
DISEÑO Y EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LOS EXTRACTOS PROVENIENTES DE *Pennisetum Purpureum* SOBRE LA GERMINACIÓN Y CRECIMIENTO DE LA ESPECIE FORESTAL *Cedrela Odorata* L.

JORGE ALBERTO CHAPARRO PESCA.^a
jorge.chaparro@usantotomas.edu.co

ANDRES FELIPE ORTIZ RICO.^b
andresortiz@usantotomas.edu.co

Resumen

El presente estudio expone la aplicación de modelos estadísticos para el análisis del crecimiento y la germinación de la especie *Cedrela Odorata* L. Se propone el ajuste de un modelo lineal mixto para el crecimiento y un modelo lineal mixto de Poisson con exceso de ceros para la germinación. Este modelo es adecuado cuando se analizan variables con exceso de ceros y mostró un buen ajuste a los datos. Se encontró que existe diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados en favor de la utilización del tratamiento 4, extracto acuosa, el cual obtuvo mayor germinación y crecimiento con menor nivel de variabilidad y menor porcentaje de plantas estancadas de la *Cedrela Odorata* L.

Palabras clave: Germinación, Crecimiento, *Pennisetum Purpureum*, *Cedrela Odorata* L, Modelo Mixto, Modelo mixto Poisson con exceso de ceros.

Introducción

La *Cedrela Odorata* L es una especie con alto potencial para la construcción, elaboración de instrumentos musicales, muebles, artesanías y demás transformaciones que demanden madera de calidad; así mismo, sus características hacen que tenga una alta tasa de resistencia a las termitas *Reticulitermes Flavipes*, puesto que su ataque está directamente relacionado con la dureza y peso específico de la madera (Loayza Villegas 1979).

Todos estos factores han llevado a que la población de esta especie se encuentre en la categoría EN, es decir, en peligro de extinción (Cardenas 2007) más aún, cuando la tasa de propagación por semillas está siendo afectada por la ausencia de árboles semilleros en los bosques inundables impide la dispersión de semillas por los ríos, estando ausente los bancos de semillas que se encontraban en los suelos después de las crecientes y que permitían la regeneración natural.

Por este motivo, es importante aportar conocimiento y trabajo para generar un estudio preliminar, en el cual se compruebe la actividad biológica de la extracción de la especie *Pennisetum Purpureum* sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántula de la especie *Cedrela Odorata* L, para que este estudio pueda ser utilizado en posteriores investigaciones y de esta manera, contribuir con el fortalecimiento de iniciativas de este tipo, reiterando el compromiso con el valor que genera la ciencia.

^aEstudiante de Maestría en Estadística Aplicada Universidad Santo Tomás

^bDecano Facultad de Estadística Universidad Santo Tomás

Aunque el descubrimiento y funcionalidad de las principales hormonas vegetales fueron identificadas en el siglo pasado, han sido pocas las investigaciones para extraerlas y obtener compuestos naturales, al contrario, actualmente se encuentran en el mercado gran diversidad de compuestos sintéticos que ocasionan afectaciones a la salud y al medio ambiente. Todas las especies vegetales producen hormonas reguladoras de crecimiento, pero algunas dependiendo de su hábitat, fisiología, entre otros factores, sintetizan grandes cantidades de estas sustancias y se les encuentran principalmente en zonas de mayor crecimiento celular (meristemos) y en hojas (Salisbury et al. 2000); por esta razón, fue escogida la *Pennisetum Purpureum* debido a que crecen y germinan con mayor facilidad que otras plántulas.

Sin embargo, para esta especie no se han encontrado estudios sobre extracción de hormonas de crecimiento, aunque por su rápido incremento y producción de biomasa (200 toneladas/ha en cuatro o cinco cosechas) y su adaptabilidad a la mayoría de suelos del país, está siendo utilizado para la producción de etanol (Mateus et al. 2012). Con esta investigación se ratifica la potencialidad para obtener compuestos de esta especie vegetal, con lo cual fue planteado el siguiente interrogante ¿Cómo influyen los extractos acuoso y metanólico obtenidos de la especie *Pennisetum Purpureum* sobre la germinación y crecimiento de la especie *Cedrela Odorata* L?.

Existen algunos estudios sobre el crecimiento y la germinación de la *Cedrela Odorata* L como el realizado en México donde el objetivo ha sido determinar la variación existente en semillas y plántulas (Márquez Ramírez et al. 2005), sin embargo, a nivel internacional y nacional son pocas las investigaciones donde se les apliquen hormonas naturales a la especie *Cedrela Odorata* L además, no se han registrado trabajos donde se haya utilizado modelos lineales mixtos y modelos lineales mixtos Poisson con exceso de ceros, este modelo es adecuado cuando se analizan variables con exceso de ceros como es el caso de esta investigación.

En este trabajo investigativo de tipo experimental, se acudió a la estadística como una de las herramientas mas importantes en el proceso de recolección y análisis de la información obtenida mediante los diseños de experimentos, que es un método estadístico muy utilizado en este tipo de investigaciones de tipo forestal y biológicas (Montgomery C 1997). El propósito de este artículo es analizar el crecimiento y la germinación bajo diferentes situaciones experimentales, con cuatro tratamientos y un grupo control todo esto totalmente aleatorizado.¹

Para evaluar el efecto de los Extractos provenientes de *Pennisetum Purpureum*, se utilizaron los extracto Acuoso² y metanólico³ aplicado en las hojas y las raíces para medir el efecto sobre el crecimiento *Cedrela Odorata* L; por otro lado, para el análisis de la información, se ajustó un modelo lineal mixto que permita identificar cual es el mejor tratamiento y si existe diferencia significativa entre ellos.

