download/rstudio-desktop/](#X6589fc6ab0dc82cf12099d1c2d40ab994e8410c)) (Figura 1).



Figura 1.

Ambos programas están disponibles para múltiples sistemas operativos, incluyendo Windows, macOS y Linux (Figura 2).



Figura 2.

Del mismo modo se deben descarga de diferentes directorios llamadas CRAN (Comprehensive R Archive Network o Red integral de archivo R) (Figura 3).



Figura 3.

Finalmente descargar la última versión de R para Windows (Figura 4).



Figura 4.

Una vez instalados R y RStudio®, es importante familiarizarse con la interfaz de RStudio® (Figura 5); esta interfaz está dividida en varias secciones, incluyendo: (i) el editor de código o Script, el cual permite escribir y editar las instrucciones o Scripts; (ii) la consola: se utiliza para ejecutar comandos interactivos; (iii) el entorno de trabajo: muestra los objetos y datos cargados en la sesión actual y las (iv) pestañas de archivos y gráficos: permiten gestionar archivos y visualizar gráficos generados por R (R Core Team, 2021).



Figura 5

Además de la interfaz básica, RStudio® permite la instalación y gestión de paquetes adicionales que amplían sus funcionalidades; para instalar un paquete, se puede utilizar la función install.packages (“nombre\_del\_paquete”) en la consola de RStudio®; una vez instalado, el paquete se puede cargar en la sesión actual utilizando la función library (nombre\_del\_paquete).

|  |
| --- |
| Importante |
| Mantener R y RStudio® actualizados es clave para aprovechar las últimas mejoras, nuevas funcionalidades y correcciones de errores. Ambos programas notifican automáticamente cuando hay versiones más recientes disponibles, por lo que se recomienda estar atento a estos avisos y actualizar oportunamente. |

Para actualizar R, se debe descargar e instalar la nueva versión desde el sitio web del Proyecto R; para actualizar RStudio®, se puede utilizar la opción de actualización en el menú de ayuda de RStudio®; mantener el software actualizado garantiza un rendimiento óptimo y acceso a las últimas funcionalidades (R Core Team, 2021) (R Core Team, 2023; RStudio Team, 2023).

## 5.2 Paquetes Esenciales para el análisis de datos

De **R** se destaca su gran variedad de paquetes especializados que amplían sus capacidades analíticas y gráficas. En el contexto de la **microbiología industrial**, estas librerías permiten gestionar, transformar y visualizar datos experimentales con precisión, favoreciendo la interpretación de resultados y la toma de decisiones basadas en evidencia. Es por ello que se presenta un inventario de los **paquetes más utilizados en el análisis de datos microbiológicos**.

## 5.3 Inventario de Librerías y Paquetes de R aplicados para el análisis de datos en Microbiología Industrial.

El ecosistema de librerías y paquetes de R constituye una herramienta fundamental para el análisis de datos en microbiología industrial, proporcionando soluciones específicas para cada etapa del proceso investigativo, y en este contexto, las librerías básicas como:

* [***readxl***](https://readxl.tidyverse.org/), desarrollada por (Wickham & Bryan, 2015), facilita la importación de datos desde hojas de cálculo Excel®, donde tradicionalmente los microbiólogos registran sus resultados experimentales.
* [***car***](https://cran.r-project.org/web/packages/car/index.html) (Companion to Applied Regression), creada por (Fox & Weisberg, 2019), ofrece herramientas esenciales para la verificación de supuestos estadísticos mediante gráficos QQ-plot, permitiendo evaluar la normalidad de los datos antes de aplicar pruebas paramétricas en experimentos de optimización de medios de cultivo y comparación de cepas microbianas.

La revolución en el análisis de datos microbiológicos se materializa principalmente a través del libreria [***tidyverse***](https://tidyverse.tidyverse.org/), desarrollado por (Wickham et al., 2019), que integra múltiples librerías bajo una lógica común de programación, Este conjunto incluye los siguientes paquetes:

* [**ggplot2**](https://ggplot2.tidyverse.org/) , para visualización de datos.
* [**dplyr**](https://dplyr.tidyverse.org/) , para manipulación de datos.
* [**tidyr**](https://tidyr.tidyverse.org/) , para ordenar datos.
* [**readr**](https://readr.tidyverse.org/) , para importar datos.
* [**purrr**](https://purrr.tidyverse.org/) , para programación funcional.
* [**tibble**](https://tibble.tidyverse.org/) , para tibbles, una reinvención moderna de los marcos de datos.
* [**stringr**](https://github.com/tidyverse/stringr) , para cadenas.
* [**forcats**](https://github.com/tidyverse/forcats) , para factores.
* [**lubridate**](https://github.com/tidyverse/lubridate) , para fecha/hora.

Los analísis se enriquecen, considerablemente con librerías especializadas que abordan necesidades específicas de la investigación microbiológica industrial, y tal es el caso de:

* [***gridExtra***](https://cran.r-project.org/web/packages/gridExtra/index.html), desarrollada por (Auguie, 2017), la cual facilita la organización de múltiples gráficos en una sola visualización, permitiendo comparaciones efectivas entre diferentes condiciones experimentales.
* [***lsr***](https://cran.r-project.org/web/packages/lsr/index.html) (Learning Statistics with R), creada por (Navarro, 2015) proporciona funciones accesibles para análisis estadísticos fundamentales como pruebas t, ANOVA y cálculos de tamaño del efecto;
* [**Bibliometrix**](https://www.bibliometrix.org/home/), desarrollado por (Aria & Cuccurullo, 2017) permite realizar análisis bibliométrico de publicaciones científicas, identificando tendencias emergentes y redes de colaboración que orientan nuevas investigaciones.

Las aplicaciones especializadas en análisis multivariado y modelado avanzado complementan este inventario tecnológico, y es donde converge:

* [***vegan***](https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html), desarrollada por (Oksanen et al., 2020), la cual proporciona proporciona herramientas para análisis de diversidad ecológica mediante técnicas como PCA (Análisis de Componentes Principales), NMDS (Escalamiento Multidimensional No Métric) permitiendo visualizar relaciones complejas entre comunidades microbianas y variables ambientales en procesos industriales.
* [***nlme***](https://fhernanb.github.io/libro_modelos_mixtos/pac-nlme.html) desarrollado por (Pinheiro et al., 2025) ofrece capacidades para modelar datos longitudinales con estructura jerárquica, típicos de estudios de cinética microbiana.
* [***Agricolae***](https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/index.html) facilita el diseño experimental(Mendiburu, 2020).
* [***Shiny***](https://shiny.posit.co/r/getstarted/shiny-basics/lesson1/) permite desarrollar aplicaciones web interactivas para visualización dinámica de resultados, mejorando la colaboración y transparencia en la investigación microbiológica industrial(Chang et al., 2021).

## 5.4 Paquetes del software R para Microbiología Industrial

El uso de R como herramienta de análisis estadístico en la microbiología industrial ha experimentado un crecimiento exponencial en la última década, según (Mohammadi et al., 2019) R proporciona una plataforma versátil que permite analizar datos complejos derivados de experimentos microbiológicos, facilitando la identificación de patrones de crecimiento microbiano, optimización de condiciones de cultivo y evaluación de la producción de metabolitos secundarios, lo que resulta crucial para el desarrollo y mejora de procesos biotecnológicos en entornos industriales.

* El paquete *phyloseq* (McMurdie & Holmes, 2013), se emplea en el análisis de datos de secuenciación en estudios de comunidades microbianas, permitiendo la integración de información taxonómica, filogenética y de abundancia en un solo entorno analítico; este avance ha sido fundamental para comprender la dinámica de **poblaciones microbianas** en procesos industriales como: el tratamiento de aguas residuales, la producción de biocombustibles y la fermentación alimentaria.
* El paquete microbiome, descrito por (Lahti & Shetty, 2017), proporciona herramientas especializadas para el análisis de **datos metagenómicos**, facilitando la caracterización de comunidades microbianas y sus funciones metabólicas en entornos industriales, lo que resulta esencial para la optimización de bioprocesos y el control de calidad en la industria alimentaria.

El **diseño experimental** en microbiología industrial se ha beneficiado significativamente de la aplicabilidad de R, permitiendo planificar y analizar experimentos de manera más rigurosa y eficiente.

* El paquete *agricolae*, desarrollado por de Mendiburu (2021) (Zhou et al., 2012) es utilizado para la implementación de diseños experimentales complejos como: bloques aleatorizados y diseños factoriales entre otros, al tiempo que frecuentemente son utilizados en estudios de optimización de medios de cultivo, condiciones de fermentación y producción de enzimas microbianas.
* Complementariamente, (Ritz & Streibig, 2005) presentaron el paquete *drc* (Dose-Response Curves), que ha facilitado el análisis de **Curvas dosis-respuesta** en estudios de inhibición microbiana, pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos y evaluación de compuestos bioactivos producidos por microorganismos, proporcionando herramientas estadísticas robustas para cuantificar y modelar respuestas biológicas a diferentes tratamientos, lo cual es fundamental en el desarrollo de nuevos productos biotecnológicos.
* El paquete *ggplot2* desarrollado por (Wickham, 2016), el cual ha permitido la creación de gráficos altamente informativos que facilitan la interpretación de resultados experimentales; en particular, la representación gráfica de cinéticas de crecimiento microbiano, producción de metabolitos y análisis multivariantes se ha vuelto más accesible e intuitiva para investigadores en el campo.
* De manera similar el paquete *ggtree*, creado por (Yu et al., 2017), ha revolucionado la visualización de datos filogenéticos en estudios de diversidad microbiana industrial, permitiendo representar relaciones evolutivas entre microorganismos de interés biotecnológico y correlacionarlas con características fenotípicas relevantes para procesos industriales, lo que facilita la selección de cepas microbianas con potencial biotecnológico.

|  |
| --- |
| Expandir para aprender son el analis de datos ómicos |
| El análisis de datos ómicos en microbiología industrial se ha visto significativamente potenciado gracias al aporte de (Love et al., 2014) quienes introdujeron *DESeq2*, un paquete que ha transformado el análisis de datos de RNA-seq en estudios transcriptómicos de microorganismos industriales, permitiendo identificar genes diferencialmente expresados bajo diversas condiciones de cultivo o modificaciones genéticas; lo que contribuye a la mejora de cepas microbianas industriales y a optimizar rutas metabólicas de interés comercial; paralelamente (Rohart et al., 2017) desarrollaron el paquete mixOmics, el cual facilita la integración de múltiples conjuntos de datos ómicos, como:   1. transcriptómica, 2. proteómica y 3. metabolómica,   Proporcionando una visión holística de los sistemas microbianos en contextos industriales, lo que permite desentrañar complejas redes regulatorias y metabólicas que subyacen a procesos biotecnológicos importantes como de compuestos bioactivos. |

# 6. Capítulo 2 Análisis bibliométrico para la gestión de un diseño experimentos

El **Capítulo 2** aborda el análisis bibliométrico como una herramienta esencial para la **gestión del conocimiento en el diseño experimental**, permitiendo identificar tendencias, autores, revistas y enfoques metodológicos relevantes dentro del campo de la microbiología industrial. La inclusión de este capítulo tiene como propósito **fortalecer la fundamentación teórica y metodológica** del lector, proporcionándole una visión panorámica de la producción científica relacionada con el tema. A través del uso de técnicas de minería de datos bibliográficos y del software *R*, se ejemplifica cómo la bibliometría contribuye a **orientar la planificación y optimización de los diseños experimentales**, facilitando la toma de decisiones basadas en evidencia científica actual. De este modo, el capítulo no solo enriquece el marco conceptual del libro, sino que también promueve una práctica investigativa más informada, sistemática y alineada con las tendencias globales en investigación aplicada.

## 6.1 Etapas del análisis bibliométrico

El análisis bibliométrico es un proceso estructurado que permite examinar de manera sistemática la producción científica sobre un tema determinado. Para garantizar resultados rigurosos y reproducibles, este procedimiento se desarrolla en varias etapas que van desde la **definición del tema y la búsqueda en bases de datos**, hasta la **depuración, análisis e interpretación de los resultados** mediante herramientas especializadas como *Bibliometrix* y su interfaz *Biblioshiny*.

A continuación, se describen las etapas del proceso:

### 6.1.1 **1. Definición del tema y palabras clave**

La primera etapa consiste en **delimitar el tema de estudio** y seleccionar las **palabras clave** que representen el objeto de investigación. Por ejemplo, en este ejercicio se emplearon los datos del trabajo de grado (sin publicar) *“Evaluación del crecimiento de Cordyceps militaris en diferentes sustratos vegetales”* (Chala, 2025).

Algunas palabras clave empleadas fueron:

* *Cultivation*: proceso de cultivar *Cordyceps militaris* en condiciones controladas para estudiar su crecimiento.
* *Mycelial growth*: crecimiento del micelio, parte vegetativa del hongo.
* *Substrate optimization*: mejora de los sustratos de cultivo para maximizar el crecimiento y la producción de metabolitos.
* *Bioactive compounds*: compuestos bioactivos como la cordicepina, con propiedades medicinales.
* *Fermentation conditions*: condiciones de fermentación (temperatura, pH, nutrientes) que influyen en el crecimiento del hongo.

Las combinaciones de estas palabras se construyen utilizando **operadores booleanos** (AND, OR, NOT) para lograr ecuaciones de búsqueda precisas.

Por ejemplo:

"Cordyceps militaris" AND ("substrate optimization" OR "culture medium") AND "growth"

### 6.1.2 **2. Búsqueda y descarga de información en bases de datos**

Una vez definidas las palabras clave, se realiza la **búsqueda sistemática** en bases de datos compatibles con *Bibliometrix*, como: [**Web of Science**](www.webofscience.com) , [**Scopus**](www.scopus.com), [**OpenAlex**](www.openalex.org), [**Dimensions**](www.dimensions.ai), [**The Lens**](www.lens.org); [**PubMed**](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/)y [**Cochrane Library**](www.cochranelibrary.com)

Durante esta etapa se deben aplicar filtros de búsqueda: **Periodo de tiempo, Tipo de documento** (artículo, revisión, conferencia), **Área temática.**

Luego, los **metadatos** deben descargarse en formato **CSV, BibTeX o RIS** según lo admita la base. Por ejemplo, en Scopus puede exportarse como *CSV (UTF-8)* con la opción “Full Record”. Se recomienda nombrar los archivos de forma clara (p. ej. Cordyceps\_Scopus\_2025.csv).

En la Tabla 1 se presenta un ejemplo de resultados obtenidos tras aplicar distintas ecuaciones de búsqueda relacionadas con el tema.

Tabla 1. Salida de resultados para cada uno de los operadores booleanos, introducidos dentro de la plataforma de Scopus®, y que están con el tema de investigación de *Cordyceps militaris.*

| Ecuación de búsqueda | Documentos encontrados |
| --- | --- |
| “Cordyceps militaris” AND (“metabolite” OR “growth conditions” | 225 |
| “Cordyceps militaris” AND (“cordycepin”) AND “growth” | 191 |
| “Cordyceps militaris” AND “medium” AND “growth” | 99 |
| “Cordyceps militaris” AND (“substrate optimization” OR “culture medium”) AND “growth” | 40 |

### 6.1.3 **3. Importación y análisis en Bibliometrix / Biblioshiny**

Con los archivos descargados, se procede a su análisis mediante *Bibliometrix*, un paquete de R que facilita la recopilación, análisis y visualización de información científica de forma integral (Aria & Cuccurullo, 2017). La interfaz *Biblioshiny* permite ejecutar estos análisis de manera interactiva y sin necesidad de programación. **Bibliometrix** (a través de su interfaz **Biblioshiny**) está estructurado en **8 módulos principales** o menús, y dentro de cada uno hay **submódulos o indicadores específicos**.

Módulos principales de Bibliometrix / Biblioshiny

| Nº | Módulo | Función general | Submódulos / indicadores |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | **Data** | Importar/cargar bases bibliográficas (Scopus, WoS, PubMed, etc.). | Import or Load; Merge Datasets |
| 2 | **Filters** | Filtrar el corpus por año, tipo de documento, autores, países, palabras clave. | Time Span; Authors; Countries |
| 3 | **Overview** | Panorama general con indicadores descriptivos. | Main Information; Annual Scientific Production; Average Citations per Year; Three-Field Plot |
| 4 | **Sources** | Análisis de revistas/fuentes. | Most Relevant Sources; Bradford’s Law |
| 5 | **Authors** | Productividad, impacto y colaboración de autores. | Authors’ Production Over Time; Most Cited Authors; Collaboration Network |
| 6 | **Documents** | Documentos más citados y patrones de citación. | Most Cited Documents; Reference Spectroscopy |
| 7 | **Clustering (Conceptual Structure)** | Estructura temática/conceptual del campo. | Co-occurrence Network; Thematic Map; Factorial Analysis |
| 8 | **Social Structure** | Redes de colaboración entre autores, instituciones y países. | Collaboration Network; Country Scientific Production; Collaboration World Map |

### 6.1.4 **4. Interpretación y comunicación de resultados**

Los resultados obtenidos se interpretan según el contexto de estudio. En el caso de la **microbiología industrial**, el uso de *Bibliometrix* permite identificar líneas emergentes de investigación, autores influyentes, colaboraciones internacionales y vacíos en la literatura.

