

Universidad Nacional de Córdoba



Título:

**ANÁLISIS DE ENSAYOS DE DESCOMPOSICIÓN DE HOJARASCA
UN ENFOQUE MEDIANTE MODELOS NO-LINEALES MIXTOS**

**Para optar al grado de: Magister en Estadística Aplicada
Bach. Eduardo Corrales Brenes**

2021



Análisis de ensayos de descomposición de hojarasca. Un enfoque mediante modelos no-lineales mixtos by Eduardo Corrales Brenes is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

COMISIÓN ASESORA DE TESIS

Director

Dr. Julio Di Rienzo

Co-director

Dr. Fernando Casanoves

AGRADECIMIENTOS

A Dios, principalmente, por ser siempre mi apoyo en todos los momentos de mi vida.

A mi familia, a mi mamá y a mi papá por su amor y trabajo incansable.

A Fernando Casanoves, por darme la oportunidad de cursar la maestría en la UNC, por brindarme el apoyo económico mediante la beca de CATIE, por permitirme conocer a su familia en Argentina y originar la buena relación de amistad que logramos obtener y mantener en el tiempo.

A Julio Di Rienzo, por ser mi profesor consejero y por la gran paciencia que mostró durante el proceso de desarrollo de este trabajo.

A mis compañeros y amigos, Vilchez, Adina, Maleja, Alejo, Gabi, que me apoyaron y colaboraron para que finalmente presentara mi proyecto.

Al CATIE por permitirme realizar mi maestría siendo funcionario de la Institución.

RESUMEN

El reciclado de nutrientes es un proceso ecosistémico asociado a la fertilidad de los suelos que depende de la descomposición de la materia orgánica. La descomposición es un proceso biológico en el que los residuos orgánicos regresan al suelo en forma de nutrientes. La metodología más utilizada en los estudios sobre reciclado de nutrientes se basa en las estimaciones de la tasa de descomposición (k) de la materia orgánica en el tiempo, típicamente bajo distintas condiciones experimentales (tratamientos). La variable que se analiza es la diferencia, expresada en porcentaje, entre la cantidad de hojarasca inicial colocada en bolsas, versus la cantidad de hojarasca remanente después de un tiempo dado (días).

La estrategia clásica de modelación estadística para estimar k consiste en ajustar un modelo exponencial para cada tratamiento y repetición. La unidad experimental en estos experimentos es un conjunto de bolsas de descomposición. Dado que la técnica es destructiva, la cantidad de bolsas por repetición se programa para permitir la evaluación en intervalos de tiempo preestablecidos, en los que una de las bolsas es procesada. Las estimaciones de k son luego analizadas como la variable de respuesta en un análisis de varianza (ANAVA) para evaluar diferencias entre tratamientos. Los datos que motivaron esta tesis provienen de un estudio en Costa Rica que evalúa el efecto de 4 sitios sobre la tasa de descomposición de hojas de 6 especies arbóreas. Los sitios se encuentran distribuidos a lo largo de un gradiente altitudinal. En cada sitio se ubicaron 6 conjuntos de 10 bolsas (repeticiones). Las bolsas fueron procesadas, una a la vez, en 10 momentos de muestreo.

Nuestra propuesta consistió en dos estrategias de análisis (A y B), en ambas ajustamos un modelo no lineal mixto para cada especie, incluyendo el efecto aleatorio de la repetición, así como el efecto fijo de sitio, sobre el parámetro k . En la estrategia A estimamos las k de cada repetición mediante este método, y luego seguimos el mismo camino de análisis de la varianza del enfoque clásico. La estrategia B consistió en seleccionar el mejor modelo no lineal mixto dentro de todos los modelos posibles. Esta estrategia es viable dado que el número de tratamientos usualmente no es grande. La comparación entre las tres estrategias (clásica, A y B) se realizó mediante simulación, contrastando los errores estándar de las k medias estimadas por sitio y especie y las tasas de error de

tipo I y II por experimento y comparación. El uso de modelos no lineales mixtos condujo a estimaciones con menor error estándar y tasas de error tipo I y tipo II semejantes o más bajas respecto a la estrategia clásica. La estrategia de mejor desempeño fue la de selección a partir de todos los modelos posibles (estrategia B).

Palabras clave: *Descomposición de material vegetal, Modelos No Lineales Mixtos.*

ABSTRACT

Nutrient cycling is an ecosystem process associated with soil fertility that depends on the decomposition of the organic matter. Decomposition is a biological process in which organic matter returns to the soil as nutrients. The most frequently used methodology in the study of nutrient cycling is based on estimates the leaf litter decomposition rate (k) over time, typically under different experimental conditions (treatments). The analyzed variable is the difference between the initial content of the leaf litter contained in bags versus the amount of litter that remains in the bags after a given time, expressed as a percentage. The leaf-litter bags are designed to allow the entry of decomposing microorganisms.

The classic statistical modeling strategy to estimate k , consists in adjusting an exponential model for each treatment and each repetition. The experimental unit in these experiments is a set of decomposition bags. Given that this technique is destructive, the quantity of bags per repetition is programated to allow the monitoring in preestablished time intervals, in which one of the bags is processed. K estimations are then analyzed as the response variable in an ANOVA to assess differences between treatments. The data set used in this work come from a study in Costa Rica that assess the effect of 4 sites over the decomposition rate of leaves of 6 tree species. Sites are located along an altitudinal gradient. In each site 6 sets of 10 bags (repetitions). Bags were processed, one at a time, in 10 sampling moments. Our proposal consisted in two analysis strategies (A and B). In both we adjusted a non-linear mixed model for each species, including the random effect of the repetition, as well as the fixed effect of site, on the k parameter. In strategy A we estimated k for each repetition using this method, and then we followed the same variance analysis path of the classical approach. Strategy B consisted in selecting the best non-linear mixed model on all possible models. This strategy is viable given that the number of treatments is not large. The comparison between the three strategies (classical, A and B) was performed through simulation, contrasting standard errors of mean k estimated per site and species and type I and II error rates per experiment and comparison. The use of non-linear mixed models led to estimations with lower standard error and similar or lower

type I and II error rates in comparison to classical strategy. The strategy with the best performance was that of selection from all possible models (strategy B).

Key words: *Decomposition of the organic matter, Nonlinear Mixed-Effects Models.*

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1	1
Introducción.....	1
1.1 Objetivos del estudio.....	3
1.1.1 Objetivo general.....	3
1.1.2 Objetivos específicos	3
CAPÍTULO 2	5
Marco teórico.....	5
2.1 Reciclado de nutrientes	5
2.2 Descomposición.....	5
2.3 Estudios de descomposición	6
2.4 El modelo no lineal de descomposición.....	7
2.4.1 Modelo exponencial simple	8
2.4.2 Modelo exponencial – enfoque no-lineal mixto	9
CAPÍTULO 3	11
Materiales y métodos.....	11
3.1 Datos	11
3.2 Diseño del experimento	11
3.2.1 Estructura de tratamientos.....	13
3.2.2 Estructura de parcelas	13
3.3 Propuesta de análisis por objetivo.....	14
3.3.1 Estrategia clásica.....	14
3.3.2 Estrategias propuestas.....	15
3.3.2.1 Estrategia usando Modelos No Lineales Mixtos (Estrategia A)	15
3.3.2.2 Estrategia usando Modelos No Lineales Mixtos (Estrategia B: todos los modelos posibles)	17
3.3.3 Comparación de las estrategias	19
3.3.3.1 Evaluación mediante datos experimentales	20
3.3.3.2 Evaluación mediante simulación	20
CAPÍTULO 4	23
Resultados.....	23
4.1 Descripción general	23
4.2 Estrategia clásica.....	26
4.3 Estrategia usando Modelos No Lineales Mixtos (Estrategia A)	28
4.4 Estrategia usando Modelos No-Lineales Mixtos (Estrategia B: todos los modelos posibles)	30

4.5	Comparación de las estrategias	33
4.5.1	Evaluación con datos reales	34
4.5.2	Evaluación mediante simulación	38
CAPÍTULO 5		40
Discusión y conclusiones.....		40
Bibliografía.....		43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de diseño del experimento: sitio (S1, S2, S3, S4), ensayos (E1, E2, E3, E4, E5, E6), y las 10 bolsas de descomposición para evaluar en las 10 mediciones para un determinado sitio y especie.	14
Figura 2. Esquema metodológico del estudio: análisis de ensayos de descomposición de hojarasca. Un Enfoque Mediante Modelos No-Lineales Mixtos.	22
Figura 3. Gráfico de puntos del porcentaje de materia seca remanente según sitio en un período de 540 días. Se muestra para cada especie estudiada.	25
Figura 4. Gráficos de valores predichos para cada ensayo bajo el modelo exponencial simple para la variable porcentaje de materia seca remanente en un período de 540 días. Se muestra para cada especie estudiada.	26
Figura 5. Gráficos de barras comparativas de la constante de decaimiento (k) entre sitios para cada estrategia de análisis para las especies CARAGU, MINQGU y POURBI.	35
Figura 6. Gráficos de barras comparativas de la constante de decaimiento (k) entre sitios para cada estrategia de análisis para las especies QUERBU, STIPA y VOCHAL.	36
Figura 7. Gráficos de barras del error estándar promedio por especie estudiada según estrategia de análisis.	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores promedio de los rasgos funcionales de las especies nativas en el Corredor Biológico Volcánica Central – Talamanca, Costa Rica.....	12
Tabla 2. Variables ambientales y rango de altitud por tipo de bosque en el gradiente altitudinal Caribe -Villamils	13
Tabla 3. Modelos no-lineales mixtos. Todos los modelos posibles para cada una de las diferentes combinaciones de sitio: Barbilla (B), Esperanza (E), Tapantí (T), Villamils (V).....	18
Tabla 4. Resumen del porcentaje de materia seca remanente dentro de bolsas de descomposición cosechadas en 11 tiempos de medición durante 540 días de incubación en 6 especies	23
Tabla 5. Resumen del porcentaje de materia seca remanente dentro de bolsas de descomposición cosechadas en 11 tiempos de medición durante 540 días de incubación en 6 especies por sitio	24
Tabla 6. Medidas resumen de la constante de decaimiento (k) de 24 ensayos realizados para cada especie según sitio.....	27
Tabla 7. Medias (\pm error estándar) obtenidos mediante análisis de varianza para la constante de decaimiento k obtenida mediante la estrategia clásica. Letras iguales en una columna indican ausencia de diferencias (LSD Fisher, $p < 0.05$)	28
Tabla 8. Estimación de la constante de decaimiento (k) para cada ensayo a partir del cálculo de k común, el efecto de sitio y la desviación aleatoria dada por el ensayo. Para la especie CARAGU.....	29
Tabla 9. Medias (\pm error estándar) obtenidos mediante análisis de varianza para la constante de decaimiento k obtenida mediante la estrategia A. Letras iguales en una columna indican ausencia de diferencias (LSD Fisher, $p < 0.05$)	30
Tabla 10. Valores de AIC y BIC de los modelos evaluados para cada una de las especies mediante máxima verosimilitud (ML).....	32
Tabla 11. Medias (\pm error estándar) para la constante de decaimiento k obtenida mediante la estrategia B. Letras iguales en una columna indican ausencia de diferencias ($p < 0.05$)	33
Tabla 12. Error estándar de comparación promedio para cada especie según estrategia de análisis utilizada.....	38
Tabla 13. Tasas de error tipo I y tipo II (por experimento y comparación) obtenidas de cada estrategia de análisis de descomposición de materia seca por escenario simulado para una especie de descomposición lenta ($k = -0.0015$)	39
Tabla 14. Tasas de error tipo I y tipo II (por experimento y comparación) obtenidas de cada estrategia de análisis de descomposición de materia seca por escenario simulado para una especie de descomposición rápida ($k = -0.0045$)	39

ABREVIATURAS

AIC: Criterio de información de Akaike

ANAVA: Análisis de Varianza

BIC: Criterio bayesiano de Schwarz

BLUP: Best Linear Unbiased Predictor (Mejor Predictor Lineal Insegado)

ML: Máxima verosimilitud

MNLM: Modelos No Lineales Mixtos

CAPÍTULO 1

Introducción

El proceso de descomposición de la hojarasca es fundamental en el reciclado de nutrientes, ya que permite la recuperación de nutrientes de los tejidos vegetales por parte del suelo. Durante años se han propuesto diferentes modelos estadísticos para analizar este proceso, respondiendo a objetivos específicos de los investigadores en el análisis del proceso de descomposición (Wieder and Lang, 1982; Rovira and Rovira, 2010; Manzoni et al., 2012; Cornwell and Weedon, 2014).

En los estudios de descomposición de material vegetal se desarrollan experimentos de descomposición. Una de las metodologías más utilizadas es el de las bolsas de descomposición (Wieder and Lang, 1982; Aerts and De Calawe, 1997; Cortez, 1998; Fioretto et al., 2005; Hobbie, 2008; Kaspari et al., 2008; Salinas et al., 2011); en las que se evalúa cómo el material vegetal se va perdiendo a través del tiempo. Un experimento de descomposición se compone de un conjunto de ensayos, cada ensayo contiene un conjunto de bolsas de descomposición (tantas bolsas como tiempos de evaluación se planifique realizar). Los ensayos se consideran independientes, y dentro de ellos, también se consideran independientes los tiempos de evaluación debido al muestreo destructivo de las bolsas de descomposición.

Los datos generados en estos experimentos se pueden analizar con diferentes modelos de regresión utilizados para explicar la descomposición a través del tiempo (Wieder and Lang, 1982; Rovira and Rovira, 2010; Manzoni et al., 2012; Cornwell and Weedon, 2014); uno de ellos es el modelo exponencial simple con el cual se estima una constante de decaimiento (k) para cada ensayo. Luego, sobre esta constante de decaimiento se compara el efecto de variables clasificatorias de interés como el sitio, la altitud, la especie, entre otras (Wieder and Lang, 1892; Esquivel, 2013). Esta es considerada la estrategia clásica de análisis y tiene críticas estadísticas, entre ellas, que el número limitado de observaciones con las que se ajusta el modelo para cada ensayo no permite validar los supuestos distribucionales de los errores, y ecológicas, asociadas al hecho de que para algunas

especies una sola tasa de decaimiento no es suficiente para ajustar correctamente el proceso de descomposición. Además, metodológicamente implica la estimación de tantos modelos como ensayos existan, resultando en numerosas estimaciones ineficientes. El uso de modelos no-lineales mixtos (MNLM) permite estimar parámetros usando todos los ensayos, contemplando en el modelo el efecto del ensayo y permiten una mayor plasticidad en la modelación de los experimentos, al poder contemplar problemas de heterogeneidad de varianzas y de falta de independencia.

Los modelos no lineales mixtos permiten declarar efectos fijos (asociados a factores repetibles en un experimento, por ejemplo: sitio) y efectos aleatorios como por ejemplo el efecto de los ensayos (conjunto de unidades experimentales para distintas especies). En estos modelos se pueden declarar diferentes estructuras en la matriz de varianzas y covarianzas con el fin de encontrar el modelo que mejor se ajusta a los datos y que contemple las particularidades distribucionales de los errores como la presencia de correlaciones seriales y heterogeneidad de varianzas. Bajo este enfoque, se puede utilizar la información completa de un experimento de descomposición y ajustar un único modelo mediante la declaración de efectos fijos y aleatorios.