Para la germinación, los extracto acuoso y metanólico fueron aplicados por dos métodos: aspersión e inmersión, para medir el efecto sobre la germinación de la semilla y la plántula de *Cedrela Odorata* L se ajustó un modelo lineal mixto de Poisson con exceso de ceros, estos modelos estadísticos determinan el impacto que tiene los extractos provenientes de *Pennisetum purpureum*, sobre la germinación y crecimiento de la especie forestal *Cedrela Odorata* L, además analizan e identifican si existen diferencias entre tratamientos, con el fin de preservar ésta especie que está en vía de extinción.

Las aplicaciones de los modelos lineal mixto y el modelo lineal mixto Poisson con exceso de ceros, permiten analizar el efecto del crecimiento y la germinación de la *Cedrela Odorata* L, esto se realizó a través del software estadístico R (RStudio Team 2018), principalmente a través del uso de los paquetes *lmer*, *nlme*, *gml*, *pscl* y *glmmadmb*, en los cuales se realizaron estimaciones y comparaciones de los modelos mediante procesos iterativos.

¹Los datos proceden del estudio Evaluación del Efecto Inductor de Germinación y Crecimiento en la Especie Forestal Cedro Amargo Utilizando Extractos Proveniente de la Gramínea King Morado, realizado por la estudiante Johanna Pérez en el 2014 como trabajo de grado en el programa de Ingeniería Forestal el cual fue dirigido por la doctora Lady Johanna Correa, Química de la Fundación Universitaria Del Trópico Americano, Yopal, Casanare.

²Una solución acuosa es aquella en la que el solvente es agua.

³Una solución metanólica es aquella en la que el solvente es alcohol metílico.

1. MATERIALES Y MÉTODOS

1.1. Generalidades

Ubicación y recolección de la información: La recolección de los datos se originó en la ciudad de Yopal capital del departamento de Casanare, ubicada cerca del río Cravo Sur, en el piedemonte de la cordillera Oriental, con una temperatura media anual de 26.8 °C, la cual se encuentra a 350 m.s.n.m de altitudes según la clasificación de Holdridge (Grenke et al. 1971). Las cápsulas que contienen las semillas de *Cedrela Odorata* L, fueron recolectadas de la finca La Punta, ubicada en la vereda Guanapalo del municipio de San Luis de Palenque-Casanare⁴.

Evaluación del Efecto de los extractos acuoso y metanólico sobre Semillas y Plántulas de *Cedrela Odorata* L: Se evaluó el efecto de los extractos acuoso y metanólico sobre dos estados vegetativos de la especie, *Cedrela Odorata* L: el primero consistió en analizar el crecimiento de las plántulas y el segundo, consistió en evaluar la presencia de germinación de sus semillas

Variables fijas: Para el respectivo análisis del efecto de los extractos de Pennisetum Purpureum sobre las semillas y plántulas de *Cedrela Odorata* L, las condiciones de intensidad lumínica, temperatura y humedad relativa fueron las mismas y estuvieron sujetas a las condiciones ambientales presentes en el municipio de Yopal Casanare. Fue diseñada una estructura compuesta por polisombra 80 % y plástico transparente para evitar problemas originados por agentes externos como animales, precipitaciones y vientos, de igual forma, una estructura en forma de cuadrícula que le diera soporte a las bandejas; cada una esta conformada de tubetes de poliestireno con 50 cavidades, cuyas dimensiones son 10 cm alto, 5 cm ancho y 5 cm largo (Pérez 2014).

1.2. Análisis del Crecimiento de Plántulas de *Cedrela Odorata* L

Tomando cada plántula como unidad experimental, este análisis estuvo compuesto por 250 unidades experimentales, distribuidas en 50 para cada tratamiento, a los cuales se aplicó en total 957,5 ml de extracto acuoso y 925 ml de extracto metanólico dosificados en 10 aplicaciones. La metodología de aplicar el extracto en el sustrato se debe a que es absorbido directamente por las raíces, de no ser así, sería necesario remover cada plántula del tubete afectando el crecimiento de la misma.

En el caso de los tubetes en los que germinaron las dos semillas, fue seleccionada la que fenotípicamente mostrara mayor vigorosidad, dejando una plántula por tubete. Se consideraron los extractos Acuoso y Metanólico aplicados en las estructuras vegetativas Hojas y raíz (sustrato), los cuales combinándolos formaron 5 tratamientos:

- Tratamiento 1. Extracto alcohólico en hojas (E1 V1).
- Tratamiento 2. Extracto alcohólico al sustrato (raíces) (E1 V2).
- Tratamiento 3. Extracto acuoso en hojas (E2 V1).
- Tratamiento 4. Extracto acuoso al sustrato (raíces) (E2 V2).
- Tratamiento 5. Grupo control, al cual no se aplicó ningún extracto.

Las mediciones comprenden longitud (crecimiento desde la base del tallo hasta la terminación de la yema apical) tomados con una regla o pie de rey⁵. Para la obtención de estos datos, se hicieron 24 seguimientos cada uno con un lapso de tiempo de 2 días, las mediciones comenzaron cuando las plántulas tenía 15 días de edad (Pérez 2014).

⁴La reserva se encuentra localizada en lo que se domina sabana inundable o hiperestacionalidad de los departamentos de Arauca y Casanare, según el sistema Holdridge se puede clasificar dentro del clima cálido húmedo o cálido seco

⁵pie de rey o Vernier, es un instrumento de medida lineal se utiliza para medir dimensiones de objetos relativamente pequeño, desde centímetros hasta fracciones de milímetros

1.3. Análisis de Germinación de Semillas de Cedrela Odorata L

Para la germinación de las semillas se utilizó un sustrato conformado por arena en un 100 %, al cual se le aplicó un proceso de desinfección con agua caliente (90°C) para disminuir el riesgo de aparición de patógenos (Melgarejo 2010). De igual forma, todas las semillas fueron desinfectadas con una solución al 1 % de hipoclorito de sodio durante 2 minutos. El montaje se realizó sobre 5 bandejas llenando en su totalidad todos sus tubetes.

