

## Implicancias del efecto de las interacciones en la interpretación de experimentos factoriales en biología

PRISCILA WILLEMS<sup>1,✉</sup> & ESTELA RAFFAELE<sup>2</sup>

1 Inst. Nac. de Tecnología Agropecuaria - Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, Bariloche, ARGENTINA  
2 Departamento Ecología, Universidad Nacional del Comahue, Bariloche, ARGENTINA

**RESUMEN.** Los experimentos factoriales son muy usados en biología, especialmente para estudiar la forma en que dos o más factores se relacionan. La presencia de una interacción significativa indica que los factores no son independientes entre sí. En experimentos factoriales de efectos fijos hay dos aspectos relacionados a considerar frente a una interacción significativa: 1) el análisis posterior una vez detectada la misma, y 2) la conclusión sobre el resto de las hipótesis del modelo. El objetivo de este trabajo es discutir las implicancias que tienen las interacciones significativas sobre las inferencias a realizar en el conjunto de hipótesis de experimentos factoriales de efectos fijos. Se analizan datos correspondientes a cuatro experimentos ecológicos hipotéticos en los cuales la interacción entre los factores es significativa. De cada uno de los ejemplos se discute la interpretación biológica de los promedios marginales ante la existencia de la interacción.

**ABSTRACT. Implications of interaction effects on the interpretation of factorial experiments in biology:** Factorial experiments are commonly used in biology, particularly to study the way in which two or more factors are related. The presence of a significant interaction indicates that the factors are not independent. In this case, two related aspects should be considered: 1) the *post hoc* analysis after detecting the significant interaction, and 2) the conclusion on the other hypotheses included in the model. The objective of this work is to discuss the importance and implications of the significant interactions on the inferences of the hypotheses of factorial models with fixed effects. We include four hypothetical problems in ecology with hypothetical data reflecting different scenarios with significant interactions. In each example, we discuss the possible biological significance of the marginal means of one factor averaged over the levels of the other in the presence of significant interactions, their *post hoc* analysis, and inferences.

### INTRODUCCIÓN

En ensayos de investigación, ya sean experimentos manipulativos o mensurativos (Hurlbert 1984), es muy común evaluar en forma conjunta el efecto de distintos tipos de cambios producidos sobre un determinado sistema (Cox 1958). Es decir, interesa estudiar el efecto, expresado como resultante, de la presencia simultánea de dos o más factores. Cox (1958) define como factor a cada tratamiento básico (e.g., droga, especies, dietas) y como niveles del factor a las posibles formas que toma el mismo (e.g., distintas dosis de la droga, diferentes especies, diferentes dietas, respectivamente). El efecto de los factores considerados se evalúa a través de la respuesta

observada (variable dependiente) en cada unidad experimental. La forma en que los niveles de estos factores se encuentran relacionados origina ensayos con estructuras cruzadas o anidadas. Los primeros son los denominados ensayos con arreglo factorial de los tratamientos (experimentos factoriales). Según sean los supuestos adjudicados a los factores en cuestión (que dependen del modo de elección de los niveles de los factores), se generan los conocidos modelos de efectos fijos, aleatorios o mixtos. El desarrollo teórico de estos modelos está ampliamente tratado en numerosos libros; por ejemplo, Cox (1958), Searle (1971), Montgomery (1981), Steel & Torrie (1988), Milliken & Johnson (1992) y Underwood (1997).

✉ INTA-EEA Bariloche; CC 277; 8400 Bariloche, Río Negro, ARGENTINA. pwillems@bariloche.inta.gov.ar

Recibido: 29 diciembre 2000; Revisado: 15 octubre 2001  
Versión final: 19 noviembre 2001; Aceptado: 27 noviembre 2001

En modelos de efectos fijos, el aporte de los ensayos factoriales es valioso en etapas exploratorias, cuando el conocimiento sobre la combinación óptima de niveles de los factores es escaso, o bien cuando se desconoce cuáles de ellos son importantes sobre el fenómeno en estudio (Steel & Torrie 1988). Al aplicar estos modelos con estructura cruzada de los factores, y principalmente cuando son de carácter cualitativo, la atención se fija en: 1) la interacción (el comportamiento de la variable en estudio según varían los niveles de un factor a través de los niveles del otro u otros), y 2) los efectos principales (el comportamiento de dicha variable producido por cada uno de los factores en forma independiente). Es decir, los ensayos factoriales permiten extraer información sobre la independencia o dependencia de los factores (Underwood 1997). Cuando esta relación es de dependencia, los factores interactúan.