En este trabajo se plantean dos estrategias de análisis, basadas en MNLM, para datos provenientes de experimentos de descomposición, con las que se espera obtener estimaciones más precisas de la constante de decaimiento que las obtenidas por el método clásico. Aunque los MNLM son utilizados ampliamente en diferentes áreas, no se han utilizado para explicar la descomposición de material vegetal a través del tiempo.

Este estudio fue motivado por el análisis de un experimento de descomposición llevado a cabo en Costa Rica en el 2013, en el marco del proyecto: “Impacto Potencial del Cambio Climático en los Ecosistemas Forestales Iberoamericanos y Herramientas para la Gestión Adaptativa (CLIMIFORAD)”, el cual tuvo por objetivo evaluar el efecto de 4 sitios (Barbilla, Esperanza, Tapantí y Villamils) que representan ambientes distintos en un gradiente altitudinal, sobre la tasa de descomposición del material vegetal de 6 especies (*Carapa guianensis* (dest) (CARAGU), *Minuartia guianensis* (MINQGU), *Vochysia alleni* (VOCHAL), *Pouruma bicolor* (POURBI),

Quercus bumelioides (QUERBU) y *Stipa eriostachya* (STIPA)). Este tipo de metodologías presentan limitaciones, como el uso de diferentes modelos para obtener un k de cada uno de ellos (repeticiones).

Este trabajo tiene como objetivo utilizar toda la información de un experimento de descomposición generada por especie a través de un único MNLM bajo la hipótesis de que el análisis conjunto debería mejorar las estimaciones de las constantes de descomposición y tener mayor potencia para diferenciar entre tratamientos.

1.1 Objetivos del estudio

1.1.1 *Objetivo general*

Evaluar tres estrategias de estimación para la comparación de constantes de decaimiento de hojarasca de distintas especies arbóreas en cuatro sitios en un gradiente altitudinal.

1.1.2 *Objetivos específicos*

- Describir la estrategia clásica de estimación de la constante de decaimiento (k) basada en el ajuste de un modelo exponencial para cada repetición y especie de la que proviene la hojarasca.
- Proponer e implementar dos estrategias equivalentes a la clásica, pero utilizando técnicas modernas de modelación estadística, basadas en modelos no-lineales extendidos y mixtos que permitan predecir la constante de decaimiento sujeto-específica (por repetición) a partir de un único modelo por especie y modelar, eventualmente, la estructura de varianzas-covarianzas residual.
- Comparar las tres estrategias de análisis de descomposición de hojarasca.

Este estudio se organizó de la siguiente forma: el capítulo 2 expone los principales conceptos que se deben conocer para comprender el estudio de la descomposición de hojarasca: reciclado de nutrientes, descomposición, estudios de descomposición y el modelo no lineal de descomposición. El capítulo 3 presenta la metodología del experimento de descomposición generador de los datos de

este trabajo y la propuesta metodológica para mejorar el análisis de datos provenientes de este tipo de ensayos. El capítulo 4 muestra los resultados de las tres estrategias, comparando resultados de datos reales y datos simulados. Finalmente, en el capítulo 5 se discuten estos resultados con los obtenidos en otras investigaciones y se presentan las conclusiones finales del estudio.

CAPÍTULO 2

Marco teórico

2.1 Reciclado de nutrientes y carbono

Los nutrientes generados por los residuos orgánicos e inorgánicos presentes en el suelo son provistos a las plantas mediante el proceso de mineralización y reciclado de nutrientes. Algunos de los actores que participan en el proceso de reciclado son hojas, raíces, animales, residuos vegetales, materia orgánica del suelo, entre otros (Montagnini and Jordan, 2002).

El reciclado de nutrientes es un proceso ecosistémico necesario para la producción de varios servicios ecosistémicos (MEA, 2005). Según Polania et al. (2011), el reciclado de nutrientes está asociado al servicio ecosistémico de fertilidad de suelos, que a su vez se encuentra dentro de la categoría de servicio ecosistémico de regulación. La relevancia del estudio del proceso de reciclado de nutrientes se corresponde con el efecto que tiene en la productividad agrícola y en la regeneración de pasturas degradadas (Esquivel, 2013).

2.2 Descomposición

Montagnini and Jordan (2002) definen la descomposición como un proceso biológico que permite que regresen al suelo residuos orgánicos en forma de nutrientes, como N, P, K, Mg, entre otros, y de carbono, que es utilizado para formar los cuerpos de los microorganismos. Berg and McClaugherty (2008) resalta que la descomposición y la fotosíntesis son los dos procesos en los que ocurre la mayor transformación de carbono. El proceso de fotosíntesis ha sido estudiado ampliamente, ya que se puede realizar experimentos de investigación en laboratorios con condiciones controladas. El proceso de descomposición es algo más complejo de explicar ya que involucra los procesos químicos, físicos y biológicos de un conjunto de microorganismos que participan en él

sobre el cual el investigador no tiene control. Entre los actores principales del proceso, se encuentran las condiciones ambientales (humedad y temperatura), la calidad del material que se cicla (descompone) y los macro y microorganismos que pueden intervenir en el proceso (Karberg et al., 2008). Adicionalmente, la descomposición no es un proceso uniforme, sino que algunos de los componentes desaparecen a distintas velocidades (Hunt, 1977; Robertson, 1988; Palma et al., 1998; Bradford et al., 2016).

La descomposición de hojarasca cumple un papel importante en el proceso de reciclado de nutrientes, fundamental para la recuperación de nutrientes provenientes de las plantas por parte del suelo (Montagnini and Jordan, 2002; Del Valle-Arango, 2003; Cusack et al., 2009; Lanuza et al., 2018). La descomposición es estudiada desde las áreas agronómicas, biológicas, ecológicas y ambientales, donde el interés se centra en la calidad y cantidad de material vegetal y en la relación entre los nutrientes y su reserva en el suelo (Inagaki et al., 2011; Lanuza et al., 2019). Además, el estudio de este proceso es útil para evaluar los cambios en el almacenamiento y la liberación de carbono, lo que puede influir en el calentamiento global (Keuskamp et al., 2013).

2.3 Estudios de descomposición

Una de las metodologías más utilizadas para estudiar el proceso de descomposición se basa en el uso de bolsas de descomposición (Wieder and Lang, 1982; Aerts and De Caluwe, 1997; Cortez, 1998; Fioretto et al., 2005; Hobbie, 2008; Kaspari et al., 2008; Salinas et al., 2011; Lorenzo et al., 2014). Esta metodología permite estudiar múltiples factores que afectan a la descomposición, entre los más comunes se encuentra el tipo de material vegetal (especie proveedora del material vegetal), el tamaño de los orificios de las bolsas (que permiten y limitan el ingreso de microorganismos), el ambiente o ecosistema en el cual el material se descompone.

El tipo de organismos que puedan contribuir al proceso de descomposición depende del tamaño de los orificios de la bolsa (Karberg et al., 2008). Por ejemplo, en algunos estudios se ha permitido la intervención de la comunidad microbiana del suelo (Carney and Matson, 2005), y en otros la micro, meso y macro-fauna (Bradford et al., 2002; Rodriguez et al., en rev.).

Las bolsas se pueden rellenar con material propio del lugar de estudio u hojarasca nativa (Cortez et al., 2007), o con materiales de una sola especie nativa (Singh et al., 1999) o exótica (Esquivel et al., 2020). Las bolsas pueden contener también materiales testigos, especialmente en estudios que cubren grandes extensiones territoriales y el objetivo es cuantificar la capacidad de descomposición de los sistemas estudiados utilizando un sustrato biológico estandarizado.

Después de definir el tamaño de los orificios y el contenido de las bolsas de descomposición, éstas se distribuyen en los sitios de estudio, que pueden ser ambientes naturales como tipos de bosque o ambientes artificiales como las camas de descomposición (Esquivel, 2013). Las bolsas son recolectadas en diferentes momentos (generalmente a intervalos fijos) a través del tiempo. La tasa de descomposición se estima a partir de las mediciones de la cantidad de material remanente en las bolsas (Karberg et al., 2008), expresadas en porcentaje del contenido inicial (peso en peso, considerando pesos secos). Estos datos, frecuentemente, se analizan utilizando modelos no lineales (Wieder and Lang, 1982; Rovira and Rovira, 2010; Manzoni et al., 2012; Cornwell and Weedon, 2014).

2.4 El modelo no lineal de descomposición

Un modelo no lineal relaciona el valor de n observaciones (y_i) con una o más variables regresoras (x_i) mediante una función no lineal $f(\cdot)$. En forma general, su ecuación es:

$$y_i = f(\boldsymbol{\theta}, \mathbf{x}_i) + e_i \quad i=1, \dots, n \quad (1)$$

y_i observación, $f(\cdot)$ es la función no lineal, $\boldsymbol{\theta}$ vector de parámetros, \mathbf{x}_i vector de variables regresoras asociadas a la i -ésima observación (en los modelos de descomposición el vector \mathbf{x} puede contener variables indicadoras como la condición de sitio, especie, etc., además de la covariable tiempo), y e_i es el término de error. Además, se supone que e_i está normalmente distribuido con media cero y varianza $\sigma^2 \forall i=1, \dots, n$, con $\text{cov}(e_i, e_{i'}) = 0 \quad \forall i \neq i'$.

2.4.1 *Modelo exponencial simple*

El modelo exponencial simple, propuesto por Jenny et al. (1949) para el análisis del proceso de descomposición ha sido empleado durante años en diversos estudios para ajustar la tasa de descomposición de la materia seca (Howard and Howard, 1974; Aerts and De Caluwe, 1997; Berg, 2014). El modelo exponencial, aunque se puede considerar uno de los más sencillos, es el modelo de referencia cuando el objetivo es proponer, comparar y evaluar el desempeño de nuevos modelos.

El modelo exponencial supone que todo el material vegetal es de una única especie y se encuentra bien mezclado y considera que existe una única fase en el proceso de descomposición. Bajo estos supuestos se justifica la estimación de una única constante de decaimiento k . Bajo estas condiciones y teniendo en cuenta que en un ensayo de descomposición hay repeticiones, el modelo de regresión exponencial, para una repetición, se define por la siguiente expresión:

$$y_m = \alpha \exp^{-kt_m} + e_m \quad m = 1, \dots, T \quad (2)$$

donde:

y_m = porcentaje de materia seca remanente de una repetición en el tiempo t_m

α = porcentaje de materia seca inicial a los 0 días, es decir 100.

k = parámetro de decaimiento.

t_m = m -ésimo tiempo.

e_m = error aleatorio distribuido normal con media cero y varianza σ^2 . Además, se supone que

$$\text{cov}(e_m, e_{m'}) = 0 \quad \forall m \neq m'.$$

El parámetro k es el parámetro de interés biológico y se conoce como constante de decaimiento (Manzoni et al., 2012) en el contexto de los modelos de descomposición. Esa denominación proviene del hecho de que, tomando logaritmo para la esperanza de la materia seca remanente, k corresponde a una tasa. Típicamente, los ensayos de descomposición tienen por objeto comparar condiciones experimentales diferentes, generadas por factores de tratamiento-clasificación. Estos factores se refieren a los diferentes materiales vegetales sometidos a la

descomposición, el tipo de bolsas de descomposición, los ambientes donde ocurre la descomposición, etc.

Para poder evaluar los efectos de los factores y sus interacciones, la estrategia clásica ajusta un modelo exponencial para cada repetición (ensayo), obteniendo la constante de decaimiento para cada una, para luego aplicar un modelo clásico de análisis de la varianza a estas tasas. Recordemos que cada repetición está compuesta por un conjunto de bolsas de descomposición, tantas como tiempos de medición se tengan previstos, ya que en cada uno de ellos se selecciona una bolsa aleatoriamente que se destruye en el proceso de lectura.

2.4.2 *Modelo exponencial – enfoque no-lineal mixto*

El modelo no lineal mixto es una estrategia común para modelar datos longitudinales, donde los sujetos son observados en varias instancias del tiempo (Davidian and Giltinan, 2003; Pinheiro and Bates, 2000). En palabras de Davidian and Giltinan (2003), “los datos longitudinales se pueden definir como medidas repetidas donde las observaciones dentro de los sujetos no fueron asignadas aleatoriamente a los niveles del tratamiento de interés (tiempo)”.

El modelo no lineal exponencial mixto se puede definir de la siguiente forma:

$$y_{im} = \alpha \exp^{-(k + b_i) t_m} + e_{im} \quad i = 1, \dots, n; m = 1, \dots, T \quad (3)$$

La definición de los términos de la ecuación anterior es igual a la de la Ecuación 2, excepto que se ha agregado el efecto aleatorio de sujeto (b_i) que en este caso corresponde a la repetición. Los efectos aleatorios se asumen distribuidos normal e independientes con media cero y varianza σ_b^2 y el término de error aleatorio se supone distribuido normal con media cero y varianza σ^2 , además los errores se suponen independientes de los efectos aleatorios. En este caso, se ajusta un único modelo para todas las repeticiones incluyendo sus variaciones a través de los correspondientes efectos aleatorios. En el modelo de la Ecuación 3 esas variaciones modifican solamente el parámetro k . Los efectos aleatorios b_i se predicen mediante los correspondientes BLUPs (Casanoves et al., 2011; Di Rienzo et al., 2014).

En los modelos que trabajan con todas las repeticiones simultáneamente, la falta de independencia entre observaciones de un mismo sujeto o repetición se puede contemplar por la inclusión del efecto aleatorio de repetición y/o la inclusión de una función de correlación residual. En los estudios de descomposición, la unidad experimental está compuesta por una colección de bolsas que se destruyen, una por vez, en cada muestreo y, por lo tanto, el “la unidad” que se monitorea en el tiempo es la repetición compuesta por ese conjunto de bolsas de descomposición.

CAPÍTULO 3

Materiales y métodos

3.1 Datos

Los datos utilizados en este trabajo fueron provistos por la Dra. Jimena Esquivel, especialista en diversidad funcional y agroforestería tropical (CATIE). Los datos provienen de un experimento de hojarasca dentro del proyecto denominado “Impacto Potencial del Cambio Climático en los Ecosistemas Forestales Iberoamericanos y Herramientas para la Gestión Adaptativa (CLIMIFORAD)”. Este proyecto es financiado por los fondos de iniciativas de Energía Sostenible y Cambio Climático (SECCI), del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), y conducido por la Cátedra de Ecología y Gestión de Bosques Tropicales de CATIE, Costa Rica, en colaboración con la división de Ecología Forestal del Instituto Nacional de Ciencia Forestal (NIFoS, República de Corea).