A través de las visualizaciones interactivas de *Biblioshiny*, es posible construir **mapas de conocimiento**, **redes de colaboración** y **tendencias temáticas**, que facilitan la toma de decisiones basadas en evidencia científica.  
De esta forma, el análisis bibliométrico se consolida como una herramienta que fortalece la **planificación de proyectos**, la **vinculación académica** y la **comprensión del panorama científico actual** en el campo de la microbiología industrial.

## 6.2 El paquete [**Bibliometrix**](https://www.bibliometrix.org/home/)

Desarrollado en R, constituye una herramienta clave para el análisis bibliométrico en distintas áreas del conocimiento, entre ellas la [**microbiología industrial**](#X6589fc6ab0dc82cf12099d1c2d40ab994e8410c) y el **diseño experimental**. Su enfoque de código abierto permite recopilar, analizar y visualizar información científica de manera integral, ofreciendo una visión clara sobre las principales tendencias y la evolución de la investigación en cada campo (Aria & Cuccurullo, 2017).

En la **microbiología industrial**, [**Bibliometrix**](https://www.bibliometrix.org/home/) se ha convertido en un apoyo fundamental para reconocer **líneas emergentes de investigación**, **colaboraciones internacionales** y **autores influyentes** que marcan el desarrollo del área (Aria & Cuccurullo, 2017). A través de su interfaz visual [**Biblioshiny**](https://www.bibliometrix.org/home/index.php/layout/biblioshiny), los análisis complejos se vuelven accesibles incluso para quienes no tienen experiencia en programación. Esta accesibilidad favorece la creación de **mapas de conocimiento**, **redes de colaboración** y **agrupamientos temáticos** que ayudan a identificar oportunidades de trabajo conjunto, vacíos en la literatura o la evolución de determinadas técnicas experimentales.

El uso de Bibliometrix y Biblioshiny permite una comprensión argumentada del panorama científico, fomentando decisiones de investigación basadas en evidencia y fortaleciendo la planificación de proyectos dentro de la microbiología industrial.

### 6.2.1 Instalación de bibliometrix

Para iniciar el análisis bibliométrico, se procede a ingresar al programa RStudio®, al tiempo que se realiza la instalación de los paquetes: *bibliometrix* y *bibliometrixData*, desde la pestaña de Archivos y Gráficos en la sección de Packages (Figura 8).



Figura 8.

Posteriormente, desde la Consola de RStudio se digitan y ejecutan los comandos:

library(bibliometrix)  
biblioshiny()

Tambien se puede habilitar manualmente en la pestaña de Archivos y Graficos de la interfaz de RStudio, pestaña de Packages (figura9) seleccionado las librerias a usar.



Figura 9.

Se abrirá el servidor de Bibliometrix (Figura 9) en el navegador web (Chrome, Mozilla, Edge, entre otros). Es importante aclarar que la interfaz de Bibliometrix únicamente pude ser ejecutada desde RStudio®.



Figura 9.

En la parte izquierda se despliega el **menú de biblioshiny**, y se procede con la importación en “***Import or Load***” se carga el archivo CSV (Aria & Cuccurullo, 2017), al tiempo que se seleccionan las casillas: ***Import raw file(s*)**, la procedencia de la base de datos consultada (*Scopus,* en nuestro caso) , junto la opción: ***Surname and Initials***, y finalmente damos click en el botón de ***Start***  (Figura 10).



Figura 10.

Después se despliega una nueva ventana que muestra el estado de los componentes de los metadatos importados desde el archivo CSV (Figura 11), allí se muestra una tabla que resume la completitud de los metadatos (para nuestro ejemplo: 191 documentos de Scopus),.



Figura 11.

Así mismo Bibliometrix evalúa cada uno de los diferentes campos de metadatos (Abstract, afiliación, autor, tipo de documento, etc.) utilizando *junto a* diferentes criterios de clasificación como son: “Excelente”, “Bueno”, “Aceptable” “Pobre” y “Completamente perdido” (Figura 11), y que al ser cerrado “Close” muestra una tabla dinámica con todos los datos importados incluyendo el DOI, desde el cual se puede acceder y leer directamente el articulo científico (Figura 12).



Figura 12

### 6.2.2 Estructura

#### 6.2.2.1 **Modulo *Overview***

El indicador ***Main information*** muestra los valores de los metadatos trabajados, para este ejemplo se tiene un periodo de análisis de1951 a 2025 con un total de 135 fuentes y 191 documentos, la tasa de crecimiento anual es de 0,94%, **se identificaron 903 autores**, sin registros un solo autor; la coautoría internacional alcanza un valor de 15,18% y el promedio de **coautores** por documento es de 6,19. Se encontraron 543 palabras clave de autor y 7474 referencias, la edad promedio de los documentos es de 7,34 años y la cantidad **media de citas por documento** es de 25,69 (Figura 13).



Figura 13

Para la sección ***Average Citations Per Ye*ar** (Traducido: Citas Promedio por año) muestra la evolución de publicaciones sobre *Cordyceps militaris* entre 1951 y 2025 (Figura 14). Entre **1951 y 2000**, la producción científica fue mínima, con casi nula variación. A partir de **2000**, comienza un crecimiento leve y sostenido, que se **acelera notablemente después de 2010**, alcanzando su punto máximo entre **2020 y 2024**, con más de **20 artículos anuales**. En **2025**, se observa una **caída abrupta**, posiblemente atribuida a datos incompletos o publicaciones aún en proceso. En síntesis, la tendencia general evidencia un **crecimiento exponencial de la investigación** sobre *Cordyceps militaris* en las dos últimas décadas, reflejando su creciente relevancia científica y biotecnológica.



Figura 14

La Figura 15 **“Three-Field Plot”** muestra la relación entre **países (AU\_CO)**, **autores (AU)** y **descriptores temáticos (DE)** en la investigación sobre *Cordyceps militaris*. **China** lidera ampliamente la producción científica, seguida por **Tailandia**, **Reino Unido**, **Singapur** y **Estados Unidos**, evidenciando una fuerte concentración asiática en el tema. Los autores más productivos son **Li X**, **Li Y**, **Vongsangnak W** y **Zhang J**, quienes forman redes de colaboración relevantes dentro del campo. En cuanto a los **descriptores**, predominan términos como *Cordyceps militaris*, *biotecnología del hongo*, *compuestos bioactivos* y *análisis transcriptómico*, lo que refleja el enfoque de la investigación en los componentes biológicos y aplicaciones biotecnológicas del hongo. El gráfico confirma el **liderazgo científico de Asia** en el estudio de *Cordyceps militaris* y la \**concentración temática en la exploración de compuestos bioactivos y su potencial en salud y biotecnología*.

quarto

#### 6.2.2.2 **Modulo *Sources***

Para el menú de *Sources* en la sección ***Most Relevant Sources*** (Traducido: Fuentes más Relevantes) la producción científica está liderada por: International Journal of Medicinal Mushrooms con 15 artículos publicados, seguido de Mycosystema con 8, le sigue: Applied Microbiology and Biotechnology con 5. Dichas revistas destacan por su enfoque en microbiología, biotecnología y farmacología, áreas clave dentro del estudio abordado. **La distribución sugiere que la investigación en este campo se encuentra bien representada en revistas especializadas**,las demás revistas como: Biology, Bioresource Technolgy, y Nutrients, que cuentan con 3 artículos cada una (Figura 16).



Figura 16

En la sección de **Bradford’s Law** (Traducido: La Ley de Bradford) y continuando con nuestro ejemplo didáctico de *Cordyceps mil*itaris ,se observa que: “International Journal of Medicinal Mushrooms”, junto con “Mycosystema” y “Applied Microbiology and Biotechnology”, conforman el núcleo de fuentes indexadas  más relevantes, aportando el mayor número de publicaciones, estas tres revistas están dentro del área sombreada, lo que **confirma su papel central en la diseminación del conocimiento** sobre *C. militari*s y compuestos bioactivoss. A medida que se avanza hacia la derecha del gráfico, el número de artículos por revista disminuye, lo que representa publicaciones de interés más disperso (Figura 17).



Figura 17

#### 6.2.2.3 **Modulo** *Authors*

En la sección **“Authors’ Production over Time”** (Producción de los autores a lo largo del tiempo) se evidencia que los investigadores **Li X., Li Y. y Wang Y .** han mantenido una **producción científica constante** en los últimos años, alcanzando **picos destacados en 2020 y 2022** (Figura 18), lo que demuestra su papel central en el estudio de *Cordyceps militaris*. La gráfica muestra una **mayor concentración de publicaciones entre 2019 y 2024**, lo que refleja un **crecimiento sostenido y reciente de la investigación** en este campo. Otros autores, como **Vongsangnak W.**, **Zhang J.**, **Laoteng K.** y **Thanwisai R.**, presentan una participación **más intermitente**, aunque continúan contribuyendo activamente en colaboraciones científicas internacionales. En conjunto, la visualización confirma una **expansión continua de la productividad académica**, impulsada por investigadores consolidados y por el aumento del interés global en las aplicaciones biotecnológicas y farmacológicas del hongo *Cordyceps militaris* .



Figura 18

Para el menú de *Authors* específicamente en: ***Countries’ Scientific Production*** (traducido: Producción científica de los países), el mapa muestra la distribución geográfica de la producción científica (Figura 19). China es el país con mayor producción científica (azul oscuro); otros países con destacada producción científica entre los que se incluyen: Estados Unidos, Corea del Sur, Tailandia, Japón, India y varios países europeos y asiáticos (azul celeste). **Algunos países no presentan producción registrada y aparecen coloreados en gris.** En la tabla se observa que China lidera con 702 publicaciones, seguida por Corea del Sur con 212, Tailandia con 83, Japón con 50 e India con 39. Otros países con menor producción incluyen Estados Unidos con 9, Reino Unido con 8, Alemania con 7, Italia con 6 y Colombia con 5 .



Figura 19

#### 6.2.2.4 **Modulo** *Document*

En la sección **“Most Frequent Words”** (Palabras más frecuentes) del modulo **Documents**, la visualización identifica los términos que aparecen con mayor recurrencia en la literatura científica sobre *Cordyceps militaris*. Las palabras **“Cordyceps”** y **“Cordycepin”** destacan con **196** y **187** menciones respectivamente, reflejando su relevancia central en los estudios del área. Otros términos con alta frecuencia son **“article”** (109), **“Cordyceps militaris”** (108), **“nonhuman”** (92), **“metabolism”** (79), **“deoxyadenosines”** (77), **“controlled study”** (76), **“deoxyadenosine derivative”** (65) y **“adenosine”** (64). En conjunto, esta distribución de palabras clave evidencia que la investigación reciente se concentra en los **aspectos bioquímicos y farmacológicos** del hongo, especialmente en torno a sus compuestos activos y su aplicación en estudios experimentales (Figura 19).



Figura 20

En la sección **“Reference Spectroscopy”** (Espectroscopía de referencias) del modulo **Documents**, la visualización muestra la evolución temporal de las **referencias citadas** en estudios de espectroscopía. Antes de **1990**, las citas registradas son casi inexistentes, indicando una actividad investigativa limitada. A partir de **1995**, se observa una **tendencia ascendente constante**, que se intensifica de forma notable hacia **2005**, evidenciando un crecimiento sostenido en la producción científica y en el interés por la temática. El **pico máximo** se alcanza entre **2015 y 2020**, con más de **400 referencias citadas por año**, lo que refleja la consolidación de la espectroscopía como herramienta fundamental en el análisis de compuestos bioactivos, como los del *Cordyceps militaris*. Después de **2018**, se percibe una **disminución progresiva** en las citas, seguida de una **caída abrupta posterior a 2020**, atribuible al **rezago natural en la citación de estudios recientes**, los cuales aún no han tenido el tiempo suficiente para acumular referencias (Figura 21).



Figura 21

#### 6.2.2.5 Modulo **Clustering (Conceptual Structure)**

Para el menú de *Conceptual Structure* concretamente en: ***Co-occurrence Network*** (traducido: Red de Coocurrencias), la red se encuentra claramente dividida en dos comunidades principales, identificadas por los colores rojo y azul. **La comunidad roja**, dominada por términos como cordycepin, Cordyceps militaris, metabolism y article, se orienta al estudio bioquímico y farmacológico del compuesto, mientras que **la comunidad azul** está asociada a modelos experimentales, destacando términos como animal experiment, human, mouse y cell line. Esta segmentación temática sugiere una dualidad en la línea de investigación: una centrada en la caracterización química y otra en los efectos biológicos en modelos preclínicos. El análisis de centralidad (como grado y betweenness) permitiría identificar términos puente como: nonhuman o controlled study, que conectan ambas comunidades (Figura 22).



Figura 22

En el menú **Conceptual Structure**, específicamente en la opción **Factorial Analysis**, se presenta una representación bidimensional de los términos más relevantes identificados en el corpus bibliográfico analizado. En el **eje X (Dim 1)**, que explica el **50,18% de la variabilidad**, se agrupan términos estrechamente relacionados con **estudios experimentales in vivo e in vitro**, tales como *in vitro study*, *mouse*, *animal tissue* y *protein expression*, ubicados en el cuadrante inferior derecho. Este agrupamiento sugiere una fuerte carga temática asociada a **investigaciones biomédicas y farmacológicas**. Por su parte, el **eje Y (Dim 2)**, que explica un **9,68% adicional de la variabilidad**, concentra términos como *transcriptome* y *carbon*, vinculados a **estudios genéticos y metabólicos**, los cuales se encuentran espacialmente separados del resto de la nube léxica.

Esta segmentación espacial evidencia la existencia de **subdominios temáticos diferenciados** dentro del campo de estudio de los *Cordyceps* y sus derivados, revelando un **enfoque dual**: uno orientado hacia la **bioquímica y biotecnología del hongo**, y otro centrado en los **ensayos experimentales en organismos modelo** (Figura 23).



Figura 23

#### 6.2.2.6 **Social Structure**

En **Social Structure**, específicamente en la opción **Collaboration Network**, se presenta un análisis basado en **redes de coautoría**, las cuales, según Aria y Cuccurullo (2017), permiten identificar **patrones de colaboración y productividad científica** entre los autores. En el contexto del estudio sobre *Cordyceps militaris*, la figura muestra una **red de colaboración entre investigadores**, donde **cada nodo representa un autor** y **las líneas o aristas** indican la existencia de coautoría en publicaciones científicas.

Se observan **múltiples grupos o comunidades de colaboración**, diferenciados por colores, lo que evidencia la existencia de **subgrupos de investigadores que trabajan conjuntamente de manera frecuente**. Algunos nodos, como **Li X** y **Vongsangnak W**, presentan un tamaño mayor, reflejando su **alto grado de colaboración** y centralidad dentro de la red. En contraste, otros autores aparecen más aislados, mostrando **menor interacción o participación** en proyectos conjuntos. Esta visualización permite comprender la **estructura social de la producción científica** sobre *Cordyceps militaris*, destacando los núcleos de liderazgo académico y las conexiones internacionales o institucionales más activas (Figura 24).



Figura 24

En la subcategoría **Social Structure → Countries’ Collaboration World Map**, se visualizan las **redes internacionales de colaboración científica** sobre *Cordyceps* y su compuesto activo *cordycepina*.  
El color azul indica el volumen de publicaciones —a mayor intensidad, mayor producción—, destacando **China** como el principal nodo y centro de cooperación. Las conexiones con **Estados Unidos, Alemania, Corea del Sur y Australia** evidencian un **patrón transcontinental de investigación**, que promueve la **transferencia de conocimiento y la consolidación de redes globales** en el estudio de hongos medicinales (Figura 25).



Figura 25

# 7. Capitulo 3 Generalidades del Diseño Experimental

El diseño experimental corresponde a una metodología científica y estadística destinada a planear, ejecutar y analizar pruebas controladas, con el propósito de obtener evidencia objetiva que responda a interrogantes sobre procesos o fenómenos específicos. El **diseño de experimentos (DOE)** se diferencia de la práctica empírica de prueba y error porque estructura el proceso investigativo bajo principios formales que permiten generar información confiable, optimizar recursos y reducir incertidumbre (Gutiérrez Pulido & Vara Salazar, 2012).

El DOE se da en ámbitos industriales y de investigación aplicada, los experimentos suelen realizarse para resolver problemas de calidad, mejorar procesos o comprobar hipótesis sobre materiales, condiciones de operación o métodos de trabajo. Sin embargo, cuando estas pruebas carecen de planeación rigurosa, se corre el riesgo de interpretar datos de manera subjetiva y desaprovechar el potencial de la variabilidad natural del sistema. Por ello, el DOE proporciona un marco que asegura resultados válidos y generalizables (Gutiérrez Pulido & Vara Salazar, 2012).