En general, el análisis de este tipo de ensayos se lleva a cabo mediante pruebas de hipótesis, de cuyos resultados surgen las conclusiones del fenómeno bajo estudio. Adicionalmente se realizan cuadros y gráficos que facilitan la interpretación de los resultados. La presencia de una interacción significativa entre dos o más factores puede condicionar la interpretación de los demás efectos del modelo, entre ellos, los efectos principales (Cox 1958; Steel & Torrie 1988; Milliken & Johnson 1992; Ott 1993). Por lo tanto, hay dos aspectos relacionados que deberían considerarse al analizar ensayos factoriales de efectos fijos: 1) el análisis posterior de la información una vez detectada una interacción significativa, y 2) la conclusión sobre el resto de las hipótesis del modelo.

Cox (1958) distingue tres tipos de interacciones: las no removibles, las removibles (que se remueven con una transformación de la variable dependiente) y las que no tienen una explicación razonable para el fenómeno bajo estudio. Las primeras son evidencia de una complejidad en el comportamiento de los factores, mientras que las segundas podrían resultar, por ejemplo, como consecuencia de la utilización de una escala inapropiada. Para el tercer tipo de interacción, la forma más adecuada de análisis, según el autor, sería ignorar la estructura factorial y considerar a las diferentes combinaciones de niveles como los

tratamientos a comparar. En esencia, esta categorización de las interacciones no responde a cuestiones de índole estadística, sino a consideraciones que surgen del objetivo de la investigación. En función de este objetivo, y de existir interacciones significativas, dicho autor discute respecto del alcance de las inferencias a realizar sobre los efectos de los factores.

Si bien existen estudios que realizan un análisis inferencial adecuado, también se encuentran otros que presentan un análisis de las interacciones inadecuado o poco claro metodológicamente, o que discuten las interacciones significativas pero con conclusiones posteriores basadas solamente en análisis descriptivos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es discutir las implicancias que tienen las interacciones significativas sobre el análisis y la interpretación de los resultados provenientes de ensayos factoriales de efectos fijos.

A continuación se presenta el modelo estadístico, con sus correspondientes hipótesis, sobre el cual se basan los ejemplos hipotéticos analizados posteriormente y que reflejan una situación particular posible de encontrar en la realidad. Se considera la situación balanceada (igual número de réplicas por combinación de niveles), dado que en modelos no balanceados se afectan la partición de las sumas de cuadrados y las pruebas de hipótesis de interés. El tratamiento de este tema, cuya discusión está fuera de los objetivos de este trabajo, puede encontrarse en Searle (1971), en Milliken & Johnson (1992) y en Shaw & Mitchell-Olds (1993), entre otros.

## CARACTERÍSTICAS DEL MODELO TEÓRICO

Sea la situación con estructura cruzada de dos factores fijos: factor A presente a I niveles y factor B presente a J niveles. El modelo lineal correspondiente es:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \quad (\text{Eq. 1})$$

para  $i = 1, \dots, I$ ;  $j = 1, \dots, J$ ;  $k = 1, \dots, r$ ; donde  $y_{ijk}$  es el valor observado de la variable respuesta,  $\mu$  es el promedio general,  $\alpha_i$  es el efecto del  $i$ -ésimo nivel del factor A;  $\beta_j$  es el efecto del  $j$ -ésimo nivel del factor B;  $(\alpha\beta)_{ij}$  es el efecto de interacción entre ambos factores y  $\varepsilon_{ijk}$  es el término de error, con  $\varepsilon \sim N(0, \sigma^2 I)$ , siendo  $r$  el número de réplicas.

Se denomina efecto principal de cada uno de estos factores al cambio en la respuesta producido por un cambio en el nivel de un factor, promediado a través de los niveles del otro factor; es decir, equivale al promedio de los efectos simples (Montgomery 1981; Steel & Torrie 1988). Los efectos simples se definen para un factor, como el cambio en la respuesta al pasar de un nivel a otro para un nivel fijo del otro factor. Cuando la magnitud de los efectos simples de un factor es modificada por los niveles del otro factor por una cantidad superior a la posible de encontrar debida al azar, se dice que ambos factores interactúan (Steel & Torrie 1988). Es decir, el hecho que un factor no actúe de la misma manera con cada nivel del otro factor se denomina interacción (Searle 1971). Los modelos con este efecto se denominan modelos no aditivos. Por el contrario, si la diferencia en la respuesta entre dos niveles cualesquiera de uno de los factores es la misma para todos los niveles del otro factor, la interacción es nula y se está en presencia de modelos aditivos. A cada combinación de niveles se le suele dar el nombre genérico de tratamiento.

