

ARTIGO



AUTORES:

Alfredo Ribeiro Freitas¹

Reinaldo de Paula

Ferreira²Adônis Moreira³

¹Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Rod. Washington Luís, Km 235, 13565-905, São Carlos, SP, Brasil
²Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luís, 13560-970, São Carlos, SP, Brasil
³Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, 86001-970, Londrina, PR, Brasil

Recebido: 14/08/2011

Aceito: 24/10/2011

Autor correspondente:

Alfredo Ribeiro de Freitas
 E-mail: alfribeiro@hotmail.com

PALAVRAS-CHAVE:

Análise de produção de matéria seca
 Circularidade e esfericidade
 (Co)variância dos erros
 Distribuição normal
 Matriz

KEY-WORDS:

Dry mater production analysis
 Circularity and sphericity condition
 Covariance of errors
 Normal distribution
 Matrix

Análises de dados de medidas repetidas por meio do modelo linear geral e do modelo misto

Data analysis of repeated measures by means of general linear model and mixed model

RESUMO: O delineamento em blocos casualizados com parcelas divididas (*split-plot*) é um dos mais utilizados na agricultura. São muito comuns situações em que medidas repetidas avaliadas na parcela ao longo do tempo sejam analisadas como *split-plot* e, dependendo da estrutura de covariância que modela os erros dentro da parcela, tanto o modelo linear geral (GLM) quanto o modelo misto (MIXED) do SAS podem ser utilizados para análise. O objetivo foi avaliar as diferenças entre os procedimentos *GLM* e *MIXED* em blocos casualizados, nos quais as subparcelas são analisadas como medidas repetidas. Utilizou-se a análise de dados de produção de matéria seca (PMS) de um experimento em blocos casualizados de alfafa com 20 cortes, realizados quando aproximadamente 10% das plantas estavam em florescimento. O *GLM* não permite a modelagem da estrutura de covariância dos dados, porém é apropriado para ajustar modelos lineares gerais pelo método dos quadrados, produzindo resultados corretos em análises de medidas repetidas quando a condição de circularidade e esfericidade é atendida, isto é, a matriz de covariâncias é simetria composta (CS); o procedimento *MIXED* apresenta matriz mais apropriada do que a CS, por disponibilizar cerca de 40 tipos de estruturas de covariâncias, quando os dados têm distribuição normal.

ABSTRACT: *Split-plot* randomized blocks are widely used in agricultural experiments. Situations where evaluations in the plot over time are considered as *split-plots* and analyzed as repeated measures are quite common. Depending on the covariance structure that modulates the errors within the plot, both the general linear model (*GLM*) and the mixed model (*MIXED*) of the Standard Linear Model can be used for analysis. The purpose of this research was to evaluate the fundamental differences between the *GLM* and *MIXED* procedures in randomized blocks where *split-plots* are analyzed as repeated measures. The data analysis of the dry matter production (DMP) of alfalfa (*Medicago sativa* L.) of twenty randomized cuts was utilized when approximately 10% of the plants were in blossom. The *GLM* model does not allow the modeling of data covariance structure; however, it is appropriate to adjust general linear models through the method of squares, producing correct results in repeated measures analyses when circularity and sphericity condition is met, that is, the covariance matrix is of compound symmetry (CS), while the *MIXED* model presents more appropriated covariance matrix than the CS, since it provides about 40 types of covariance structures when data are normally distributed.

1 Introdução

Na pesquisa, quando os dados são provenientes de delineamentos experimentais, duas situações de análises estatísticas são geralmente consideradas: a) testes para efeitos fixos em regressão simples e múltipla, e análise de variância (ANOVA), quando a característica é avaliada apenas uma vez na unidade experimental; b) análises de medidas repetidas, quando duas ou mais avaliações no tempo, geralmente até um máximo de 20, são realizadas na unidade experimental (DAVIDIAN; GILTINAN, 1996).

