

## Análisis de sensibilidad de pruebas de homogeneidad de curvas de producción de gas *in vitro*, a partir de la simulación por Monte Carlo

O. Jay<sup>1</sup>, Verena Torres<sup>2</sup>, Yoandra Marrero<sup>2</sup> y J. P. Torres<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Estudios de Especies Menores, Universidad de Guantánamo, Carretera al Salvador km 6½, Guantánamo, Cuba

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

<sup>3</sup>Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México

Correo electrónico: ojay@ica.co.cu

Para mejorar las técnicas de evaluación de alimentos para rumiantes mediante un método estadístico que permita la comparación de tratamientos en experimentos de producción de gas *in vitro*, basados en las curvas de regresión, se tomaron los datos de un experimento de producción de gases *in vitro*. Se ajustó la función de Gompertz y se utilizó la simulación mediante el método de Monte Carlo, con el objetivo de analizar la sensibilidad de cuatro pruebas de homogeneidad de modelos de regresión no lineal. Se obtuvieron trece nuevos tratamientos, con 300 repeticiones cada uno y 280 puntos simulados por cada repetición. Las pruebas de homogeneidad fueron: suma de cuadrados extra, criterio de información bayesiano (CIB), criterio de Akaike (CIA) y criterio de Akaike corregido (CIAC). Se evaluaron los criterios de comparación con modificaciones a los parámetros, en orden de 1, 3, 5 y 10 %. La metodología desarrollada para la comparación de las curvas se basó en la definición de los modelos completo y reducido. La sensibilidad de cada método se estableció según la probabilidad de cumplimiento de la hipótesis nula. El CIAC mostró mayor sensibilidad, seguido por la prueba de suma de cuadrados extra. El CIA y CIB fueron los menos sensibles. El parámetro que más influyó en las diferencias entre tratamientos fue el coeficiente asintótico (A).

Palabras clave: suma de cuadrados extra, criterio de información, regresión no lineal, comparación de tratamientos.

Las técnicas de producción de gases *in vitro*, utilizadas en la evaluación de alimentos para rumiantes, son de gran interés para la investigación en nutrición animal, por su bajo costo y porque no son invasivas. Además, admiten gran cantidad de unidades experimentales (Rodríguez 2010). El desarrollo de programas estadísticos ha permitido la incorporación de modelos no lineales en el análisis de los resultados (López *et al.* 2007). Estos modelos permiten la interpretación teórica del proceso fisiológico por medio de la vinculación de ecuaciones matemáticas con los datos experimentales. A la vez, logran cuantificar la influencia de los parámetros que caracterizan la degradabilidad del alimento en el rumen.

Entre las potencialidades del uso de la modelación está la comparación estadística de tratamientos con los correspondientes diseños experimentales, tomando como criterio de comparación la dinámica de degradación de los alimentos descrita por la curva de regresión. Sin embargo, a pesar de los avances alcanzados en esta rama de la estadística, no se ha investigado ampliamente acerca de las pruebas de homogeneidad de las curvas de regresión aplicables a los experimentos.

Es de interés la obtención de un método estadístico correcto para estas comparaciones, ya que permitiría la realización de nuevas investigaciones para encontrar nuevas formas de manejo rentable y sustentable en la alimentación de rumiantes. Como resultado, se aprovecharían mejor los recursos disponibles, con el consiguiente aumento de las producciones de leche y carne.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la sensibilidad

de cuatro pruebas de homogeneidad de modelos de regresión no lineal mediante la simulación de curvas de producción de gas *in vitro*, con la aplicación del método de Monte Carlo modificando los valores de los parámetros. Se analizó además, la influencia de cada parámetro en el comportamiento de la curva y en la determinación de las diferencias significativas entre los tratamientos.

### Materiales y Métodos

Los datos originales proceden de un experimento de producción de gas *in vitro*, realizado entre el Departamento de Fisiología del Instituto de Ciencia Animal de Cuba y los Laboratorios de Microbiología Molecular y de Química del Programa de Fisiología y Nutrición Animal de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Marrero 2005).

Las mediciones de gas se realizaron durante 24 h, en intervalos de 20.4 min, con cuatro repeticiones y 70 mediciones por cada repetición. Se considera además, que en el inicio de las mediciones (t=0) la producción de gases (PG) es nula, para un total de 284 puntos experimentales.