Más formalmente, para el modelo de la ecuación 1, suponiendo los efectos de tratamiento como desviaciones del promedio general ( $\sum_i \alpha_i = 0$  y  $\sum_j \beta_j = 0$ ) y el efecto de interac-

ción definido tal que  $\sum_i (\alpha\beta)_{ij} = \sum_j (\alpha\beta)_{ij} = 0$ , las hipótesis de interés relativas a la interacción entre ambos factores y a los dos efectos principales son (Montgomery 1981):

$$H_0) (\alpha\beta)_{ij} = 0 \quad \forall i, j \text{ versus}$$

$$H_1) \text{ al menos un } (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$$

$$H_0) \alpha_i = 0 \quad \forall i \text{ versus } H_1) \text{ al menos un } \alpha_i \neq 0$$

$$H_0) \beta_j = 0 \quad \forall j \text{ versus } H_1) \text{ al menos un } \beta_j \neq 0$$

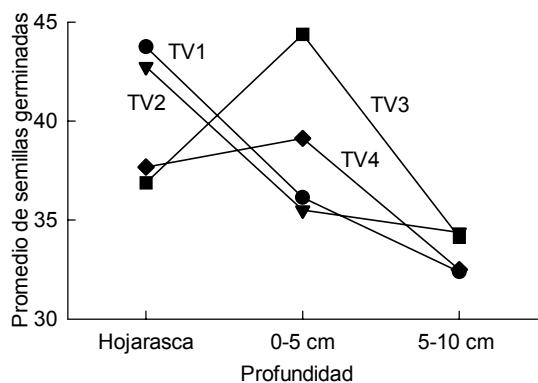
Si la interacción resulta significativa, se debe proceder a la "apertura" de la misma. Esto consiste en probar las hipótesis correspondientes a los efectos simples de uno de los factores para cada uno de los niveles del otro factor (Cox 1958), considerando como término de error el correspondiente al modelo completo (Steel & Torrie 1988). Posteriormente, para cada efecto simple que resulta significativo se debe aplicar una prueba de comparaciones múltiples (Prueba de Tukey) para detectar grupos de niveles homogéneos, afectando sus niveles de probabilidad según el criterio de Bonferroni (Underwood 1997).

### EJEMPLOS

A continuación se presentan ejemplos hipotéticos de cuatro situaciones experimentales, todas ellas provenientes de un diseño completamente aleatorizado, con arreglo factorial de los tratamientos. En las cuatro situaciones intervienen dos factores, resultando significativa la interacción en cada uno de los casos. Se trabajó con un nivel de significación del 5%.

#### Ejemplo 1

Uno de los objetivos de un programa de conservación en una reserva natural que presenta un mosaico de vegetación es analizar el aporte del banco de semillas en la regeneración de los diferentes tipos de vegetación (comunidades). Se realizó un ensayo de germinación con suelo tomado de los cuatro sitios en los cuales predominan cuatro tipos de vegetación (factor TV, cuatro niveles) y se consideró la profundidad del suelo, incluyendo la hojarasca, como otro factor importante. Se determinaron tres profundidades del suelo: hojarasca, 0-5 cm y 5-10 cm (factor P, tres niveles). En cada comunidad se tomaron al azar ocho muestras de suelo a cada profundidad. Cada muestra de suelo fue colocada en una bande-



**Figura 1.** Número promedio de semillas germinadas para los factores Tipo de vegetación (niveles TV1, TV2, TV3 y TV4) y Profundidad del suelo (niveles Hojarasca, 0-5 cm y 5-10 cm) del ejemplo 1.

**Figure 1.** Mean values of germinated seeds for Vegetation Type (TV1, TV2, TV3 and TV4 levels) and Soil Depth (Litter, 0-5 cm and 5-10 cm levels) factors of example 1.

**Tabla 1.** (a) Análisis de Varianza del modelo completo correspondiente al ejemplo 1. Los factores son Tipo de vegetación (TV) y Profundidad (P). (b) Análisis de la interacción (factor TV dentro de cada nivel de P). El denominador de la Prueba de *F* es el  $CM_e$  del modelo completo. P1: Hojarasca, P2: 0–5 cm, P3: 5–10 cm, \*: significativo al 5%, ns: no significativo.