Uma situação que requer bastante cuidado é a dos delineamentos em blocos casualizados com parcelas subdivididas (*split-plot*). O *split-plot* envolve os fatores experimentais A e B, cujos níveis são aleatoriamente atribuídos às parcelas principais e subparcelas, respectivamente (PIMENTEL GOMES, 1985). Um exemplo comum é o experimento com forrageiras em que se avalia a produção em cortes das plantas no tempo; nesse caso, os acessos ou as variedades correspondem aos tratamentos A, que são distribuídos aleatoriamente nas parcelas, enquanto os cortes de avaliação correspondem aos tratamentos B, que são alocados nas subparcelas. Experimentos dessa natureza têm sido erroneamente analisados como *split-plot*. Na medida em que o tempo de corte não pode ser alocado aleatoriamente às subparcelas, a análise apropriada para essa situação deve ser a de medidas repetidas (LITTELL et al., 1996; LITTELL, HENRY; AMMERMAN, 1998; REIEZIGEL, 1999; FREITAS et al., 2001). Nas análises de medidas repetidas (MR), os tratamentos A são distribuídos aleatoriamente nas parcelas; entretanto, as avaliações no tempo ou no espaço são consideradas como tratamentos B e, nesse caso, a ordem das observações do indivíduo ou da unidade experimental é fundamental, sendo as mais próximas aquelas mais correlacionadas.

Dois procedimentos bastante utilizados para as situações referidas são os procedimentos denominados de modelo linear geral (GLM) e modelo misto (MIXED) do *software* SAS (SAS INSTITUTE, 2003). O *MIXED* foi elaborado para a agricultura e introduzido em 1992, sendo mais versátil do que o *GLM*, principalmente para análises de MR, modelos de multiníveis e modelos hierárquicos. Apesar de

esses procedimentos serem bem documentados, são utilizados indiscriminadamente e, muitas vezes, de modo equivocado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as diferenças entre os procedimentos *GLM* e *MIXED* em situações de medidas repetidas em experimento em blocos casualizados, utilizando-se a cultura da alfafa, em 20 cortes sequenciais com intervalo aproximado de 30 dias.

2 Material e Métodos

No presente estudo, foram analisados os dados de produção de matéria seca de 20 cortes sequenciais de avaliação de 92 genótipos de alfafa (*Medicago sativa* L.) distribuídos em blocos casualizados, com duas repetições (FREITAS et al., 2008). O experimento foi realizado no campo experimental da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, Estado de São Paulo (22° 01' 10" S, 47° 53' 38" O), em Latossolo Vermelho Amarelo distrófico, tendo início em 2004.

Foram utilizados os resultados das cultivares de alfafa promissoras 'Barbara', 'Crioula', 'P 30', 'P 5715' e 'LEN 4'. O manejo de adubação, corte e tratos culturais das cultivares está descrito com maiores detalhes em Rassini et al. (2007). Para facilitar a organização do modelo matemático e das demais propriedades dos dois procedimentos estatísticos, foi discutida a estrutura dos dados do experimento e da análise de variância, conforme as Tabelas 1 e 2. A parcela ou a unidade experimental, que representa cada combinação de tratamento e bloco no qual foram realizados os cortes, foi denominada de indivíduo; os cortes das forrageiras realizados no tempo, que constituem as avaliações dentro de indivíduo, foram denominados de medidas repetidas (MR).

Tabela 1. Estrutura do experimento de alfafa.

Tratamento, bloco	Indivíduo	Avaliações no indivíduo
1,1	1	$Y_{1,1,1} Y_{1,1,2} \dots Y_{1,1,19} Y_{1,1,20}$
1,1	2	$Y_{1,1,1} Y_{1,1,2} \dots Y_{1,1,19} Y_{1,1,20}$
...
92,1	92	$Y_{92,1,1} Y_{92,1,2} \dots Y_{92,1,19} Y_{92,1,20}$
1,2	93	$Y_{1,2,1} Y_{1,2,2} \dots Y_{1,2,19} Y_{1,2,20}$
2,2	94	$Y_{2,2,1} Y_{2,2,2} \dots Y_{2,2,19} Y_{2,2,20}$
...
92,2	184	$Y_{92,2,1} Y_{92,2,2} \dots Y_{92,2,19} Y_{92,2,20}$

Tabela 2. Estrutura de análise de variância.