Para la regresión no lineal, se considera el modelo bicompartimental (Figura 1) de Thornley y France (2007). Para este, el sustrato es un compartimiento con dos fracciones, una degradable y otra no. El otro compartimento es el gas producido, a una tasa de producción inversamente proporcional al gas producido previamente.

El esquema se representa matemáticamente mediante la ecuación diferencial :

$$\frac{dPG}{dt} = -\mu(t) PG \quad (1)$$

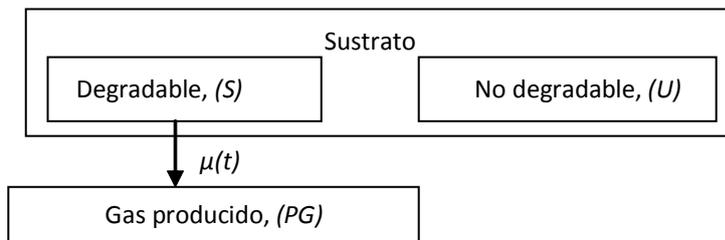


Figura 1. Esquema bicompartimental de producción de gases

cuya solución es la función de Gompertz:

$$PG = A \exp(-be^{-ct}) \quad (2), \text{ donde:}$$

PG: producción de gas

A, = Parámetro asintótico, caracteriza la cantidad de gas máxima que se produce en el experimento.

b y c = Parámetros relacionados con la curvatura del modelo. Caracterizan la velocidad de producción de gas y por tanto, la degradación del sustrato.

t = Tiempo.

Para la verificación de la adecuación del modelo, se consideró la significación de la regresión y de los parámetros, el coeficiente de determinación y el valor del cuadrado medio residual.

La simulación se realizó según Rubinstein y Kroese (2008):

1. Se ajusta la regresión no lineal de los datos experimentales para obtener los estimadores de los parámetros y residuos originales.
2. Se construyen funciones simuladas con la misma ecuación de regresión original. Varía el valor de un parámetro y se deja el resto constante.
3. Se evalúa la función simulada en cada punto de la variable, independiente de la función original, y se le suma el valor de un residuo de la regresión original mediante selección al azar.
4. Con estos puntos simulados se ajusta la regresión nuevamente para obtener la curva simulada.

El orden del variación de los parámetros de simulación (1, 3, 5 y 10 %) se efectuó de acuerdo con los resultados de Calabro *et al.* (2005) y García-Rodríguez *et al.* (2005), donde el intervalo de confianza de la estimación de los parámetros de regresión se halla entre 1 y 10 % del valor absoluto del parámetro para experimentos de producción de gas *in vitro*. Estos parámetros se establecieron de manera que, para las cuatro primeras simulaciones, varió el valor del parámetro A, en orden de 1, 3, 5 y 10 %. Se dejó constante el resto de los parámetros. Para las cuatro siguientes se varió el parámetro b en el mismo orden, y

en las últimas cuatro se modificó el valor del parámetro c en el mismo orden.

La función para la simulación con las variaciones en los parámetros fue:

$$PG_{k,i}^* = A_k^* \exp(-b_k^* e^{-c_k^* t_i}) + \varepsilon_{k,i}^* \quad (3)$$

donde:

k = Cantidad de tratamientos simulados (k=1, 2,...,12)

i = Cantidad de puntos por cada curva (i=1, 2,..., 84)

$PG_{k,i}^*$  = i-ésimo punto de la k-ésima simulación.

$t_i$  = Tiempo correspondiente a la i-ésima observación en el experimento original.

$\varepsilon_{k,i}^*$  = i-ésima componente del vector de residuos simulado, obtenido a partir de una selección al azar con reemplazo de los residuos originales.

$A_k^*, b_k^*, c_k^*$ : k = ésimos parámetros de simulación, que son modificaciones de los originales, según se muestran en la tabla 1.

Las comparaciones se realizaron entre el tratamiento cero y cada uno de los restantes. Se realizaron 300 repeticiones por cada comparación entre tratamientos.

Para la comparación se utilizó el método de los modelos completo y reducido, descrito en Schabenberger *et al.* (1999) y Motulski y Christopoulos (2003).