**Table 1.** (a) Full model Analysis of Variance of example 1. Factors are Vegetation Type (TV) and Soil Depth (P). (b) Interaction analysis (TV factor within each P factor level). The denominator in the *F* test is the  $MS_e$  of the full model. P1: Litter, P2: 0–5 cm, P3: 5–10 cm, \*: significant at 5%, ns: non significant.

a)

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	<i>P</i>
TV	3	50.25	0.0958
P	2	847.15	0.0001
TV*P	6	664.43	0.0001 *
Error	84	644.00	

b)

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	<i>P</i>
TV dentro de P1	3	294.25	0.0001 *
TV dentro de P2	3	393.84	0.0001 *
TV dentro de P3	3	26.59	0.3314 ns

ja de 10×15 cm en un laboratorio con luz y temperatura controladas. Al finalizar el ensayo, se determinó la cantidad total de semillas germinadas para cada tipo de vegetación y profundidad. En la Figura 1 se representan los promedios de cada combinación de niveles de

los dos factores estudiados y en la Tabla 1a figuran los resultados del Análisis de Varianza correspondiente. Se observa una interacción significativa. De concluir en términos de efectos principales, se inferiría que el efecto principal de P es significativo, con un efecto no significativo del factor TV. De proceder a la apertura de la interacción (Tabla 1b), comparando, por ejemplo, los cuatro niveles (tipos de vegetación) del factor TV dentro de cada uno de los niveles (profundidades) del factor P, se observa que el aporte del banco de semillas de las cuatro comunidades es similar para la profundidad 5–10 cm, además de ser inferior al de las otras dos profundidades (Figura 1). Sin embargo, para los otros dos niveles de profundidad (hojarasca y 0–5 cm), los aportes promedio de semillas germinadas de las comunidades varían significativamente entre sí. En la hojarasca, el aporte de las comunidades TV1 y TV2 es significativamente superior al de las otras dos comunidades, y en la profundidad 0–5 cm este aporte es significativamente superior para la comunidad TV3 (prueba de comparaciones múltiples; Tabla 2).

### Ejemplo 2

Se considera que en ambientes pobres las plantas crecen más lentamente e invierten más recursos en producir hojas con más defensas. Por el contrario, en ambientes ricos la misma especie crece más rápidamente pero sus hojas poseen menos defensas. Las especies Sp.1, Sp.2 y Sp.3, en general, no son palatables (tienen alto contenido de fenoles en las hojas), y

**Tabla 2.** Promedio (EE) de las semillas germinadas para las combinaciones de niveles de los factores Tipo de vegetación (niveles TV1, TV2, TV3 y TV4) y Profundidad del suelo (niveles Hojarasca, 0–5 cm y 5–10 cm) del ejemplo 1. En cada columna, letras iguales indican grupos homogéneos ( $\alpha = 0.05$ , Prueba de Tukey con corrección de Bonferroni).

**Table 2.** Mean values (SE) of germinated seeds for each level combination of Vegetation Type (TV1, TV2, TV3 and TV4 levels) and Soil Depth (Litter, 0–5 cm and 5–10 cm levels) factors of example 1. In each column, same letters indicate homogeneous groups ( $\alpha = 0.05$ , Tukey Test after Bonferroni correction).

Tipo de vegetación	Profundidad			Promedio marginal
	Hojarasca	0–5 cm	5–10 cm	
TV1	43.8 (1.0) <sup>b</sup>	36.1 (0.7) <sup>a</sup>	32.4 (1.1) <sup>a</sup>	37.4 (0.6)
TV2	42.8 (1.1) <sup>b</sup>	35.5 (0.9) <sup>a</sup>	34.4 (1.1) <sup>a</sup>	37.5 (0.6)
TV3	36.9 (1.0) <sup>a</sup>	44.4 (1.0) <sup>b</sup>	34.1 (1.2) <sup>a</sup>	38.5 (0.6)
TV4	37.6 (0.5) <sup>a</sup>	39.1 (1.0) <sup>a</sup>	32.5 (0.9) <sup>a</sup>	36.4 (0.5)
Promedio marginal	40.3 (0.5)	38.8 (0.5)	33.3 (0.6)	