En cuanto a la terminología básica, conceptos como unidad experimental, tratamiento, factor controlable y no controlable, niveles de los factores, variable de respuesta, repetición y matriz de diseño, es requerido manejarlos. Estos términos constituyen la gramática operativa del diseño experimental, permitiendo estructurar adecuadamente las hipótesis y la recolección de datos. Además, se distingue entre error aleatorio y error experimental, resaltando la necesidad de minimizar y cuantificar ambos para garantizar validez estadística. Entre las etapas del diseño experimental, es incluyen:

* **Planeación:** formulación del problema, identificación de factores y niveles, selección de variables de respuesta y definición de objetivos.
* **Ejecución:** implementación del plan experimental bajo condiciones de control y aleatorización.
* **Análisis:** aplicación de métodos estadísticos, principalmente análisis de varianza (ANOVA), para estimar efectos principales e interacciones.
* **Interpretación:** extracción de conclusiones técnicas y toma de decisiones basadas en la evidencia.

Un aporte central son los principios básicos del DOE:

* **Aleatorización**, que asegura independencia de los errores y evita sesgos sistemáticos.
* **Replicación,** que incrementa la precisión de las estimaciones al cuantificar la variabilidad experimental.
* **Bloqueo**, que controla fuentes de variación no deseadas (turno, lote, operador), incrementando la potencia estadística del experimento.

Estos principios permiten estructurar experimentos que sean eficientes en costo y tiempo, pero robustos en cuanto a la validez de sus conclusiones.

La clasificación de diseños va desde los más simples (completamente al azar, bloques completos, cuadrados latinos) hasta los más complejos (factoriales, fraccionados, superficies de respuesta, diseños robustos). Se subraya que la selección depende de los objetivos, el número de factores, las restricciones prácticas y el tipo de información buscada. También se enfatiza que la decisión debe considerar tanto la significancia estadística como la significancia práctica, es decir, el impacto real de los resultados sobre el proceso o fenómeno bajo estudio (Gutiérrez Pulido & Vara Salazar, 2012).

### 7.0.1 2.1 Tipos de diseños experimentales

La selección de un diseño experimental depende de distintos factores que condicionan su pertinencia y aplicabilidad en cada situación. Entre los aspectos determinantes se encuentran: los objetivos que se persiguen con el estudio, la cantidad de factores que se desea analizar, el número de niveles que adoptará cada factor, los efectos que se pretende identificar en la relación causa-efecto y, finalmente, las restricciones de costo, tiempo y precisión que impone la investigación (Gutiérrez Pulido & Vara Salazar, 2012).

Estos elementos no actúan de forma aislada, ya que la modificación de cualquiera de ellos obliga generalmente a replantear el diseño a utilizar. En consecuencia, resultan fundamentales para guiar la clasificación de los diseños experimentales.

El **objetivo del experimento** constituye el criterio principal para diferenciar entre tipos de diseño, mientras que los demás factores funcionan como subcriterios de clasificación. Bajo esta perspectiva, los diseños pueden agruparse en varias categorías: aquellos orientados a la comparación de dos o más tratamientos; los que examinan el efecto de diversos factores sobre una o varias variables de respuesta; los que buscan establecer el punto óptimo de operación de un proceso; los que se enfocan en la optimización de mezclas; y finalmente, los dirigidos a lograr que un producto o proceso se mantenga estable frente a factores no controlables (Gutiérrez Pulido & Vara Salazar, 2012).

Así, la clasificación general de los diseños experimentales responde al objetivo central del estudio, y dentro de cada categoría se consideran elementos adicionales como el número de factores, los tipos de efectos a investigar y las restricciones prácticas que condicionan la ejecución.

### 7.0.2 **Clasificación de los diseños experimentales**

La siguente clasificación es tomada el libro de (Gutiérrez Pulido & Vara Salazar, 2012).

1. **Diseños para comparar dos o más tratamientos**  
   🔹 Diseño completamente al azar  
   🔹 Diseño de bloques completos al azar  
   🔹 Diseño de cuadros latino y grecolatino
2. **Diseños para estudiar efectos de varios factores sobre una o más variables de respuesta**  
   🔹 Diseños factoriales 2ᵏ  
   🔹 Diseños factoriales 3ᵏ  
   🔹 Diseños fraccionados 2ᵏ⁻ᵖ  
   🔹 Diseños anidados  
   🔹 Diseños en parcelas divididas
3. **Diseños para la optimización de procesos**  
   **➤ Modelo de primer orden**  
   🔹 Diseños factoriales 2ᵏ y 2ᵏ⁻ᵖ  
   🔹 Diseño de Plackett-Burman  
   🔹 Diseño simplex  
   **➤ Modelo de segundo orden**  
   🔹 Diseño de composición central  
   🔹 Diseño de Box-Behnken  
   🔹 Diseños factoriales 3ᵏ y 3ᵏ⁻ᵖ
4. **Diseños robustos**  
   🔹 Arreglos ortogonales (factoriales)  
   🔹 Diseño con arreglos interno y externo
5. **Diseños de mezclas**  
   🔹 Diseño simplex-reticular  
   🔹 Diseño simplex con centroide  
   🔹 Diseño sin restricciones  
   🔹 Diseño axial

# 8. Capitulo 4 Diseño Completamente al Azar (DCA)

#### 8.0.0.1 Problema

|  |
| --- |
| Nota |
| La **antracnosis del banano** 🍌, causada por *Colletotrichum musae* (Berk. y M.A. Curtis) Arx, representa una problemática fitosanitaria de considerable relevancia económica en la industria bananera mundial, puesto que genera pérdidas postcosecha que oscilan entre el 10 y 80% debido al deterioro de la calidad visual del fruto, dicho patógeno desarrolla lesiones (formación de acérvulos) de coloración marrón oscuro a negro en el epicarpio del fruto, las cuales afectan la calidad visual del fruto (Vásquez-Castillo et al., 2019).  Tradicionalmente, el manejo de esta epifítia se ha fundamentado en la aplicación de fungicidas sintéticos como: tiabendazol, azoxystrobin y trifloxystrobin; no obstante, estas sustancias generan impactos ambientales adversos y residualidad ((Arias B., 2007), por ello, la búsqueda de alternativas de biocontrol sostenibles ha cobrado especial relevancia, particularmente mediante el uso de extractos fúngicos con propiedades antagónicas. |

**Metodología:** El estudio se estructuró a partir de dos diseños experimentales: un **Diseño Completamente al Azar** para la evaluación de sustratos, y un **Diseño de Medidas Repetidas en el Tiempo** para la evaluación de la actividad inhibitoria.

#### 8.0.0.2 Diseño 1: Sustratos de cultivo para *Penicillum* sp.

Se empleó un **Diseño Completamente al Azar** con los siguientes tratamientos: avena en hojuelas, maíz partido, semillas de cebada y arroz blanco. Se prepararon bolsas de polipropileno con cada sustrato, se inocularon con cinco discos de micelio de *Penicillum* sp. (0.5 mm de diámetro) y se incubaron de forma aleatorizada a 22 ± 2 °C durante ocho días. El experimento se realizó por quintuplicado, considerando cada bolsa como una repetición.

#### 8.0.0.3 Diseño 2: Evaluación de la actividad inhibitoria

Se implementó un **Diseño de Medidas Repetidas en el Tiempo** para analizar el efecto de las concentraciones del extracto sobre dos variables de respuesta clave:

* **Porcentaje de Inhibición del Área de la Lesión (PIAL)**: Para evaluar la eficacia in vivo.
* **Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Micelial (PICM)**: Para evaluar la eficacia in vitro.

Las variables independientes fueron las diferentes concentraciones del extracto y los testigos correspondientes, mientras que las variables de respuesta se midieron a lo largo del tiempo para observar la evolución de la inhibición.

**Resultados:** El maíz partido constituyó el sustrato óptimo para la producción conidial de *Penicillium digitatum*, alcanzando valores de Log10 9,13 conidios/mL, seguido de la cebada Log10 8,88 conidios/mL (**Figura 1**).

**Figura 1.**  
Sustratos con Conidios de *Penicillium* sp.



Nota: Dilución de conidios y sustrato, en solución tween80® 0,01%: Avena (A); Arroz (B); Cebada (C); Maíz Partido (D).

La evaluación in vitro reveló que las concentraciones de extracto crudo de 4,0 al 6,0% generaron Porcentajes de Inhibición del Crecimiento micelial (PICM) del 40 al 50 % respectivamente al quinto día después de la inoculación (ddi) **(Figura 2)**.

**Figura 2.**  
Efecto de los tratamientos in vitro frente al crecmiento de *Colletotrichum musae.*



Nota: Prueba de inhibición in vitro de Colletotrichum musae, frente a diferentes tratamientos. (A) Testigo negativo; (B) Testigo positivo (Amistar a 60mg/100mL); (C) Extracto de *Penicillium* sp., al 4%; (D) Extracto de *Penicillium* sp., al 4,5%; (E) Extracto de *Penicillium* sp., al 5%; (F) Extracto de *Penicillium* sp., al 5,5%; (G) Extracto de *Penicillium* sp., al 6%.

Por otro lado, los ensayos in vivo evidenciaron una mayor eficacia del extracto crudo, donde las concentraciones de 8, 9, 10, 11, 12 y 13% generaron porcentajes de inhibición del área de la lesión (PIAL) de 60, 55, 70, 72, 77 y 80% respectivamente **(Figura 3)**, sugiriendo que Penicillium digitatum podría representar una alternativa viable para el manejo preventivo de la antracnosis del banano.

**Figura 3.**  
Efecto in vivo de bananos infectados con *Colletotrichum musae* en los tratamientos.



Nota: Experimento in vivo de los bananos infectados con 107 conidios de Colletotrichum musae, frente a tratamientos (A los 7 días de la inoculación). (A) Testigo negativo; (B) Azoxystrobin (Testigo positivo); Extractos de Penicillium sp. a (C) 8%; (D) 9%; (E) 10%; (F) 11%; (G) 12%; (H) 13%.

**Para mayor información puede consultar:** Mejía-Sarmiento, J. S. (2022). Evaluación de Extracto Crudo de Penicillium sp. para la Inhibición del Crecimiento in vitro e in vivo de Colletotrichum musae (Berk. y M. A. Curtis) Arx. Agente Causal de Antracnosis en Banano [Tesis de pregrado, Universidad de Santander UDES]. Repositorio Institucional UDES. <https://repositorio.udes.edu.co/handle/001/8674>

### 8.0.1 Estructura de la base de datos

La base de datos utilizada en este análisis corresponde a los resultados de un experimento agrícola que evalúa el comportamiento de cuatro cultivos diferentes bajo condiciones similares de manejo. La tabla contiene tres columnas principales:

| Variable | Descripción |
| --- | --- |
| Tratamiento | Tipo de cultivo evaluado. Incluye cuatro niveles: Arroz, Avena, Cebada y Maíz. |
| Repetición | Número de repetición del tratamiento (del 1 al 4). Permite el análisis estadístico con replicación. |
| Resultado | Valor numérico correspondiente a la variable respuesta medida (por ejemplo, rendimiento en kg/ha). |

**Pasos para trabajar con R:**

Especificar el directorio que me interesa donde se encuentra la base de datos.

|  |
| --- |
| Antes e inciar |
| R lee / (slash o division) y no el de Windows \  En **R**, setwd() es una función que significa **“set working directory”** o “establecer el directorio de trabajo”. Se utiliza para **definir la carpeta predeterminada** en la que R buscará archivos para leer y donde guardará archivos por defecto.  Por ejemplo: setwd (“D:/OneDrive - Universidad de Santander/Material Docente 2025/CodigoR”“) |

### 8.0.2 Cargar las librerias necesarias para el análisis

suppressPackageStartupMessages({  
library(readxl)  
library(dplyr)  
library(stringr)  
library(ggplot2)  
library(car)  
library(lmtest)  
library(agricolae)  
library(multcomp)  
library(emmeans)  
library(multcompView)  
})

Warning: package 'readxl' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'dplyr' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'stringr' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'car' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'carData' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'lmtest' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'zoo' was built under R version 4.3.2

Warning: package 'agricolae' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'multcomp' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'mvtnorm' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'survival' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'TH.data' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'emmeans' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'multcompView' was built under R version 4.3.3

**Lectura de datos**

library(readxl)  
DCA <- read\_excel("C:/R-Proyectos/r-para-mi/data/DCA\_Penicillium/dca.xlsx")

### 8.0.3 Exploración inicial y estructura de la base de datos

View(DCA)

head(DCA)

# A tibble: 6 × 3  
 Tratamiento Repeticion Resultado  
 <chr> <dbl> <dbl>  
1 Arroz 1 8.76  
2 Arroz 2 8.74  
3 Arroz 3 8.72  
4 Arroz 4 8.72  
5 Avena 1 8.39  
6 Avena 2 8.37

names(DCA)

[1] "Tratamiento" "Repeticion" "Resultado"

str(DCA)

tibble [16 × 3] (S3: tbl\_df/tbl/data.frame)  
 $ Tratamiento: chr [1:16] "Arroz" "Arroz" "Arroz" "Arroz" ...  
 $ Repeticion : num [1:16] 1 2 3 4 1 2 3 4 1 2 ...  
 $ Resultado : num [1:16] 8.76 8.74 8.72 8.72 8.39 ...

summary(DCA$Resultado)

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.   
 8.341 8.635 8.792 8.775 8.954 9.141

**Convertir las variables en factor**

En un diseño experimental, los factores como **Tratamiento** y **Repetición** deben declararse como variables **categóricas (factor).** Esto le indica a R que los niveles de cada variable no son numéricos, sino categorías que representan tratamientos o bloques, permitiendo aplicar correctamente el ANOVA.

# Convertir a factor o numérico según corresponda  
DCA$Tratamiento <- as.factor(DCA$Tratamiento)  
DCA$Repeticion <- as.factor(DCA$Repeticion)  
DCA$Resultado <- as.numeric(DCA$Resultado)

**Análisis de la Varianza - ANOVA**

Cuando se desea saber si varios grupos (Ej. tratamientos) presentan diferencias reales en sus promedios, una de las herramientas estadísticas más utilizadas es el Análisis de la Varianza, conocido como ANOVA. Esta técnica permite examinar si los valores medios de tres o más grupos son lo suficientemente distintos como para concluir que no se trata de simples fluctuaciones aleatorias.

El enfoque de ANOVA se basa en comparar dos tipos de variación: por un lado, l**a variabilidad que se observa entre los distintos grupos**, y por otro, **la variabilidad que existe dentro de cada grupo individual**. Si al analizar los datos se encuentra que la variación entre los grupos supera notablemente la que ocurre dentro de ellos, es razonable pensar que las diferencias en los promedios reflejan algo más que el azar. En cambio, si la variabilidad interna es más pronunciada, entonces es posible que las diferencias observadas no sean significativas y respondan a variaciones normales del comportamiento de los datos.

**Código de R para ANOVA**

modeloDCA <- aov(Resultado ~ Tratamiento + Repeticion, data = DCA)  
summary(modeloDCA)

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)   
Tratamiento 3 1.1794 0.3931 642.488 8.21e-11 \*\*\*  
Repeticion 3 0.0016 0.0005 0.892 0.482   
Residuals 9 0.0055 0.0006   
---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

**Interpretación:** La prueba ANOVA muestra diferencias significativas entre los tratamientos (p < 0.001). El valor de F (642.488) indica que la variación entre tratamientos es mucho mayor que la variación dentro de los grupos, lo que sugiere que al menos uno de los tratamientos afecta significativamente el resultado.

**Modelo Lineal**

modelo\_lm <- lm(Resultado ~ Tratamiento + Repeticion, data = DCA)  
summary(modelo\_lm)

Call:  
lm(formula = Resultado ~ Tratamiento + Repeticion, data = DCA)  
  
Residuals:  
 Min 1Q Median 3Q Max   
-0.033923 -0.010081 0.000141 0.016481 0.026449   
  
Coefficients:  
 Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)   
(Intercept) 8.75105 0.01636 534.860 < 2e-16 \*\*\*  
TratamientoAvena -0.35848 0.01749 -20.495 7.32e-09 \*\*\*  
TratamientoCebada 0.12669 0.01749 7.243 4.85e-05 \*\*\*  
TratamientoMaiz 0.39630 0.01749 22.657 3.01e-09 \*\*\*  
Repeticion2 -0.01994 0.01749 -1.140 0.284   
Repeticion3 -0.02568 0.01749 -1.468 0.176   
Repeticion4 -0.02304 0.01749 -1.317 0.220   
---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
  
Residual standard error: 0.02474 on 9 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.9954, Adjusted R-squared: 0.9923   
F-statistic: 321.7 on 6 and 9 DF, p-value: 5.608e-10

**Interpretación:** El modelo lineal confirma que el tratamiento influye significativamente en los resultados (p < 0.001). El tratamiento “Arroz” actúa como referencia, con una media estimada de 8.75. Comparado con este:

Avena presenta una media significativamente menor (–0.36, p < 0.001).  
  