La zona donde se realizó el estudio corresponde a un gradiente altitudinal ubicado sobre la vertiente Caribe de la Cordillera de Talamanca, Costa Rica, denominado “Caribe-Villa Mills”. Su altitud va desde los 300 hasta los 3.000 m s.n.m. y ocupa una extensión de 227.674 ha, limitando al norte con el río Reventazón, al sur con el río Matina y al suroeste con la Cuenca Continental. En la zona se reconocen cuatro sitios agrupados por altitud y proximidad (Barbilla, Esperanza, Tapantí y Villa Mills) que representan cuatro tipos de bosque (Tropical, Pre-Montano, Montano bajo y Montano alto).

3.2 Diseño del experimento

El objetivo principal del experimento generador de los datos de este estudio fue evaluar el efecto del tipo de bosque (sitio) sobre la constante de descomposición (k) para cada una de 6 especies

arbóreas. Existen 5 especies nativas y una estándar, las nativas son: *Minuartia guianensis* (ind) (E1), *Carapa guianensis* (dest) (E2), *Vochysia alleni* (det) (E3), *Pouruma bicolor* (E4), *Quercus bumelioides* (E5), mientras la especie estándar es *Stipa eriostachya* (E6), procedente de bosques de montaña de Argentina y considerada como una especie testigo (García, 2009; Lorenzo et al., 2014; Bolom-Ton, 2016; Cuchietti et al., 2017; Esquivel et al., 2020). La especie, aunque no es un factor de interés, determina la calidad del material de descomposición por lo que se considera importante caracterizar las especies estudiadas. A continuación, se presentan algunos rasgos funcionales de las especies nativas (Bermeo, 2010) (Tabla 1).

Tabla 1. Valores promedio de los rasgos funcionales de las especies nativas en el Corredor Biológico Volcánica Central – Talamanca, Costa Rica

Especie	Rasgos funcionales						
	AF (mm ²)	AFE (mm ² /mg)	Cfms (mg/g)	FFH (N/mm)	DM (g/cm ³)	P (mg/g)	N (mg/g)
CARAGU	337534.80	11.78	400.00	1.26	0.53	0.77	18.92
MINQGU	14546.32	14.98	440.00	0.76	0.75	1.36	26.60
POURBI	182287.40	13.61	390.00	0.98	0.38	0.92	24.21
QUERBU	7054.93	13.10	449.63	0.73	0.72	1.00	26.00
VOCHAL	5018.86	7.45	436.97	0.71	0.35	0.90	20.50

AF= área foliar, AFE= área foliar específica, Cfms= contenido foliar de materia seca, FFH= fuerza física / tensil foliar, DM= densidad de madera, P= contenido foliar de fósforo, N= contenido foliar de nitrógeno. Fuente: Bermeo, 2010.

El experimento se llevó a cabo utilizando la técnica de bolsas de descomposición. En cada uno de los sitios se dispusieron para cada una de las 6 especies estudiadas un total de 6 ensayos independientes. Cada ensayo consistió de 10 bolsas de descomposición, de las que se seleccionó una aleatoriamente en cada uno de los 10 tiempos de medición pre-programados. Para cada especie, se recogió una bolsa por sitio y ensayo en cada una de las 10 mediciones.

Las bolsas se ordenaron en una fila por cada especie, asignando los tiempos aleatoriamente dentro de cada fila. Es importante reportar que para garantizar la independencia la distancia mínima entre bolsas de diferentes especies fue de 0.5 a 1 m y entre bolsas de la misma especie de 0.1 a 0.2 m.

3.2.1 Estructura de tratamientos

El principal factor de tratamiento en este estudio es el tipo de bosque (sitio), asociado a las condiciones ambientales en las que se produce la descomposición. Los 4 tipos de bosque se encuentran ubicados en Costa Rica y son: Tropical (TR), Pre-Montano (PM), Montano bajo (MB) y Montano alto (MA). Estos tipos de bosque se corresponden respectivamente con los sitios Barbilla, Esperanza, Tapantí y Villamils. A continuación, se especifican algunas características importantes de los bosques que pueden influir en el proceso de descomposición (Tabla 2).

Tabla 2. Variables ambientales y rango de altitud por tipo de bosque en el gradiente altitudinal Caribe -Villamils

Sitio	Tipo de Bosque	Rango de altitud (m s.n.m.)	Temperatura (°C)	Precipitación (mm)
Barbilla	Tropical	400 – 620		
Esperanza	Pre – Montano	1000 – 1120	Varía desde los 24.4 °C hasta los 10 °C	Varía desde los 2000 hasta los 4000
Tapantí	Montano bajo	1400 – 1660		
Villamils	Montano alto	2150 – 3000		

Fuente: Esquivel et al., 2020.

El segundo factor de efectos fijos en estudio es el tiempo, considerado como una regresora cuantitativa. Los tiempos de evaluación se distribuyen en un periodo total de 540 días según el siguiente detalle:

- ✓ mediciones desde el día 30 hasta el 120 en intervalos de 30 días (30, 60, 90, 120),
- ✓ mediciones desde el día 180 hasta el 360 en intervalos de 60 días (180, 240, 300, 360)
- ✓ dos últimas mediciones en intervalos de 90 días, a los 450 y 540 días respectivamente.

Además, existe el tiempo 0, donde se supone que no ha ocurrido descomposición.

3.2.2 Estructura de parcelas

Para cada especie se dispuso de 6 repeticiones por sitio, en un arreglo completamente aleatorizado. Para cada especie se utilizaron 240 bolsas de hojarasca, obtenidas de la combinación 4 sitios, 6 ensayos y 10 tiempos de medición. En total, se utilizaron 1.440 bolsas de descomposición en el experimento completo.

Finalmente se ejemplifica para una especie, uno de los posibles arreglos del experimento de descomposición (Figura 1). La especie se encuentra en los 4 sitios, a su vez, en cada uno de ellos, existen 6 ensayos, cada uno con 10 bolsas de descomposición. Ejemplo: en Barbilla a los 30 días se podrían seleccionar las bolsas número 1, 7, 4, 9, 1, y 6 en los ensayos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 respectivamente, mientras que en el sitio Esperanza, de igual forma a los 30 días, se podría seleccionar las bolsas 8, 10, 4, 3, 6, y 5 en los ensayos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 respectivamente. Este proceso se repite para los 4 sitios.

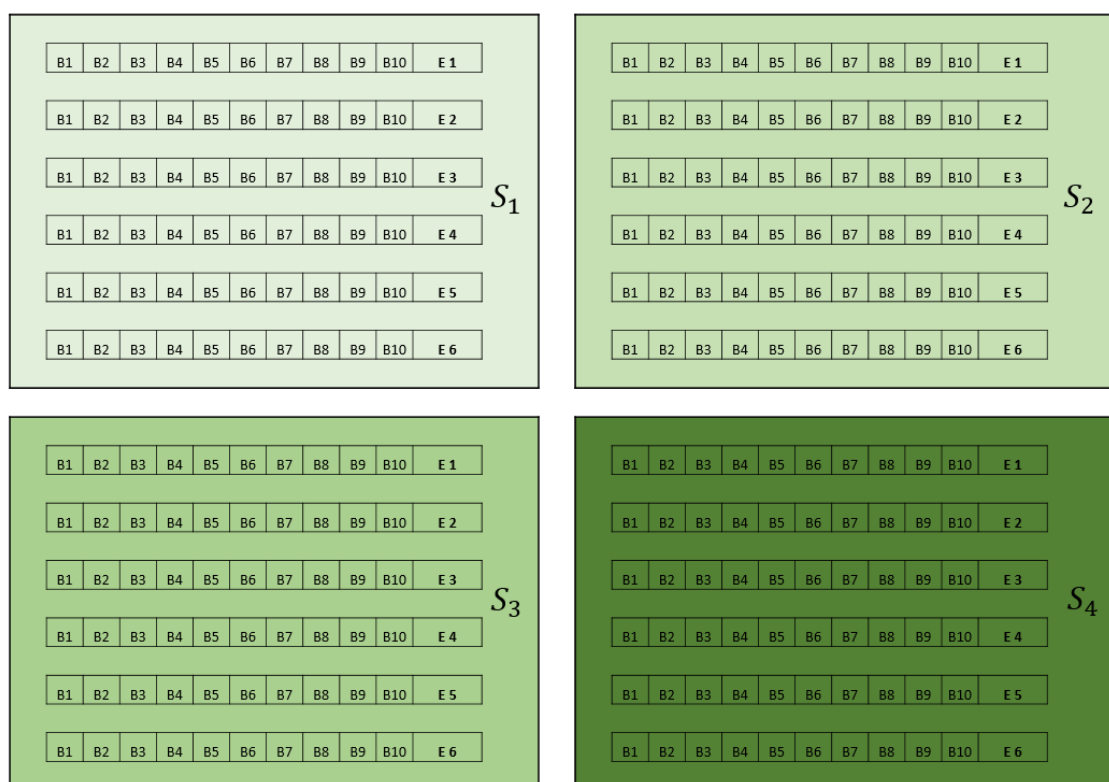


Figura 1. Esquema de diseño del experimento: sitio (S_1 , S_2 , S_3 , S_4), ensayos (E_1 , E_2 , E_3 , E_4 , E_5 , E_6), y las 10 bolsas de descomposición para evaluar en las 10 mediciones para un determinado sitio y especie.

3.3 Propuesta de análisis por objetivo

3.3.1 Estrategia clásica

La revisión de la literatura reciente muestra que la estrategia clásica consiste en el ajuste de un modelo típicamente exponencial para cada ensayo-especie. Cada modelo se ajustó con 11 observaciones, 10 datos de materia seca remanente tomado en cada tiempo de medición y el tiempo

cero (100% de materia seca remanente). En el caso particular objeto de este trabajo, para cada una de las especies generadoras de la hojarasca, los “tratamientos” consisten en 4 tipos de bosque que, en lo que sigue llamaremos sitios, y las repeticiones son los llamados ensayos. Para cada especie, este enfoque implica estimar una constante de decaimiento k para el i -ésimo sitio en el j -ésimo ensayo. Estimando un total de 24 modelos. El modelo para una especie y repetición en un sitio dado es de la siguiente forma:

$$y_m = \alpha \exp^{-k t_m} + e_m \quad m = 1, \dots, T \quad (4)$$

donde:

y_m = porcentaje de materia seca remanente para una especie en un ensayo en el tiempo t_m

α = porcentaje de materia seca inicial a los 0 días, es decir 100%

k = parámetro de decaimiento

t_m = m -ésimo tiempo

e_m = error aleatorio distribuido normal con media cero y varianza σ^2 . Además, se supone que

$cov(e_m, e_{m'}) = 0 \forall m \neq m'$.

Finalmente, los 24 k estimados son las observaciones de la nueva variable de interés (constante de decaimiento), y son utilizadas, posteriormente, para ajustar un modelo lineal de clasificación o análisis de varianza (ANAVA) donde se evalúa el efecto fijo de sitio. Luego de ajustar el modelo de ANAVA se realizan pruebas de comparaciones múltiples LSD de Fisher ($p < 0.05$).

3.3.2 ***Estrategias propuestas***

3.3.2.1 *Estrategia usando Modelos No Lineales Mixtos (Estrategia A)*

Se propone ajustar, para cada una de las 6 especies generadoras de hojarasca, un modelo no-lineal exponencial mixto que describe el decaimiento de la materia seca remanente en función del tiempo, incorporando el efecto fijo de sitio y aleatorio de ensayo sobre el parámetro k (modelo 5). Esto implica ajustar un único modelo por especie y no 24 como en el enfoque clásico. Debe enfatizarse el hecho de que en estos ensayos las bolsas de descomposición son unidades de muestreo

y que su evaluación es destructiva, por lo que en cada tiempo se observa una bolsa diferente. Luego el “sujeto” que se monitorea en el tiempo es el ensayo, que consiste en una colección de tantas bolsas como tiempos deban ser evaluados. El ajuste del modelo por especie requirió la inclusión del efecto aleatorio de ensayo para contemplar la correlación de las observaciones realizadas en el tiempo sobre un mismo ensayo. Además, se evaluaron otras estructuras de correlación entre observaciones de un mismo ensayo. Más aún, debido al tipo de variable evaluada (porcentaje de materia seca remanente) se probaron modelos con diferentes estructuras de varianzas residuales seleccionando el mejor modelo a partir de los criterios de verosimilitud penalizada.

El problema de la correlación en el tiempo de las observaciones dentro de un ensayo no aparece en el análisis clásico porque, condicional al ensayo, el ajuste del modelo supone, correctamente, independencia entre las bolsas. Las varianzas residuales heterogéneas en función del tiempo son difíciles de diagnosticar sin repeticiones y el moderado número de observaciones disponibles por ensayo (11), por lo que tampoco es una práctica típica del enfoque clásico.

Para la selección de la mejor estructura de varianzas y covarianzas residual se usarán los criterios de verosimilitud penalizada AIC y BIC (Casanoves et al., 2011). El modelo que se propone ajustar por especie es el siguiente:

$$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_B + S_E * k_E + S_T * k_T + S_V * k_V) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm} \quad (5)$$

$i=1, \dots, S; j=1, \dots, n; m=1, \dots, T$

y_{ijm} = porcentaje de materia seca remanente del i -ésimo sitio, j -ésimo ensayo en el m -ésimo tiempo.
 α = porcentaje de materia seca inicial a los 0 días (aunque este parámetro podría omitirse e incluir su valor teórico, es decir 100, ajustes preliminares muestran que dar al modelo la libertad de estimarlo mejora en muchos casos el ajuste global).

k_B = parámetro de decaimiento del sitio Barbilla (común entre los 4 sitios).

k_E = parámetro del efecto de decaimiento asociado al sitio Esperanza.

S_E = variable indicadora para el sitio Esperanza.

k_T = parámetro del efecto de decaimiento asociado al sitio Tapantí.

S_T = variable indicadora para el sitio Tapantí.

k_V = parámetro del efecto de decaimiento asociado al sitio Villamils.

S_V = variable indicadora para el sitio Villamils.

$b_{j(i)}$ = efecto aleatorio de ensayo, que se supone normal con media cero y varianza σ_b^2 .

t_m = m -ésimo tiempo.

e_{ijm} = error aleatorio distribuido normal con media cero y varianza σ^2 . Además, se supone que $cov(e_{ijm}, e_{i'j'm'}) = 0 \quad \forall ijm \neq i'j'm'$. Finalmente, los errores y los efectos aleatorios se suponen también independientes.

Las suposiciones sobre la varianza y covarianza de los errores serán evaluadas en cada caso para contemplar alejamientos de estas suposiciones iniciales.

El siguiente paso consiste en estimar las constantes de decaimiento \hat{k}_{ij} (i -ésimo sitio, j -ésimo ensayo), las cuales no se obtienen de forma directa como en la estrategia clásica. Estas se calculan tomando en cuenta además del efecto de sitio las variaciones aleatorias dadas por cada ensayo.

$$\hat{k}_{ij} = \hat{k}_B + S_E * \hat{k}_E + S_T * \hat{k}_T + S_V * \hat{k}_V + \tilde{b}_{j(i)} \quad (6)$$

Luego, se ajusta un modelo lineal de clasificación que evalúa el efecto fijo de sitio, utilizando seis “repeticiones” (ensayos) por sitio como en la estrategia clásica. Finalmente, se comparan las medias de la constante de decaimiento entre sitios mediante la prueba de comparaciones múltiple LSD Fisher.