son abundantes en distintos tipos de ambientes que se ubican a lo largo del marcado gradiente ambiental estepa-bosque en el noroeste patagónico. Este gradiente presenta como condiciones extremas, al este, la zona más seca con suelos más pobres, y, al oeste, la zona más húmeda con suelos más ricos. A fin de probar la hipótesis que el grado de palatabilidad de estas tres especies varía según la condición extrema en la cual se encuentran, se llevó a cabo el siguiente ensayo: en cada una de las dos situaciones mencionadas (factor Condición ambiental—CA—, dos niveles) se tomaron al azar cinco plantas de cada una de las tres especies (factor Especie—Sp—, tres niveles). De cada planta se extrajeron 10 hojas a las cuales se les midió el porcentaje de fenoles, expresado en  $\mu\text{mol/g}$ . La variable bajo estudio fue el promedio de las 10 observaciones de cada planta. El efecto de interacción y ambos efectos principales (CA y Sp) resultaron significativos ( $P < 0.0005$ ,  $P < 0.0001$  y  $P < 0.0027$ , respectivamente). Considerando las hipótesis sobre efectos principales, se concluiría que los promedios marginales de cada uno de los factores, tomados en forma independiente, son significativamente diferentes. Sin embargo, los valores promedio de fenoles extraídos de las hojas de cada especie no son independientes de la condición ambiental en

**Tabla 3.** Análisis de la interacción de los factores Condición ambiental (CA) y Especie (Sp) del ejemplo 2 (factor Sp dentro de cada nivel de CA). CA1: Rica, CA2: Pobre, \*: significativo al 5%, ns: no significativo.

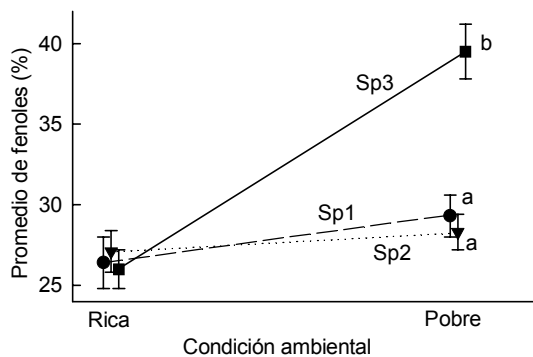
**Table 3.** Interaction analysis of Environmental Condition (CA) and Species (Sp) factors of example 2 (Sp factor within each CA factor level).CA1: Rich, CA2: Poor, \*: significant at 5%, ns: non significant.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	P
Sp dentro de CA1	2	3.18	0.8618 ns
Sp dentro de CA2	2	380.26	0.0001 *

la que se hallan (Figura 2). En el extremo oeste del gradiente (condición rica), los promedios del porcentaje de fenoles de las tres especies son muy similares entre sí, pero al pasar al extremo este (condición pobre), éstos muestran diferencias significativas. Estas consideraciones, que surgen de un análisis descriptivo, son corroboradas al realizar las correspondientes pruebas de hipótesis (Tabla 3). Realizada la prueba de comparaciones múltiples para la condición pobre, resultaron similares los promedios de la variable en estudio para Sp.1 y Sp.2, difiriendo éstos del promedio de Sp.3 (Figura 2).

### Ejemplo 3

Existen evidencias del efecto nodriza de dos especies de arbustos nativos (Sp.A y Sp.B) sobre la germinación de plántulas de una especie arbórea. Se desea comparar y evaluar este efecto en las especies mencionadas, para lo cual también se consideraron parcelas circulares sin arbustos donde hubiera presencia de plántulas de dicha especie arbórea. De esta manera, el factor Nodriza (Nod) tiene tres niveles (Sp.A, Sp.B y Control). Dado que la exposición de las laderas de montaña podría tener efecto sobre el establecimiento de las plántulas bajo estudio, se consideraron a la exposición norte (seca) y a la sur (húmeda) como niveles de otro factor de variación (factor Exp, dos niveles). Se eligieron al azar, para cada exposición, cuatro arbustos de cada especie nodriza y cuatro parcelas circulares para el control. El Análisis de Varianza dio como resultado una interacción significativa ( $P < 0.0001$ ); sin embargo, ambos efectos principales resultaron no significativos ( $P > 0.05$ ). Si uno concluyera



**Figura 2.** Porcentaje promedio ( $\pm$  EE) de fenoles extraídos de las hojas de plantas leñosas para los factores Condición ambiental (niveles Rica y Pobre) y Especie (niveles Sp.1, Sp.2 y Sp.3) del ejemplo 2. En la condición ambiental pobre, letras iguales indican grupos homogéneos ( $\alpha = 0.05$ ).