Sea la función del modelo de regresión para el tratamiento k,  $F_k$  y para h,  $F_h$ , la prueba de hipótesis quedará como sigue:

$$\begin{cases} H_0: F_k = F_h, & k \neq h \\ H_1: F_k \neq F_h \end{cases} \quad (5)$$

Para el cumplimiento de la hipótesis nula, se plantea el modelo reducido, que considera que todos los puntos pertenecen a una sola curva:

$$M_{Reducido} = f(A_\rho b_\rho c_\rho t) + \varepsilon \quad (6)$$

La otra expresión, correspondiente al cumplimiento de la hipótesis alternativa, se denomina modelo completo. En este se ajustan los puntos, como pertenecientes a curvas diferentes para cada tratamiento. Se obtiene como

Tabla 1: Esquema de cálculo de los parámetros de simulación por tratamientos

P.S.	Tratamientos												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A*	A	1.01A	1.03A	1.05A	1.1A	A	A	A	A	A	A	A	A
b*	b	b	b	b	b	1.01b	1.03b	1.05b	1.1b	b	b	b	b
c*	c	c	c	c	c	c	c	c	c	1.01c	1.03c	1.05c	1.1c

P.S. Parámetros de simulación

resultado una función compuesta.

$$M_{Completo} = \frac{f(A_k, b_k, c_k, t) + \varepsilon_{Tratamiento k}}{F(A_i, b_i, c_i, t) + \varepsilon_{Tratamiento i}} \quad (7)$$

La bondad de ajuste de los modelos completo y reducido constituye una medida del cumplimiento de una u otra hipótesis. Existen pruebas estadísticas que permiten al investigador rechazar o no la hipótesis nula.

Pruebas de homogeneidad de curvas:

1. Prueba de suma de cuadrados extra (Schabenberger *et al.* 1999), realizada mediante el estadístico F, según se indica:

$$F = \frac{SC_{Reducido} - SC_{Completo} / gl_{Reducido} - gl_{Completo}}{SC_{Completo} / gl_{Reducido}}$$

donde:

SC = Suma de cuadrados residual de la regresión de los modelos completo y reducido.

gl = Grados libertad de las correspondientes sumas de cuadrados residuales.

La F calculada se compara con el estadístico de Fisher, con los grados de libertad en el numerador y en el denominador glReducido-glCompleto y glCompleto, respectivamente.

2. Criterio de información bayesiano (CIB) (Konishi *et al.* 2004), se expresa como:

$$CIB = N \ln \left( \frac{SC}{N} \right) + K \ln(N) \quad (11)$$

donde:

N = Número de datos

K = Número de parámetros de la ecuación de ajuste a la regresión más uno

SC = Suma de cuadrados de los residuos

3. Criterio de información de Akaike (CIA), dado por Motulsky y Christopoulos (2003). Se define por la expresión:

$$CIA = N \ln \left( \frac{SC}{N} \right) + 2K \quad (9)$$

4. Criterio de información de Akaike corregido (CIAC), con la corrección de Hurvish y Tsai (1989), propuesto originalmente para situaciones con pocos puntos experimentales para la comparación de los modelos. Incluye el número de puntos en la corrección:

$$CIAC + \frac{CIA + 2K(K+1)}{N - K - 1} \quad (10)$$

La diferencia entre los valores de los criterios de información correspondientes a los modelos completo y reducido, se denota por la letra griega Δ:

Δ = criterio de información del modelo completo – criterio de información del modelo reducido (12)

La probabilidad de cumplimiento de la hipótesis nula se establece por la ecuación:

$$P = \frac{e^{-\frac{\Delta}{2}}}{1 + e^{-\frac{\Delta}{2}}} \quad (13)$$

En todos los criterios de información se calcula el valor de Δ y de P.

El criterio de decisión teórico para el rechazo de H<sub>0</sub> está dado por:

$$P = \frac{e^{-\frac{\Delta}{2}}}{1 + e^{-\frac{\Delta}{2}}} < 0.05 \Rightarrow \Delta_{0.05} > 6.09 \quad (14)$$

Se analizó la correspondencia entre la frontera de decisión teórica de cada prueba de homogeneidad y la estimada mediante la simulación.