3.3.2.2 *Estrategia usando Modelos No Lineales Mixtos (Estrategia B: todos los modelos posibles)*

Para cada especie, esta estrategia implica ajustar un modelo no-lineal mixto para cada uno de todos los modelos posibles (15) que se originan de las diferentes combinaciones de los sitios. Esta estrategia es factible mientras el número de sitios (tratamientos) sea pequeña. En la práctica esta no es una limitante porque el número de condiciones experimentales que se comparan en ensayos de descomposición nunca son numerosas. Los modelos de esta estrategia comparten la misma estructura aleatoria que la estrategia A, dada por el efecto aleatorio del ensayo e igual estructura de correlación y varianzas residuales.

Tabla 3. Modelos no-lineales mixtos. Todos los modelos posibles para cada una de las diferentes combinaciones de sitio: Barbilla (B), Esperanza (E), Tapantí (T), Villamils (V)

Modelos	
1	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BETV}) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
2	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BTV} + k_E * S_E) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
3	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BEV} + k_T * S_T) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
4	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BET} + k_V * S_V) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
5	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_B + k_{TEV} * (S_T + S_E + S_V) + b_{j(i)})] t_m} + e_{ijm}$
6	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BV} + k_E * S_E + k_T * S_T) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
7	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BT} + k_E * S_E + k_V * S_V) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
8	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BE} + k_T * S_T + k_V * S_V) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
9	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_B + k_V * S_V + k_{TE} * (S_E + S_T)) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
10	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_B + k_T * S_T + k_{EV} * (S_E * S_V) + b_{j(i)})] t_m} + e_{ijm}$
11	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_B + k_E * S_E + k_{TV} * (S_T + S_V)) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$
12	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BV} + k_{ET} * (S_E + S_T) + b_{j(i)})] t_m} + e_{ijm}$
13	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BT} + k_{EV} * (S_E + S_V) + b_{j(i)})] t_m} + e_{ijm}$
14	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BE} + k_{TV} * (S_T + S_V) + b_{j(i)})] t_m} + e_{ijm}$
15	$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_B + S_E * k_E + S_T * k_T + S_V * k_V) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$

La notación $k_{...}$ implica un único k para los sitios designados en el subíndice. Por ejemplo, k_{BETV} denota un único k para todos los sitios.

Luego de ajustar todos los modelos y verificar las suposiciones de estos modelos, se utilizaron los criterios de verosimilitud penalizada AIC y BIC y se seleccionó el mejor modelo. Finalmente, la comparación entre sitios es el resultado directo de la selección del mejor modelo.

La estimación de la constante de decaimiento (k_s) por sitio y su error estándar se calcula según la parametrización del modelo seleccionado, como combinaciones lineales de los coeficientes de los efectos fijos. Por ejemplo, si tomamos el modelo 6:

$$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[(k_{BV} + k_E * S_E + k_T * S_T) + b_{j(i)}] t_m} + e_{ijm}$$

y queremos estimar la constante de decaimiento para el sitio E (k_{S_E}), los parámetros que tenemos que combinar son k_{BV} y k_E . Si el vector de parámetros de la parte fija es $\theta = [\alpha, k_{BV}, k_E, k_T]'$, la matriz de la combinación lineal que, aplicada a theta, genera la estimación de k_{S_E} es $C_E = [0, 1, 1, 0]$ y si la matriz de covarianzas de los parámetros de la parte fija es V , entonces la varianza de la combinación se muestra en la Ecuación 7.

$$\text{Var}(k_{BV} + k_E) = \text{Var}(k_{S_E}) = CVC' \quad (7)$$

Para ajustar los modelos del enfoque clásico y las nuevas estrategias se utilizó el lenguaje de programación R 3.6.3 (R Core Team, 2020). Para la estrategia clásica se usó la función `nls` de la librería `base` y para las estrategias A y B la función `nlme` de la librería `nlme` (Pinheiro and Bates, 2000).

3.3.3 Comparación de las estrategias

La comparación de las estrategias se realizó mediante el análisis del error estándar de la diferencia de medias entre sitios, la consistencia de los resultados de los tres enfoques se evaluó tanto en datos simulados como en los datos experimentales que motivaron este trabajo.

Para comparar el error estándar de la diferencia de medias, es necesario estimar la varianza de las diferencias $\text{Var}(k_{S_i} - k_{S_{i'}})$, que se calcula también como una combinación lineal de los parámetros que se puede sintetizar como:

$$\text{Var}(k_{S_i} - k_{S_{i'}}) = \text{Var}(k_{S_i}) + \text{Var}(k_{S_{i'}}) - 2 \text{Cov}(k_{S_i}, k_{S_{i'}}) \quad (8)$$

La estrategia clásica estima la varianza de la constante de decaimiento para cada sitio ($\text{Var}(k_{S_i})$) con 6 ensayos. La covarianza entre cualquier par de sitios en esta estrategia es cero, dado que la misma supone que las observaciones de los ensayos son independientes. Luego, el error estándar de la diferencia entre dos sitios, se estima de la forma:

$$\text{EE}(k_{S_i} - k_{S_{i'}}) = \sqrt{\text{Var}(k_{S_i}) + \text{Var}(k_{S_{i'}})} \quad (9)$$

La estrategia A genera $k_{S_{ij}}$ para cada combinación de sitio y ensayo que luego son usadas en un ANAVA como en la estrategia clásica. La estimación de k_{S_i} es finalmente el promedio de los $k_{S_{ij}}$. Como no estamos haciendo comparación entre especies sino entre sitios. Puede aplicarse el mismo principio de independencia que se utilizó en la prueba clásica y aplicar la ecuación (7) cuyos resultados se obtienen fácilmente a partir del ANAVA.

En cuanto a la estrategia B, la varianza de las diferencias se estima a partir de la matriz de varianzas – covarianzas de los parámetros de la parte fija, también usando resultados generales de la varianza de combinaciones lineales. El error estándar se obtiene como la raíz cuadrada de la varianza estimada. Volviendo al ejemplo del modelo 6

$$y_{ijm} = \alpha \exp^{-(k_{BV} + k_E * S_E + k_T * S_T) + b_{j(i)}} t_m + e_{ijm}$$

Si queremos estimar la varianza de $\text{Var}(k_{S_E} - k_{S_T})$, recordemos que la combinación lineal del vector de parámetros para estimar k_{S_E} es $\mathbf{C}'_E = [0, 1, 1, 0]$, la correspondiente combinación lineal para estimar k_{S_T} es $\mathbf{C}'_T = [0, 1, 0, 1]$, donde la combinación lineal que estima $k_{S_E} - k_{S_T}$ es $\mathbf{C}'_{E-T} = [0, 0, 1, -1]$. Nuevamente, la varianza de la diferencia se calcula como $\mathbf{C}'_{E-T} \mathbf{V} \mathbf{C}_{E-T}$

3.3.3.1 Evaluación mediante datos experimentales

Para cada especie, se presentan los resultados obtenidos mediante cada estrategia. Los errores estándar de k_{S_i} mostrados en figuras corresponden a los estimados por la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher (Estrategia clásica y estrategia A), y el error estándar de la diferencia de medias estimado a partir de la matriz de varianzas – covarianzas del modelo seleccionado como mejor en la estrategia B. Posteriormente se presentan los resultados de la estimación del error estándar de la diferencia de medias entre los sitios, estimados con cada una de las estrategias.

3.3.3.2 Evaluación mediante simulación

Se simularon 10.000 experimentos de descomposición con 4 sitios y para cada sitio un total de 6 ensayos. La variable simulada es el porcentaje de materia seca remanente en un periodo de 540 días.

Para obtener el porcentaje de materia seca remanente se fijó el k promedio de cada sitio y se perturbó aleatoriamente sumando una variable aleatoria normal con media cero y varianza estimada de k entre repeticiones en el experimento que motivo este estudio. Además, al valor esperado para cada tiempo y repetición (perturbación de k) se sumó un error experimental que se selecciona por remuestreo de los vectores de errores predichos para cada ensayo en la estrategia clásica. Esta simulación permite que, entre tiempos sucesivos de un ensayo, se puedan observar aumentos en el porcentaje de materia seca remanente, lo cual, aunque es biológicamente imposible, es un comportamiento típico de los experimentos con bolsas de descomposición donde cada una de las bolsas se comporta de manera independiente. Por lo anterior, en la simulación no se implementó ninguna función de correlación temporal.

A continuación, se presenta la ecuación utilizada para simular el porcentaje de materia seca remanente en el i -ésimo sitio, j -ésima repetición, m -ésimo tiempo:

$$y_{ijm} = \alpha \exp^{-[k_i + blup_{j(i)}] t_m} + e_{ijm} \quad i=1,\dots,4; j=1,\dots,6; m=1, \dots,540 \quad (10)$$

y_{ijm} = porcentaje de materia seca remanente del i -ésimo sitio en el j -ésimo ensayo en el tiempo t_m

α = porcentaje de materia seca inicial a los 0 días.

k_i = parámetro de decaimiento del i -ésimo sitio.

$blup_j$ = efecto aleatorio asociado al j -ésimo ensayo.

t_m = m -ésimo tiempo.

e_{ijm} = residuo asociado a la observación y_{ijm} .

Se simularon datos para dos constantes de decaimiento (k) promedio, una considerada lenta y otra rápida ($-0.0015 \times d^{-1}$ y $-0.0045 \times d^{-1}$ respectivamente (Esquivel et al., 2020)). Para cada k promedio, se fijan k por sitio para representar los siguientes escenarios:

- Escenario 1: no hay diferencias entre k 's ($k_{s_i} = k_{s_{i'}}, \forall i \neq i'$)
- Escenario 2: diferencias entre los siguientes sitios ($[k_{s_1} = k_{s_2}] \neq [k_{s_3} = k_{s_4}]$)
- Escenario 3: diferencias entre los siguientes sitios $k_{s_1} \neq (k_{s_2} = k_{s_3} = k_{s_4})$
- Escenario 4: diferencias entre k 's de todos los sitios ($k_{s_i} \neq k_{s_{i'}}, \forall i \neq i'$)

Cuando se incluyeron diferencias entre sitios, corresponden diferenciales iguales al 20% de la media, por ejemplo, para k lenta en el Escenario 4, el k para el Sitio 1 será: $k=-0.00105$, para el Sitio 2 $k=-0.00135$, mientras que para los Sitios 3 y 4 serán $k=-0.00165$ y $k=-0.00195$ respectivamente.

Para evaluar el desempeño de cada una de las estrategias de análisis, se obtuvieron las tasas de error (tipo I y tipo II) por experimento y comparación. El error por experimento y por comparación se estimó a partir de la comparación entre los diferentes pares de tratamientos (k 's de sitio), el error por experimento se presenta cuando al menos una de las comparaciones es errónea dentro del conjunto de comparaciones donde el error puede realizarse. El error por comparación se define como la proporción de comparaciones erróneas, por ejemplo, sea $S=4$, existen 6 comparaciones posibles entre sitios, si 2 de ellas son erróneas, el error tipo I por comparación, para hipótesis nula cierta será de $2/6$. Finalmente, se estiman las tasas de error por experimento y comparación asociadas a cada una de las estrategias desarrolladas en este trabajo por medio del proceso de simulación (Figura 2).

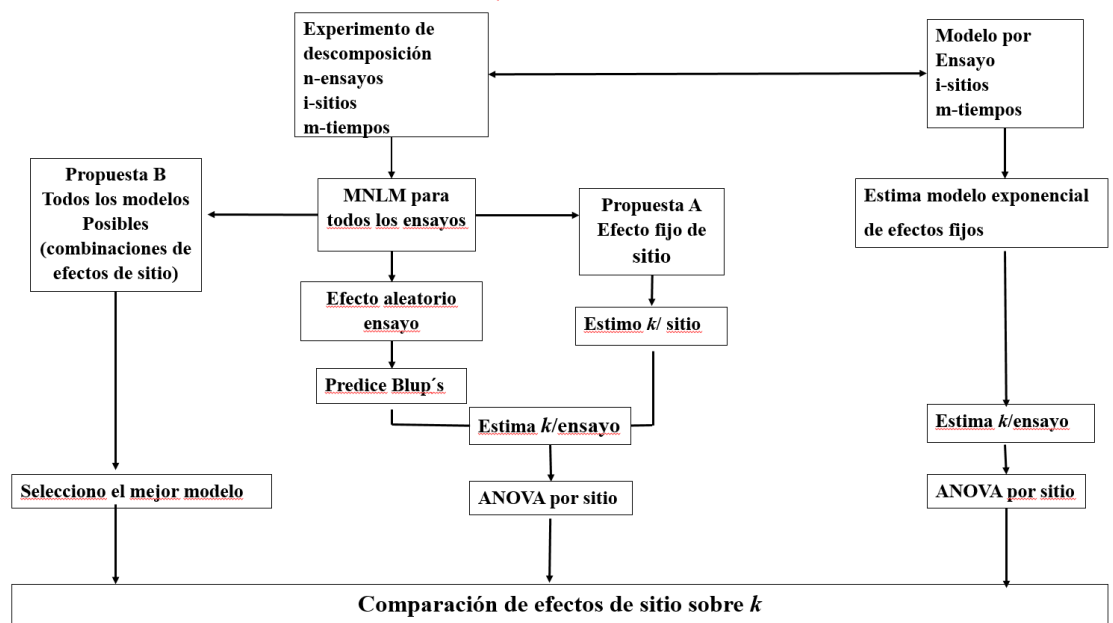


Figura 2. Esquema metodológico del estudio: análisis de ensayos de descomposición de hojarasca. Un Enfoque Mediante Modelos No-Lineales Mixtos.

CAPÍTULO 4

Resultados

4.1 Descripción general

En este estudio, todas las especies lograron descomponerse en más de un 50%; la especie más lenta (CARAGU) alcanzó un 20.83% de material vegetal remanente, es decir, una descomposición de cerca del 80%. Por otro lado, la especie STIPA fue la que presentó menor porcentaje de material remanente, es decir, fue la especie en la que el material vegetal se descompuso más rápidamente. A continuación, se sintetiza el comportamiento del porcentaje de material vegetal remanente de cada especie a lo largo de los 540 días de evaluación (Tabla 4).

Tabla 4. Resumen del porcentaje de materia seca remanente dentro de bolsas de descomposición cosechadas en 11 tiempos de medición durante 540 días de incubación en 6 especies

Especie	Medidas de resumen				
	n	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
CARAGU	264	72.38	19.74	20.83	100
MINQGU	264	56.18	29.89	0	100
POURBI	263	70.75	20.89	3.13	100
QUERBU	264	48.77	31.01	0	100
STIPA	264	44.61	28.1	0	100
VOCHAL	263	68.19	26.35	0	100

La descomposición del material vegetal de cada especie a través del tiempo en los distintos sitios de interés fue diferente (Tabla 5). Los sitios Barbilla y Esperanza son los que presentan menor porcentaje de materia seca remanente, en contraposición con Villamils. Además, CARAGU y STIPA son respectivamente las especies más lenta y rápida en cada uno de los sitios.