Fontes de variação	GL*
Blocos (B)	1
Tratamentos (T)	91
Resíduo (a) = Interação B x T (Parcelas)	91 (183)
Cortes (C)	19
Interação T x C	1729
Resíduo (b) = Interação B x C + Interação B x T x C	1748
Total	3679

*GL = grau de liberdade numerador.

O modelo matemático para a análise de medidas repetidas, conforme esquema apresentado nas Tabelas 1 e 2, é dado pela (Equação 1):

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_{ij} + \tau_k + (\alpha\tau)_{ik} + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

em que: y_{ijk} = valor observado da PMS no corte k , no indivíduo j e no tratamento i ; μ = efeito médio global; α_i = efeito fixo do tratamento i ; δ_{ij} = efeito aleatório da unidade experimental j no tratamento i ; τ_k = efeito fixo do corte k ; $(\alpha\tau)_{ik}$ = efeito da interação de tratamento e corte; ε_{ijk} = erro aleatório associado ao PMS no corte k , na unidade experimental j e tratamento i .

A seguir, são apresentados os resultados mais importantes das análises de variância univariada e multivariada por meio de 12 procedimentos *GLM* e *MIXED* do SAS (SAS INSTITUTE, 2003).

GLM
1) PROC GLM; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE; MODEL PMS= TRATAMENTO BLOCO(TRATAMENTO) CORTE TRATAMENTO*CORTE; TEST H= TRATAMENTO E= BLOCO(TRATAMENTO); RUN;
2) PROC GLM; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE; MODEL PMS=TRATAMENTO BLOCO(TRATAMENTO) CORTE TRATAMENTO*CORTE /CLI; TEST H= TRATAMENTO E= BLOCO(TRATAMENTO); RUN;
3) PROC GLM; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE; MODEL PMS=TRATAMENTO BLOCO(TRATAMENTO) CORTE TRATAMENTO*CORTE /CLM; RANDOM BLOCO(TRATAMENTO)/TEST; RUN;
4) PROC GLM; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE; MODEL PMS= TRATAMENTO BLOCO(TRATAMENTO) CORTE TRATAMENTO*CORTE; CONTRAST 'CORTE 1 VS CORTE 20' CORTE 1 0 -1; TEST H= TRATAMENTO E= BLOCO(TRATAMENTO); RUN;
5) PROC GLM; CLASS TRATAMENTO BLOCO; MODEL CORTE1-CORTE20=TRATAMENTO/SS3; RUN;
6) PROC GLM; CLASS TRATAMENTO BLOCO; MODEL CORTE1-CORTE20= TRATAMENTO BLOCO(TRATAMENTO) / NOUNI; MANOVA H= TRATAMENTO E = BLOCO(TRATAMENTO)/ PRINTE PRINTH; RUN;

7)
PROC GLM; CLASS TRATAMENTO BLOCO;
MODEL CORTE1-CORTE20 = TRATAMENTO BLOCO(TRATAMENTO) / NOUNI;
MANOVA H= TRATAMENTO E= BLOCO(TRATAMENTO) M=C1-C2, C2-C3, C3-C4, C4-C5, C5-C6, C6-C7, C7-C8, C8-C9, C9-C10, C10-C11, C11-C12, C12-C13, C13-C14, C14-C15, C15-C16, C16-C17, C17-C18, C18-C19, C19-C20 PREFIX=T; RUN;

8)
PROC GLM; CLASS TRATAMENTO;
MODEL CORTE1-CORTE20 = TRATAMENTO /NOUNI;
REPEATED CORTE HELMERT / SUMMARY; RUN;

9)
PROC GLM; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE;
MODEL PMS=TRATAMENTO BLOCO(TRATAMENTO) CORTE TRATAMENTO*CORTE;
LSMEANS TRATAM CORTE /STDERR PDIFF = ALL ADJUST=TUKEY CL;RUN;