*Las pruebas de sensibilidad.* La sensibilidad de la prueba de homogeneidad de curvas de regresión se define como la capacidad de detectar diferencias significativas (P < 0.05) en comparaciones entre tratamientos con valores muy cercanos de sus parámetros. Para esto se realizó la comparación entre las curvas simuladas del tratamiento 0 (con los parámetros de simulación A<sub>0</sub>, b<sub>0</sub>, C<sub>0</sub>) con los restantes.

Se consideró que el método fue eficaz en la comparación, cuando se encontraron diferencias significativas en más de 285 casos entre las 300 repeticiones realizadas. Todos los análisis estadísticos se realizaron con los programas SPSS 15.0 (2006) y Microsoft Excel 2007 (2008).

## Resultados y Discusión

De acuerdo con Calabro *et al.* (2005) y López *et al.* (2007), la función de Gompertz aplicada a los experimentos de producción de gas *in vitro* reporta, generalmente, buenos criterios de ajuste. Esto se corroboró en este experimento, donde la regresión resultó significativa, a un nivel P < 0.01. El cuadrado medio residual tuvo un valor de 0.715, con 280 grados de libertad. El valor del coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) fue de 0.970. Los parámetros estimados también resultaron significativos y se muestran en la tabla 2.

En la tabla 3 se muestran los parámetros usados en la modelación (4):

Prueba F de suma de cuadrados extra. La tabla 4 informa acerca del comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra para cada una de las comparaciones realizadas.

Con esta prueba se encontraron diferencias significativas en más de 285 casos, cuando los parámetros de simulación A y c variaron en 5 % o más (A vs 1.05A y A vs 1.10A; c vs 1.05c y c vs 1.10c). Para el parámetro b, hubo diferencias significativas en más de 285 casos, solamente cuando el parámetro varió en 10 % (b vs 1.10b). En estas comparaciones, el parámetro variado fue mayor que el límite superior de estimación de los parámetros originales.

Un caso interesante ocurre en la comparación, donde varió el parámetro A en un orden del 3 %. El estadístico F calculado estuvo próximo a la frontera de decisión (2.62 y 2.15 respectivamente), pero no lo suficiente. Esto se corresponde con el número de diferencias detectadas, que representa 93.3% del total, lo que no permite en esta comparación rechazar la hipótesis nula.

La figura 2 muestra el comportamiento del valor del estadístico F, en función del aumento de las diferencias

Tabla 2. Estimaciones de los parámetros de la regresión original

Parámetro	Estimación	E. E.(±)	Intervalo de confianza 95%	
			Límite inferior	Límite superior
A	17.970	0.414	17.155	18.786
b	3.212	0.088	3.038	3.386
c	0.130	0.005	0.119	0.140

Tabla 3. Valores de los parámetros para la simulación.

P.S.	Tratamientos												
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A*	17.97	18.15	18.51	18.87	19.77	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97	17.97
b*	3.21	3.21	3.21	3.21	3.21	3.24	3.31	3.37	3.53	3.21	3.21	3.21	3.21
c*	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.131	0.134	0.137	0.143

P.S. Parámetros de simulación

Tabla 4. Comportamiento de la prueba de suma de cuadrados extra para las simulaciones

Parámetro de simulación que varía	Variación del parámetro	Número de diferencias significativas encontradas (P < 0.05)
A	1.01	71
	1.03	280
	1.05	300*
	1.10	300*
b	1.01	13
	1.03	96
	1.05	184
	1.10	300*
c	1.01	36
	1.03	169
	1.05	299*
	1.10	300*

\*Indica eficacia de la prueba (P < 0.05).