El procedimiento empleado para la siembra de las semillas consistió en poner 3 de ellas en cada tubete para generar 150 unidades experimentales (semillas) por tratamiento. La disposición de las semillas dentro de las bandejas de germinación y su posterior cubrimiento con arena. Para el análisis del efecto inductor de los extractos acuoso y metanólico fueron implementadas dos formas de aplicación, las cuales consistieron en:

1. **Inmersión:** Previo a la siembra, las semillas fueron sumergidas en 1 litro de cada uno de los extractos acuoso y metanólico respectivamente durante 24 horas a temperatura ambiente. En el caso del extracto metanólico, 2g de extracto obtenido fueron disueltos en 1 litro de agua destilada. Para el extracto acuoso la semillas fueron sumergidas en 1 litro de la solución.

2. **Aspersión:** Los extractos fueron aplicados con atomizadores desde la siembra y en un intervalo de tiempo de 5 días hasta finalizar este análisis. La aspersión del extracto metanólico conservó las mismas proporciones mencionadas anteriormente, mientras que el extracto acuoso fue aplicado sin procedimientos adicionales.

Para establecer la presencia en el proceso de germinación, se tomó como referente la información reportada por Morales & Herrera (2009), quienes afirman que en promedio la emergencia de las plántulas comienza a los 10 días y finaliza a los 30. Se consideraron los extractos Acuoso y Metanólico con dos tipos de aplicación por aspersión e inmersión, los cuales combinándolos formaron 5 tratamientos distribuidos de la siguiente forma:

- Tratamiento 1. Inmersión durante 24 horas en el extracto metanólico (E1 A1).
- Tratamiento 2. Aspersión del extracto metanólico (E1 A2).
- Tratamiento 3. Inmersión durante 24 horas en el extracto acuoso (E2 A1).
- Tratamiento 4. Aspersión del extracto acuoso (E2 A2).
- Tratamiento 5. Grupo control, al cual no se le realizó ningún proceso pre-germinativo.

El conteo se hizo diariamente después que la semilla ha sido sembrada, durante un período de tiempo de 15 días con el fin de obtener datos más precisos sobre la cantidad de semillas germinadas, para cuantificar este proceso, se considera una semilla germinada cuando se hacen visibles las estructuras esenciales para el crecimiento y desarrollo de la plántula (cotiledones)⁶

1.4. Modelos lineales mixtos

Los modelos lineales mixtos tienen muchos nombres como modelo para mediciones repetidas y modelo jerárquico; algunas veces, el modelo lineal mixto se usa para analizar datos agrupados o de panel y en algunas oportunidades para datos longitudinales, como serán utilizados en este trabajo (McGilchrist 1994).

⁶El diseño experimental proceden del estudio Evaluación del Efecto Inductor de Germinación y Crecimiento en la Especie Forestal Cedro Amargo Utilizando Extractos Proveniente de la Gramínea King Morado, realizado por la estudiante Johanna Pérez en el 2014 como trabajo de grado en el programa de Ingeniería Forestal el cual fue dirigido por la doctora Lady Johanna Correa, Química de la Fundación Universitaria Del Trópico Americano, Yopal, Casanare.

La metodología del modelo lineal mixto lleva las estadísticas a un nivel más alto; En la estadística clásica, una suposición típica es que las observaciones provienen de la misma población general y son independientes e idénticamente distribuidas. Los datos del modelo lineal mixto tienen una estructura jerárquica multinivel más compleja, las observaciones entre niveles o clusters son independientes, pero las observaciones dentro de cada clúster son dependientes porque pertenecen a la misma subpoblación. En consecuencia, hablamos de dos fuentes de variación: entre clúster y dentro de clúster.

El modelo lineal mixto también es muy adecuado para el análisis de datos longitudinales, donde cada serie de tiempo constituye una curva individual; desde luego, es frecuentemente utilizado en el análisis de datos biológicos y médicos que muestran notoria heterogeneidad de respuestas a estímulos y tratamiento (Bolker et al. 2009). Otra ventaja de este modelo, es la capacidad que tiene de combinar genéricamente los datos mediante la introducción de efectos aleatorios multinivel; Además, este modelo se caracteriza principalmente por la presencia de componentes de varianza que contemplan la correlación entre observaciones del mismo clúster, que requiere un tratamiento especial para la estimación de los parámetros y pruebas de hipótesis, adicionalmente se puede extender para dar origen a los modelos lineales mixtos generalizados y los modelos mixtos no lineales (McGilchrist 1994).

Entre los propósitos de los modelos lineales mixtos esta el modelamiento de datos complejos agrupados o longitudinales con múltiples fuentes de variación, en algunas ocasiones pueden tener un enfoque bayesiano, donde la función de máxima verosimilitud es penalizada; en conclusión, los modelos lineales mixtos se adaptan a las condiciones del estudio del crecimiento de la *Cedrela Odorata L.*

En general, un modelo lineal mixto tiene la forma

$$y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 X_{1ij} + \dots + \beta_p X_{pij} + u_i + e_{ij} \quad (1)$$

- y_{ij} es la variable respuesta del sujeto i en la medida de j , donde $i=1, \dots, N$ es el número de sujeto, $j=1, \dots, n_i$, n_i representa la cantidad de mediciones por el sujeto.
- X_{1ij} es la covariable de los efectos fijos para el sujeto i en la medida de j y p es el número de covariables de la matriz diseño.
- β_0 y β_1 son los efectos fijos del intercepto y la covariable x_{ij} respectivamente
- u_i representa el efecto aleatorio en el modelo.
- e_{ij} es el término del error para el sujeto i en la medida de j .