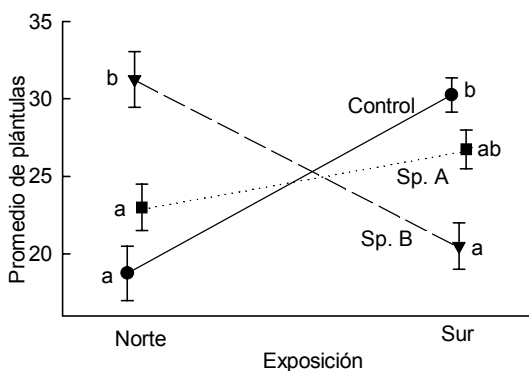
**Figure 2.** Mean percentages ( $\pm$  SE) of phenol extracted from leaves of woody plants for Environmental Condition (Rich and Poor levels) and Species (Sp.1, Sp.2 and Sp.3 levels) factors of example 2. In the poor environmental condition, same letters indicate homogeneous groups ( $\alpha = 0.05$ ).

**Tabla 4.** Análisis de la interacción de los factores Exposición (Exp) y Nodrizas (Nod) del ejemplo 3 (factor Nod dentro de cada nivel de Exp). N: Norte, S: Sur, \*: significativo al 5%.

**Table 4.** Interaction analysis of Exposition (Exp) and Nurse Species (Nod) factors of example 3 (Nod factor within each Exp factor level). N: North, S: South, \*: significant at 5%.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	P
Nod dentro de N	2	323.12	0.0001 *
Nod dentro de S	2	195.25	0.0010 *

basándose en estas dos últimas pruebas de hipótesis, se inferiría que los promedios marginales de los distintos niveles de cada factor no difieren entre sí. Sin embargo, el análisis del factor Nod para cada exposición resultó significativo (Tabla 4). Se detectó que las parcelas sin arbustos (control) son las que presentaron mayor cantidad promedio de plántulas si están en la ladera de exposición sur, y menor establecimiento (al igual que Sp.A) si se encuentran en la ladera norte (pruebas de comparaciones múltiples; Figura 3). Una situación inversa ocurre con Sp.B.



**Figura 3.** Número promedio ( $\pm$  EE) de plántulas para los factores Exposición (niveles Norte y Sur) y Nodrizas (niveles Control, Sp.A y Sp.B) del ejemplo 3. Letras iguales dentro de cada exposición indican grupos homogéneos ( $\alpha = 0.05$ ).

**Figure 3.** Mean number ( $\pm$  SE) of seedlings for Exposition (North and South levels) and Nurse Species (Control, Sp.A and Sp.B levels) factors of example 3. Same letters in each exposition indicate homogeneous groups ( $\alpha = 0.05$ ).

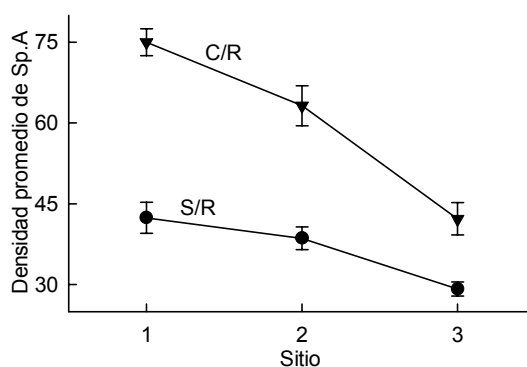
**Tabla 5.** Análisis de la interacción de los factores Sitio y Remoción del ejemplo 4 (factor Remoción dentro de cada nivel de Sitio). S1: Sitio 1, S2: Sitio 2, S3: Sitio 3, \*: significativo al 5%.

**Table 5.** Interaction analysis of Site and Removal factors of example 4 (Removal factor within each Site factor level). S1: Site 1, S2: Site 2, S3: Site 3, \*: significant at 5%.

Fuente de variación	g.l.	Suma de cuadrados	P
Remoción dentro de S1	1	2656.90	0.0001 *
Remoción dentro de S2	1	1512.90	0.0001 *
Remoción dentro de S3	1	422.50	0.0031 *

### Ejemplo 4

En un contexto similar al propuesto por Underwood (1997), se encuentran los siguientes dos factores: Sitio (tres lugares pre-determinados, ubicados en un gradiente de precipitación) y Remoción de especie B (dos niveles, removida —C/R— y no removida —S/R—). Underwood (1997) presenta como hipótesis de la investigación que la densidad de la especie vegetal A disminuye frente a la presencia de la especie vegetal B en los sitios estudiados. En este ejemplo se adiciona la hipótesis que la intensidad de este efecto varía según los sitios. Se tomaron al azar cinco parcelas de 4 m<sup>2</sup> por cada tratamiento, registrándose el número de individuos de la especie A



**Figura 4.** Densidad promedio ( $\pm$  EE) de la especie A para los factores Sitio (niveles 1, 2 y 3) y Remoción de Especie B (niveles C/R y S/R) del ejemplo 4.