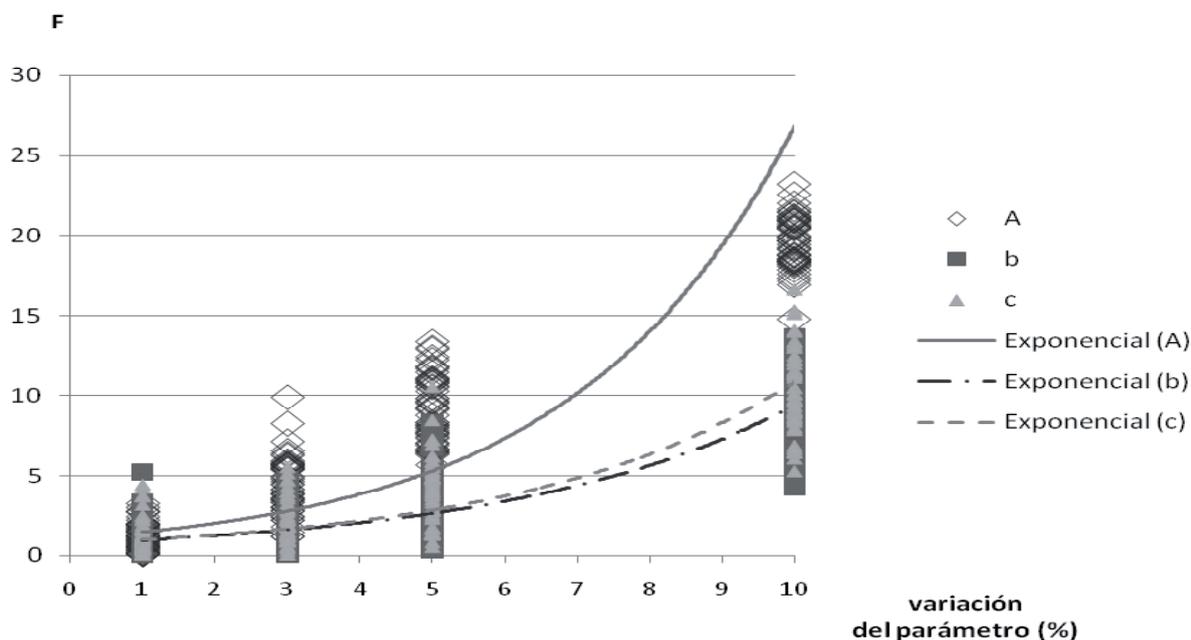


Figura 2. Valores del estadístico F y su tendencia por cada comparación.

entre los tratamientos comparados, dados en porcentaje de variación del parámetro de simulación. Este sigue, aproximadamente, un comportamiento exponencial. Para el parámetro A, la tasa de variación del estadístico F es mucho mayor que para b y c, lo que está en relación con el significado del parámetro en la función de regresión. A medida que aumenta la diferencia entre los parámetros de la función de regresión, aumenta la dispersión de los valores del estadístico.

En la tabla 5 se muestran los resultados correspondientes al CIB.

Para el parámetro A, la prueba es capaz de encontrar diferencias significativas en más de 285 casos, a partir de la variación del 5 % del parámetro de comparación (A vs 1.05A). Para los parámetros b y c, solo alcanza este valor para variaciones a partir del 10 % (b vs 1.10b y c vs 1.10c). Cuando la comparación se realizó entre tratamientos, con valores muy próximos a los parámetros de la simulación, el método prácticamente

no detectó alguna diferencia significativa. Este comportamiento fue más evidente para el parámetro b, para el cual fue totalmente ineficaz en las tres primeras comparaciones.

La dependencia de los valores de Δ, con respecto a la variación de los parámetros, es aproximadamente la de un polinomio de segundo orden (figura 3). En este caso, al igual que para F, la dispersión de los valores aumentó a medida que se incrementó la diferencia entre los parámetros.

Para diferencias de hasta 1 % en las estimaciones de A, hasta 3 % en b y hasta 5 % en c, aparecen valores de Δ menores que cero. De acuerdo con la relación expresada en 10, el valor de Δ es menor que cero, cuando se cumple la desigualdad:

$$(SCR_{reducido})^N < (SCR_{completo})^N N^k \quad (15)$$

Cuando los valores de las sumas de cuadrados de los modelos completo y reducido son muy próximos entre sí, la diferencia entre los CIB será negativa.

Tabla 5. Comportamiento del CIB para las variaciones de los parámetros

Parámetro de simulación que varía	Variación del parámetro	No. de diferencias significativas detectadas (P<0.05)
A	1.01	1
	1.03	76
	1.05	292*
	1.10	300*
b	1.01	1
	1.03	1
	1.05	6
	1.10	295*
c	1.01	1
	1.03	9
	1.05	194
	1.10	300*

\*Indica eficacia de la prueba (P < 0.05).