Además es usual asumir que:

$$Var(e_{ij}) = \sigma^2 \quad (2)$$

En notación matricial, el modelo lineal mixto se puede escribir de la siguiente forma (McGilchrist 1994):

$$Y = X\beta + Zu + e \quad (3)$$

donde X es una matriz de diseño, es decir, un arreglo matricial de las covariables, β es un vector de parámetros desconocidos además u y e hacen referencia a los efectos aleatorios del modelo y los nuevos componentes son

1) Z que representa una segunda matriz de diseño de dimensión $N \times q$ (matriz especificada exactamente en la misma forma que X , excepto que no incluye una columna para el término constante) y que asocia cada observación a los efectos aleatorios correspondientes.

2) el vector u de tamaño $q \times 1$ de elementos aleatorios distribuidos normalmente con vector de medias 0 y matriz de varianzas y covarianzas G , sobre e se supone distribución $N(0, R)$, con lo cual:

$$y \sim N(X\beta, ZGZ^T + R) \quad (4)$$

Dado que la esperanza del vector aleatorio u es θ , en el modelo lineal mixto, el valor esperado de una observación es la esperanza incondicional de la media de y (es decir promediada sobre todos los posibles valores de u):

$$E(Y) = E(X\beta + Zu) = X\beta \quad (5)$$

La estimación de parámetros en modelos lineales mixtos usualmente se lleva a cabo a partir del método de máxima verosimilitud, el cual se encuentra implementado en las librerías *lmer* y *nlme* del programa R, y busca maximizar la función:

$$L(\beta, \psi, R|Y) = \int \prod_{i=1}^n f_{y_i|u}(y_i, \beta, \psi) f_u(u|R) du \quad (6)$$

Esta función no puede evaluarse en forma cerrada y requiere de métodos numérico. El método de la cuadratura de Gauss puede ser una opción adecuada para esta evaluación (Vázquez & Cerrillo 2010).

1.5. Modelo de Poisson con exceso de cero

El modelo de regresión de Poisson con exceso de cero es un modelo para analizar variables aleatorias discretas, en las cuales existe una alta presencia de valores iguales a ceros, a partir de la siguiente función de densidad (Demidenko & Stukel 2005).

$$P(Y = k) = \begin{cases} \phi + (1 - \phi)e^{-\lambda}; k = 0 \\ (1 - \phi)\frac{e^{-\lambda}(\lambda)^k}{k!}; k = 1, 2, \dots \end{cases} \quad (7)$$

donde

$0 < \phi < 1$ y permite incluir más ceros que los permitidos por el modelo tradicional de Poisson. El modelo de Poisson con exceso de cero es un modelo estadístico que se puede considerar como una mezcla del modelo Poisson y un componente dado por la presencia de exceso de ceros donde se puede demostrar que su valor esperado y su varianza están dados por :

$$E(Y) = (1 - \phi)\lambda \quad (8)$$

$$Var(Y) = E(Y) + E(Y) \{ \lambda - E(Y) \}, \quad (9)$$

bajo esta distribución de Poisson es posible plantear un modelo mixto generalizados de la forma

$$g(E(Y_{ij})) = X_{ij}\beta + u_i \quad (10)$$

donde la función $g(E(Y_{ij}))$ es una función de enlace, la cual debe ser continua, monótona y diferenciable (Wang et al. 2002), para el nuevo modelo generalmente se utiliza $\log(\lambda_i) = X\beta$ y $\text{logit}(\phi_i) = G\gamma$ para ser funciones de enlace de las covariables del modelo donde X_{ij} es el vector de covariables para los componentes, esto significa que se ajusta un modelo para el parámetro que controla el exceso de ceros y β es el vector del coeficiente de regresión y u_i es el término aleatorio donde i son los individuos y j es el tiempo, es decir, cuando los efectos aleatorios dependen de las covariables del modelo, además se supone que u es independiente y se distribuyen como $N(0, \sigma_u^2 I_m)$ respectivamente, donde I_m denota una matriz de identidad $m \times m$, además γ y β son parámetros desconocidos de las funciones de enlace las cuales son ortogonales si las observaciones y_{ij} son independientes (Wang et al. 2002).

Ajuste del Modelo Lineal Mixto de Poisson con exceso de ceros

Cuando los parámetros γ y β no están relacionados y las covariables que afectan a la distribución Poisson son las mismas covariables que afectan a las probabilidades ϕ , la log-verosimilitud para el modelo de regresión Poisson con exceso de ceros es

$$L(\gamma, \beta; Y) = \sum_{i=1}^n \log(\phi) + \sum_{y_i=1} \log \{ \exp(R_i^T \gamma) + \exp[-\exp(B_i^T \beta)] \} \\ + \sum_{y_i > 0} [y_i B_i^T \beta - \exp(B_i^T \beta)] - \sum_{y_i > 0} \log(y_i!), \quad (11)$$

donde γ y β son parámetros desconocidos, R y B son matrices con las covariables, respectivamente. Así que la log-verosimilitud del modelo de regresión Poisson con exceso de ceros es

$$L(\gamma, \beta; Y) = \sum_{i=1}^n R_i^T \gamma - \sum_{i=1}^n \log(1 + \exp(R_i^T \gamma)) \\ + \sum_{y_i=1} \log \{ \exp(R_i^T \gamma) + \exp[-\exp(B_i^T \beta)] \} \\ + \sum_{y_i > 0} [y_i B_i^T \beta - \exp(B_i^T \beta)] - \sum_{y_i > 0} \log(y_i!), \quad (12)$$

Puesto que es difícil maximizar numéricamente la log-verosimilitud debido a que es la suma de las funciones exponenciales, los estimadores de máxima verosimilitud se deben obtener con el algoritmo de Newton-Raphson siendo más rápido y simple de implementar (Hall & Zhang 2004).