MIXED
10) PROC MIXED DATA=ALFAFA METHOD=REML; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE; MODEL PMS= TRATAMENTO CORTE TRATAMENTO*CORTE; REPEATED CORTE /SUB=BLOCO(TRATAMENTO) TYPE= CS;RUN;
11) PROC MIXED ASYCORR ASYCOV; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE; MODEL PMS= TRATAMENTO CORTE TRATAMENTO*CORTE; REPEATED CORTE / SUB=BLOCO(TRATAMENTO) TYPE=ARMA(1,1);RUN;
12) PROC MIXED DATA=ALFAFA METHOD=REML; CLASS BLOCO TRATAMENTO CORTE; MODEL PMS= TRATAMENTO CORTE TRATAMENTO*CORTE; REPEATED CORTE /SUB=BLOCO(TRATAMENTO) TYPE=ARMA(1,1) ; LSMEANS TRATAMENTO CORTE /STDERR PDIFF = ALL ADJUST=TUKEY CL;RUN;

Sob enfoque matricial, o modelo (1) é descrito por $\hat{y} = Xb + Zu + e$, em que: vetor b contém os efeitos fixos μ , α_i , τ_k e $(\alpha\tau)_{ik}$; vetor u contém o efeito aleatório de indivíduos (δ_{ij}), que refletem a variação entre os tratamentos quando se fixa o corte e são assumidos como independentes; vetor e contém os erros associados às avaliações dentro de indivíduos ($V(e) = R$).

Admitindo-se que os vetores y , u e e têm distribuição normal, são formuladas as seguintes esperanças (E), variâncias (Var) e covariâncias (Cov): $E(u) = 0$; $Var(u) = G$; $E(e) = 0$; $V(e) = R$; $Var(y) = V(Zu + e) = ZGZ' + R$.

Os procedimentos estatísticos *GML* e *MIXED* para análise dos dados de alfafa e cortes sequenciais foram utilizados por meio do software SAS (SAS INSTITUTE, 2003).

3 Resultados e Discussões

Se os erros e_{ijk} do modelo (1) são independentes, identicamente distribuídos e com distribuição pelo menos aproximada da normal, ou seja,

$V(e) = R = \sigma^2 I$, em que σ^2 é a estimativa da variância residual e I é a matriz de identidade de ordem n ; isso pressupõe variância constante na diagonal principal e correlação nula ou zeros para todos os elementos fora da diagonal. Se essas suposições forem atendidas, a ANOVA pode ser realizada conforme o programa 1. Os testes F para tratamento corte e interação tratamento \times corte (Tabela 3) são válidos e indicam que os efeitos são altamente significativos (SCHEINER; GUREVITCH, 1993). As demais opções de análises, como médias obtidas por quadrados mínimos, intervalos de confiança e testes de hipóteses, são corretas e podem ser implementadas no programa 1. Na opção Test, o H indica o efeito a ser testado e E o erro correto para se testar tal efeito.

Para a aplicação do GLM para suposições mais gerais do que $V(e) = R = \sigma^2 I$ e para que o uso do teste F seja correto, proporcionando erro do tipo I exato para teste de todas as hipóteses, é necessário que os erros e_{ijk} atendam às suposições de independência, normalidade e ainda homogeneidade de variâncias. Para essa última suposição, a matriz de variâncias e covariâncias precisa atender à suposição de esfericidade, que é equivalente à homogeneidade de variâncias entre indivíduos na ANOVA. Para tanto, é necessário que a matriz inicialmente atenda à condição de circularidade, isto é, a diferença entre os valores entre quaisquer duas medidas repetidas tem variâncias constantes; uma matriz com essa estrutura é denominada de *Huynh-Feldt (H-F)*. A partir de uma matriz circular, uma maneira de se obter a condição de esfericidade da mesma é transformar as variáveis dependentes por meio de um conjunto de contrastes ortogonais.

Tabela 3. Resultados parciais do programa 1.

Efeito	GL numerador	Prob > F
Tratamento	91	0,0028
Corte	19	<0,0001
Tratamento \times corte	1728	<0,0005

Tabela 4. Análise univariada pelo GLM obtidos no programa 2.

Observação	Observado	Predito	Residuo	Índice de confiança de 95%	
				Inferior	Superior
1	2232,69	2223,75	8,94	1939,72	2507,78
2	2627,06	2571,58	55,48	2287,55	2855,61
...