Cebada muestra un aumento moderado (+0.13, p < 0.001).  
  
Maíz tiene el mayor incremento (+0.40, p < 0.001).

El modelo explica el 99.4% de la variabilidad en los datos (R² = 0.994), y el error estándar residual es bajo (0.0244), lo que indica un ajuste excelente.

**Gráfico Boxplot**

Se toma el Tratamiento para hacer un boxplot utilizando la variable “Resultado”, pero primero se transformar en factor la variable Tratamiento:

library(ggplot2)  
  
DCA$Treatamiento<-factor(DCA$Tratamiento) #transformamos una variable númerica en un factor categórico  
ggplot(DCA, aes(x = Tratamiento, y = Resultado, fill=Tratamiento)) +   
 geom\_boxplot()



**Interpretación:** Las diferencias en las medianas entre tratamientos son claras y consistentes con los resultados del ANOVA y del modelo lineal, lo que sugiere un efecto significativo del tipo de cultivo sobre la variable resultado.

## 8.1 **Supuestos del modelo**

Antes de interpretar los resultados, se verifican los supuestos de **normalidad, homogeneidad de varianzas** e **independencia de los residuos**.

### 8.1.1 **Normalidad**

Para verificar la normalidad de los residuos utilizaremos la prueba de Shapiro-Wilks cuyo script es el siguiente:

shapiro.test(residuals(modeloDCA))

Shapiro-Wilk normality test  
  
data: residuals(modeloDCA)  
W = 0.93432, p-value = 0.2851

**Interpretación:** El test de Shapiro-Wilk aplicado a los residuos del modelo ANOVA devuelve un valor de p = 0.934, que es mucho mayor que 0.05. Esto indica que no hay evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula de normalidad. Por lo tanto, se concluye que los residuos del modelo siguen una distribución normal, cumpliendo así uno de los supuestos fundamentales del análisis de varianza.

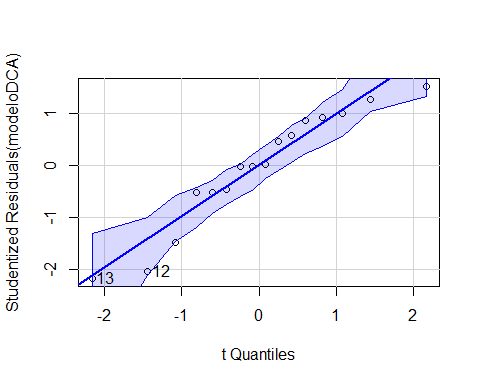
### 8.1.2 **Gráficos para evaluar la normalidad**

Para construir el gráfico QQ (QQ plot) y evaluar la normalidad de los datos, se utiliza la función correspondiente del paquete car. Si no está instalado previamente, es necesario instalar también el paquete auxiliar carData.

# Instalación (si es necesario)   
# install.packages ("car")   
# install.packages ("carData")   
# install.packages ("dplyr")   
# install.packages ("purrr")

**Cargar los paquetes (librerias)**

library(car) #Grafico de QQ plot  
library(carData)  
library(dplyr)  
library(purrr)  
  
qqPlot(modeloDCA)



[1] 12 13

**Interpretación:** El gráfico QQ muestra que los residuos estandarizados del modelo ANOVA se alinean adecuadamente con la línea diagonal, lo que indica que su distribución es aproximadamente normal. La mayoría de los puntos se ubican dentro de la banda de confianza, y no se observan desviaciones sistemáticas. Esta gráfica complementa el resultado del test de Shapiro-Wilk (p = 0.959), confirmando que se cumple el supuesto de normalidad de los residuos en el modelo.

### 8.1.3 **Homocedasticidad**

Para evaluar el supuesto de homogeneidad de varianzas entre los grupos (homocedasticidad), se aplicará la prueba de Bartlett, la cual es apropiada cuando los datos provienen de poblaciones aproximadamente normales. Esta prueba contrasta la hipótesis nula de igualdad de varianzas frente a la alternativa de varianzas diferentes. El procedimiento se implementa mediante el siguiente script:

bartlett.test(Resultado ~ Tratamiento, data = DCA)

Bartlett test of homogeneity of variances  
  
data: Resultado by Tratamiento  
Bartlett's K-squared = 2.2722, df = 3, p-value = 0.5179

leveneTest(Resultado ~ Tratamiento, data = DCA)

Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)  
 Df F value Pr(>F)  
group 3 0.9985 0.4268  
 12

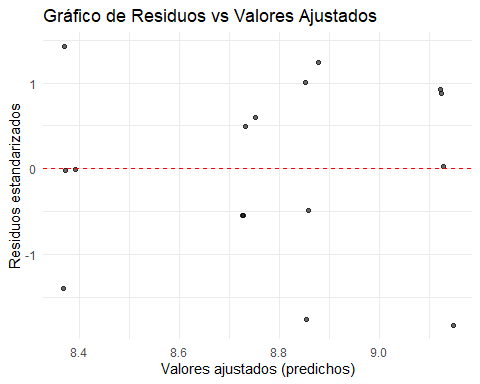
fligner.test(Resultado ~ Tratamiento, data = DCA)

Fligner-Killeen test of homogeneity of variances  
  
data: Resultado by Tratamiento  
Fligner-Killeen:med chi-squared = 3.0752, df = 3, p-value = 0.3802

**Interpretación:** Dado que el valor de p es mayor que 0.05 (p = 0.5179), no se rechaza la hipótesis nula. Por tanto, se asume que las varianzas entre los tratamientos son homogéneas, cumpliéndose este supuesto clave para el análisis de varianza y para la aplicación de pruebas a posteriori como LSD.

### 8.1.4 Gráfico de residuos vs valores ajustados

datos\_homocedasticidad <- data.frame(  
Valores\_Ajustados = fitted(modeloDCA),  
Residuos\_Std = rstandard(modeloDCA)  
)  
  
ggplot(datos\_homocedasticidad, aes(x = Valores\_Ajustados, y = Residuos\_Std)) +  
geom\_point(alpha = 0.6) +  
geom\_hline(yintercept = 0, linetype = "dashed", color = "red") +  
theme\_minimal() +  
labs(  
title = "Gráfico de Residuos vs Valores Ajustados",  
x = "Valores ajustados (predichos)",  
y = "Residuos estandarizados"  
)



### 8.1.5 Independencia de residuos

dwtest(modeloDCA)

Durbin-Watson test  
  
data: modeloDCA  
DW = 1.7707, p-value = 0.1387  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

**Interpretación:** El resultado del **test de Durbin–Watson** (DW = 1.77; *p* = 0.1387) indica que **no existe evidencia significativa de autocorrelación** entre los residuos del modelo. Dado que el valor de *p* es mayor que 0.05, se **acepta la hipótesis nula de independencia**, lo que significa que los residuos son independientes entre sí y el modelo **cumple con este supuesto del ANOVA**.

## 8.2 **Pruebas aposteriori**

### 8.2.1 LSD (Least Significant Difference)

Para identificar diferencias específicas entre las medias de los tratamientos, una vez detectada significancia en el análisis de varianza, se aplicará una prueba de comparaciones múltiples a posteriori. En este caso, se empleará la técnica LSD (Least Significant Difference), que permite realizar comparaciones pareadas entre tratamientos asumiendo homogeneidad de varianzas. La implementación de esta prueba requiere la carga del paquete agricolae, utilizando el siguiente script. Instalación si es necesario: install.packages(“agricolae”). Carga del paquete: library(agricolae).

library(agricolae)  
Grupos <- LSD.test(y = modeloDCA, trt = "Tratamiento", group = T, console = T)

Study: modeloDCA ~ "Tratamiento"  
  
LSD t Test for Resultado   
  
Mean Square Error: 0.0006118755   
  
Tratamiento, means and individual ( 95 %) CI  
  
 Resultado std r se LCL UCL Min Max  
Arroz 8.733890 0.02192214 4 0.01236806 8.705912 8.761869 8.715318 8.762183  
Avena 8.375414 0.02519485 4 0.01236806 8.347436 8.403393 8.341039 8.395990  
Cebada 8.860578 0.03330518 4 0.01236806 8.832600 8.888557 8.822181 8.900695  
Maiz 9.130190 0.01251613 4 0.01236806 9.102211 9.158168 9.113429 9.140539  
 Q25 Q50 Q75  
Arroz 8.717232 8.729030 8.745688  
Avena 8.364419 8.382314 8.393309  
Cebada 8.842075 8.859719 8.878222  
Maiz 9.124249 9.133395 9.139335  
  
Alpha: 0.05 ; DF Error: 9  
Critical Value of t: 2.262157   
  
least Significant Difference: 0.03956756   
  
Treatments with the same letter are not significantly different.  
  
 Resultado groups  
Maiz 9.130190 a  
Cebada 8.860578 b  
Arroz 8.733890 c  
Avena 8.375414 d

**Intrepretación:** La prueba LSD reveló que los cuatro tratamientos presentan diferencias estadísticamente significativas entre sus medias. El tratamiento Maíz obtuvo el mayor rendimiento promedio, seguido por Cebada, Arroz y Avena, en ese orden descendente.

Otra opcion cuando cambiamos el argumento “group” a F (false), se interpreta a mi parecer de forma mas sencilla la diferencia entre las medias. A continuación, se presentan las pruebas de comparaciones múltiples a posteriori aplicadas al modelo de ANOVA ajustado. Se incluyen la prueba LSD, la prueba de Tukey y el test de Scheffé, las cuales permiten identificar diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados:

Grupos<- LSD.test(y = modeloDCA, trt = "Tratamiento", group = F, console = T)

Study: modeloDCA ~ "Tratamiento"  
  
LSD t Test for Resultado   
  
Mean Square Error: 0.0006118755   
  
Tratamiento, means and individual ( 95 %) CI  
  
 Resultado std r se LCL UCL Min Max  
Arroz 8.733890 0.02192214 4 0.01236806 8.705912 8.761869 8.715318 8.762183  
Avena 8.375414 0.02519485 4 0.01236806 8.347436 8.403393 8.341039 8.395990  
Cebada 8.860578 0.03330518 4 0.01236806 8.832600 8.888557 8.822181 8.900695  
Maiz 9.130190 0.01251613 4 0.01236806 9.102211 9.158168 9.113429 9.140539  
 Q25 Q50 Q75  
Arroz 8.717232 8.729030 8.745688  
Avena 8.364419 8.382314 8.393309  
Cebada 8.842075 8.859719 8.878222  
Maiz 9.124249 9.133395 9.139335  
  
Alpha: 0.05 ; DF Error: 9  
Critical Value of t: 2.262157   
  
Comparison between treatments means  
  
 difference pvalue signif. LCL UCL  
Arroz - Avena 0.3584760 0 \*\*\* 0.3189084 0.39804355  
Arroz - Cebada -0.1266884 0 \*\*\* -0.1662559 -0.08712081  
Arroz - Maiz -0.3962994 0 \*\*\* -0.4358670 -0.35673188  
Avena - Cebada -0.4851644 0 \*\*\* -0.5247319 -0.44559679  
Avena - Maiz -0.7547754 0 \*\*\* -0.7943430 -0.71520787  
Cebada - Maiz -0.2696111 0 \*\*\* -0.3091786 -0.23004351

**Interpretación:** todas las diferencias entre tratamientos son altamente significativas (p < 0.001). Esto confirma que ninguno de los tratamientos comparte una media similar.

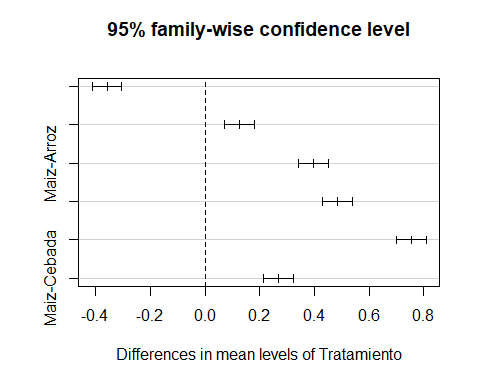
### 8.2.2 La prueba de Tukey

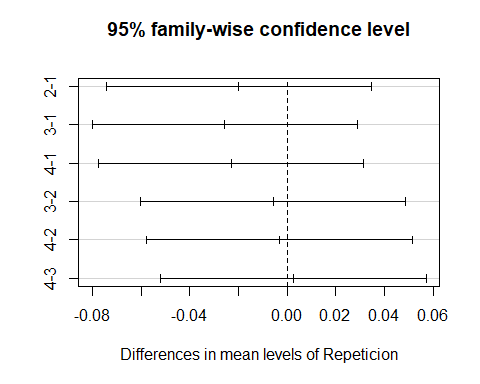
library(agricolae)  
  
# Prueba de Tukey HSD  
HSD.test(modeloDCA, "Tratamiento", group = TRUE, console = TRUE)

Study: modeloDCA ~ "Tratamiento"  
  
HSD Test for Resultado   
  
Mean Square Error: 0.0006118755   
  
Tratamiento, means  
  
 Resultado std r se Min Max Q25 Q50  
Arroz 8.733890 0.02192214 4 0.01236806 8.715318 8.762183 8.717232 8.729030  
Avena 8.375414 0.02519485 4 0.01236806 8.341039 8.395990 8.364419 8.382314  
Cebada 8.860578 0.03330518 4 0.01236806 8.822181 8.900695 8.842075 8.859719  
Maiz 9.130190 0.01251613 4 0.01236806 9.113429 9.140539 9.124249 9.133395  
 Q75  
Arroz 8.745688  
Avena 8.393309  
Cebada 8.878222  
Maiz 9.139335  
  
Alpha: 0.05 ; DF Error: 9   
Critical Value of Studentized Range: 4.41489   
  
Minimun Significant Difference: 0.05460362   
  
Treatments with the same letter are not significantly different.  
  
 Resultado groups  
Maiz 9.130190 a  
Cebada 8.860578 b  
Arroz 8.733890 c  
Avena 8.375414 d

**Interpretación:** La prueba de Tukey también confirma diferencias estadísticamente significativas en todas las comparaciones, manteniendo control del error familiar. El gráfico generado muestra intervalos de confianza del 95% que no se solapan, lo que respalda visualmente los resultados.

plot(TukeyHSD(modeloDCA))





**Interpretación:** El gráfico muestra los intervalos de confianza del 95 % para las diferencias de medias entre los tratamientos, ajustados por comparaciones múltiples (family-wise). Ninguno de los intervalos cruza la línea vertical en cero, lo cual indica que todas las comparaciones entre pares de tratamientos son estadísticamente significativas. La diferencia más grande se observa entre Maíz y Avena, mientras que la más pequeña, aunque significativa, es entre Cebada y Arroz. Este resultado es coherente con los análisis previos (ANOVA, LSD y Scheffé), y respalda que cada tratamiento tiene un efecto significativamente distinto sobre la variable “Resultado”.

scheffe.test(modeloDCA, "Tratamiento",console=TRUE)

Study: modeloDCA ~ "Tratamiento"  
  
Scheffe Test for Resultado   
  
Mean Square Error : 0.0006118755   
  
Tratamiento, means  
  
 Resultado std r se Min Max Q25 Q50  
Arroz 8.733890 0.02192214 4 0.01236806 8.715318 8.762183 8.717232 8.729030  
Avena 8.375414 0.02519485 4 0.01236806 8.341039 8.395990 8.364419 8.382314  
Cebada 8.860578 0.03330518 4 0.01236806 8.822181 8.900695 8.842075 8.859719  
Maiz 9.130190 0.01251613 4 0.01236806 9.113429 9.140539 9.124249 9.133395  
 Q75  
Arroz 8.745688  
Avena 8.393309  
Cebada 8.878222  
Maiz 9.139335  
  
Alpha: 0.05 ; DF Error: 9   
Critical Value of F: 3.862548   
  
Minimum Significant Difference: 0.05954073   
  
Means with the same letter are not significantly different.  
  
 Resultado groups  
Maiz 9.130190 a  
Cebada 8.860578 b  
Arroz 8.733890 c  
Avena 8.375414 d

**Interpretación:** A pesar de ser una prueba más conservadora, el test de Scheffé también encontró diferencias significativas entre todos los tratamientos. El análisis agrupó los tratamientos en distintos niveles.Mínima diferencia significativa (Scheffé): 0.0558. Valor crítico de F: 3.4903

**Conclusión general** Las tres pruebas aplicadas (LSD, Tukey y Scheffé) coinciden en que todos los tratamientos difieren significativamente entre sí. El tratamiento con mayor rendimiento fue Maíz, seguido por Cebada, Arroz y Avena, en orden descendente. Esto respalda la conclusión de que el tipo de tratamiento influye de manera significativa sobre la variable respuesta.