1.6. Comparaciones Múltiples

Las comparaciones múltiples de medias están definidas por la prueba Tukey que hace una comparación de todos los pares de tratamientos. En esencia, la prueba Tukey genera contraste múltiple para modelos de regresión estándar, modelos de efectos mixtos y modelos de supervivencia paramétricos donde toma el valor máximo sobre los valores absolutos de todas las pruebas por pares, en el diseño completamente aleatorizado y esta dada por la ecuación (13) (Bretz et al. 2010).

$$t_{ij} = \frac{\bar{y}_k - \bar{y}_{k'}}{S/\sqrt{2/50}} \quad (13)$$

Donde

- $\bar{y}_k$ denota la media muestral del k -ésimo tratamiento, $k = 1, 2, 3, 4, 5$.
- $\bar{y}_{k'}$ denota la media muestral del k' -ésimo tratamiento, $k' = 1, 2, 3, 4, 5$.
- S denota la desviación estándar de los residuales del modelo o raíz cuadrada del cuadrado medio de error (CME)
- 50 el número de observaciones del k -ésimo tratamiento.

1.7. Estadística de Vuong

Es una prueba basada en la relación de probabilidad para seleccionar el mejor modelo utilizando el criterio de información de Kullback-Leibler (Wilson 2015). Esta estadística hace comparaciones probabilísticas sobre dos modelos, que pueden estar anidados, no anidados o superpuestos. La estadística prueba la hipótesis nula de que los dos modelos son iguales, en contra de la alternativa de que un modelo ajusta los datos mejor que el otro (Vuong 1989).

En la estadística de Vuong las variables son independientes e idénticamente distribuidas con un nivel de significancia α , además se contrasta asintóticamente normal donde:

Modelo 1 es el modelo lineal mixto Poisson con exceso de ceros

$$Model1 : \log L_{i,1} = \log f_1(y_i | x_i, \beta_0) = m_{i,1} \quad (14)$$

Modelo 2 es el modelo lineal mixto Poisson

$$Model2 : \log L_{i,2} = \log f_2(y_i | x_i, \beta_i) = m_{i,2} \quad (15)$$

se define

$$a_i = m_{i,1} - m_{i,2} = \log \frac{f_1(y_i | x_i, \beta_0)}{f_2(y_i | x_i, \beta_i)} \quad (16)$$

$$V = \frac{a}{S_a/\sqrt{2}} = \frac{\sqrt{n}[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log \frac{f_1(y_i | x_i, \beta_0)}{f_2(y_i | x_i, \beta_i)}]}{\sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n [\log \frac{f_1(y_i | x_i, \beta_0)}{f_2(y_i | x_i, \beta_i)} - \log \frac{f_1(y_i | x_i, \beta_0)}{f_2(y_i | x_i, \beta_i)}]}} \quad (17)$$

2. RESULTADOS

Para analizar el impacto que tiene los extractos provenientes de *Pennisetum Purpureum*, sobre la germinación y crecimiento de la especie forestal *Cedrela Odorata* L, se muestran gráficos para comparar tratamientos, Tablas de análisis de varianza para analizar las diferencias conjuntas entre tratamientos y pruebas estadísticas para analizar las diferencias por pares de tratamientos, con los paquetes *glm*, *lmer*, *nlme*, *glmmadmb* del programa estadístico R .

2.1. Análisis de crecimiento Cedrela Odorata L

Para cada tratamiento se tomaron 50 unidades experimentales (plántulas) y a cada una se le registraron 24 mediciones para un total 6000 observaciones para el análisis.

La Figura 1 de perfiles nos muestra que efectivamente los tratamiento 3, 4 y 5 son los que mayor crecimiento tienen, el tratamiento 3 extracto acuoso en hojas (E2 V1), es el que tiene el mayor crecimiento alcanzando 15 cm con menos niveles de variabilidad y con 4 plántulas estancadas en su crecimiento que equivale al 8% como lo muestra la Tabla 1, además se realiza un análisis descriptivo (media, mediana y coeficiente de variación) por cada tratamiento como lo muestra la Tabla 2, donde los tratamientos 2 y 4 son los que menor coeficiente de variación tienen y esto muestra que su comportamiento es más homogéneo que los demás.

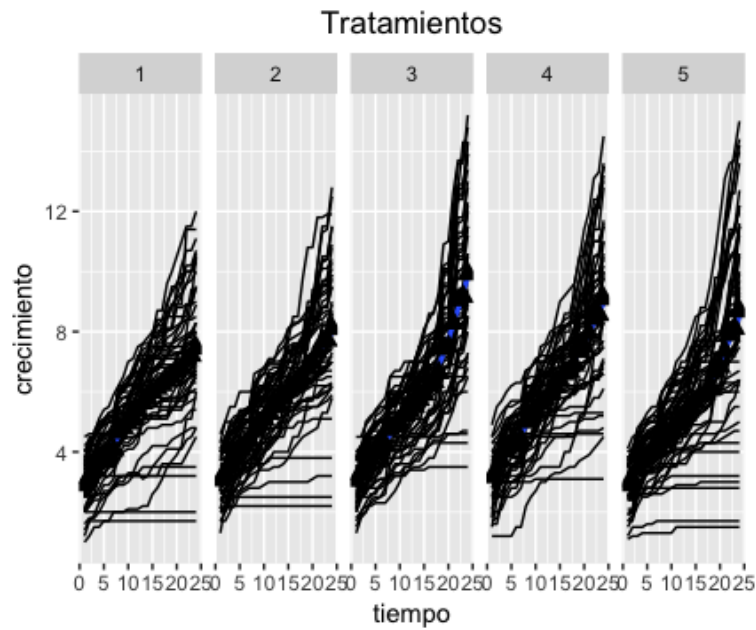


Figura 1: Crecimiento de plántulas de *Cedrela Odorata L* para cada tratamiento.