Quando a suposição referida é violada, aumenta-se o erro tipo I dos testes de hipóteses de efeitos dentro de indivíduos (corte e tratamento versus corte), pois os valores de F para testar esses efeitos são subestimados. Uma matriz de variâncias e covariâncias satisfaz a condição de esfericidade quando tem variâncias constantes e covariâncias também constantes. Uma matriz que atende a esta suposição é a da simetria composta (CS), que é também um caso particular da matriz $H-F$.

No programa 2 (Tabela 4), é utilizada a opção Cli, que permite calcular os limites inferior e superior do intervalo de confiança, com 95% de probabilidade para cada observação. A opção Random no programa 3 apresenta a esperança dos quadrados médios $E(Q.M.)$ para os vários efeitos do modelo (Tabela 5); a opção Clm permite calcular os limites inferior e superior do intervalo de confiança com 95% de probabilidade para médias de observação. Observando-se a coluna $E(QM)$, verifica-se que o denominador apropriado para testar tratamento é bloco (tratamento), enquanto os efeitos de corte e interação tratamento \times corte são testados com o residuo.

As estimativas dos componentes de variância residual (σ^2) e de bloco dentro de tratamentos ($\sigma^2_{B(T)}$) (Tabela 5) foram, respectivamente, 39945 e 31418, indicando que da variabilidade total existente em razão dos fatores aleatórios ($\sigma^2 + \sigma^2_{B(T)}$), 56,0% deveu-se ao erro aleatório ou ao efeito entre cortes dentro da unidade experimental e 44,0%, ao erro de bloco dentro de tratamentos ou entre unidades experimentais. A correlação intraclasse foi estimada por $\sigma^2_{B(T)} / (\sigma^2 + \sigma^2_{B(T)}) = 31418 / (39945 + 31418) = 0,44$, indicando a proporção da variância total que ocorre entre as unidades experimentais (HICKS, 1973).

A opção Test após Random no programa 3 produz testes de hipótese dos efeitos usando os erros determinados na $E[QM]$ (quadrado médio), ou seja, os mesmos resultados proporcionados

pelo comando Test H = tratamento E = bloco (tratamento). Observando-se a coluna E(QM) da Tabela 5, verificou-se que os efeitos de corte e da interação tratamento × corte, além dos componentes fixos, contêm uma fração por causa da variância residual. O efeito de tratamento, por outro lado, além dos componentes fixos associados a esse efeito, contêm uma fração em razão dos dois fatores aleatórios (σ^2 , $\sigma^2_{B(T)}$).

A opção *Contrast* após o *Model* no programa 4 (Tabela 5) permite estimar contrastes ortogonais entre médias e testar a hipótese de nulidade dos mesmos pelo teste t. No exemplo utilizado, foi estimado o contraste (entre as médias dos cortes 1 e 20, sendo que no nível de $p \leq 0,0001$, rejeitou-se a hipótese de nulidade H_0).

Posteriormente, são efetuadas análises multivariadas pelo método *GLM*; para tanto, o arquivo de dados deve conter 22 colunas: Bloco Tratamento Corte1, Corte2, Corte..., Corte20.

(programa 5-Tabela 5). Comparam-se todos os tratamentos dentro de cada corte, porém o método *GLM* não possibilita comparações entre tempo e tendências no tempo, não sendo, portanto, considerada análise de medidas repetidas. Em cada análise, o erro para testar o efeito de tratamentos é bloco (tratamentos). Pelo teste F, os tratamentos não diferiram entre si no corte 1 ($p > 0,05$), porém, no corte 2, houve diferença significativa no nível $p = 0,0050$. Na análise multivariada, são requeridas as suposições de normalidade multivariada, independência e homogeneidade de matrizes de covariâncias.

Por meio da opção *MANOVA* do programa 6 (Tabela 6), é realizada a análise multivariada, que testa a hipótese global: H_0 = os tratamentos não diferem entre si e H_a = os tratamentos diferem entre si. Diferentemente do programa 5, a comparação entre os tratamentos é feita de forma ponderada para todos os cortes. O software SAS imprime

Tabela 5. Resultados parciais dos programas 3, 4 e 5.