# 9. Capitulo 5 Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)

### 9.0.1 Problema

|  |
| --- |
| Nota |
| El **crecimiento de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*)** depende en gran medida de la interacción entre sus raíces y los **microorganismos del suelo**, especialmente los **rizobios**, los cuales establecen una relación simbiótica formando **nódulos radiculares** que facilitan la **fijación biológica de nitrógeno (FBN)**. Este proceso aporta una fuente natural y sostenible de nitrógeno, fundamental para el desarrollo y rendimiento de las plantas.  Sin embargo, el aprovechamiento de esta simbiosis puede verse afectado por **factores edáficos y ambientales** como la **composición del suelo, la disponibilidad de humedad, la temperatura y la luz**, que influyen directamente en la actividad microbiana y en la eficiencia de la FBN.  Por ello, resulta necesario **evaluar la respuesta del frijol frente a diferentes tratamientos de fertilización**, combinando **fuentes químicas y biológicas (bioinoculantes y abonos orgánicos)**, con el fin de identificar estrategias que promuevan un crecimiento óptimo y un manejo más sostenible del cultivo.  Phaseolus vulgaris  Phaseolus vulgaris |

### 9.0.2 Estructura de la base de datos

El presente experimento se estructuró bajo un **Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)** con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes tratamientos de fertilización sobre el crecimiento de las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*). Este diseño permite controlar la variabilidad asociada a factores ambientales no experimentales mediante la conformación de bloques homogéneos.  
En este caso, se consideraron **tres bloques (A, B y C)** que representan unidades experimentales con condiciones similares dentro de cada uno, y se aplicaron **cuatro tratamientos** de fertilización: **NPK Comercial**, **NPK + Bioinoculante**, **Orgánico + NPK (50:50)** y **Orgánico + NPK**.  
El parámetro evaluado, denominado **Resultado**, corresponde a una variable cuantitativa continua (por ejemplo, biomasa, concentración de metal o altura), expresada en valores decimales.

## 9.1 Descripción de las variables del experimento

El diseño experimental corresponde a un **Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)**, en el cual se evaluaron diferentes tratamientos de fertilización en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris*).  
Los bloques representan unidades experimentales homogéneas, y la variable de respuesta cuantifica el efecto del tratamiento sobre el crecimiento o bioacumulación.

|  | Tipo de variable | Descripción |
| --- | --- | --- |
| **Tratamiento** | Cualitativa nominal | Incluye los diferentes niveles de fertilización, como *NPK Comercial*, *NPK + Bioinoculante*, *Orgánico + NPK (50:50)*, entre otros. |
| **Bloque** | Cualitativa nominal | Factor de bloqueo que agrupa las unidades experimentales bajo condiciones similares. Se identifican con letras (A, B, C, …). |
| **Resultado** | Cuantitativa continua | Variable de respuesta que representa la medición obtenida (por ejemplo: altura, biomasa, concentración de metal, etc.), expresada con valores decimales. |

## 9.2 Cargar Paquetes y librerías necesarias para el analisis de los datos.

## 9.3 Instalar Paquetes (solo una vez)

#install.packages("readxl")  
#install.packages("car")   
#install.packages("agricolae")   
#install.packages("lmtest")   
#install.packages("ggplot2")  
#install.packages("gtable")

### 9.3.1 Cargar las librerias necesarias para el análisis

suppressPackageStartupMessages({  
library(readxl)   
library(car)   
library(agricolae)  
library(lmtest)   
library(ggplot2)  
})

Warning: package 'readxl' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'car' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'carData' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'agricolae' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'lmtest' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'zoo' was built under R version 4.3.2

#### 9.3.1.1 Importar datos desde Excel

library(readxl)  
DBCA <- read\_excel("C:/R-Proyectos/r-para-mi/data/DBCA\_Frijol/DBCA\_frijol.xlsx")

### 9.3.2 Exploración inicial y estructura de la base de datos

View(DBCA)

names(DBCA)

[1] "Tratamiento" "Bloque" "Resultado"

str(DBCA)

tibble [120 × 3] (S3: tbl\_df/tbl/data.frame)  
 $ Tratamiento: chr [1:120] "NPK Comercial" "NPK Comercial" "NPK Comercial" "NPK Comercial" ...  
 $ Bloque : chr [1:120] "A" "A" "A" "A" ...  
 $ Resultado : num [1:120] 51.5 49.6 51.9 54.6 49.3 ...

summary(DBCA$Resultado)

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.   
 44.71 52.30 56.76 57.26 61.24 72.39

### 9.3.3 Convertir variables a factores

Para garantizar un análisis correcto bajo el **Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)**, las variables **Tratamiento** y **Bloque** se convierten a factores en R. Esta conversión permite que el modelo ANOVA reconozca dichos elementos como variables categóricas y no como valores numéricos, asegurando una interpretación adecuada de los efectos experimentales.

DBCA$Tratamiento <- as.factor(DBCA$Tratamiento)   
DBCA$Bloque <- as.factor(DBCA$Bloque)  
str (DBCA)

tibble [120 × 3] (S3: tbl\_df/tbl/data.frame)  
 $ Tratamiento: Factor w/ 4 levels "NPK + Bioinoculante",..: 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 ...  
 $ Bloque : Factor w/ 3 levels "A","B","C": 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 ...  
 $ Resultado : num [1:120] 51.5 49.6 51.9 54.6 49.3 ...

## 9.4 ANOVA para Diseño de Bloques Completamente al Azar -DBCA-

modeloDBCA <- aov(Resultado ~ Tratamiento + Bloque, data = DBCA)  
summary(modeloDBCA)

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)   
Tratamiento 3 3602 1200.6 153.749 <2e-16 \*\*\*  
Bloque 2 11 5.4 0.688 0.505   
Residuals 114 890 7.8   
---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

**Interpretación:** Los resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) se ajustan a un modelo de Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), donde se evaluó el efecto del factor **Tratamiento** sobre una variable de **Resultado**, controlando la variabilidad mediante el factor **Bloque**.

1. **Efecto del Tratamiento**. El análisis indica que el factor Tratamiento es altamente significativo sobre la variable de Resultado. Dado que el valor es extremadamente pequeño (denotado por ‘\*\*\*’), se **rechaza la hipótesis nula** de que no hay diferencias entre las medias de los tratamientos. Esto significa que existe una **diferencia estadísticamente significativa** en el Resultado al menos entre dos de los niveles de Tratamiento. **Grados de Libertad (Df):** 3. **Valor F (F value):** 153.749. **Valor p (**): (Menor que )

2. **Efecto del Bloque.** El análisis de la fuente de variación **Bloque** evalúa si el agrupamiento de las unidades experimentales fue efectivo para reducir la variabilidad del error. El valor (0.505) es **mayor que el nivel de significancia** comúnmente utilizado (). Por lo tanto, el factor **Bloque no resultó ser significativo**. Esto indica que la variabilidad atribuida a las diferencias entre los Bloques no es mayor que la variabilidad aleatoria, sugiriendo que la inclusión del bloqueo no fue esencial o efectivo en este experimento particular.**Grados de Libertad (Df):** 2. **Valor F (F value):** 0.688. **Valor p (**): 0.505

3. **Resumen del Modelo.** El factor **Tratamiento ejerce una influencia significativa** en el Resultado. Sin embargo, el factor **Bloque no contribuye significativamente** a explicar la variación del Resultado. Se requiere un análisis *post-hoc* (como Tukey o Sidak) para determinar cuáles pares específicos de Tratamientos difieren entre sí.

## 9.5 Verificación de supuestos

El ANOVA requiere cumplir tres supuestos básicos para garantizar la validez de los resultados. Ignorar estos supuestos puede generar conclusiones erróneas:

1. **Normalidad**, que implica que los datos se aproximen a una distribución normal, evaluada comúnmente con la prueba de **Shapiro–Wilk**.
2. **Homogeneidad de varianzas (homocedasticidad)**, que supone una variabilidad similar entre los grupos.
3. **Independencia de las observaciones**, donde los datos de un grupo no deben influir en los de otro.

### 9.5.1 Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)

res <- residuals(modeloDBCA)

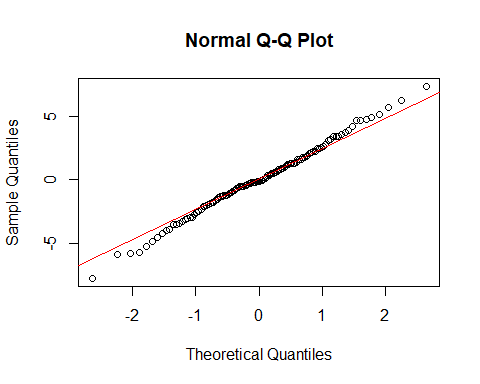
shapiro.test(res)

Shapiro-Wilk normality test  
  
data: res  
W = 0.99559, p-value = 0.9725

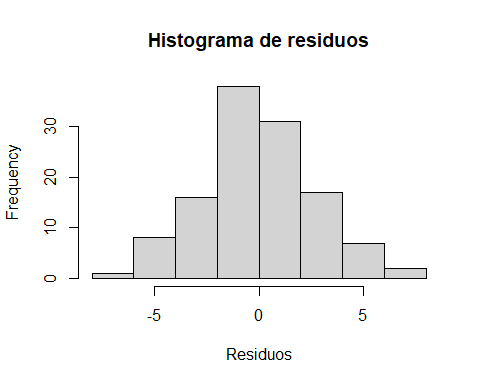
**Interpretación:** La hipótesis nula de *Shapiro–Wilk* es que los datos provienen de una distribución normal , al tiempo que el  p-value = 0.9725 es  ≥ que 0.05, no hay evidencia para rechazar la normalidad, es por ello por lo que los residuos pueden considerarse normalmente distribuidos, lo cual respalda el supuesto de normalidad necesario para ANOVA.

**Gráfico Q-Q de los residuos estandarizados**

qqnorm(res)  
qqline(res, col = "red")



hist(res, main = "Histograma de residuos", xlab = "Residuos")



### 9.5.2 Homogeneidad de varianza

bartlett.test(Resultado ~ Tratamiento, data = DBCA)

Bartlett test of homogeneity of variances  
  
data: Resultado by Tratamiento  
Bartlett's K-squared = 7.4355, df = 3, p-value = 0.05924

car::leveneTest(Resultado ~ Tratamiento, data = DBCA)

Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)  
 Df F value Pr(>F)  
group 3 1.3691 0.2557  
 116

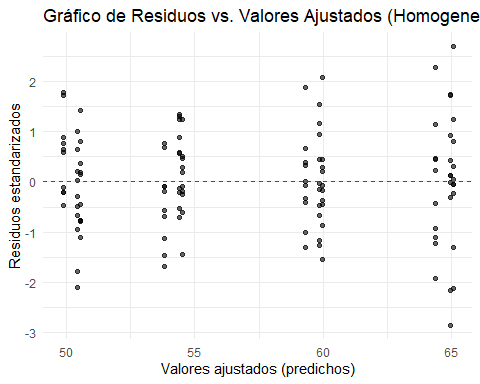
fligner.test(Resultado ~ Tratamiento, data = DBCA)

Fligner-Killeen test of homogeneity of variances  
  
data: Resultado by Tratamiento  
Fligner-Killeen:med chi-squared = 3.3125, df = 3, p-value = 0.3459

**Interpretación:** La hipótesis nula de *Bartlett* es que las varianzas entre los grupos son iguales, y como el *p-valor* =0.059 es ≥ 0.05, no se rechaza la hipótesis nula; no se rechaza la homogeneidad de varianzas, aunque está cerca del umbral. Esto sugiere que los datos cumplen razonablemente el supuesto de homocedasticidad, pero con un margen ajustado.

### 9.5.3 Gráfico de Residuos vs. Valores Ajustados

# 1. Extraer valores ajustados y residuos del modelo DBCA  
datos\_homocedasticidad <- data.frame(  
 Valores\_Ajustados = fitted(modeloDBCA), # valores predichos del modelo  
 Residuos\_Std = rstandard(modeloDBCA) # residuos estandarizados  
)  
  
# 2. Gráfico de residuos vs valores ajustados  
ggplot(datos\_homocedasticidad, aes(x = Valores\_Ajustados, y = Residuos\_Std)) +  
 geom\_point(alpha = 0.6) +  
 geom\_hline(yintercept = 0, linetype = "dashed", color = "red") +  
 theme\_minimal() +  
 labs(  
 title = "Gráfico de Residuos vs. Valores Ajustados (Homogeneidad de Varianzas)",  
 x = "Valores ajustados (predichos)",  
 y = "Residuos estandarizados"  
 )



# Interpretación:  
# Los puntos deben dispersarse aleatoriamente alrededor de y = 0  
# sin formar patrones o conos, indicando homogeneidad de varianzas.

**Interpretación:** Tanto las pruebas estadísticas (**Bartlett, Levene y Fligner-Killeen**) como el **gráfico de residuos** indican que se cumple el supuesto de **homogeneidad de varianzas** en el modelo DBCA. Por tanto, el análisis de varianza (ANOVA) puede aplicarse de forma válida, ya que la variabilidad dentro de los grupos de tratamiento es similar y no se detectan violaciones importantes de este supuesto.

## 9.6 Independencia de residuos

El **Durbin–Watson test** evalúa la **independencia de los residuos**:

**Hipótesis nula (H₀):** los residuos son independientes.  
**Hipótesis alternativa (H₁):** los residuos están autocorrelacionados.  
  
Si el **p-value > 0.05**, **no se rechaza H₀**, por lo que **los residuos son independientes** (el supuesto se cumple). Si el **p-value < 0.05**, existe **autocorrelación** y el supuesto no se cumple.

dwtest(modeloDBCA)

Durbin-Watson test  
  
data: modeloDBCA  
DW = 2.042, p-value = 0.4159  
alternative hypothesis: true autocorrelation is greater than 0

Interpretación: Debido a que el **valor** () es mucho mayor que , **no hay evidencia estadística suficiente para rechazar la hipótesis nula**. Se concluye, por lo tanto, que el supuesto de **independencia de los residuos** se cumple satisfactoriamente en el modelo DBCA. La cercanía del estadístico DW (2.042) al valor ideal de 2.0 refuerza esta conclusión.

## 9.7 Comparaciones múltiples de medias

En el marco del **Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)** aplicado al cultivo de frijol, una vez verificados los supuestos de **normalidad** y **homogeneidad de varianzas**, se procede a realizar las **pruebas de comparación múltiple de medias**. Estas pruebas, como las de **Tukey** o **Duncan**, permiten identificar qué tratamientos presentan diferencias significativas en su efecto sobre la altura de las plantas.

El uso del DBCA contribuye a **reducir la variabilidad experimental** al controlar los factores externos mediante el bloqueo, lo que incrementa la **precisión y confiabilidad** de las comparaciones. En consecuencia, las diferencias observadas entre tratamientos reflejan principalmente los **efectos reales de las condiciones aplicadas**, y no la influencia del azar o de fuentes de variación no controladas.

## 9.8 Tukey HSD (agrupamiento con letras)

HSD.test(modeloDBCA, "Tratamiento", group = TRUE, console = TRUE)

Study: modeloDBCA ~ "Tratamiento"  
  
HSD Test for Resultado   
  
Mean Square Error: 7.808829   
  
Tratamiento, means  
  
 Resultado std r se Min Max Q25  
NPK + Bioinoculante 54.25933 2.395591 30 0.5101904 49.26 58.09 52.9100  
NPK Comercial 50.29667 2.453096 30 0.5101904 44.71 54.74 48.5975  
Orgánico + NPK 64.78000 3.621806 30 0.5101904 57.14 72.39 62.1700  
Organico + NPK (50:50) 59.71300 2.488591 30 0.5101904 55.73 65.66 58.2425  
 Q50 Q75  
NPK + Bioinoculante 54.045 55.9275  
NPK Comercial 50.080 51.8625  
Orgánico + NPK 65.070 66.9650  
Organico + NPK (50:50) 59.480 61.0025  
  
Alpha: 0.05 ; DF Error: 114   
Critical Value of Studentized Range: 3.687325   
  
Minimun Significant Difference: 1.881238   
  
Treatments with the same letter are not significantly different.  
  
 Resultado groups  
Orgánico + NPK 64.78000 a  
Organico + NPK (50:50) 59.71300 b  
NPK + Bioinoculante 54.25933 c  
NPK Comercial 50.29667 d

**Interpretación:** La prueba de **Tukey HSD**, aplicada al **Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)** para la variable *altura de las plantas de frijol*, indica que el **Tratamiento 4** obtuvo la mayor media (64.78 cm; grupo *a*), seguido del **Tratamiento 3** (59.71 cm; grupo *b*), luego el **Tratamiento 2** (54.26 cm; grupo *c*), y finalmente el **Tratamiento 1** (50.29 cm; grupo *d*), con la menor media. El valor de la **diferencia mínima significativa (HSD)** fue de **1.88**, más estricto que el obtenido con la prueba **LSD** (1.43). Aun así, los tratamientos mantienen una **separación completa**, sin letras compartidas entre grupos, lo que evidencia que **todas las medias difieren significativamente entre sí** al nivel de confianza del 95 %.