Tratamiento	Plantas estancadas	%
1	6	12
2	7	14
3	4	8
4	5	10
5	12	24

Tabla 1: Plantulas estancadas por cada tratamientos

Tratamientos	Media	Mediana	Coeficiente de variación
1	5.32	5.2	37.87
2	5.54	5.5	36.11
3	5.78	5.3	41.56
4	5.89	5.7	37.12
5	5.35	5.0	44.00

Tabla 2: Análisis Descriptivo por tratamiento

Modelo lineal mixto para el crecimiento *Cedrela odorata L*

Con el fin de unificar la conclusión sobre la posible existencia de diferencias entre los tratamientos, es necesario ajustar un modelo mixto que incorpore dentro del mismo modelo las observaciones de los individuos como el efecto aleatorio mediante el modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta t_j + \tau_k + u_i + e_{ijk} \begin{cases} k = 1, \dots, 5 \\ i = 1, 2, \dots, 50 \\ j = 1, \dots, 24 \end{cases} \quad (18)$$

donde k son los tratamientos, i son los individuos y j son los tiempos, donde e es el termino del error, u es el efecto aleatorio que lo hace un modelo mixto, τ es la covariable que asocia los tratamientos, β es el parámetro asociado al tiempo que esta acompañando a la variable cuantitativa y μ es el intercepto del modelo.

Los resultados del modelo lineal mixto para el crecimiento de la *Cedrela odorata* L se muestra a continuación en la Tabla 3.

Fuente de variación	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value
Tiempo	1	1084.41	1084.41	584.005 ***
Factor tratamiento	4	312.48	78.12	42.071 ***

Tabla 3: Análisis de varianza del modelo mixto para crecimiento *Cedrela Odorata* L.

En este modelo se encuentran diferencias significativas entre los tratamientos analizados con un cuadrado medio del error (CME) igual a 1.85, además se lleva a cabo las comparación entre tratamientos para encontrar el que maximice el crecimiento, éstas comparaciones se realizan por medio de contraste lineales además estas pruebas se realizan por permutaciones y se resume en la siguiente tabla.

Tratamiento	Promedio Ajustado	Clasificación
4	5.89	a
3	5.78	a
2	5.54	b
5	5.35	c
1	5.32	c

Tabla 4: Resultados de comparación multiple de los tratamientos

En la Tabla 4 se lleva acabo la contraste entre cada pareja de tratamientos y se puede apreciar que los tratamientos 3 y 4 por tener la letra *a* se comportan de manera similar, los tratamiento 1 y 5 por tener la letra *c* también se comportan de forma similar, en cambio el tratamiento 2 por tener la letra *b* se comportan completamente diferentes a los demás.

A partir de la Tabla 4, los promedios identificados y la clasificación generada por estos resultados se concluye que el tratamiento 4, extracto acuoso en las raíces (E2 V2), es el que estadísticamente tiene un mejor comportamiento en el crecimiento de la *Cedrela Odorata* L, además con las pruebas obtenidas anteriormente se confirma.

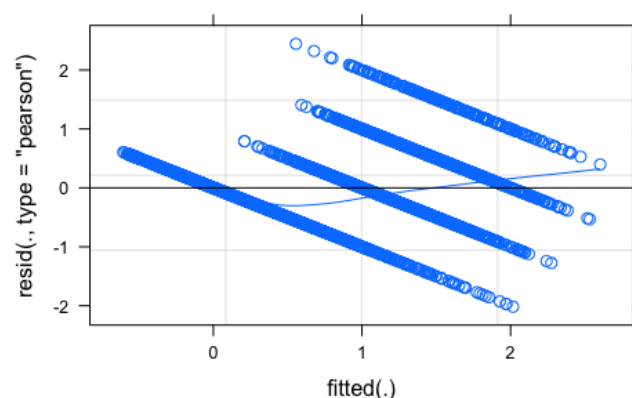


Figura 2: Residuales del modelo lineal mixto

Para finalizar, en la Figura 2 se presentan el gráfico entre residuales y valores estimados por el modelo, se evidencia que los residuales del modelo lineal mixto la tendencia del gráfico es completamente lineal, como lo muestra la línea de suavizamiento donde se observa que las bandas asociadas a los tratamientos y el rango de variación de los residuales muestra un buen ajuste como es común en los modelos de este tipo.

2.2. Análisis de germinación *Cedrela Odorata L*

Para cada tratamiento se tomaron 50 unidades experimentales (plántulas) y a cada una se le registraron 15 mediciones para un total 3750 observaciones para el análisis.

En la Figura 3 de perfiles, los triángulos representan los promedios en cada punto del tiempo y se evidencia que el modelo tiene un buen ajuste a los datos, los tratamiento 2 y 4 la cantidad de tallos llega a ser similar a la del grupo control e incluso el tiempo en el cual esta germinando lo cual significa que se comportan de forma similar, por lo contrario los tratamiento 1 y 3 tienen menor germinación que los demás tratamientos y en promedio todos los tratamientos comienza a darse la germinación en la quinta observación.