Causa da variação	G.L.	Q.M.	E(Q.M.)	F	P-valor
Análise univariada pelo GLM – programa 3					
Tratamento: T	91	1191471	$\sigma^2 + 19,848 \sigma^2_{B(T)} + (T,T*C)$	1,80	0,0028
Bloco (tratamento) –B(T)	92	663529	$\sigma^2 + 19,848 \sigma^2_{B(T)}$	16,61	<0,0001
Corte: C	19	62917117	$\sigma^2 + Q(C,T*Corte)$	1575,10	<0,0001
Interação T × C	1728	46761	$\sigma^2 + Q(T*C)$	1,17	0,0005
Resíduo	1734	39945	σ^2		
Contraste	G.L.	SQ	Q.M.	F	Valor p
Análise univariada pelo GLM - programa 4					
Corte 1 vs. Corte 20	1	169698838,4	169698838,4	4248,29	<0,0001
Análise multivariada pelo GLM - programa 5					
Corte - 1	91	16984699,71	186645,05	1,01	0,4889
Corte - 2	91	20489238,10	225156,46	1,72	0,0050
...

Tabela 6. Resultados parciais do programa 6 - análise multivariada pelo *GLM*.

Estatística	Valor	Valor de F	Num DF	Den DF	Pr > F
Análise multivariada pelo GLM - programa 6					
Lâmbda de Wilks	0,00000001	1,15	1800	1317,6	0,0030
Traço de Pillai	10,99583174	1,07	1800	1580	0,0775
Traço de Hotelling-Lawley	39,72475770	1,28	1800	726,55	<0,0001
Raiz máxima de Roy	9,94051656	8,73	90	79	<0,0001
Análise multivariada pelo GLM - programa 7					
Lâmbda de Wilks	0,00000002	1,16	1710	1265,9	0,0027
Traço de Pillai	10,49541661	1,08	1710	1501	0,0553
Traço de Hotelling-Lawley	36,24451099	1,25	1710	717,86	<0,0002
Raiz máxima de Roy	7,86619310	6,90	90	79	<0,0001

Nota: a estatística F para a Raiz máxima de Roy é a fronteira superior.

quatro testes: *Pillais*, *Hotelling*, *Wilks* e *Roy*. Os valores S, M e N, que correspondem aos graus de liberdade para as estatísticas multivariadas (teste de *Lambda de Wilks*), são distribuídos em três dimensões e se requerem três valores de grau de liberdade (GL) para determinar o valor crítico. Essas estatísticas multivariadas são convertidas em valores de probabilidades de F. As opções *Printe* e *Printh* calculam, respectivamente, a matriz do erro E e a matriz H associada com o efeito de tratamento. Pelo teste de *Wilks*, rejeita-se a hipótese de nulidade e conclui-se que, independentemente de cortes, os tratamentos diferem entre si.

Teste de critério de MANOVA e aproximações de F para a hipótese de não efeito global de tratamentos: H = SQ tipo III para a matriz de tratamentos; E = SQ tipo III para a matriz para o bloco (tratamentos), sendo: S = 20, M = 34,5 e N = 29.

Para realizar análises de variáveis transformadas por meio de sucessivas diferenças entre as variáveis dependentes originais, é utilizada a opção M no programa 7 após MANOVA. São geradas 19 novas variáveis, sendo que a opção *Prefix = T* identifica essas variáveis por T₁, T₂, ..., T₁₉. Para simplificação de texto no programa, as variáveis corte 1 a corte 20 foram renomeadas para C₁ a C₂₀. Quando as variáveis medidas ou o fator dentro de indivíduos representam doses de algum fator, utilizando-se a opção M é possível transformar as variáveis dependentes em componentes de polinômios ortogonais e ajustar regressões polinomiais do tipo linear, quadrática, etc.