Estos resultados confirman que los tratamientos ejercieron **efectos claramente diferenciados** sobre la altura de las plantas, y que las diferencias observadas **no se deben al azar**. La consistencia entre las pruebas de **LSD y Tukey** respalda la **robustez y confiabilidad del experimento**.

## 9.9 Comparaciones múltiples con LSD

out\_LSD <- LSD.test(modeloDBCA, "Tratamiento", group = TRUE, console = TRUE)

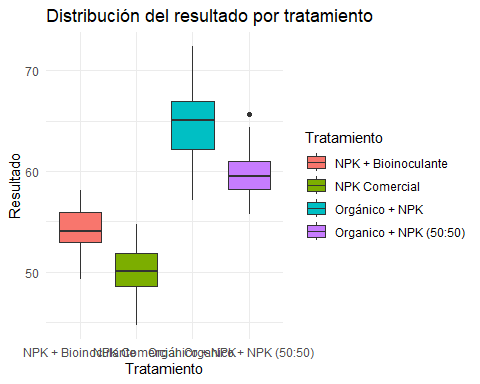
Study: modeloDBCA ~ "Tratamiento"  
  
LSD t Test for Resultado   
  
Mean Square Error: 7.808829   
  
Tratamiento, means and individual ( 95 %) CI  
  
 Resultado std r se LCL UCL Min  
NPK + Bioinoculante 54.25933 2.395591 30 0.5101904 53.24865 55.27002 49.26  
NPK Comercial 50.29667 2.453096 30 0.5101904 49.28598 51.30735 44.71  
Orgánico + NPK 64.78000 3.621806 30 0.5101904 63.76932 65.79068 57.14  
Organico + NPK (50:50) 59.71300 2.488591 30 0.5101904 58.70232 60.72368 55.73  
 Max Q25 Q50 Q75  
NPK + Bioinoculante 58.09 52.9100 54.045 55.9275  
NPK Comercial 54.74 48.5975 50.080 51.8625  
Orgánico + NPK 72.39 62.1700 65.070 66.9650  
Organico + NPK (50:50) 65.66 58.2425 59.480 61.0025  
  
Alpha: 0.05 ; DF Error: 114  
Critical Value of t: 1.980992   
  
least Significant Difference: 1.429322   
  
Treatments with the same letter are not significantly different.  
  
 Resultado groups  
Orgánico + NPK 64.78000 a  
Organico + NPK (50:50) 59.71300 b  
NPK + Bioinoculante 54.25933 c  
NPK Comercial 50.29667 d

**Interpretación:** El resultado de la prueba **LSD (Least Significant Difference)** aplicada al **Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)** para la variable *altura de las plantas de frijol* evidencia una clara **separación de medias entre tratamientos**. El **Tratamiento 4** presentó la mayor altura promedio (64.78 cm; grupo *a*), seguido del **Tratamiento 3** (59.71 cm; grupo *b*), el **Tratamiento 2** (54.26 cm; grupo *c*) y finalmente el **Tratamiento 1** (50.29 cm; grupo *d*), con la menor media. El valor de la **diferencia mínima significativa (LSD)** fue de **1.43**, indicando que cualquier diferencia superior a este umbral es **estadísticamente significativa al 95 % de confianza**. Ninguno de los tratamientos comparte letra, lo que confirma que **todos difieren significativamente entre sí**. Estos resultados respaldan que los tratamientos generaron **efectos distintos y consistentes** sobre la altura de las plantas de frijol, más allá de la variabilidad natural controlada mediante los bloques.

## 9.10 Visualización de resultados

### 9.10.1 Caja y Bigote (Boxplot en ggplot2)

ggplot(DBCA, aes(x = Tratamiento, y = Resultado, fill = Tratamiento)) + geom\_boxplot() + theme\_minimal() + labs( title = "Distribución del resultado por tratamiento", x = "Tratamiento", y = "Resultado")



**Interpretación:** La gráfica muestra la **distribución de los valores de altura de las plantas de *Phaseolus vulgaris*** bajo cuatro tratamientos de fertilización evaluados mediante un **Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA)**. Se observa una **tendencia ascendente** en la mediana y en el rango de los resultados desde **NPK Comercial** hasta **Orgánico + NPK**, lo que indica un efecto progresivamente favorable de los tratamientos sobre el crecimiento de las plantas.

El **tratamiento Orgánico + NPK** presenta las mayores alturas promedio, seguido de **Orgánico + NPK (50:50)**, **NPK + Bioinoculante** y finalmente **NPK Comercial**, que registra los valores más bajos. La **variabilidad dentro de cada grupo** se mantiene controlada, aunque se identifica un **valor atípico en el tratamiento Orgánico + NPK (50:50)**, algo común en ensayos biológicos debido a la variación natural entre individuos.

Estos resultados **coinciden con las pruebas de comparación de medias (LSD y Tukey)**, en las que los tratamientos se agrupan en **cuatro categorías estadísticas distintas (a, b, c y d)**, confirmando que las diferencias en altura entre los tratamientos son **estadísticamente significativas** y reflejan **efectos reales** de las condiciones de fertilización aplicadas.

# 10. Capitulo 6 Diseño longitudinal (ANOVA de medidas repetidas)

### 10.0.1 Problema

|  |
| --- |
| Nota |
| El trabajo de grado desarrollado por (Fuentes-Ricaurte et al., 2024)analizó el potencial de tres géneros de **hongos mitospóricos**, entre ellos *Aspergillus* sp. (As), para la **bioacumulación de los metales pesados cadmio (Cd) y plomo (Pb)** en su micelio. Para ello, se emplearon medios de cultivo **caldo papa dextrosa (CPD)** suplementados con concentraciones de **100, 150 y 200 mg/L** de cada metal, considerando el **tiempo** como un factor determinante en el proceso de bioacumulación.  La **cuantificación del metal retenido en el micelio** se realizó mediante **espectrometría de absorción atómica**, técnica que permitió evaluar la eficiencia de remoción. Los resultados mostraron que *Aspergillus* sp. fue el género más eficiente en la **bioacumulación de plomo (Pb)**, alcanzando hasta **94,38 % de remoción** a 200 mg/L, mientras que para **cadmio (Cd)** se obtuvo una remoción del **92,82 %**.   |  | | --- | |  |   (A): Micelio de cepa ambiental de Aspergillus sp. en medio de cultivo PDA. (B): Microscopia cepa de Aspergillus sp. tomada a 40X por medio de tinción de impronta con KOH 10%. |

### 10.0.2 Estructura de la base de datos

Los datos analizados provienen de un **experimento microbiológico** diseñado para evaluar la **bioacumulación de plomo (Pb)** por *Aspergillus* sp. bajo distintas concentraciones en el medio de cultivo.  
La base de datos está compuesta por **cuatro columnas principales**, que describen las variables medidas en el ensayo: **Tiempo**, **Tratamiento**, **Repetición** y **Resultado**.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tabla 10.1   | **Variable** | **Tipo de variable** | **Descripción** | | --- | --- | --- | | **Tiempo** | Categórica | Días después de la inoculación (ddi). Representa los momentos de medición del experimento. | | **Tratamiento** | Categórica | Inoculación de *Aspergillus* sp. en medios de cultivo suplementados con 100, 150 y 200 mg/L de Pb. | | **Repetición** | Numérica | Identifica el número de repetición del tratamiento (1, 2, 3). | | **Resultado** | Continua (numérica) | Variable cuantitativa que expresa el valor observado del experimento. Puede tomar cualquier valor dentro de un rango, incluidos decimales (p. ej., 75.6, 4.1, 0.2). | |

Cada combinación de **Tratamiento × Tiempo** se evaluó por triplicado, lo que permitió analizar la **variabilidad experimental** y aplicar un **modelo mixto lineal de medidas repetidas** para estudiar el efecto del **tiempo** y la **concentración de Pb** sobre la **bioacumulación**.

El experimento cumple con las condiciones que caracterizan un **diseño de medidas repetidas**, dado que las mismas unidades experimentales (*frascos de cultivo*) fueron evaluadas en distintos momentos del tiempo (0, 10, 15 y 20 días después de la inoculación). En este contexto, se empleó un **modelo mixto lineal (LME)**, el cual permite analizar los **efectos fijos** del *Tratamiento* (concentración de Pb) y del *Tiempo*, considerando simultáneamente la **variabilidad aleatoria** asociada a cada frasco (*Id*).

Este enfoque resulta especialmente adecuado para **datos dependientes en el tiempo**, ya que controla la **correlación entre observaciones repetidas** dentro de la misma unidad experimental y proporciona **inferencias más precisas y robustas** que un ANOVA tradicional.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tabla 10.2   | **Elemento** | **Descripción** | **Tipo** | | --- | --- | --- | | **Unidad experimental** | Frasco o cultivo individual (*Id*). | Efecto **aleatorio** | | **Factores fijos** | - Concentración de Pb (*Tratamiento*)- Tiempo de incubación (*Tiempo*). | Efectos **fijos** | | **Variable respuesta** | Bioacumulación de Pb (*Resultado*). | Continua | | **Estructura temporal** | Mismas unidades (*frascos*) medidas en varios tiempos (0, 10, 15 y 20 ddi). | **Medidas repetidas** | |

## 10.1 Diseño: Tratamiento (factor entre sujetos) x Tiempo (factor intra-sujetos)

### 10.1.1 Cargar las librerias necesarias para el análisis

suppressPackageStartupMessages({  
 library(readxl)  
 library(nlme)  
 library(ggplot2)  
 library(emmeans)  
 library(dplyr)  
 library(multcomp)  
 library(multcompView)  
})

Warning: package 'readxl' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'nlme' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'emmeans' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'dplyr' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'multcomp' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'mvtnorm' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'survival' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'TH.data' was built under R version 4.3.3

Warning: package 'multcompView' was built under R version 4.3.3

### 10.1.2 Importar datos desde Excel

library(readxl)  
DMRT <- read\_excel("C:/R-Proyectos/r-para-mi/data/DMRT\_Hongos/DMRT.xlsx")

### 10.1.3 Exploración inicial y estructura de la base de datos

names(DMRT)

[1] "Id" "Tiempo" "Tratamiento" "Repeticion" "Resultado"

str(DMRT)

tibble [36 × 5] (S3: tbl\_df/tbl/data.frame)  
 $ Id : chr [1:36] "f1100" "f2100" "f3100" "f1100" ...  
 $ Tiempo : chr [1:36] "0 ddi" "0 ddi" "0 ddi" "10 ddi" ...  
 $ Tratamiento: chr [1:36] "As 100 mg/L Pb" "As 100 mg/L Pb" "As 100 mg/L Pb" "As 100 mg/L Pb" ...  
 $ Repeticion : num [1:36] 1 2 3 1 2 3 1 2 3 1 ...  
 $ Resultado : num [1:36] 0 0 0 4.5 9.7 12.8 63.1 58.3 67.7 82.1 ...

head(DMRT)

# A tibble: 6 × 5  
 Id Tiempo Tratamiento Repeticion Resultado  
 <chr> <chr> <chr> <dbl> <dbl>  
1 f1100 0 ddi As 100 mg/L Pb 1 0   
2 f2100 0 ddi As 100 mg/L Pb 2 0   
3 f3100 0 ddi As 100 mg/L Pb 3 0   
4 f1100 10 ddi As 100 mg/L Pb 1 4.5  
5 f2100 10 ddi As 100 mg/L Pb 2 9.7  
6 f3100 10 ddi As 100 mg/L Pb 3 12.8

summary(DMRT$Resultado)

Min. 1st Qu. Median Mean 3rd Qu. Max.   
 0.000 3.375 55.725 47.017 78.800 95.650

### 10.1.4 Verificación del equilibrio del diseño experimental

library(dplyr) # Contar el número de observaciones por combinación de Tratamiento × Tiempo   
DMRT %>% count(Tratamiento, Tiempo) %>% arrange(Tratamiento, Tiempo)

# A tibble: 12 × 3  
 Tratamiento Tiempo n  
 <chr> <chr> <int>  
 1 As 100 mg/L Pb 0 ddi 3  
 2 As 100 mg/L Pb 10 ddi 3  
 3 As 100 mg/L Pb 15 ddi 3  
 4 As 100 mg/L Pb 20 ddi 3  
 5 As 150 mg/L Pb 0 ddi 3  
 6 As 150 mg/L Pb 10 ddi 3  
 7 As 150 mg/L Pb 15 ddi 3  
 8 As 150 mg/L Pb 20 ddi 3  
 9 As 200 mg/L Pb 0 ddi 3  
10 As 200 mg/L Pb 10 ddi 3  
11 As 200 mg/L Pb 15 ddi 3  
12 As 200 mg/L Pb 20 ddi 3

### 10.1.5 Convertir variables categóricas a factores

Antes de realizar el análisis de varianza (ANOVA), es necesario convertir las variables categóricas —como los tratamientos o los tiempos de muestreo— en **factores**, ya que este tipo de análisis requiere que los grupos experimentales sean interpretados como categorías y no como valores numéricos.

DMRT$Tratamiento <- as.factor(DMRT$Tratamiento) # Efecto fijo 1: concentración de Pb  
DMRT$Tiempo <- as.factor(DMRT$Tiempo) # Efecto fijo 2: tiempo de exposición  
DMRT$Id <- as.factor(DMRT$Id) # Efecto aleatorio: frasco o unidad experimental  
  
str(DMRT)

tibble [36 × 5] (S3: tbl\_df/tbl/data.frame)  
 $ Id : Factor w/ 9 levels "f1100","f1150",..: 1 4 7 1 4 7 1 4 7 1 ...  
 $ Tiempo : Factor w/ 4 levels "0 ddi","10 ddi",..: 1 1 1 2 2 2 3 3 3 4 ...  
 $ Tratamiento: Factor w/ 3 levels "As 100 mg/L Pb",..: 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 ...  
 $ Repeticion : num [1:36] 1 2 3 1 2 3 1 2 3 1 ...  
 $ Resultado : num [1:36] 0 0 0 4.5 9.7 12.8 63.1 58.3 67.7 82.1 ...

### 10.1.6 Ajuste del modelo mixto lineal (efectos fijos + aleatorios)

### 10.1.7 Modelo mixto lineal de medidas repetidas

library(nlme)  
  
# Ajuste del modelo mixto lineal (efectos fijos + aleatorios)  
modelo\_mixto <- lme(  
 Resultado ~ Tratamiento \* Tiempo, # efectos fijos  
 random = ~1 | Id, # efecto aleatorio por frasco  
 data = DMRT # conjunto de datos  
)

**Interpretación:**  
Este modelo mixto se usa para analizar datos donde se repiten las mediciones (por ejemplo, la bioacumulación de plomo en diferentes tiempos dentro del mismo frasco o individuo).

* **Efectos fijos:** Tratamiento y Tiempo, además de su interacción (Tratamiento\*Tiempo), permiten evaluar si existen diferencias sistemáticas entre tratamientos, entre momentos de tiempo y si el efecto del tratamiento cambia a lo largo del tiempo.
* **Efecto aleatorio:** ~1 | Id indica que se considera la variabilidad individual de cada frasco o unidad experimental, controlando así la correlación entre medidas repetidas del mismo sujeto.
* Este tipo de modelo mejora la precisión del análisis porque separa la variabilidad intra-sujeto de la variabilidad entre sujetos, algo que un ANOVA tradicional no podría hacer adecuadamente.

**Análisis de la Varianza - ANOVA**

El **análisis de varianza (ANOVA)** es una herramienta estadística fundamental en las investigaciones **microbiológicas y ambientales**, ya que permite determinar si las diferencias observadas en la **bioacumulación de plomo (Pb)** se deben realmente a los **tratamientos experimentales** y no al efecto del azar. Cuando se cumplen los **supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas**, el ANOVA ofrece **inferencias sólidas y confiables**, lo que fortalece la **validez interna del experimento** y respalda la interpretación de los resultados obtenidos.

# Resultados del ANOVA del modelo  
anova(modelo\_mixto)

numDF denDF F-value p-value  
(Intercept) 1 18 6228.224 <.0001  
Tratamiento 2 6 66.120 1e-04  
Tiempo 3 18 1636.285 <.0001  
Tratamiento:Tiempo 6 18 40.052 <.0001

**Interpretación:**

El intercepto no presenta un interés biológico directo, ya que únicamente funciona como punto de referencia dentro del modelo estadístico. En cuanto al factor **tratamiento (p < 0.0001)**, se observaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos, lo que indica que la bioacumulación de plomo varía de manera notable según el tipo de tratamiento aplicado. Por otro lado, el **tiempo (p < 0.0001)** también mostró un efecto significativo sobre la respuesta, evidenciando que los niveles de bioacumulación cambian de forma importante a lo largo del periodo de evaluación. Finalmente, la **interacción entre tratamiento y tiempo (p < 0.0001)** resultó significativa, lo que sugiere que el efecto de los tratamientos depende del momento de medición; es decir, los tratamientos no presentan el mismo comportamiento en todos los tiempos analizados.