**Figure 4.** Mean density ( $\pm$  SE) of Species A for Site (1, 2 and 3 levels) and Removal of Species B (C/R and S/R levels) factors of example 4.

por m<sup>2</sup>. Los tres efectos del modelo (interacción y ambos efectos principales) resultaron significativos ( $P < 0.0001$  para las tres hipótesis). La Tabla 5 presenta la apertura de la interacción, comparando el factor Remoción en cada uno de los sitios, obteniéndose resultados significativos en todos los casos. La densidad promedio de la especie A es significativamente superior cuando la especie B es removida (C/R) en los tres sitios (Figura 4). Es decir, se podría concluir que la presencia de la especie B disminuye la densidad de la especie A y, dada la interacción significativa, que la intensidad de su efecto depende de características inherentes al sitio.

## DISCUSIÓN

Como ya se indicó, cuando se prueban efectos principales se está centrando la atención en promedios marginales; i.e., promedios de todas las observaciones del nivel  $i$ -ésimo de un factor (para  $i = 1, \dots, I$ ) a través de todos los niveles del otro factor (o factores, si hubieran más de dos). Ante la presencia de una interacción significativa, cabe preguntarse si estos promedios marginales, sea cual fuere su composición, conservan un significado biológico frente al problema bajo estudio.

En términos del ejemplo 1, decir que el factor TV no es significativo implica expresar que las cantidades de semillas germinadas de cada comunidad, promediadas a través de las tres profundidades, son similares entre sí, lo cual es correcto desde un punto de vista matemático (Tabla 2). Pero, por otro lado, la interacción significativa entre TV y P está indicando que el comportamiento de los niveles del factor TV depende de los niveles del factor P con los que se encuentre combinado. Es decir que, si bien esos promedios marginales son similares, sus composiciones son "estructuralmente" diferentes. Para situaciones similares, sostener como correcta o no la conclusión sobre el efecto que no diera significativo es una decisión que depende del investigador. Pero sí se debe tener presente qué se está ignorando al concluir sobre efectos principales frente a una interacción significativa. Underwood (1997) considera que, frente a esta situación, las hipótesis nulas referidas a los efectos principales pierden validez desde un punto de vista lógico, algo similar a lo expresado por Sokal &

Rohlf (1981), Milliken & Johnson (1992), Ott (1993) y Zar (1996), entre otros.

Consideraciones similares surgen para la situación descrita en el ejemplo 2, en el cual, aunque ambos factores son significativos, se detecta que las tres especies vegetales muestran diferencias reales en la cantidad promedio de fenoles dependiendo de la condición ambiental en la que se encuentren. El ejemplo 3 muestra una situación diferente, dado que los dos efectos principales resultaron no significativos (los efectos de una combinación se anulan con los de la otra), a pesar del resultado significativo de la interacción entre ambos factores. Esto último implica que, aún cuando estos promedios marginales no son significativamente diferentes, su composición varía, con sus correspondientes implicancias en términos de las conclusiones biológicas.

Además de las situaciones descritas, se puede presentar otro tipo de interacción (ejemplo 4), denominada interacción ordenada (Ott 1993), situación en la cual las pruebas de hipótesis para efectos principales podrían tener sentido (Cox 1958; Sokal & Rohlf 1981; Ott 1993). Este último autor define esta interacción como aquella que se presenta cuando el orden de los promedios (e.g., para los niveles del factor B en cada uno de los niveles de A) es siempre el mismo, aún cuando la magnitud de las diferencias entre los niveles del factor B puedan cambiar al variar los niveles de A. Si el objetivo del ejemplo 4 se limitara al modelo propuesto por Underwood (1997) (i.e., demostrar que la densidad de la especie A disminuyó significativamente frente a la presencia de la especie B en los tres sitios), el modelo sería correcto, aún cuando estas diferencias significativas no se mantuvieran constantes. En esta situación, la interacción podría ser considerada como removible.