As probabilidades do teste F para o teste de hipótese de nulidade do efeito de tratamentos

com relação às variáveis definidas pela matriz de transformação M são apresentadas na Tabela 6. Os valores de F para os testes *Pillais*, *Hotelling*, *Wilks* e *Roy* são levemente diferentes dos apresentados no programa 6, pois as variáveis transformadas são diferentes das originais. Porém, observa-se, nas Tabelas 4 e 5, que a probabilidade de F para o traço de *Pillai* indica não significância ($p > 0,05$) dos tratamentos com relação às combinações lineares dos cortes, conforme geradas pela matriz M, sendo: H = SQ tipo III para a matriz de tratamentos, E = SQ tipo III para a matriz for bloco (tratamentos), sendo: S = 19, M = 35 e N = 29,5.

Para realizar análises de medidas repetidas (MR) e testar hipóteses de fatores dentro de indivíduos e as interações envolvendo as MR com os demais efeitos fixos, utiliza-se a opção *Repeated* (programa 8). Essas análises são robustas às suposições de normalidade multivariada e independência, mas requerem que a condição de esfericidade seja atendida. Para se obter a decomposição ortogonal, os dados de PMS dos 20 cortes são transformados por meio dos seguintes contrastes ortogonais: corte.1, corte.2, ..., corte.19, em que corte.1 = corte1 - (corte2 + ... + corte20)/19; corte.2 = corte2 - (corte3 + ... + corte20)/18 e assim por diante. Ou seja: cada nível do fator dentro de indivíduo (corte) é comparado em relação à média global dos demais níveis. A matriz obtida é de dimensão 19 × 19, com as variâncias de corte 1 até corte 19 na diagonal e as covariâncias dessas variáveis fora da diagonal (Tabelas 7, 8 e 9).

Tabela 7. Resultados parciais programa 8. Análise multivariada pelo *GLM*.

Variáveis	Mauchly's		Qui-quadrado	Pr > χ^2
	DF	Crítério		
Variáveis transformadas	189	1,1238 × 10 ⁻⁹	1493,6125	<0,0001
Componentes ortogonais	189	1,6659 × 10 ⁻⁶	964,38855	<0,0001

Tabela 8. Resultados parciais programa 8. Análise multivariada pelo *GLM*. Testes univariados de hipóteses para efeitos dentro de indivíduos.

Fonte	DF	Tipo III SS	Quadrado médio	Valor - F	Pr > F	Adj Pr > F	
						G - G	H - F
Corte	19	1067719734	56195775	1425,38	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Corte × Tratamento	1710	76179409	44549	1,13	0,0074	0,0953	0,0232
Erro (Corte)	1501	59177066	39425				

Epsilon de Greenhouse-Geisser=0,2893; Epsilon de Huynh-Feldt=0,6677.

Tabela 9. Resultados parciais programa 8. Análise multivariada pelo *GLM*.

Estadística	Valor	Valor de F	Num DF	Den DF	Pr > F
Teste a					
Lâmbda de Wilks	0,00541025	590,20	19	61	<0,0001
Traço de Pillai	0,99458975	590,20	19	61	<0,0001
Traço de Hotelling-Lawley	183,83430833	590,20	19	61	<0,0001
Raiz máxima de Roy	183,83430833	590,20	19	61	<0,0001
Teste b					
Lâmbda de Wilks	0,00000002	1,16	1710	1265,9	<0,0027
Traço de Pillai	10,49541661	1,08	1710	1501	<0,0553
Traço de Hotelling-Lawley	36,24451099	1,25	1710	61	<0,0002
Raiz máxima de Roy	7,86619310	6,90	1710	61	<0,0001

a) Teste de critério de MANOVA e estatística exata de F para a hipótese de não existência do efeito de corte. H = Matriz de SQ, tipo III para corte; E = Matriz de SQ de erro. S = 1, M = 8,5 e N = 29,5; e b) Teste de critério e F aproximado para a hipótese de não existência do efeito de corte × tratamento. H = Tipo III SSCP Matriz para corte × tratamento. E = Erro SSCP Matriz, S = 19, M = 35, N = 29,5.