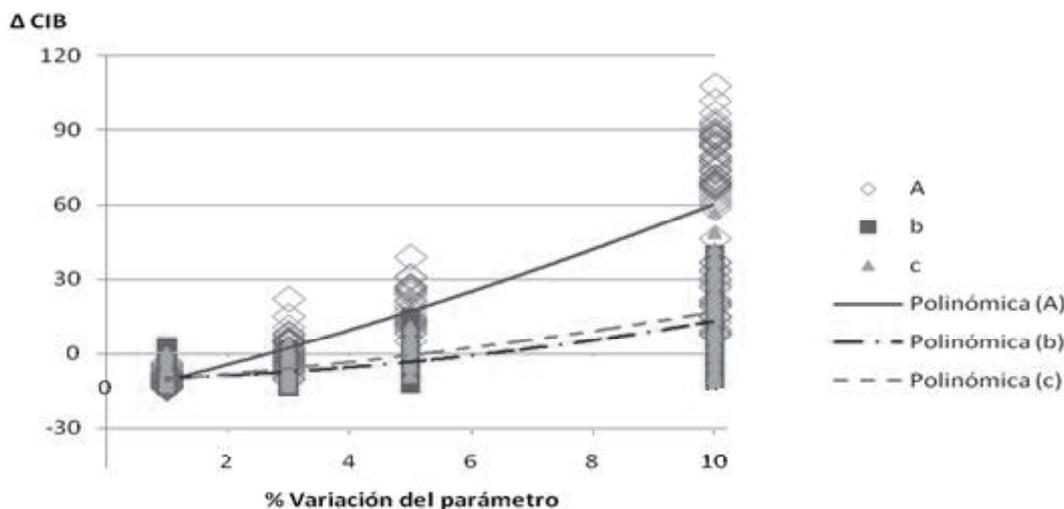


Figura 3. Valores ΔCIB y su tendencia por cada comparación

Estos resultados indican que la sensibilidad del criterio de información bayesiano es inferior a la prueba de suma de cuadrados extra.

La tabla 6 presenta simultáneamente el comportamiento de los CIA y CIAC. Se muestran los dos criterios a la vez por la similitud de ambos en su naturaleza matemática, con énfasis en la corrección por el número de puntos experimentales.

Las medias de los  $\Delta$  correspondientes al CIA y CIAC en cada comparación son mayores que el CIB, debido a que el factor que acompaña al logaritmo de la suma de cuadrados residuales es numéricamente mayor. No obstante, se encuentran valores negativos de  $\Delta$ , correspondientes al cumplimiento de la desigualdad derivada de la ecuación (10):

$$\ln \left( \frac{SCR_{completo}}{SCR_{reducido}} \right) < \frac{2k}{N} \quad (16)$$

El  $\Delta$ CIA detectó diferencias significativas en más de

285 casos, comparaciones en las que la variación en el parámetro A fue de 5 % o superior, para variaciones del 10% del parámetro b, y de 5 % del parámetro c.

Las diferencias significativas se detectaron para variaciones en los parámetros de la simulación, similares a los de la prueba de suma de cuadrados extra. Por tanto, no se puede afirmar que la sensibilidad de esta prueba sea mayor.

El comportamiento de la dependencia de los valores de  $\Delta$ CIA con respecto a la variación de los parámetros es aproximadamente la de un polinomio de segundo orden al igual que en el  $\Delta$ CIB. Existe también para este criterio una dispersión mayor de los valores a medida que aumentó la diferencia entre los parámetros de la simulación, como se indica en la figura 4.

El número de diferencias encontradas por el  $\Delta$ CIAC fue mayor de 285 con respecto a los tratamientos donde el parámetro de simulación A varió en 3 % o más, con

Tabla 6. Comportamiento de los criterios de información de Akaike y Akaike corregido para las variaciones de los parámetros

Parámetros	Diferencias. (%)	Variación del parámetro	No. de diferencias significativas detectadas (P<0.05)	
			CIA	CIAC
A	1	1.01	17	104
	3	1.03	238	294*
	5	1.05	300*	300*
	10	1.10	300*	300*
b	1	1.01	3	30
	3	1.03	29	144
	5	1.05	98	214
	10	1.10	300*	300*
c	1	1.01	11	64
	3	1.03	107	225
	5	1.05	293*	299*
	10	1.10	300*	300*

\*Indica eficacia de la prueba (P < 0.05).