Hasta aquí se discutió sobre el posible significado biológico de los promedios marginales ante la existencia de una interacción. Una vez centrada la atención en el estudio de la interacción detectada, el paso siguiente es cómo analizar la información para arribar a las conclusiones. Centrar las conclusiones en análisis descriptivos (e.g., gráficos de promedios) es de un alcance limitado al ensayo en cuestión, ya que no posee una medida de probabilidad que permita decidir si las magnitudes de los restantes efectos del modelo difieren

significativamente de las esperadas por azar, además de cuantificar la incertidumbre en la repetibilidad de los resultados. Si aún frente a una estructura factorial el objetivo fuera interpretar el comportamiento de las combinaciones de niveles, el análisis podría continuar con la realización de comparaciones múltiples sobre los promedios de cada combinación de niveles (Milliken & Johnson 1992; Zar 1996) y/o con contrastes específicos de dichos promedios (Neter et al. 1996). Sin embargo, dado que en general el empleo de estructuras factoriales surge como necesidad de estudiar el comportamiento de cada factor a medida que cambian los niveles de los otros factores, suele ser conveniente que el estudio de la interacción conserve dicha premisa. Esto lleva a estudiar el efecto de un factor dentro de cada nivel del otro. Una forma de realizar este estudio es por medio del método propuesto para el análisis del modelo de la ecuación 1 o, también, mediante la realización directa de las pruebas de comparaciones múltiples sobre los promedios de los niveles de un factor en cada nivel del otro, como proponen otros autores (Montgomery 1981; Sokal & Rohlf 1981; Underwood 1997). Esta última propuesta se diferencia de la empleada en este trabajo en que omite la realización de la prueba conjunta de comparación de medias en cada nivel, previo a las pruebas de comparaciones múltiples. Como se sabe, estas pruebas se realizan como consecuencia de la detección de diferencias significativas a través de una Prueba de *F*. Proceder directamente a las comparaciones de pares de promedios, denominadas también pruebas a posteriori, supone la existencia de diferencias entre los niveles del factor en cuestión, en cada nivel del otro, lo cual no ha sido probado aún. Por último, cabe mencionar otra propuesta para el estudio de la interacción (discutida en modelos con dos factores), que consiste en realizar contrastes ortogonales de dicho efecto, para poder determinar qué combinaciones de niveles son las causantes de la misma (Milliken & Johnson 1992). Esta forma podría ser de interés cuando la estructura de los niveles de los factores da origen a contrastes definidos a priori. A medida que crece el número de niveles de uno o ambos factores, se complica la definición de estos contrastes.

Para concluir, los efectos principales, sea que haya interacción o no, se definen en términos

de los promedios marginales. La interpretación de los mismos ante la presencia de una interacción significativa puede o no ser de utilidad, dependiendo de los objetivos del ensayo. Luego, se realizan las siguientes consideraciones finales (Cox 1958): 1) si aún presentándose una interacción significativa, la tendencia general de un factor es la misma para todos los niveles del otro factor, o bien el promedio marginal de los niveles de un factor tuviera un significado biológico directo, el efecto principal podría ser un indicador útil para explicar el fenómeno en cuestión; 2) en los casos en que el promedio marginal tuviera un sentido artificial, dando poca información sobre lo que sucede con un factor, la interpretación de los efectos principales no es adecuada, debiéndose continuar el análisis con las pruebas de hipótesis que correspondan a cada situación en particular.

## BIBLIOGRAFÍA

- COX, DR. 1958. *Planning of experiments*. J. Wiley & Sons, New York. 308 pp.
- HURLBERT, SH. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecol. Monogr.* 54:187-211.
- MILLIKEN, GA & DE JOHNSON. 1992. *Analysis of messy data. Volume I: designed experiments*. Chapman & Hall, London. 473 pp.
- MONTGOMERY, DC. 1981. *Design and analysis of experiments*. J. Wiley & Sons, New York. 538 pp.
- NETER, J; MH KUTTNER; CJ NACHTSHEIM & W WASSERMAN. 1996. *Applied linear statistical models*. 4<sup>a</sup> edn. Irwin, Chicago. 1408 pp.
- OTT, L. 1993. *An introduction to statistical methods and data analysis*. 4<sup>a</sup> edn. Wadsworth. 132 pp.
- SEARLE, SR. 1971. *Linear models*. J. Wiley & Sons, New York. 532 pp.
- SHAW, RG & T MITCHELL-OLDS. 1993. ANOVA for unbalanced data: an overview. *Ecology* 74:1638-1645.
- SOKAL, RR & J ROHLF. 1981. *The principles and practice of statistics in biological research*. 2<sup>a</sup> edn. W. H. Freeman, New York. 859 pp.
- STEEL, RGD & JH TORRIE. 1988. *Bioestadística. Principios y procedimientos*. 2<sup>a</sup> edn. Mc Graw-Hill, México. 622 pp.
- UNDERWOOD, AJ. 1997. *Experiments in ecology. Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge. 504 pp.
- ZAR, JH. 1996. *Biostatistical analysis*. 3<sup>a</sup> edn. Prentice Hall, Upper Saddle River. 662 pp.