Tabla 5. Resumen del porcentaje de materia seca remanente dentro de bolsas de descomposición cosechadas en 11 tiempos de medición durante 540 días de incubación en 6 especies por sitio

Especie	Media (Desviación Estándar)				Mínimo				Coeficiente de Variación			
	Barbilla	Esperanza	Tapantí	Villamils	Barbilla	Esperanza	Tapantí	Villamils	Barbilla	Esperanza	Tapantí	Villamils
CARAGU	64.82 (21.85)	68.04 (20.64)	71.48 (19.10)	85.17 (8.05)	20.83	23.34	27.77	66.35	33.71	30.34	26.72	9.45
MINQGU	43.46 (32.32)	47.45 (32.22)	56.84 (26.56)	76.99 (12.06)	0.00	0.00	4.83	57.51	74.38	67.91	46.73	15.66
POURBI	63.88 (24.39)	64.71 (22.67)	70.82 (17.55)	83.79 (9.42)	3.13	16.83	29.00	66.17	38.19	35.03	24.78	11.24
QUERBU	38.77 (32.70)	43.44 (31.23)	46.75 (30.53)	66.12 (21.8)	0.00	0.49	0.47	31.83	84.32	71.87	65.3	32.98
STIPA	38.40 (29.14)	39.21 (30.76)	43.79 (28.13)	57.04 (19.56)	0.00	0.00	0.00	13.82	75.88	78.46	64.25	34.29
VOCHAL	58.48 (29.55)	54.78 (31.09)	73.59 (16.82)	85.99 (7.14)	0.08	0.00	32.15	73.60	50.53	56.75	22.85	8.3

También se puede visualizar cómo cambia el material remanente a través del tiempo entre los distintos sitios (Figura 3). Los aumentos entre tiempos sucesivos (ilógicos biológicamente), se deben a la naturaleza del experimento (muestreo destructivo) y son considerados como aleatorios.

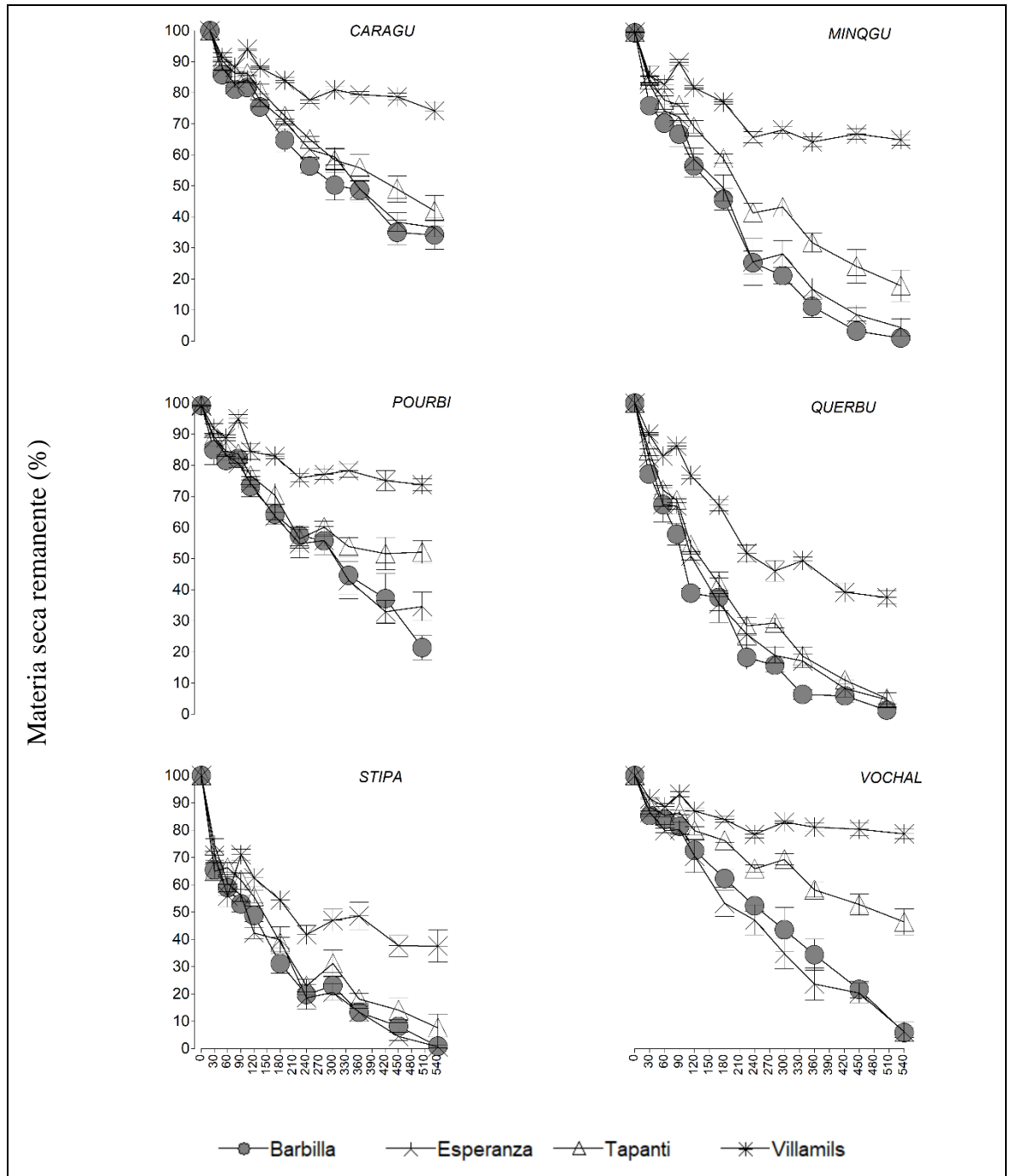


Figura 3. Gráfico de puntos del porcentaje de materia seca remanente según sitio en un período de 540 días. Se muestra para cada especie estudiada.

A continuación, se presentan los resultados de las tres estrategias de análisis implementadas en este estudio, se comparan los resultados obtenidos a partir de datos reales y simulados.

4.2 Estrategia clásica

La estrategia clásica ajusta un modelo exponencial simple para cada uno de los ensayos (Figura 4). De estos modelos se obtienen las constantes de decaimiento k que se analizan posteriormente.

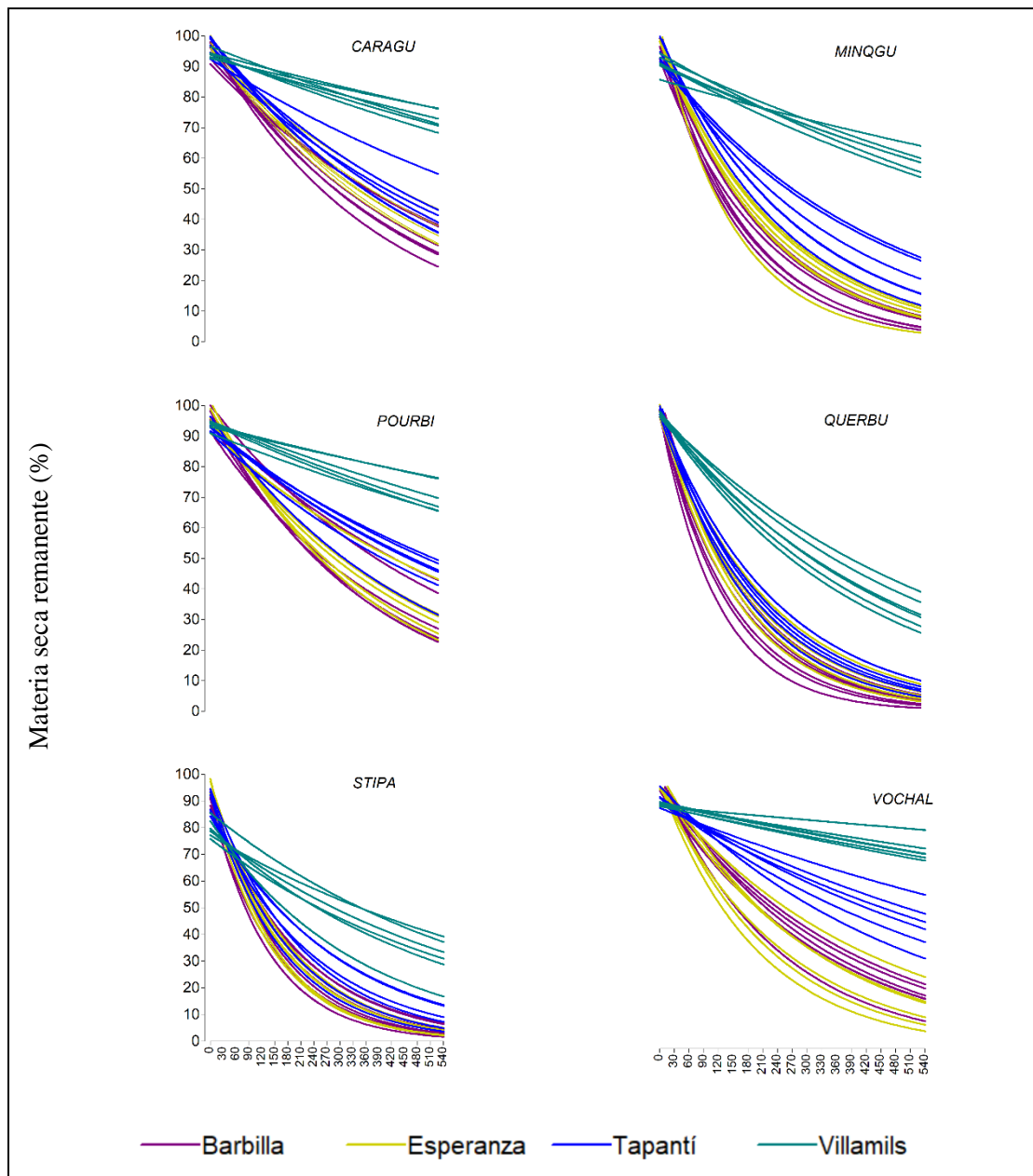


Figura 4. Gráficos de valores predichos para cada ensayo bajo el modelo exponencial simple para la variable porcentaje de materia seca remanente en un período de 540 días. Se muestra para cada especie estudiada.

A continuación se presenta el resumen los resultados obtenidos (k estimados) de los 24 ensayos para cada especie según el sitio en el que se dispuso el material vegetal (Tabla 6). La especie

con descomposición más rápida es STIPA, mientras CARAGU mostró la descomposición más lenta. En cuanto a los sitios, en general para las 6 especies, el material vegetal se descompone más rápidamente en Barbilla y más lentamente en Villamils.

Tabla 6. Medidas resumen de la constante de decaimiento (k) de 24 ensayos realizados para cada especie según sitio

Especie	Sitio	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Coefficiente Variación
CARAGU	Barbilla	-0.0021	0.0004	-0.00256	-0.00161	17.99
	Esperanza	-0.0019	0.0003	-0.00211	-0.00145	13.29
	Tapantí	-0.0016	0.0004	-0.00191	-0.00097	21.93
	Villamils	-0.0005	0.0001	-0.0006	-0.00036	19.78
MINQGU	Barbilla	-0.0052	0.0006	-0.00605	-0.00458	12.06
	Esperanza	-0.00475	0.00098	-0.00665	-0.00397	20.65
	Tapantí	-0.00304	0.00069	-0.00397	-0.00226	22.66
	Villamils	-0.00083	0.00016	-0.00099	-0.00055	19.36
POURBI	Barbilla	-0.00226	0.00053	-0.00273	-0.00148	23.27
	Esperanza	-0.00217	0.00047	-0.00273	-0.00139	21.48
	Tapantí	-0.00143	0.00034	-0.00208	-0.00115	23.72
	Villamils	-0.00055	0.00013	-0.00068	-0.00038	23.89
QUERBU	Barbilla	-0.00667	0.00106	-0.0084	-0.00538	15.93
	Esperanza	-0.00544	0.00067	-0.00634	-0.00442	12.31
	Tapantí	-0.00476	0.00054	-0.00566	-0.00421	11.40
	Villamils	-0.00209	0.00029	-0.00247	-0.00168	13.80
STIPA	Barbilla	-0.00592	0.00101	-0.00739	-0.00473	17.10
	Esperanza	-0.00605	0.00069	-0.00694	-0.00545	11.47
	Tapantí	-0.00453	0.00105	-0.00597	-0.00338	23.19
	Villamils	-0.00181	0.00059	-0.00295	-0.00125	32.70
VOCHAL	Barbilla	-0.00312	0.00059	-0.00426	-0.00262	18.74
	Esperanza	-0.00374	0.00096	-0.00506	-0.00239	25.77
	Tapantí	-0.00135	0.0004	-0.00198	-0.00083	29.56
	Villamils	-0.00039	0.0001	-0.00048	-0.00019	26.85

Los resultados anteriores muestran que la descomposición del material vegetal proveniente de cada una de las especies se descompone a diferentes velocidades (k) dependiendo del sitio en el que se dispuso. Para evaluar el efecto de sitio se ajustó un modelo lineal de clasificación. El ANAVA

(Tabla 7) muestra que existen diferencias significativas entre los sitios para cada una de las especies (letras diferentes indican diferencias significativas entre sitios para una misma especie, para un nivel de significación del 5%). En cuanto a la separación de medias de la constante de decaimiento por sitio, para cada especie, se observa que el sitio Villamils es diferente a los demás en todas ellas. Los otros sitios varían en las diferencias observadas según sitio, por ejemplo, la constante de decaimiento para la especie CARAGU no muestra diferencias entre los sitios Tapantí y Esperanza, de igual forma que entre Esperanza y Barbilla, aunque entre Tapantí y Barbilla las diferencias sí son significativas.

Tabla 7. Medias (\pm error estándar) obtenidos mediante análisis de varianza para la constante de decaimiento k obtenida mediante la estrategia clásica. Letras iguales en una columna indican ausencia de diferencias (LSD Fisher, $p < 0.05$)

Sitio	CARAGU	MINQGU	POURBI	QUERBU	STIPA	VOCHAL
	F=92.04 p < 0.0001	F=132.47 p < 0.0001	F=46.71 p < 0.0001	F=89.6 p < 0.0001	F=31.34 p < 0.0001	F=73.29 p < 0.0001
Barbilla	-0.00207 \pm 0.00015 a	-0.00522 \pm 0.00026 a	-0.00226 \pm 0.00021 a	-0.00667 \pm 0.00043 a	-0.00592 \pm 0.00035 a	-0.00312 \pm 0.00024 a
Esperanza	-0.00185 \pm 0.00010 ab	-0.00475 \pm 0.00040 a	-0.00217 \pm 0.00019 a	-0.00544 \pm 0.00027 b	-0.00605 \pm 0.00035 a	-0.00374 \pm 0.00039 a
Tapantí	-0.00159 \pm 0.00014 b	-0.00304 \pm 0.00028 b	-0.00143 \pm 0.00014 b	-0.00476 \pm 0.00022 b	-0.00453 \pm 0.00035 b	-0.00135 \pm 0.00016 b
Villamils	-0.00048 \pm 0.00004 c	-0.00083 \pm 0.00007 c	-0.00055 \pm 0.00005 c	-0.00209 \pm 0.00012 c	-0.00181 \pm 0.00035 c	-0.00039 \pm 0.00004 c

Adicionalmente, al evaluar los supuestos distribucionales de los errores de cada modelo, en las especies CARAGU, MINQGU, POURBI, QUERBU y VOCHAL fue necesario incluir una función de varianzas para modelar varianzas diferentes por sitio. La especie STIPA no mostró problemas de falta de homogeneidad de varianzas por lo que no fue necesario modelarla.