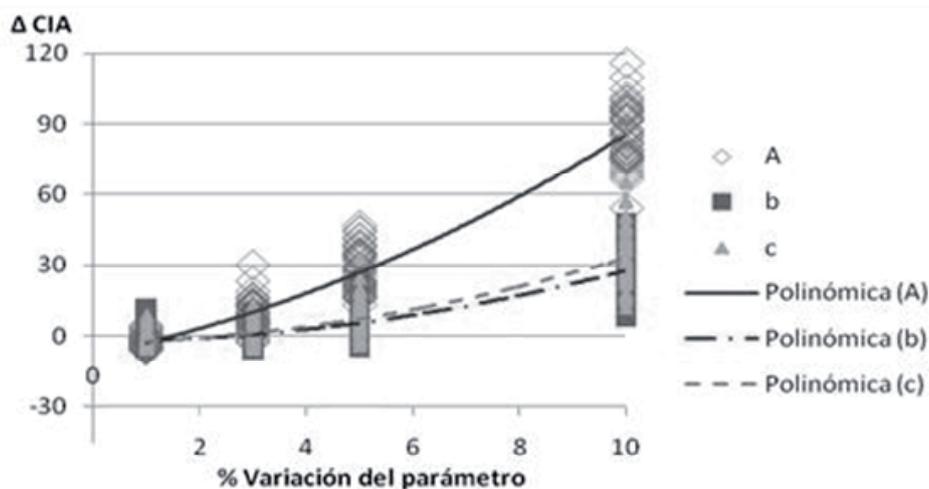


Figura 4. Valores  $\Delta$ CIA y su tendencia por cada comparación.

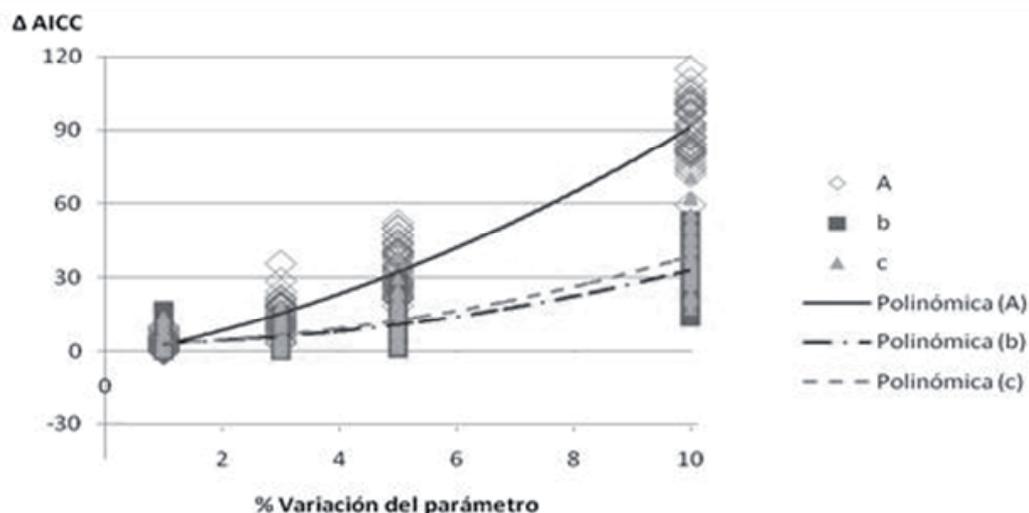


Figura 5. Valores  $\Delta AICC$  y su tendencia por cada comparación

respecto a la variación de 10 % del parámetro b y de 5% del c. Asimismo, los valores de las medias de  $\Delta$  son ligeramente superiores que el valor de la frontera de decisión teórico, aun donde no se alcanza el número de diferencias significativas superior a 285. Esto se debe a la inclusión del término de corrección (Hu 2007).

El comportamiento de este criterio indica que el término de corrección es importante en la comparación de los modelos, inclusive cuando el número de puntos experimentales sea relativamente grande (Burham y Anderson 2004).

En todas las comparaciones, el número de detecciones del CIAC fue mayor que el de la prueba F, CIB y CIA. El comportamiento del estadístico con respecto a las variaciones en los tratamientos es cuadrático, similar a los restantes criterios de información. La tasa de variación es mayor, como consecuencia de ser la prueba de mayor sensibilidad. También la dispersión presente, a medida que aumenta la diferencia entre los tratamientos, es la menor de todos los criterios de información.