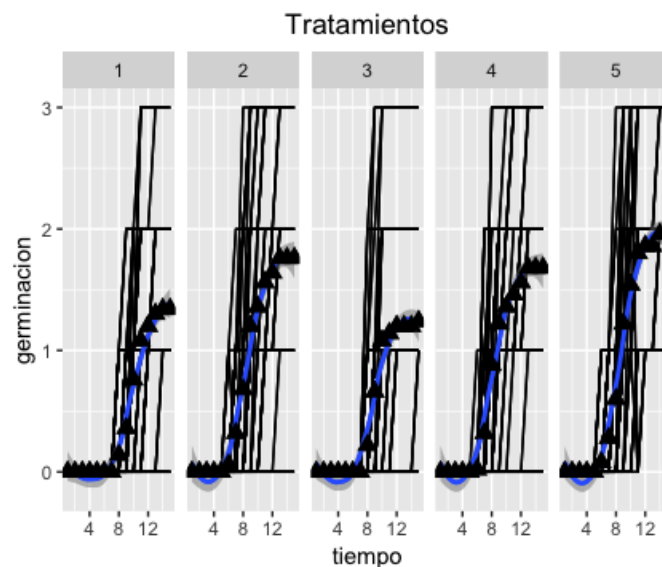


Figura 3: Germinación de plántulas de *Cedrela odorata L* para cada tratamiento.

porcentaje de valores germinación				
Tratamientos	0	1	2	3
1	65.73	20.80	11.07	2.40
2	52.93	22.67	15.20	9.20
3	62.53	25.47	8.53	3.47
4	53.73	19.20	21.33	5.73
5	49.47	23.73	16.40	10.40
Promedio	56.88	22.37	14.51	6.24

Tabla 5: Porcentaje de semillas germinadas *Cedrela Odorata L*.

La Tabla 5 muestra que en todos los tratamientos existe gran cantidad de porcentaje de exceso de cero,

lo cual justifica el ajuste del modelo seleccionado en este trabajo para el modelamiento de la germinación de la *Cedrela Odorata* L.

Modelo lineal mixto Poisson con exceso de ceros para la germinación Cedrela Odorata L

Para el análisis de la germinación, se utilizan un modelo lineal mixto de Poisson con exceso de ceros que incorpore la alta frecuencia de semillas sin germinar (valores iguales a ceros en la cantidad de plántulas). Adicionalmente, en la Tabla 6 se lleva a cabo la comparación del modelo lineal mixto Poisson (model2) y el modelo lineal mixto Poisson con exceso de ceros (model1) por medio del test de Vuong; con esta prueba se observa que el modelo con exceso de ceros tiene un mejor ajuste comparado con el modelo mixto Poisson ordinario (sin contemplar el exceso de ceros).

Vuong Non-Nested Hypothesis Test-Statistic			
test - statistic is asymptotically distributed $N(0,1)$			
under the null that the models are indistinguishable			
	Vuong z statistic	H A	p value
Raw	8.456450	model1 > model2	2.22e-16.
AIC – corrected.	8.076253	model1 > model2	3.3307e-16
bIC – corrected.	8.076253	model1 > model2	2.7500e-16

Tabla 6: Test de Vuong para comparar los modelos

En Tabla 7, se realiza el test de razón de verosimilitud donde se compara el modelo ordinario poisson con exceso de ceros y el modelo lineal mixto poisson con exceso de ceros donde la diferencia es la inclusión del efecto aleatorio. Se observa la existencia de diferencias significativas entre los dos modelos y se puede concluir que el efecto es necesario ya que aporta un mejor ajuste a los datos además para este modelo lineal mixto poisson con exceso de ceros, la estimación del parámetro ϕ escrito en la ecuación 7 es igual a 0.30549 y significa que aproximadamente el modelo con exceso de ceros tiene una frecuencia de ocurrencia de ceros de 30 % mayor a la esperada a un modelo Poisson sin exceso de ceros.

Fuente de variación					
Model 1: germinación factor (tratamiento)					
Model 2: germinación tratamiento2					
N	Par	LogLink	Df	Deviance	pr(>Chi)
1	6	-4183.5			
2	7	-4159.4	1	48.13	3.888×10^{-12}

Tabla 7: Test de razón de verosimilitud para comparar los modelos

Para finalizar, se realiza la comparación entre pares de tratamientos con el fin de encontrar si existe diferencia significativa, estas comparaciones se realizan por medio de contraste similares de la misma forma como se registran las comparaciones para el crecimiento. En la Tabla 8 se lleva a cabo la comparación múltiples entre cada pareja de tratamientos y se concluye que los tratamientos 5, 4 y 2 por tener la letra *a* se comportan de manera similar, los tratamiento 3 y 1 por tener la letra *b* también se comportan de forma similar, en cambio los tratamiento que tiene la letra *a* comparados con los tratamientos de la letra *b* se comportan completamente diferentes.

Tratamiento	Promedio Ajustado	Clasificación
5	1.22	a
4	1.13	a
2	1.12	a
3	0.73	b
1	0.71	b

Tabla 8: Resultados de comparación múltiple de los tratamientos para la germinación

A partir de la Tabla 8 los promedios identificados y la clasificación generada por estos resultados se concluye que los tratamientos 5, grupo control, al cual no se le realizó ningún proceso pre-germinativo y los tratamientos 2 y 4, son los que estadísticamente tienen mejor comportamiento para la germinación de la *Cedrela Odorata L*, además en las pruebas obtenidas anteriormente se confirma.

Analizando la germinación y el crecimiento se obtiene que el tratamiento 4, Extracto acuosa, es el que se comporta estadísticamente mejor para las dos variables analizadas en esta investigación.