# Resumen detallado del modelo  
summary(modelo\_mixto)

Linear mixed-effects model fit by REML  
 Data: DMRT   
 AIC BIC logLik  
 163.4999 179.9926 -67.74993  
  
Random effects:  
 Formula: ~1 | Id  
 (Intercept) Residual  
StdDev: 1.010727 2.948069  
  
Fixed effects: Resultado ~ Tratamiento \* Tiempo   
 Value Std.Error DF t-value p-value  
(Intercept) 0.00000 1.799322 18 0.00000 1.0000  
TratamientoAs 150 mg/L Pb 0.00000 2.544625 6 0.00000 1.0000  
TratamientoAs 200 mg/L Pb 0.00000 2.544625 6 0.00000 1.0000  
Tiempo10 ddi 9.00000 2.407088 18 3.73896 0.0015  
Tiempo15 ddi 63.03333 2.407088 18 26.18655 0.0000  
Tiempo20 ddi 86.56667 2.407088 18 35.96323 0.0000  
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo10 ddi 21.77778 3.404136 18 6.39745 0.0000  
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo10 ddi 45.93333 3.404136 18 13.49339 0.0000  
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo15 ddi -5.74444 3.404136 18 -1.68749 0.1088  
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo15 ddi 12.25000 3.404136 18 3.59856 0.0021  
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo20 ddi 6.36667 3.404136 18 1.87027 0.0778  
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo20 ddi 7.81667 3.404136 18 2.29623 0.0339  
 Correlation:   
 (Intr) TA15mP TA20mP Tmp10d Tmp15d  
TratamientoAs 150 mg/L Pb -0.707   
TratamientoAs 200 mg/L Pb -0.707 0.500   
Tiempo10 ddi -0.669 0.473 0.473   
Tiempo15 ddi -0.669 0.473 0.473 0.500   
Tiempo20 ddi -0.669 0.473 0.473 0.500 0.500  
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo10 ddi 0.473 -0.669 -0.334 -0.707 -0.354  
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo10 ddi 0.473 -0.334 -0.669 -0.707 -0.354  
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo15 ddi 0.473 -0.669 -0.334 -0.354 -0.707  
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo15 ddi 0.473 -0.334 -0.669 -0.354 -0.707  
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo20 ddi 0.473 -0.669 -0.334 -0.354 -0.354  
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo20 ddi 0.473 -0.334 -0.669 -0.354 -0.354  
 Tmp20d TA150m/LP:T10d TA200m/LP:T10d  
TratamientoAs 150 mg/L Pb   
TratamientoAs 200 mg/L Pb   
Tiempo10 ddi   
Tiempo15 ddi   
Tiempo20 ddi   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo10 ddi -0.354   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo10 ddi -0.354 0.500   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo15 ddi -0.354 0.500 0.250   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo15 ddi -0.354 0.250 0.500   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo20 ddi -0.707 0.500 0.250   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo20 ddi -0.707 0.250 0.500   
 TA150m/LP:T15d TA200m/LP:T15d  
TratamientoAs 150 mg/L Pb   
TratamientoAs 200 mg/L Pb   
Tiempo10 ddi   
Tiempo15 ddi   
Tiempo20 ddi   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo10 ddi   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo10 ddi   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo15 ddi   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo15 ddi 0.500   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo20 ddi 0.500 0.250   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo20 ddi 0.250 0.500   
 TA150m/LP:T2d  
TratamientoAs 150 mg/L Pb   
TratamientoAs 200 mg/L Pb   
Tiempo10 ddi   
Tiempo15 ddi   
Tiempo20 ddi   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo10 ddi   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo10 ddi   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo15 ddi   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo15 ddi   
TratamientoAs 150 mg/L Pb:Tiempo20 ddi   
TratamientoAs 200 mg/L Pb:Tiempo20 ddi 0.500   
  
Standardized Within-Group Residuals:  
 Min Q1 Med Q3 Max   
-2.36609032 -0.24438078 0.08881768 0.33881909 1.57247026   
  
Number of Observations: 36  
Number of Groups: 9

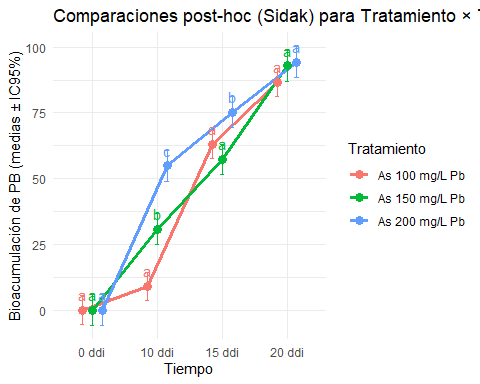
## 10.2 **Comparaciones múltiples de Medias**

### 10.2.1 LSD (sin ajuste, equivalente a prueba de Fisher LSD)

emmeans\_trat\_tiempo <- emmeans(modelo\_mixto, ~ Tratamiento | Tiempo)  
  
cld\_LSD <- multcomp::cld(emmeans\_trat\_tiempo,  
 adjust = "none", # LSD no ajusta comparaciones  
 Letters = letters,  
 alpha = 0.05)  
print(cld\_LSD)

Tiempo = 0 ddi:  
 Tratamiento emmean SE df lower.CL upper.CL .group  
 As 100 mg/L Pb 0.0 1.8 8 -4.15 4.15 a   
 As 200 mg/L Pb 0.0 1.8 6 -4.40 4.40 a   
 As 150 mg/L Pb 0.0 1.8 6 -4.40 4.40 a   
  
Tiempo = 10 ddi:  
 Tratamiento emmean SE df lower.CL upper.CL .group  
 As 100 mg/L Pb 9.0 1.8 8 4.85 13.15 a   
 As 150 mg/L Pb 30.8 1.8 6 26.38 35.18 b   
 As 200 mg/L Pb 54.9 1.8 6 50.53 59.34 c   
  
Tiempo = 15 ddi:  
 Tratamiento emmean SE df lower.CL upper.CL .group  
 As 150 mg/L Pb 57.3 1.8 6 52.89 61.69 a   
 As 100 mg/L Pb 63.0 1.8 8 58.88 67.18 a   
 As 200 mg/L Pb 75.3 1.8 6 70.88 79.69 b   
  
Tiempo = 20 ddi:  
 Tratamiento emmean SE df lower.CL upper.CL .group  
 As 100 mg/L Pb 86.6 1.8 8 82.42 90.72 a   
 As 150 mg/L Pb 92.9 1.8 6 88.53 97.34 b   
 As 200 mg/L Pb 94.4 1.8 6 89.98 98.79 b   
  
Degrees-of-freedom method: containment   
Confidence level used: 0.95   
significance level used: alpha = 0.05   
NOTE: If two or more means share the same grouping symbol,  
 then we cannot show them to be different.  
 But we also did not show them to be the same.

### 10.2.2 Comparaciones Post-Hoc (EMMEANS + SIDAK)



### 10.2.3 Tratamientos dentro de cada tiempo

### 10.2.4 Análisis de la Interacción Tratamiento × Tiempo

Este análisis se centra en identificar cuáles tratamientos difieren significativamente entre sí en cada punto de tiempo evaluado. Se utilizó el método de Letras (agrupamiento) donde **los tratamientos que comparten la misma letra en la columna .group no son significativamente diferentes entre sí** para un nivel de significancia de .

#### 10.2.4.1 ⏳ **Tiempo = 0 ddi**

* **Resultados:** En este momento inicial, los tres tratamientos (As 100 mg/L Pb, As 200 mg/L Pb, y As 150 mg/L Pb) se encuentran en el **mismo grupo (‘a’)**.
* **Conclusión:** No existe una diferencia significativa en la media marginal estimada (emmean) entre los tres tratamientos al inicio del experimento.

#### 10.2.4.2 ⏳ **Tiempo = 10 ddi**

* **Resultados:** Se observa una clara separación de los tratamientos en tres grupos distintos.
* **As 100 mg/L Pb** forma el grupo más bajo (‘a’) con una media de 9.0.  
  **As 150 mg/L Pb** forma el grupo intermedio (‘b’) con una media de 30.8.  
  **As 200 mg/L Pb** forma el grupo más alto (‘c’) con una media de 54.9.
* **Conclusión:** A los 10 días, **todos los tratamientos son significativamente diferentes entre sí**. El efecto o respuesta medida es significativamente mayor a medida que la concentración de plomo (Pb) aumenta (100 < 150 < 200).

#### 10.2.4.3 ⏳ **Tiempo = 15 ddi**

* **Resultados:** Los tratamientos se agrupan en dos conjuntos.
* El grupo ‘a’ está compuesto por **As 150 mg/L Pb** (57.3) y **As 100 mg/L Pb** (63.0). Estos no difieren significativamente entre sí.  
  El tratamiento **As 200 mg/L Pb** (75.3) forma un grupo distinto (‘b’), que es significativamente mayor que el grupo ‘a’.
* **Conclusión:** A los 15 días, el tratamiento de **mayor concentración (As 200 mg/L Pb) es significativamente superior** a los otros dos. Sin embargo, no se detecta una diferencia significativa entre las concentraciones de 100 y 150 mg/L de Pb.

#### 10.2.4.4 ⏳ **Tiempo = 20 ddi**

* **Resultados:** Los resultados son similares a los de 15 ddi, con dos grupos.
* **As 100 mg/L Pb** (86.6) forma el grupo ‘a’.  
  **As 150 mg/L Pb** (92.9) y **As 200 mg/L Pb** (94.4) comparten el grupo ‘b’, lo que indica que **no son significativamente diferentes** entre sí.  
  El grupo ‘b’ (150 y 200 mg/L Pb) es significativamente diferente y mayor que el grupo ‘a’ (100 mg/L Pb).
* **Conclusión:** Al final del período de evaluación (20 días), la **menor concentración de Pb (100 mg/L) resulta en una respuesta significativamente inferior** a las dos concentraciones más altas (150 y 200 mg/L). Las concentraciones de 150 y 200 mg/L de Pb tienen efectos estadísticamente equivalentes.

**Visualización de resultados**

**Interpretación:** El análisis estadístico de la interacción entre el **Tratamiento** (diferentes concentraciones de Plomo) y el **Tiempo** revela una dinámica evolutiva del efecto medido. Si bien la tendencia general muestra un incremento en el resultado para todos los tratamientos a lo largo de los 20 días, la diferenciación estadística varía críticamente según el momento.

Al inicio (0 ddi), no se registraron diferencias significativas entre las tres concentraciones. La máxima diferenciación se alcanzó a los **10 ddi**, donde el tratamiento de fue significativamente superior al de , y este a su vez fue superior al de , estableciendo una clara jerarquía.

Posteriormente, a medida que el experimento progresó (15 y 20 ddi), los tratamientos de **mayor concentración convergieron estadísticamente**. A los 20 ddi, el tratamiento de resultó ser significativamente inferior y distinto (grupo ‘a’) de los tratamientos de y .

En conclusión, el resultado más importante es que, si bien el tratamiento de **mayor concentración (**) ejerce el efecto más rápido y fuerte en las etapas intermedias, al finalizar el estudio (20 ddi), la concentración de es estadísticamente igual de efectiva que la de , y ambas son significativamente más efectivas que la concentración más baja.

## 10.3 Verificación de Supuestos

La verificación de los supuestos estadísticos es esencial para garantizar la validez del ANOVA. Primero se debe evaluar la **normalidad de los residuos** mediante la prueba de **Shapiro-Wilk**, que determina si las desviaciones respecto a la normalidad son significativas. Además, es necesario comprobar la **homogeneidad de varianzas** con la prueba de **Bartlett**, asegurando que las comparaciones entre tratamientos no estén sesgadas por diferencias en la variabilidad. Si alguno de estos supuestos no se cumple, se recomienda aplicar **transformaciones de los datos** o emplear **modelos con varianzas heterogéneas**.

### 10.3.1 Normalidad de residuos del modelo

residuos <- residuals(modelo\_mixto, type = "normalized")  
  
# Normalidad de residuos (Shapiro-Wilk)  
shapiro.test(residuos)

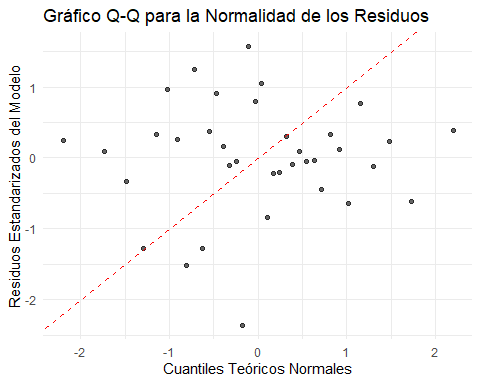
Shapiro-Wilk normality test  
  
data: residuos  
W = 0.95276, p-value = 0.1277

**Interpretación:** La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk mostró un valor de **p = 0.1277**, superior a 0.05, lo que indica que **no se rechaza la hipótesis nula de normalidad**. Por lo tanto, se concluye que los **residuos se distribuyen de manera aproximadamente normal**, cumpliendo con este supuesto del modelo.

**Gráfico Q-Q de los residuos estandarizados**

El gráfico Q-Q es el método estándar para evaluar la normalidad.

# Cargar la librería necesaria para el modelo (si no está cargada)  
# library(nlme)   
library(ggplot2)  
  
# 1. Extraer los residuos estandarizados del modelo  
residuos\_std <- residuals(modelo\_mixto, type = "normalized")  
  
# 2. Crear un marco de datos con los residuos estandarizados  
datos\_qq <- data.frame(  
 Residuos\_Std = residuos\_std,  
 Teoricos = qnorm(ppoints(length(residuos\_std)))  
)  
  
# 3. Generar el gráfico Q-Q  
ggplot(datos\_qq, aes(x = Teoricos, y = Residuos\_Std)) +  
 geom\_point(alpha = 0.6) +  
 geom\_abline(intercept = 0, slope = 1, color = "red", linetype = "dashed") +  
 theme\_minimal() +  
 labs(  
 title = "Gráfico Q-Q para la Normalidad de los Residuos",  
 x = "Cuantiles Teóricos Normales",  
 y = "Residuos Estandarizados del Modelo"  
 )



# Interpretación: Los puntos deben seguir de cerca la línea roja.  
  
# --- B. Prueba de Shapiro-Wilk (Opcional, pero complementaria) ---  
# shapiro.test(residuos\_std)   
# Interpretación: Si el valor p > 0.05, no se rechaza la normalidad.

### 10.3.2 Homogeneidad de Varianza (Homocedasticidad)

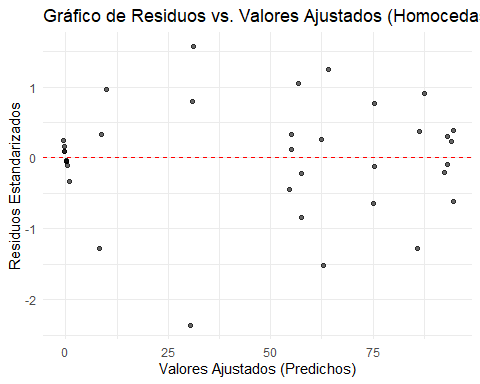
# Homogeneidad de varianzas (Bartlett)  
bartlett.test(Resultado ~ Tratamiento, data = DMRT)

Bartlett test of homogeneity of variances  
  
data: Resultado by Tratamiento  
Bartlett's K-squared = 0.036607, df = 2, p-value = 0.9819

**Interpretación:** La prueba de homogeneidad de varianzas de Bartlett arrojó un valor de **p = 0.9819**, muy superior a 0.05, por lo que **no se rechaza la hipótesis nula de igualdad de varianzas**. Esto indica que las **varianzas entre los tratamientos son homogéneas**, cumpliéndose así el supuesto de homogeneidad requerido para el análisis.