El parámetro A es el que más influyó en la sensibilidad, que representa la asíntota de la curva e indica la cantidad total de gas producido en el experimento como resultado de la dependencia lineal de la producción de gas con este parámetro. El otro parámetro de mayor influencia es el c, indicador de la tasa de producción de gas, también como consecuencia de la posición que ocupa este parámetro en la función de Gompertz. El caso de b, es el de menor influencia en la sensibilidad, debido a que con respecto a este parámetro, la dependencia de la producción de gases es logarítmica.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, se concluye que la prueba más sensible para la comparación de tratamientos es el CIAC. Le sigue la prueba F de suma de cuadrados extra y el CIA.

Aunque de acuerdo con Schabenberger y Pierce (2002), la prueba de suma de cuadrados extra debe tener una sensibilidad igual a los criterios de información, el hecho de no ser el más sensible puede explicarse debido a la alta

dependencia de la prueba con el estricto cumplimiento de los supuestos en la regresión. A medida en que los datos experimentales se alejan de la distribución ideal, la prueba F perderá sensibilidad (Seber y Wild 2003). Se concluye que el criterio de información de Akaike corregido es una herramienta eficaz para la comparación de tratamientos, tomando como base las curvas de producción de gas *in vitro*. Este método constituye una poderosa herramienta para aplicarla en los diferentes diseños experimentales que se utilizan en la investigación en esta rama de la ciencia.

### Referencias

- Burnham, K.P. & Anderson, D.R. 2004. Multimodel inference. Understanding AIC and BIC in model selection. *Sociological Methods Research*. 33: 261
- Calabro, S., Lopez, S., Piccolo, V., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S. & France, J. 2005. Comparative analysis of gas production profiles obtained with buffalo and sheep ruminal fluid as the source of inoculum. *Animal Feed Sci. Tech.* p. 123-124
- García-Rodríguez, A., Mandaluniz, N., Flores, G. & Oregui, L.M. 2005. A gas production technique as a tool to predict organic matter digestibility of grass and maize silage. *Animal Feed Sci. Tech.* 123:267
- Hu, S. 2007. Akaike Information Criterion. Conferencia impartida en North Carolina State University. Center Res. Sci. Computing
- Hurvish, C. M. & Tsai, C. L. 1989. Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*. 76: 297
- Konishi, S., Ando, T. & Imoto, S. 2004. Bayesian information criteria and smoothing parameter selection in radial basis function networks. *Biometrika* 91:27
- López, S., Dhanoa, M.S., Dijkstra, J., Bannink, A., Kebreab, E. & France, J. 2007. Some methodological and analytical considerations regarding application of the gas production technique. *Anim. Feed Sci. Tech.* 135:139
- Marrero, Y. 2005. Las levaduras como mejoradores de la fermentación ruminal de dietas con alto contenido de fibra. Tesis Dr. La Habana. 151 pp.
- Microsoft Corporation. 2008. Microsoft Office Excel 2007 SP 2.
- Motulsky, H. J. & Christopoulos, A. 2003. Fitting models to

- biological data using linear and nonlinear regression. Graph Pad Software. San Diego. 351
- Rodríguez, R. 2010. Estudio *in vitro* del valor nutritivo y de los efectos antinutricionales de cuatro leguminosas arbóreas tropicales con potencialidades como suplementos del *Pennisetum purpureum*. Tesis Dr. Zaragoza.
- Rubinstein, R.Y. & Kroese, D. P. 2008. Simulation and the Monte Carlo Method. John Wiley & Sons Inc. New Jersey. 377
- Schabenberger, O. & Pierce, F. J. 2002. Contemporary statistical models. CRC Press. Boca Raton. 195
- Schabenberger, O., Tharp, B. E., Kells, J. J. & Penner, D. 1999. Statistical Test for Hormesis and Effective Dosages in Herbicide Dose Response. *Agronomical J.* 91:713
- Seber, G. A. F. & Wild, C. J. 2003. Nonlinear regression. John Wiley & Sons. New York. 512.
- Thornley, J. H. M. & France, J. 2007. Mathematical Models in Agriculture. CAB International. Oxon. 889.

**Recibido: 7 de septiembre de 2011**