3. CONCLUSIONES

El estudio de efecto de los extractos provenientes de *Pennisetum purpureum*, sobre la germinación y crecimiento de la *Cedrela odorata L*, permite establecer que los tratamientos analizados en este trabajo son estadísticamente significativos.

El modelo lineal mixto de Poisson con exceso de ceros es un modelo que permitió evaluar el efecto de los extractos provenientes de *Pennisetum purpureum*, sobre la germinación de semillas y el modelo lineal mixto para analizar el mejor comportamiento en el crecimiento de la *Cedrela odorata L*, donde se sugiere el tratamiento 4, extracto acuosa, el cual es el que tiene un mejor comportamiento para las dos variables analizadas de esta investigación, ya que presenta mejor germinación y tiene un mayor nivel de crecimiento.

La razón principal para usar los modelos mixtos en esta investigación es que se puede contemplar la correlaciones entre observaciones provenientes de un mismo individuo y por otro lado el modelo mixto de Poisson con exceso de ceros es la herramienta más adecuada para modelar datos con alta presencia de ceros. Se refleja un mejor ajuste a los datos y la prueba estadística de Vuong indican que el modelo proporciona un mejor desempeño comparado con el modelos que no contemplan el exceso de ceros.

Finalmente, se puede decir que la metodología usada de modelo lineal mixto para esta investigación de tipo biológico y forestal es la mas adecuada por esto la importancia de este trabajo que sirva de referencia para investigaciones posteriores, de esta manera contribuir con el fortalecimiento y compromiso para generar ciencia.

Referencias

- Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H. & White, J.-S. S. (2009), 'Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution', *Trends in ecology & evolution* **24**(3), 127–135.
- Bretz, F., Hothorn, T. & Westfall, P. (2010), *Multiple Comparisons Using R*.
- Cardenas, L. (2007), 'D., salinas, nr,(ed.) libro rojo de plantas de colombia, volumen 4, especies maderas amenazadas, primera parte. instituto amazónico de investigaciones científicas sinchi', *Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial*.
- Cárdenas, M. V. (2010), 'Estimación en modelos lineales mixtos con datos continuos usando transformaciones y distribuciones no normales.'
- Castillo, G., Altuna, B., Michelena, G., Sánchez-Bravo, J. & Acosta, M. (2005), Cuantificación del contenido de ácido indolacético (aia) en un caldo de fermentación microbiana, in 'Anales de Biología', Vol. 27, pp. 137–142.
- Demidenko, E. & Stukel, T. A. (2005), 'Influence analysis for linear mixed-effects models', *Statistics in medicine* **24**(6), 893–909.

- Grenke, W., Hatheway, W., Liang, T., Tosi, J. et al. (1971), 'Forest environments in tropical life zones: A pilot study'.
- Hall, D. B. & Zhang, Z. (2004), 'Marginal models for zero inflated clustered data', *Statistical Modelling* **4**(3), 161–180.
- Loayza Villegas, M. (1979), Resistencia natural de maderas de diez especies forestales al ataque de termitas [nasutitermes corniger, cryptotermes brevis] natural resistance of the wood from ten forest species to the attack of termites [cryptotermes brevis, nasutitermes corniger], Technical report, Universidad de Costa Rica, San José (Costa Rica) CATIE, Turrialba (Costa Rica).
- Márquez Ramírez, J., Xotla Valdés, U. & González de la Torre, J. E. (2005), 'Estudio de germinación y crecimiento inicial de plántulas de cedrela odorata l.', *Foresta Veracruzana* **7**(2).
- Mateus, L., Hernández, O., Velásquez, M. & Velásquez, J. d. J. D. (2012), 'Evaluación del pretratamiento con ácido sulfúrico diluido del pasto maralfalfa (pennisetum glaucum x pennisetum purpureum) para la producción de etanol', *Revista Colombiana de Biotecnología* **14**(1), 146–156.
- McGilchrist, C. (1994), 'Estimation in generalized mixed models', *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* pp. 61–69.
- Melgarejo, L. M. (2010), Experimentos en fisiología vegetal, Technical report, Universidad Nacional de Colombia;.
- Montgomery C, D. (1997), *Design and analysis of experiments*.
- Morales, E. & Herrera, L. (2009), 'Cedro (cedrela odorata l.) protocolo para su colecta, beneficio y almacenaje', *México: Comisión Nacional Forestal, Región XII Península de Yucatán* .
- Pérez, J. (2014), *Evaluación del Efecto Inductor de Germinación y Crecimiento en la Especie Forestal Cedro Amargo Utilizando Extractos Proveniente de la Gramínea King Morado*.
- RStudio Team (2018), *RStudio: Integrated Development Environment for R*, RStudio, Inc., Boston, MA. *<http://www.rstudio.com/>
- Salisbury, F. B., Ross, C., Alonso, J. M. et al. (2000), *Fisiología de las plantas*.
- Vázquez, M. d. L. V. & Cerrillo, S. F. J. (2010), 'Un modelo de regresión poisson inflado con ceros para analizar datos de un experimento de fungicidas en jitomate', *Memoria del 2 Encuentro Iberoamericano de Biometría y la V Reunión de la Región Centroamericana y del Caribe de la Sociedad Internacional de Biometría* p. 16.
- Vuong, Q. H. (1989), 'Likelihood ratio tests for model selection and non-nested hypotheses', *Econometrica: Journal of the Econometric Society* pp. 307–333.
- Wang, K., Yau, K. K. & Lee, A. H. (2002), 'A zero-inflated poisson mixed model to analyze diagnosis related groups with majority of same-day hospital stays', *Computer methods and programs in biomedicine* **68**(3), 195–203.
- Wilson, P. (2015), 'The misuse of the vuong test for non-nested models to test for zero-inflation', *Economics Letters* **127**, 51–53.