### 10.3.3 Gráfico de Residuos vs. Valores Ajustados

# 1. Extraer los valores ajustados (predichos) y los residuos  
datos\_homocedasticidad <- data.frame(  
 Valores\_Ajustados = fitted(modelo\_mixto),  
 Residuos\_Std = residuals(modelo\_mixto, type = "normalized")  
)  
  
# 2. Generar el gráfico  
ggplot(datos\_homocedasticidad, aes(x = Valores\_Ajustados, y = Residuos\_Std)) +  
 geom\_point(alpha = 0.6) +  
 geom\_hline(yintercept = 0, linetype = "dashed", color = "red") +  
 theme\_minimal() +  
 labs(  
 title = "Gráfico de Residuos vs. Valores Ajustados (Homocedasticidad)",  
 x = "Valores Ajustados (Predichos)",  
 y = "Residuos Estandarizados"  
 )



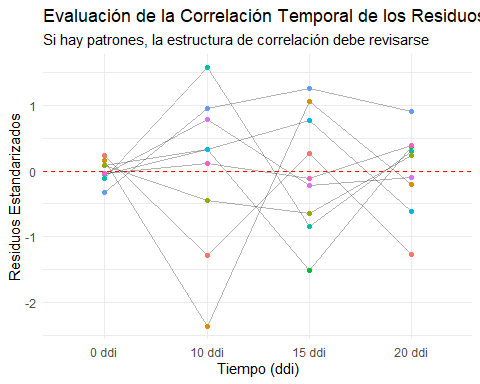
# Interpretación: Los puntos deben dispersarse aleatoriamente alrededor de la línea y=0,   
# sin formar patrones de embudo o conos.

### 10.3.4 Independencia/Estructura de Correlación

Este supuesto verifica si la dependencia temporal restante dentro de cada unidad experimental (Id) ha sido modelada correctamente.

### 10.3.5 Gráfico de Residuos vs. Tiempo por Unidad Experimental

# 1. Preparar el marco de datos con Residuos, Tiempo e Id  
datos\_independencia <- data.frame(  
 Tiempo = modelo\_mixto$data$Tiempo,  
 Id = modelo\_mixto$data$Id,  
 Residuos = residuals(modelo\_mixto, type = "normalized")  
)  
  
# 2. Generar el gráfico  
ggplot(datos\_independencia, aes(x = Tiempo, y = Residuos, group = Id)) +  
 geom\_line(alpha = 0.3) +  
 geom\_point(aes(color = Id), show.legend = FALSE) + # Color por Id para diferenciación  
 geom\_hline(yintercept = 0, linetype = "dashed", color = "red") +  
 theme\_minimal() +  
 labs(  
 title = "Evaluación de la Correlación Temporal de los Residuos",  
 subtitle = "Si hay patrones, la estructura de correlación debe revisarse",  
 x = "Tiempo (ddi)",  
 y = "Residuos Estandarizados"  
 )



# Interpretación: Si hay un patrón de correlación visible (líneas que siguen una forma   
# similar a lo largo del tiempo), el modelo podría necesitar una estructura de   
# correlación explícita (p. ej., corAR1) añadida al objeto lme.

**Interpretación:** El análisis de los residuos indica una **violación del supuesto de independencia temporal**. Se observa un **patrón sistemático** (subida y bajada) en los residuos a lo largo del tiempo que se repite en las unidades experimentales, lo cual sugiere que el modelo actual, con solo una intercepción aleatoria, **no está capturando adecuadamente la correlación temporal** entre las mediciones. Para obtener estimaciones de error estándar válidas y garantizar la fiabilidad de las comparaciones post-hoc, es **obligatorio reajustar el modelo lineal mixto** incluyendo una **estructura de correlación explícita** (como AR(1)).

# 11. Capitulo 7 Uso de Inteligencia Artificial para la simulación de datos

## 11.1 Integración de la Inteligencia Artificial en la Simulación de Procesos Microbiológicos Industriales

La integración de herramientas de **inteligencia artificial (IA)** en la simulación de datos microbiológicos representa un cambio paradigmático en la investigación y el desarrollo de procesos biotecnológicos. Estas tecnologías permiten generar **datos sintéticos** que imitan comportamientos reales, facilitando la **validación de modelos estadísticos** antes de ejecutar experimentos en laboratorio (Amore & Philip, 2023). En este sentido, la IA impulsa la generación de datos experimentales, el desarrollo de modelos predictivos robustos y su aplicación a escala industrial.

Según (Wang et al., 2024), la IA ofrece soluciones innovadoras para el **análisis y simulación de datos**, al recrear dinámicas microbianas complejas y anticipar el efecto de cambios ambientales. Aunque no reemplaza la experimentación real, la complementa mediante escenarios virtuales que optimizan recursos y agilizan la toma de decisiones.

Su aplicación resulta especialmente valiosa en la **industria alimentaria**, donde contribuye al control del crecimiento bacteriano y a la mejora de la seguridad y calidad de los alimentos. Modelos computacionales basados en teorías de sistemas dinámicos han demostrado su eficacia al reproducir entornos industriales virtuales, reduciendo riesgos y optimizando parámetros de proceso (Melin & Castillo, 1996).

Asimismo, el **aprendizaje automático y profundo** ha revolucionado el procesamiento de datos microbiológicos, permitiendo la **caracterización de comunidades microbianas**, la interpretación de datos genómicos y el descubrimiento de metabolitos de interés biotecnológico [Kandilci et al. (2024)](Gurajala, 2024). Estas herramientas fortalecen la investigación en biotecnología industrial y microbiomas.

Otra innovación relevante es el desarrollo de **plataformas colaborativas** que democratizan el acceso a la simulación computacional, facilitando la construcción de modelos de crecimiento microbiano, producción metabólica y análisis de datos de secuenciación de nueva generación (Wasan, 2024). Esto promueve la cooperación entre el sector académico e industrial hacia bioprocesos más sostenibles.

De igual modo, (Fernández-Marín et al., 2025) destacan que los **modelos generativos** implementados en entornos como *Google Colab* permiten crear conjuntos de datos sintéticos que reproducen patrones reales, superando limitaciones derivadas de la variabilidad biológica y las restricciones de bioseguridad. La combinación de IA y herramientas estadísticas posibilita validar hipótesis, explorar escenarios hipotéticos y mejorar la **reproducibilidad experimental** en fermentaciones y control de contaminantes.

Finalmente, el futuro se orienta hacia la creación de **gemelos digitales** de bioprocesos: representaciones virtuales que integran datos biológicos, químicos y físicos para simular sistemas industriales completos. Esta línea emergente promete transformar la microbiología industrial al predecir el comportamiento de procesos con un nivel de detalle sin precedentes, impulsando la ingeniería de enzimas, la fermentación de precisión y la producción de biomoléculas de alto valor (Amore & Philip, 2023).

## 11.2 **Diseño de *Prompts* para la Simulación de Datos en Microbiología Industrial**

Desarrollar un *prompt* que permita generar un conjunto de datos simulados de crecimiento microbiano empleando una herramienta de Inteligencia Artificial (IA) generativa.

**Objetivo:** Aplicar principios de simulación de datos mediante IA para recrear escenarios experimentales propios de la microbiología industrial, obteniendo información sintética que pueda analizarse estadísticamente en **RStudio®**.

**Instrucciones:**

1. Copia y adapta el siguiente *prompt* en una herramienta de IA generativa como **ChatGPT**, **Claude**, **Copilot** o **Gemini**.
2. Sustituye los textos entre corchetes [ ] con tus propios valores o condiciones experimentales.
3. La simulación debe incorporar elementos **aleatorios** para reproducir la variabilidad natural de los experimentos biotecnológicos.

|  |
| --- |
| Primer modelo de Prompt |
| Genera un conjunto de datos simulados que imiten un experimento de crecimiento de **[nombre del microorganismo]** en condiciones industriales. Usa como base los siguientes parámetros experimentales: [l**istar variables clave: temperatura, pH, concentración de sustrato, tiempo de incubación]**. Los datos deben incluir valores de densidad óptica (OD600), biomasa y metabolito producido.  El nuevo dataset debe tener al **menos 200 observaciones** y debe ser entregado en **formato CSV** para ser procesado en RStudio.  Una vez generado el dataset sintético, descárgalo en formato CSV y guárdalo en tu carpeta de trabajo de RStudio. |

|  |
| --- |
| Segundo modelo de Prompt |
| Actúa como un investigador en Ingeniería de Bioprocesos y Microbiología Industrial. Genera un dataset simulado que represente la producción de amilasa por *Bacillus subtilis* en un biorreactor en lote.  Usa como variables de entrada: (i)Temperatura (28–42 °C), (ii) pH inicial (5.0–8.0), (iii) Concentración de almidón soluble (5–50 g/L), (iv) Aireación (0.5–2.0 vvm), (v) Tiempo de fermentación (0–96 h).  Incluye como variables de salida: (i) Biomasa (g/L), (ii) Actividad de amilasa (U/mL), (iii) Consumo de sustrato (%) y (iv) pH final.  El dataset debe contener al menos 300 observaciones, estar en formato CSV, incluir variabilidad experimental (ruido aleatorio) y mantener relaciones biológicas plausibles (ejemplo: mayor sustrato y aireación → mayor biomasa y actividad enzimática hasta cierto límite).  Este dataset será procesado y analizado en RStudio mediante estadística descriptiva, regresión y visualización multivariante. |

|  |
| --- |
| Tercer modelo de Prompt |
| Actúa como un microbiólogo industrial y bioestadístico. Genera un conjunto de datos simulados que representen curvas de crecimiento de *Escherichia coli* en medios líquidos bajo distintas condiciones.  Considera como variables de entrada: (i) fuente de carbono (glucosa, lactosa, glicerol), (ii) concentración inicial de sustrato (5–50 g/L), (iii) temperatura (25–40 °C), (iv) pH inicial (5.5–7.5) y (v) tiempo de incubación (0–48 h).  Incluye como variables de salida:  (i) OD600, (ii) fase de crecimiento y (iii) velocidad específica de crecimiento (µ).  El dataset debe tener al menos 250 observaciones, exportarse en formato CSV, presentar curvas sigmoides biológicamente plausibles y reflejar variabilidad experimental realista.  Los datos se utilizarán en RStudio para modelar parámetros cinéticos y comparar el efecto de las condiciones de cultivo sobre el crecimiento bacteriano. |

|  |
| --- |
| Cuarto modelo de Prompt |
| Actúa como un microbiólogo industrial y bioestadístico. Genera un conjunto de datos simulados que representen el Porcentaje de Inhibición del Área de la Lesión (PIAL) en frutos de banano tratados con extractos vegetales (Neem, Ajo, Jengibre y Canela) frente a *Colletotrichum musae*. Usa concentraciones de 1, 2.5, 5 y 10 %. Cada tratamiento debe contar con 5 repeticiones biológicas.  Emplea un diseño de Mediciones Repetidas en el Tiempo, con evaluaciones a los 3, 5, 7, 9 y 11 días después de la inoculación (ddi).  El archivo debe contener las siguientes columnas: (i) Tratamiento, (ii) Repetición, (iii) días después de la inoculación, (iv) PIAL.  Los valores de PIAL deben mostrar tendencias biológicas plausibles: (i) El control (sin extracto) debe presentar progresión rápida de la lesión (PIAL cercano a 0%), (ii) Los extractos vegetales deben mostrar distintos niveles de eficacia, algunos con inhibiciones superiores al 50%.   El dataset debe tener al menos 250 observaciones totales.  Exporta en formato CSV y asegúrate de que los datos reflejen tendencias biológicas plausibles: mayor concentración debe asociarse con mayor inhibición, cada extracto debe mostrar eficacia diferenciada y los valores deben incluir variabilidad experimental. |

# Referencias

Amore, A., & Philip, S. (2023). Artificial intelligence in food biotechnology: trends and perspectives. *Frontiers in Industrial Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/finmi.2023.1255505>

Aria, M., & Cuccurullo, C. (2017). bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, *11*(4), 959-975. <https://doi.org/10.1016/j.joi.2017.08.007>

Arias B., C. L. (2007). Control Químico de la Antracnosis del Mango (Mangifera indica L.) en pre y postcosecha. *Bioagro*, *19*(1), 19-25. <http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev19(1)/3.%20Control%20qu%C3%ADmico%20de%20la%20antracnosis.pdf>

Auguie, B. (2017). *gridExtra: Miscellaneous Functions for "Grid" Graphics*. <https://CRAN.R-project.org/package=gridExtra>

Chang, W., Cheng, J., Allaire, J., Xie, Y., & McPherson, J. (2021). *shiny: Web Application Framework for R*. <https://CRAN.R-project.org/package=shiny>

Fernández-Marín, M. Á., Montero-Murillo, J. R., & González-Tolmo, D. (2025). Caso de estudio sobre simulación de datos para investigaciones académicas mediante Inteligencia Artificial Generativa y Google Colab. *Revista Mexicana de Investigación e Intervención Educativa*, *4*(S1), 18-26. <https://doi.org/10.62697/rmiie.v4iS1.143>

Fox, J., & Weisberg, S. (2019). *An R Companion to Applied Regression* (3.ª ed.). Sage Publications. <https://uk.sagepub.com/en-gb/eur/an-r-companion-to-applied-regression/book246125>

Fuentes-Ricaurte, H. K., Ortiz-Meneses, F. A., & Rodríguez-González, L. G. (2024). *Evaluación de la bioacumulación de cadmio y plomo con cepas de hongos mitospóricos de origen ambiental* [Trabajo de grado, Universidad de Santander]. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/82ca50aa-a2c3-4d49-a9b7-03f3f0289858>

Gurajala, S. (2024). Artificial intelligence (AI) and medical microbiology: A narrative review. *Indian Journal of Microbiology Research*. <https://doi.org/10.18231/j.ijmr.2024.029>

Gutiérrez Pulido, H., & Vara Salazar, R. de la. (2012). *Análisis y diseño de experimentos* (3.ª ed.). McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A. de C.V.

Kandilci, M., Yakıcı, G., & Kayar, M. (2024). Artificial intelligence and microbiology. *Experimental and Applied Medical Science*. <https://doi.org/10.46871/eams.1458704>

Lahti, L., & Shetty, S. (2017). *microbiome R package*. <http://microbiome.github.io/microbiome>

Love, M. I., Huber, W., & Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, *15*(12), 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>

McMurdie, P. J., & Holmes, S. (2013). phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLOS ONE*, *8*(4), e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>

Melin, P., & Castillo, O. (1996). Modelling and simulation for bacteria growth control in the food industry using artificial intelligence. *Proceedings of the IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics*, 676-681. <https://www.witpress.com/elibrary/wit-transactions-on-information-and-communication-technologies/16/13768>

Mendiburu, F. (2020). *agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>

Mohammadi, R., Ghomi, S. M. T. F., & Nazari, F. (2019). The application of R software for the assessment of microbial fermentation processes. *Journal of Microbiological Methods*, *156*, 54-58. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.12.003>

Navarro, D. J. (2015). *Learning Statistics with R: A tutorial for psychology students and other beginners* (Versión 0.5). University of Adelaide. <https://learningstatisticswithr.com/>

Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O’Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Stevens, M. H. H., Szoecs, E., & Wagner, H. (2020). *vegan: Community ecology package*. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., & Team, R. C. (2025). *nlme: Linear and nonlinear mixed effects models*. <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>

R Core Team. (2021). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>

Ritz, C., & Streibig, J. C. (2005). Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software*, *12*(5), 1-22. <https://doi.org/10.18637/jss.v012.i05>

Rohart, F., Gautier, B., Singh, A., & Lê Cao, K.-A. (2017). mixOmics: An R package for ’omics feature selection and multiple data integration. *PLOS Computational Biology*, *13*(11), e1005752. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005752>

Vásquez-Castillo, W., Racines-Oliva, M., Moncayo, P., Viera, W., & Seraquive, M. (2019). Calidad del fruto y pérdidas postcosecha de banano orgánico (Musa acuminata) en el Ecuador. *Enfoque UTE*, *10*(4), 57-66. <https://doi.org/10.29019/enfoque.v10n4.545>

Wang, X. W., Wang, T., & Liu, Y. Y. (2024). Artificial intelligence for microbiology and microbiome research. *arXiv*. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2411.01098>

Wasan, R. K. (2024). The role of artificial intelligence (AI) in microbiology laboratories for diagnosis of microorganisms: A review study. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. <https://doi.org/10.69605/ijlbpr_13.8.2024.66>

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis* (2.ª ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>

Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., McGowan, L. D., François, R., Grolemund, G., Hayes, A., Henry, L., Hester, J., Kuhn, M., Pedersen, T. L., Miller, E., Bache, S. M., Müller, K., Ooms, J., Robinson, D., Seidel, D. P., Spinu, V., & Yutani, H. (2019). Welcome to the tidyverse. *Journal of Open Source Software*, *4*(43), 1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>

Wickham, H., & Bryan, J. (2015). *readxl: Read Excel Files*. <https://CRAN.R-project.org/package=readxl>

Wickham, H., & Grolemund, G. (2017). *R for Data Science: Import, Tidy, Transform, Visualize, and Model Data*. O’Reilly Media. <https://r4ds.had.co.nz>

Yu, G., Smith, D. K., Zhu, H., Guan, Y., & Lam, T. T. Y. (2017). ggtree: An R package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods in Ecology and Evolution*, *8*(1), 28-36. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12628>

Zhou, B., Xiao, J. F., Tuli, L., & Ressom, H. W. (2012). LC-MS-based metabolomics. *Molecular BioSystems*, *8*(2), 470-481. <https://doi.org/10.1039/c1mb05350g>