4.3 Estrategia usando Modelos No Lineales Mixtos (Estrategia A)

Inicialmente, se estimó un único MNLM con efecto fijo de sitio y efecto aleatorio de ensayo con los 264 datos de porcentaje de materia seca remanente de cada especie. Para cumplir con los supuestos distribucionales de los errores fue necesario incluir varianzas diferentes por sitio para las

especies CARAGU, QUERBU, STIPA y VOCHAL, mientras para las especies MINQGU y POURBI las varianzas diferentes se declararon por tiempo de evaluación.

Luego, con el modelo ajustado, se procedió a estimar las constantes de decaimiento k para los 24 ensayos. Estas estimaciones se calculan a partir de las estimaciones de los efectos fijos (sitios), y las variaciones individuales dadas por los ensayos (BLUP's). A modo de ejemplo, a partir de los resultados de la especie CARAGU, se muestra cómo se obtienen las constantes de decaimiento con esta estrategia (Tabla 8). La suma de k común, efecto de sitio (S_i), y efecto aleatorio de ensayo ($\tilde{b}_{j(i)}$) estima la constante de decaimiento (k) condicional a la repetición $j(i)$. Luego con los k obtenidos se realiza para cada especie, un ANAVA donde se evalúa el efecto sitio.

Tabla 8. Estimación de la constante de decaimiento (k) para cada ensayo a partir del cálculo de k común, el efecto de sitio y la desviación aleatoria dada por el ensayo. Para la especie CARAGU

Sitio	Ensayo (j)	k común	S_i	$\tilde{b}_{j(i)}$ (BLUPs)	k_{ij}
Barbilla	1	-0.00206		0.000097	-0.00196
	2	-0.00206		0.000087	-0.00197
	3	-0.00206		-0.000039	-0.0021
	4	-0.00206		0.00001	-0.00205
	5	-0.00206		-0.000117	-0.00218
	6	-0.00206		-0.000039	-0.0021
Esperanza	7	-0.00206	0.00026	0.000038	-0.00176
	8	-0.00206	0.00026	-0.000061	-0.00186
	9	-0.00206	0.00026	0.000167	-0.00163
	10	-0.00206	0.00026	-0.000099	-0.00189
	11	-0.00206	0.00026	-0.000012	-0.00181
	12	-0.00206	0.00026	-0.000032	-0.00183
Tapantí	13	-0.00206	0.00054	-0.000031	-0.00155
	14	-0.00206	0.00054	-0.000106	-0.00162
	15	-0.00206	0.00054	-0.000106	-0.00162
	16	-0.00206	0.00054	0.000234	-0.00128
	17	-0.00206	0.00054	-0.000025	-0.00154
	18	-0.00206	0.00054	0.000034	-0.00148
Villamils	19	-0.00206	0.00154	-0.000003	-0.00053
	20	-0.00206	0.00154	-0.000086	-0.00061
	21	-0.00206	0.00154	-0.000003	-0.00053
	22	-0.00206	0.00154	-0.000042	-0.00057
	23	-0.00206	0.00154	0.000059	-0.00046
	24	-0.00206	0.00154	0.000076	-0.00045

Los modelos ANAVA, bajo esta estrategia, incluyeron estructura de varianzas diferentes entre sitios para las especies CARAGU, POURBI y VOCHAL (de igual forma que en la estrategia clásica). Por otro lado, las especies MINQGU, QUERBU y STIPA no presentaron ninguna violación a los supuestos distribucionales de los errores.

Los resultados muestran diferencias significativas entre sitios para cada una de las especies (Tabla 9). Este resultado es concordante con la estrategia clásica, sin embargo, la separación de medias con esta estrategia no es necesariamente la misma en comparación con la estrategia clásica. Por ejemplo, para la especie CARAGU, esta estrategia identifica diferencias significativas entre todos los sitios, conclusión diferente a la obtenida con la estrategia clásica.

Tabla 9. Medias (\pm error estándar) obtenidos mediante análisis de varianza para la constante de decaimiento k obtenida mediante la estrategia A. Letras iguales en una columna indican ausencia de diferencias (LSD Fisher, $p < 0.05$)

	CARAGU	MINQGU	POURBI	QUERBU	STIPA	VOCHAL
Sitio	F=306.8 p < 0.0001	F=1520.49 p < 0.0001	F=217.53 p < 0.0001	F=249.54 p < 0.0001	F=188.57 p < 0.0001	F=265.22 p < 0.0001
Barbilla	-0.00206 \pm 0.00003 a	-0.00512 \pm 0.00004 a	-0.00235 \pm 0.00018 a	-0.00649 \pm 0.00011 a	-0.00571 \pm 0.00011 a	-0.00281 \pm 0.00009 a
Esperanza	-0.00179 \pm 0.00003 b	-0.00441 \pm 0.00004 b	-0.00237 \pm 0.00004 a	-0.00537 \pm 0.00011 b	-0.00558 \pm 0.00011 a	-0.00327 \pm 0.00015 b
Tapantí	-0.00151 \pm 0.00003 c	-0.00307 \pm 0.00004 c	-0.00186 \pm 0.00013 b	-0.00469 \pm 0.00011 c	-0.00444 \pm 0.00011 b	-0.00133 \pm 0.00011 c
Villamils	-0.00052 \pm 0.00003 d	-0.00115 \pm 0.00004 d	-0.00089 \pm 0.00004 c	-0.00212 \pm 0.00011 d	-0.00223 \pm 0.00011 c	-0.00045 \pm 0.00004 d

4.4 Estrategia usando Modelos No-Lineales Mixtos (Estrategia B: todos los modelos posibles)

Con esta estrategia, primero se estimaron todos los modelos posibles para cada una de las especies, luego, evaluando los criterios de verosimilitud penalizada (AIC y BIC) se selecciona el mejor modelo. Para las especies POURBI, STIPA y VOCHAL el mejor es el Modelo 8 (Tabla 10), el cual estima una constante de decaimiento común entre los sitios Barbilla y Esperanza, pero diferente para Tapantí y Villamils. La selección de este modelo implica diferencias no significativas

entre los primeros dos sitios. Por otro lado, para las especies CARAGU, MINQGU y QUERBU el modelo con mejor desempeño fue el Modelo 15 (Tabla 10), el cual indica que existen diferencias significativas entre todos los sitios.

Tabla 10. Valores de AIC y BIC de los modelos evaluados para cada una de las especies mediante máxima verosimilitud (ML)

Especie	Criterio	Modelo														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
CARAGU	AIC	1743.4	1742.9	1745.3	1703.8	1736.8	1744.1	1705.7	1693.3	1694.8	1736.6	1727.2	1742.8	1737.9	1726.4	1690.0
	BIC	1768.4	1771.5	1773.9	1732.4	1765.4	1776.3	1737.9	1725.5	1727	1768.8	1759.4	1771.4	1766.5	1755.0	1725.7
MINQGU	AIC	1773.1	1771.5	1774.7	1745.8	NC	1773.5	1746.9	1719.6	1734.5	1765.9	1746.2	1774.0	1770.7	1746.0	1713.7
	BIC	1823.1	1825.1	1828.3	1799.4	NC	1830.7	1804.1	1776.8	1791.7	1823.1	1803.4	1827.6	1824.3	1799.6	1774.5
POURBI	AIC	1743.1	1740.3	1745.1	1711.5	NC	1741.4	1711.0	1703.4	1711.6	1741.4	1728.4	1741.3	1741.2	1726.4	1705.4
	BIC	1793.1	1793.9	1798.7	1765.1	NC	1798.6	1768.2	1760.5	1768.8	1798.5	1785.6	1794.8	1794.8	1780.0	1766.1
QUERBU	AIC	1749.3	1749.8	1751.3	1715.2	NC	1751.4	1717.2	1704.7	1701.2	1739.9	1731.6	1750.0	1743.2	1732.6	1697
	BIC	1774.4	1778.4	1779.9	1743.8	NC	1783.6	1749.4	1736.8	1733.4	1772.0	1763.8	1778.6	1771.8	1761.2	1732.7
STIPA	AIC	1978.8	1976.5	1980.8	1949.8	NC	1978.0	1950.3	1941.1	1948.7	1976.3	1963.3	1977.8	1976.8	1961.4	1943.0
	BIC	2003.8	2005.1	2009.4	1978.5	NC	2010.2	1982.5	1973.3	1980.9	2008.5	1995.5	2006.4	2005.4	1990.0	1978.8
VOCHAL	AIC	1822.2	1811.9	1822.0	1807.0	NC	1813.6	1798.2	1776.9	1807.3	1821.1	1787.3	1822.2	1824.0	1787.3	1775.6
	BIC	1847.2	1840.5	1850.6	1835.6	NC	1845.8	1830.4	1809.1	1839.5	1853.3	1819.5	1850.8	1852.6	1815.9	1811.32

Valores en negrilla indican el mejor modelo para cada especie.

Los resultados obtenidos hasta el momento nos permiten concluir sobre la separación de los efectos dados por los sitios para cada una de las especies, sin embargo, la parametrización de esos modelos no estima directamente todas las constantes de decaimiento ni el error estándar asociado a cada sitio específico, como fueron reportadas en la prueba de comparaciones múltiples en las dos estrategias anteriores. Para obtener estas estimaciones se deben realizar algunos cálculos como se mostró en la metodología.

Finalmente, al igual que en las estrategias anteriormente desarrolladas, se presenta, para cada especie, la comparación de medias entre los distintos sitios, con la media y el error estándar correspondiente (Tabla 11). En este caso, las letras que indican diferencias significativas se asignaron a partir de los modelos seleccionados. Los resultados obtenidos por las tres estrategias se comparan en la siguiente sección.

Tabla 11. Medias (\pm error estándar) para la constante de decaimiento k obtenida mediante la estrategia B. Letras iguales en una columna indican ausencia de diferencias ($p < 0.05$)

Sitio	CARAGU	MINQGU	POURBI	QUERBU	STIPA	VOCHAL
Barbilla	-0.00206 \pm 0.00009 a	-0.00512 \pm 0.00019 a	-0.00226 \pm 0.00007 a	-0.00649 \pm 0.00030 a	-0.00565 \pm 0.00022 a	-0.00304 \pm 0.00013 a
Esperanza	-0.00180 \pm 0.00007 b	-0.00441 \pm 0.00016 b	-0.00226 \pm 0.00007 a	-0.00538 \pm 0.00019 b	-0.00565 \pm 0.00022 a	-0.00304 \pm 0.00013 a
Tapantí	-0.00152 \pm 0.00007 c	-0.00307 \pm 0.00013 c	-0.00179 \pm 0.00010 b	-0.00470 \pm 0.00017 c	-0.00445 \pm 0.00028 b	-0.00134 \pm 0.00014 b
Villamils	-0.00052 \pm 0.00005 d	-0.00115 \pm 0.00009 d	-0.00799 \pm 0.00009 c	-0.00212 \pm 0.00016 d	-0.00224 \pm 0.00023 c	-0.00045 \pm 0.00014 c

4.5 Comparación de las estrategias

La comparación de las estrategias de análisis se realizó bajo dos enfoques, el primero utiliza los datos reales del experimento de descomposición de material vegetal, y compara los errores estándar de la comparación de medias entre sitios para cada una de las especies estudiadas. El segundo enfoque, mediante simulación, evalúa la consistencia de los resultados de las tres estrategias.

4.5.1 *Evaluación con datos reales*

Para cada especie se presentan los resultados con cada una de las estrategias de análisis. Las medias y errores estándar de la estrategia clásica y la estrategia A son resultado de la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher, mientras las medias y errores estándar de la estrategia B fueron estimadas mediante las combinaciones lineales correspondientes.

Para las especies POURBI y STIPA se encontraron exactamente las mismas diferencias entre sitios, aunque la estimación de los errores estándar no es exactamente igual entre ellas (Figuras 5 y 6). Además, las estrategias A y B concuerdan en la separación de medias para todas las especies excepto VOCHAL, donde la estrategia A identifica más diferencias que la B. En general, estas dos estrategias encuentran más diferencias entre sitios que la estrategia clásica.

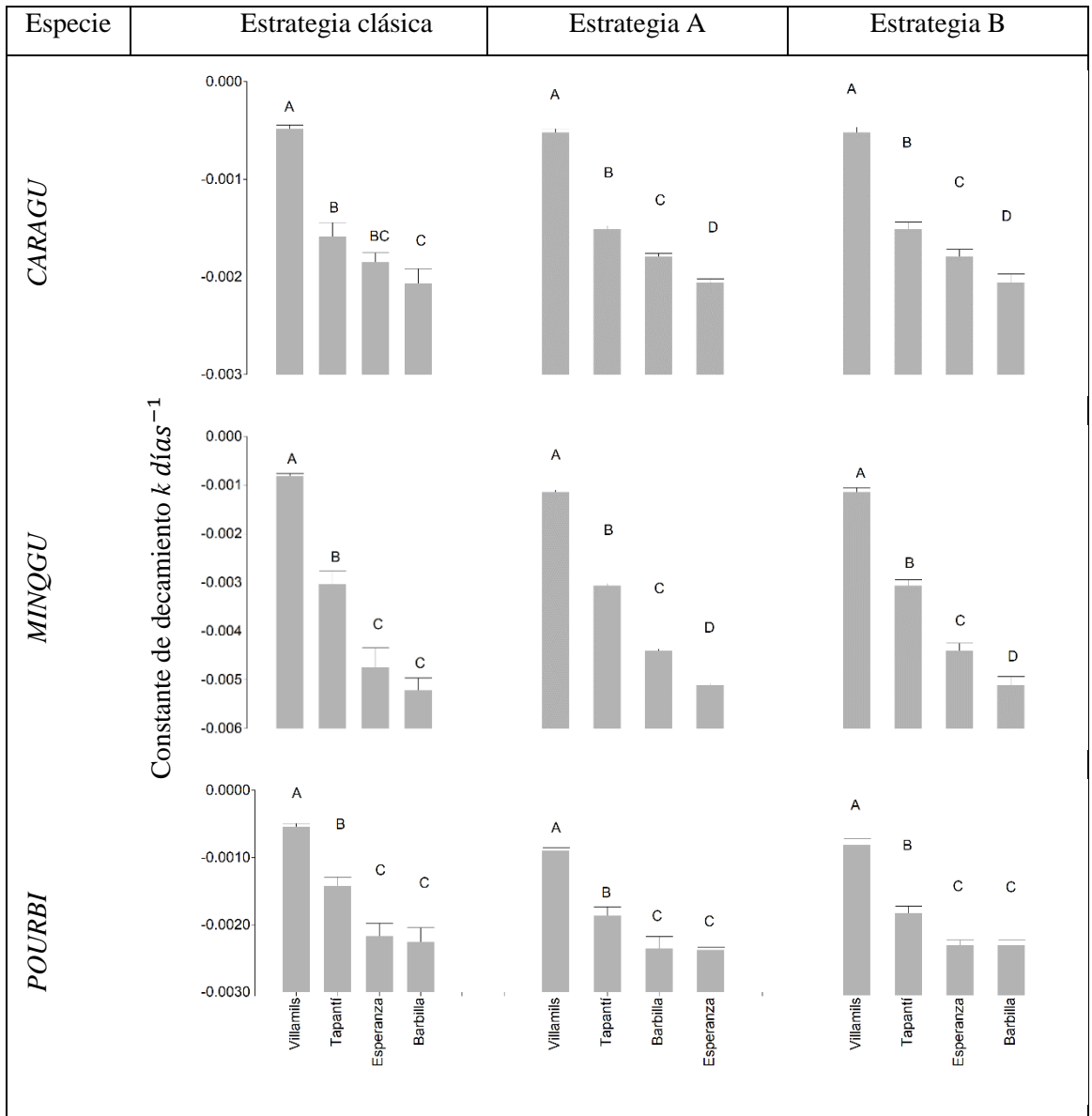


Figura 5. Gráficos de barras comparativas de la constante de decaimiento (k) entre sitios para cada estrategia de análisis para las especies *CARAGU*, *MINQGU* y *POURBI*.

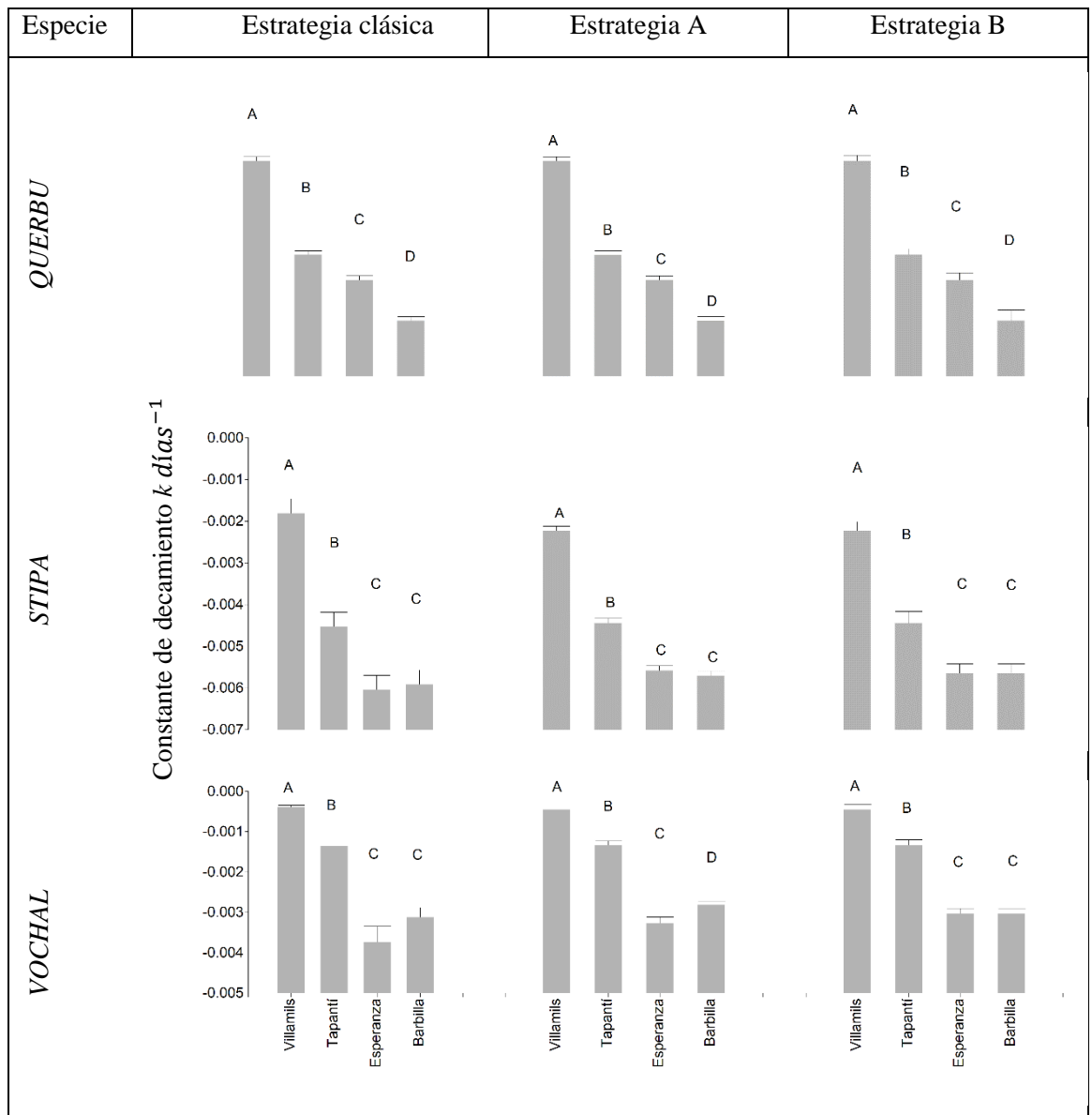


Figura 6. Gráficos de barras comparativas de la constante de decaimiento (k) entre sitios para cada estrategia de análisis para las especies *QUERBU*, *STIPA* y *VOCHAL*.

En general, el error estándar promedio de los 4 sitios es menor con la estrategia A en todas las especies excepto para *POURBI* en la que la estrategia B estima un error estándar levemente menor (Figura 7).

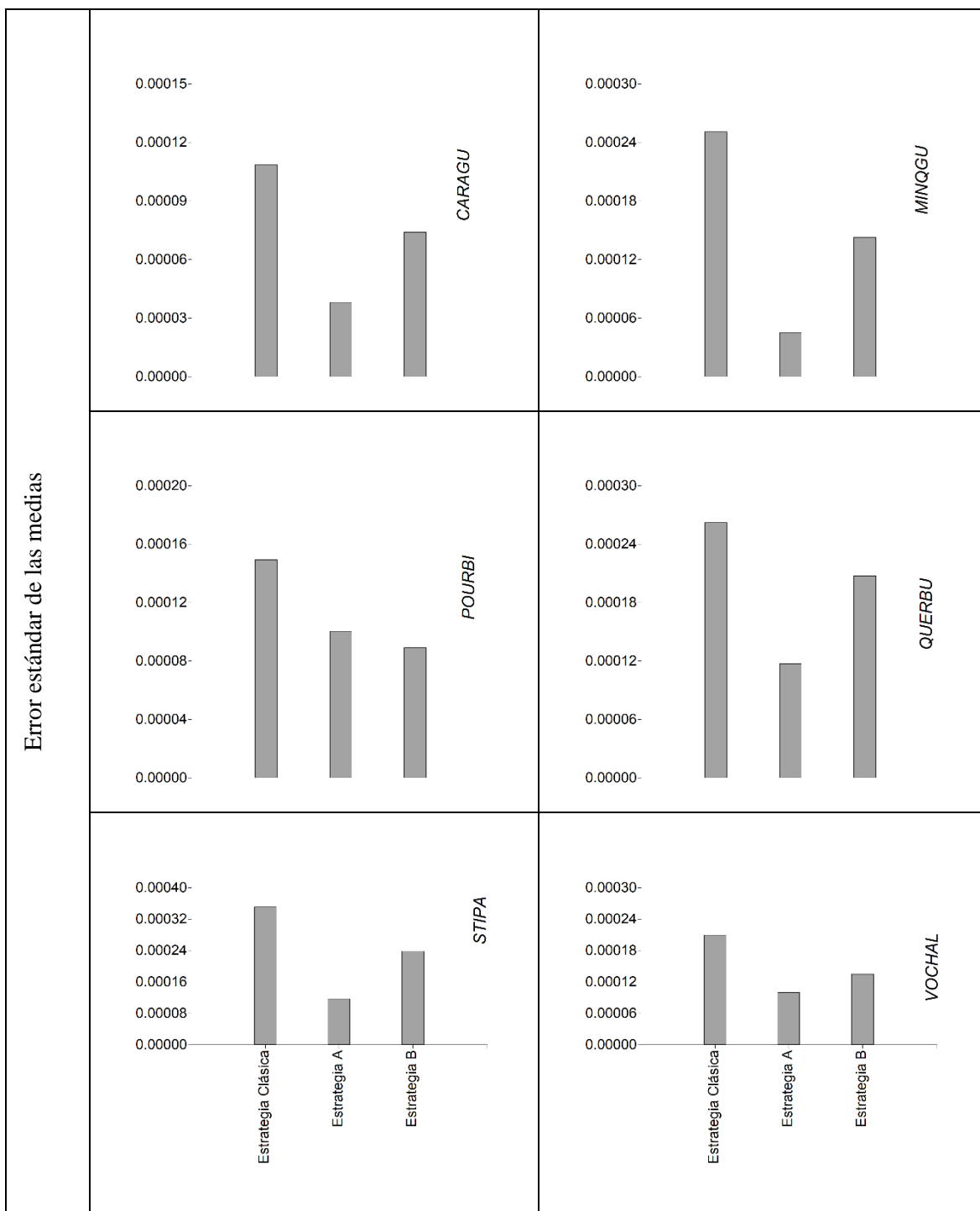


Figura 7. Gráficos de barras del error estándar promedio por especie estudiada según estrategia de análisis.

Finalmente, se estimó el error estándar promedio de la diferencia de medias (Tabla 12), siendo la estrategia B la que estima errores estándar menores en todas las especies excepto en VOCHAL, aunque esta diferencia se considera mínima. Los errores estándar con la estrategia clásica son considerablemente mayores, en todos los casos, que los estimados con cualquiera de las estrategias.

Tabla 12. Error estándar de comparación promedio para cada especie según estrategia de análisis utilizada

Estrategia	CARAGU	MINQGU	POURBI	QUERBU	STIPA	VOCHAL
Clásica	0.0001051	0.0002480	0.0001446	0.0002530	0.0003181	0.0002133
Estrategia A	0.0000124	0.0000254	0.0000457	0.0000375	0.0000457	0.0000265
Estrategia B	0.0000124	0.0000254	0.0000180	0.0000375	0.0000465	0.0000285

4.5.2 *Evaluación mediante simulación*

Para cada uno de los escenarios planteados se simularon datos de 10.000 experimentos de descomposición, cada uno con 264 observaciones de porcentaje de materia seca remanente. Los datos de cada experimento se analizaron con las 3 estrategias de análisis estudiadas en este trabajo.

Para la especie considerada de descomposición lenta, con la estrategia clásica se estimó el menor error tipo I por experimento y por comparación, seguido por la estrategia B. En cuanto al error tipo II, la estrategia B tiene el menor error en todos los escenarios excepto en el que plantea diferencias entre todos los k de sitio. En ese escenario el menor error de tipo II se encontró con la estrategia A. En general, la estrategia B (todos los modelos posibles) es la que mostró un mejor balance entre los errores de tipo I y II, tanto por experimento como por comparación (Tabla 13).

La especie de descomposición rápida mostró el mismo comportamiento que la especie lenta en cuanto al error tipo I por experimento y por comparación. En cuanto al error tipo II, la mayor tasa de este error se estimó con la estrategia clásica, luego, comparando las estrategias A y B se observó que la estrategia A estimó el menor error por experimento y por comparación (Tabla 14).

Tabla 13. Tasas de error tipo I y tipo II (por experimento y comparación) obtenidas de cada estrategia de análisis de descomposición de materia seca por escenario simulado para una especie de descomposición lenta ($\hat{k} = -0.0015$)

Escenario	Estrategia	Error tipo I		Error tipo II	
		Experimento	Comparación	Experimento	Comparación
$k_{s_i} = k_{s_i'}$	Clásica	0.0463	0.0102		
	Estrategia A	0.4509	0.2029		
	Estrategia B	0.1244	0.0712		
$(k_{s_1} = k_{s_2}) \neq (k_{s_3} = k_{s_4})$	Clásica	0.0207	0.0106	0.7461	0.4371
	Estrategia A	0.3304	0.217	0.1473	0.0557
	Estrategia B	0.0856	0.0473	0.0574	0.031
$k_{s_1} \neq (k_{s_2} = k_{s_3} = k_{s_4})$	Clásica	0.0323	0.0127	0.685	0.4486
	Estrategia A	0.3625	0.2169	0.1203	0.0567
	Estrategia B	0.1199	0.08	0.1004	0.0572
$k_{s_i} \neq k_{s_i'}$	Clásica			0.8606	0.2247
	Estrategia A			0.1559	0.0284
	Estrategia B			0.4070	0.0763

Tabla 14. Tasas de error tipo I y tipo II (por experimento y comparación) obtenidas de cada estrategia de análisis de descomposición de materia seca por escenario simulado para una especie de descomposición rápida ($\hat{k} = -0.0045$)

Escenario	Estrategia	Error tipo I		Error tipo II	
		Experimento	Comparación	Experimento	Comparación
$k_{s_i} = k_{s_i'}$	Clásica	0.0493	0.0114		
	Estrategia A	0.848	0.8261		
	Estrategia B	0.328	0.1875		
$(k_{s_1} = k_{s_2}) \neq (k_{s_3} = k_{s_4})$	Clásica	0.0235	0.0118	0.8721	0.5936
	Estrategia A	0.8273	0.8208	0.1143	0.0585
	Estrategia B	0.2578	0.1373	0.4557	0.3568
$k_{s_1} \neq (k_{s_2} = k_{s_3} = k_{s_4})$	Clásica	0.0369	0.0143	0.8267	0.6029
	Estrategia A	0.8311	0.8201	0.1007	0.0615
	Estrategia B	0.2445	0.1632	0.483	0.3801
$k_{s_i} \neq k_{s_i'}$	Clásica			0.9646	0.3141
	Estrategia A			0.1687	0.0371
	Estrategia B			0.7868	0.2162

En síntesis, los resultados obtenidos del análisis de los datos del experimento real de descomposición y las simulaciones indicaron que la estrategia clásica es la más conservadora de las estrategias, con menor error tipo I y mayor error tipo II. La estrategia A es la mejor bajo el escenario de diferencias entre todos los pares de sitio. En escenarios intermedios, la estrategia B es la mejor en especies de descomposición lenta, mientras que en especies de descomposición rápida la selección de la estrategia dependerá del error se desee minimizar.

CAPÍTULO 5

Discusión y conclusiones

Actualmente, a pesar de la amplia investigación del proceso de descomposición de material vegetal mediante experimentos de descomposición no existe consenso sobre cuál es el mejor modelo para analizar estos datos. Autores como Wieder (1982), Rovira and Rovira (2010) Manzoni et al. (2012), Cornwell and Weedon (2014) han propuesto estrategias de análisis que bajo diferentes enfoques explican comportamientos específicos de los datos observados en experimentos de descomposición.

Las estrategias A y B desarrolladas en este trabajo se basan en el uso de MNLM, en los que se aprovecha toda la información simultáneamente para obtener para una especie una constante de decaimiento por sitio a través de un único modelo. Los MNLM son más flexibles ya que permiten tomar en cuenta la estructura de las unidades experimentales y contemplar la estructura de varianza-covarianza residual (Pinheiro and Bates, 2000).

En el experimento de descomposición se alcanzaron porcentajes de material vegetal remanente considerados bajos, llegando inclusive al 0%. Estos resultados garantizan que el experimento representó el proceso de descomposición, como menciona Bernhard-Reversat (1982), para estudiar la descomposición en su primera fase o fase rápida se debe descomponer al menos el 50% del material vegetal.

En las especies estudiadas se observa cómo el material vegetal se va descomponiendo a través del tiempo a diferentes velocidades (k) dependiendo del sitio en el que se dispuso el material. Estas diferencias se deben a los principales factores que intervienen en el proceso de descomposición, la calidad del material vegetal estudiado (especie) y las condiciones ambientales del sitio (humedad y temperatura principalmente) (Karberg et al., 2008; Djukic et al., 2018; Barlocher, 2020).

Con la estrategia clásica de análisis (Jenny et al., 1949) y las dos estrategias propuestas en este trabajo se logró comparar las constantes de decaimiento k entre los diferentes sitios, uno de los

objetivos principales de los estudios de descomposición (Wieder and Lang, 1982). Los resultados obtenidos con la estrategia clásica (Esquivel et al., 2020) concuerdan con los obtenidos por las dos estrategias de análisis basadas en modelos no lineales mixtos.

En general la estrategia basada en el ajuste de todos los MNLM de efectos fijos y selección del mejor modelo mostró ventajas al estimar errores estándar de la diferencia de medias entre sitios menores en los análisis realizados con los datos reales (Tabla 12). La estrategia clásica, aunque con los datos del experimento estimó errores estándar de la diferencia de medias mayores, en las simulaciones mostró las menores tasas de error tipo I por experimento y por comparación en el escenario bajo hipótesis nula cierta. Este resultado evidencia por qué la estrategia clásica se sigue manteniendo como una de las posibles estrategias de análisis de datos provenientes de experimentos de descomposición (Wieder and Lang, 1982; Rovira and Rovira, 2010; Manzoni et al., 2012; Cornwell and Weedon, 2014).

Las simulaciones mostraron que entre las estrategias A y B, la segunda estimó menor tasa de error tipo I por experimento y por comparación en ambos tipos de especies (rápida y lenta descomposición). Luego, en cuanto al error tipo II, en la especie de descomposición lenta, la estrategia B estimó una tasa de error menor excepto en el escenario que fijó constantes de descomposición diferentes entre todos los sitios, mientras en la especie de descomposición rápida, bajo todos los escenarios, la menor tasa de error tipo II se obtuvo con la estrategia A.

En resumen, las estrategias A y B son estrategias más eficientes ya que utilizan toda la información proveniente de una misma especie arbórea, toma en cuenta la estructura experimental llevada a cabo en los experimentos de bolsas de descomposición, y la flexibilidad de los MNLM permite modelar alejamientos de los supuestos distribucionales de los errores residuales, además de disminuir el error estándar de comparación entre los niveles de la variable clasificatoria de interés (sitio en el experimento real).

En conclusión, en este trabajo se describieron dos nuevas estrategias para el análisis de datos provenientes de experimentos de descomposición, ambas basadas en el uso de MNLM. Al compararlas con la estrategia clásica se encontró que ambas estimaron errores estándar de

comparación entre sitios menores (datos experimentales) y menor tasa de error tipo II (simulaciones). Además, la estrategia A es la mejor bajo el escenario de diferencias entre todos los pares de sitio. En escenarios intermedios, la selección de la estrategia dependerá de la tasa de error que se desee controlar. El uso de estos modelos en los estudios de descomposición se considera novedoso y los hallazgos propician su uso por parte de los investigadores.

Bibliografía

- Aerts, R; De Caluwe, H. (1997). Nutritional and plant-mediated controls on leaf litter decomposition of *Carex* species. *Ecology* 78: 244-260.
- Barlocher, F. (2020). Leaf Mass Loss Estimated by the Litter Bag Technique. In: Barlocher, F; Gessner, M; Graca, M. (eds) *Methods to Study Litter Decomposition*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30515-4_6
- Berg, Bjorn; McClaugherty, C. (2008). *Plant Litter. Decomposition, humus formation, carbon sequestration*. Third Edition. Springer. ISBN: 978-3-540-74922-6.
- Berg, Bjorn. (2014). Decomposition patterns for foliar litter – A theory for influencing factors. *Soil. Biology and Biochemistry* 78: 222-232.
- Bermeo, Diego. (2010). *Determinación y caracterización de tipos funcionales de plantas (TFPs) en bosques secundarios dentro de un gradiente altitudinal y su relación con variables bioclimáticas*. Disertación, Escuela de Posgrado, Centro Agronomico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Costa Rica.
- Bernhard-Reversat, F. (1982). Measuring litter decomposition in a tropical forest ecosystem: comparison of some methods. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences* 8: 63-71.
- Bolom-Ton, F. (2016). *Factors affecting variation in forest community characteristics and leaf-litter decomposition in tropical montane forest of Chiapas, México: a functional ecology approach*. Dissertation, Joint Doctoral Programme CATIE-BANGOR University.
- Bradford, M; Tordoff, G.M; Eggers, T; Jones, T; Newington, J.E. (2002). Microbiota, fauna, and mesh size interactions in litter decomposition. *OIKOS* 99: 317-323. ISSN 0030-1229.
- Bradford, M; Bjorn, B; Maynard, D; Wieder, W and Stephen Wood. (2016). Understanding the dominant controls on litter decomposition. *Journal of Ecology* 104: 229-238. Doi: 10.1111/1365-2745.12507.

- Carney, K; Matson, P. (2005). Plant Communities, Soil Microorganisms, and Soil Carbon Cycling: Does Altering the World Belowground Matter to Ecosystem Functioning? *Ecosystems* 8: 928-940. DOI: 10.1007/s10021-005-0047-0.
- Casanoves, F; Pla, L; Di Rienzo, J. A. (2011). Valoración y análisis de la diversidad funcional y su relación con los servicios ecosistémicos. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Serie Técnica, informe #384.
- Cornwell, W; Weedon, J. (2014). Decomposition trajectories of diverse litter types: a model selection analysis. *Methods in Ecology and Evolution* 5: 173-182. DOI 10.1111/2014-210X.12138.
- Cortez, J. (1998). Field decomposition of leaf litters: relationships between decomposition rates and soil moisture, soil temperature and earthworm activity. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 783-793.
- Cortez, J; Garnier, E; Pérez-Harguindeguy, N; Debussche, M; Gillon, D. (2007). Plant traits, litter quality and decomposition in a Mediterranean old-field succession. *Plant Soil* 296: 19-34. DOI 10.1007/s11104-007-9285-6.
- Cuchiatti, A; Marcotti, E; Conti, G; Casanoves, F; Mazzarino, M; Vaieretti, M; Díaz, S; Pérez-Harguindeguy, N. (2017). Uso de la tierra y ambiente local de descomposición en el Chaco Semiárido de Córdoba, Argentina. *Ecología Austral* 27: 326-339.
- Cusack, D; Chou, W; Yang, W; Harmon, W and the Lidet Team. (2009). Controls on long-term root and leaf litter decomposition in neotropical forests. *Global Change Biology* 15: 1339-1355. DOI 10.1111/j.1365-2486.2008.01781.x.
- Davidian, M; Giltinan, D. (2003). Nonlinear models for repeated measurements: an overview and update. *Agricultural Biological and Environmental Statistics* 8 (4): 387-419. DOI 10.1198/1085711032697.
- Del Valle-Arango, J. (2003). Descomposición de la hojarasca fina en bosques pantanosos del pacífico colombiano. *Interciencia* 28, #3, 148-153.

- Di Rienzo J.A; Macchiavelli R.E; Casanoves F. (2014). Modelos lineales generalizados mixtos. Aplicaciones en InfoStat. Disponible en www.infostat.com.ar. 49 p.
- Djukic, I; Kepfer-Rojas, S; Kappel, I; Steenberg, K; Beier, C; Berg, B; Verheyen, K. (2018). Early stage litter decomposition across biomes. *Science of the Total Environment* 628-629: 1369-1394. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.012.
- Esquivel, J. M. (2013). Plant traits and litter decomposition of tree species naturally regenerating in Central America pasturelands. Dissertation, Joint Doctoral Programme CATIE-BANGOR University.
- Esquivel, J. M; Bae, B; Park, G; Casanoves, F; Delgado, D; Finegan, B. (2020). Altitude and species identity drive leaf litter decomposition rates of ten species on a 2950 m altitudinal gradient in Neotropical rain forests. *Biotropica* 52: 11-21. DOI: 10.1111/btp.12730.
- Fioretto, A; Di Nardo, C; Papa, S; Fuggi, A. (2005). Lignin and cellulose degradation and nitrogen dynamics during decomposition of three leaf litter species in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 1083-1091. DOI 10.1016/j.soilbio.2004.11.007.
- García, A. (2009). Determinación y comparación de la descomposición de hojarasca en bosques con diferentes grados de intervención en el noreste de Costa Rica. Disertación, Escuela de Posgrado, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE).
- Hobbie, S. (2008). Nitrogen effects on decomposition: a five-year experiment in eight temperate sites. *Ecology* 89 (9): 2633-2644.
- Howard, P. J. A.; Howard, D. M. (1974). Microbial decomposition of tree and shrub leaf litter. 1. Weight loss and chemical composition of decomposing litter. *OIKOS* 25 (3): 341-352.
- Hunt, W. (1977). A simulation model for decomposition in grasslands. *Ecology* 58 (3): 469-484.
- Inagaki, M; Kamo, K; Miyamoto, K; Titin, J; Jamalung, L; Lapongan, J; Miura, S. (2011). Nitrogen and phosphorus retranslocation and N: P ratios of litterfall in three tropical plantations: luxurious N and efficient P use by *Acacia mangium*. *Plant and Soil* 341: 295-307.

- Jenny, H; S. P. Gessel and F. T. Bingham. (1949). Comparative study of decomposition of organic matter in temperate and tropical regions. *Soil Science* 68:419-432.
- Karberg, N.J; Scott, N; Giardina, C. (2008). *Methods for Estimating Litter Decomposition in Field Measurements for Forest Carbon Monitoring*. ISBN 978-1-4020-8506-2.
- Kaspari, M; Garcia, M; Harms, K; Santana, M; Wright, J; Yavitt, J. (2008). Multiple nutrients limit litterfall and decomposition in a tropical forest. *Ecology Letters* 11: 35-43. DOI 10.1111/j.1461-0248.2007.01124.x.
- Keuskamp, J. A; Dingemans, Bas; Lehtinen, T; Sarneel, J; Hefting, M. M. (2013). Tea Bag Index: a novel approach to collect uniform decomposition data across ecosystems. *Methods in Ecology and Evolution* 4: 1070-1075.
- Lanuza, O.; Casanoves, F.; Zahawi, R.; Celentano, D.; Delgado, D.; D. Holl, K. (2018). Litterfall and nutrient dynamics shift in tropical forest restoration sites after a decade of recovery. *Biotropica* 50 (3): 491-498.
- Lanuza, O; Casanoves, F; Delgado, D; Van den Meersche, K. (2019). Leaf litter stoichiometry affects decomposition rates and nutrient dynamics in tropical forests under restoration in Costa Rica: Leaf litter decomposition in tropical forests. *Restoration Ecology*, 27 (3): 549-558.
- Lorenzo, L; Pérez-Harguindeguy, N; Casanoves, F; Oliveira, A. (2014). Recovering from forest-to-pasture conversion: leaf decomposition in Central Amazonia, Brazil. *Tropical Ecology* 30: 93-96. DOI 10.1017/S0266467413000771.
- Manzoni, S; Piñeiro, G; Jackson, R; Jobbágy, E; Kim, J; Porporato, A. (2012). Analytical models of soil and litter decomposition: Solutions for mass loss and time-dependent decay rates. *Soil Biology and Biochemistry* 50: 66-76.
- MEA (Millenium Ecosystem Assessment). (2005). *Ecosystems and human well-being: Biodiversity Synthesis*. World Resources Institute, Washington, DC. 31 p.

- Montagnini, F; Jordan, C.F. (2002). Reciclaje de nutrientes. In Guariguata, M. R., Kattan, G.H. (eds). *Ecología y conservación de bosques neotropicales*. EULAC/GTZ.LUR, Cartago, CR. 168-191.
- Palma, R.M; Prause, J; Fontanive, A.V; Jimenez, M.P. (1998). Litter fall and litter decomposition in a forest of the Parque Chaqueño Argentino. *Forest Ecology and Management* 106: 205-210.
- Pinheiro J.C; Bates D.M. (2000). *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS in Statistics and Computing*. Springer, New York. ISBN 0-387-98957-9.
- Polania, C; Pla, L; Casanoves, F. (2011). Diversidad Funcional y Servicios Ecosistémicos. En *Valoración y análisis de la diversidad funcional y su relación con los servicios ecosistémicos*, Casanoves, F; Pla, L; Di Rienzo, J. A. Eds. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Serie Técnica, informe #384: 5-8.
- Robertson A.I. (1988). Decomposition of mangrove leaf litter in tropical Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 116:235-247. DOI.org/10.1016/0022-0981(88)90029-9.
- Rodriguez, W; Suárez, J.C; Casanoves, Fernando. Biomass contribution and leaf litter decomposition under different agroforestry. *Agroforestry Systems* (En revisión).
- Rovira, P; Rovira, R. (2010). Fitting litter decomposition datasets to mathematical curves: Towards a generalised exponential approach. *Geoderma* 155: 329-343. DOI 10.1016/j.geoderma.2009.11.033.
- Salinas, N; Malhi, Y; Meir, P; Silman, M; Roman, R; Huaman, J; Salinas, D; Huaman, V; Gibaja, A; Farfan, F. (2011). The sensitivity of tropical leaf litter decomposition to temperatura: results from a large-scale leaf translocation experiment along an elevation gradient in Peruvian forests. *New Phytologist* 189: 967-977. DOI 10.1111/j.1469-8137.2010.03521.x.

Singh, K. P; Singh, P. K; Tripathi, S. K. (1999). Litterfall, litter decomposition and nutrient release patterns in four native tree species raised on coal mine spoil at Singrauli, India. *Biol Fertil Soils* 29: 371-378.

Wieder, R. K; Lang, G. E. (1982). A critique of the analytical methods used in examining decomposition data obtained from litter bags. *Ecology* 63 (6): 1636-1642.