O valor obtido $W = 1,666 \times 10^{-6}$ é suficientemente pequeno, indicando afastamento da condição de esfericidade; porém, a aceitação ou a rejeição dessa condição deve ser avaliada pelo teste de Qui-quadrado (χ^2) (Tabela 7). Uma vez que $\chi^2 = 964,389$ com 189° de liberdade e uma probabilidade associada $p \leq 0,0001$, rejeita-se, portanto, a suposição de esfericidade. Apresentam-se duas alternativas para se prosseguir com a análise pelo *GLM*: ajustar os graus de liberdade do teste F univariado para testar fatores dentro de indivíduos ou usar o procedimento multivariado (YAFFEE, 2004).

Para ajustar os graus de liberdade do teste F univariado para testar fatores dentro de indivíduos (efeito de ‘corte’ e ‘tratamento versus corte’), o SAS imprime dois fatores de correção-Epsilon de Greenhouse-Geisser (*G-G*) e Epsilon de Huynh-Feldt (*H-F*); o segundo é mais indicado, uma vez que *G-G* é conservativo e dificulta detectar-se a diferença entre médias de tratamentos quando estas existem. Ambos os fatores *G-G* e *H-F* variam de 0 a 1, sendo que os valores menores indicam maior afastamento da esfericidade. Na Tabela 8, as duas últimas colunas apresentam o ajuste do teste F para testar o efeito de ‘corte’ e de ‘tratamento versus corte’. Observou-se que a correção não alterou os valores da probabilidade F para o efeito de corte; no entanto, a interação ‘tratamento versus corte’ foi não significativa ($p > 0,0953$) para a correção *G-G* e significativa para *H-F* ($p \leq 0,0232$).

Os quatro testes de análise multivariada (*Pillais*, *Hotelling*, *Wilks* e *Roy*) são concordantes quanto à significância do efeito de ‘corte’ ($p \leq 0,0001$), concordando também com os resultados da análise univariada anterior (Tabela 9). Quanto à interação

‘tratamento versus corte’, embora haja diferença entre os testes quanto aos valores de F, com exceção do teste de Traço de *Pillai*, os outros testes indicaram significância desse efeito, concordando com os resultados obtidos na análise univariada.

Considerando-se o modelo matemático para a análise de medidas repetidas descrita na análise de variância (ANOVA), para quaisquer duas respostas nos tempos k e l ($k \neq l$), quando avaliadas no mesmo indivíduo, os erros têm uma correlação do tipo $Cov(y_{ijk}, y_{ijl}) = Cov(\delta_{ij} + e_{ijk}, \delta_{ij} + e_{ijl}) = Var(\delta_{ij}) + Cov(e_{ijk}, e_{ijl})$; entretanto, duas respostas avaliadas em indivíduos diferentes não são correlacionadas, isto é, $Cov(y_{ijk}, y_{i'j'k'}) = 0$, não importando se $i = i'$ ou $i \neq i'$; $k = k'$ ou $k \neq k'$. A razão dessas covariâncias foi em consequência do tempo de corte não ser alocado aleatoriamente às subparcelas.

Quando as distribuições dos dados tendem à normalidade, o *MIXED* disponibiliza cerca de 40 tipos de matriz *R*, fornecendo três critérios para selecionar a mais adequada: *AIC* (*Akaike's Information Criterion*), *BIC* (*Bayesian Information Criterion*) e $-2Res\ Log\ Likelihood$ ($-2L$); quando várias estruturas de *R* são ajustadas, aquelas com valores menores para *AIC* e *BIC* são as mais apropriadas (YAFFEE, 2004). Para se escolher qual delas apresenta o melhor ajuste, utiliza-se o terceiro critério ($-2L$), no qual se constrói um teste de razão de verossimilhança restrito para se compararem as matrizes duas a duas. O resultado é um teste de χ^2 com graus de liberdade igual à diferença do número de variáveis das duas matrizes, o que equivale a testar a hipótese H_0 : as duas matrizes são iguais, e H_a : as duas matrizes são diferentes (BOZDOGAN, 1987).

Por meio do *MIXED*, existem duas alternativas para se testar a esfericidade de uma matriz; a primeira é obter uma matriz não estruturada (*UN*) e testar *UN versus H-F*; a segunda é verificar se os erros se ajustam a uma matriz do tipo simetria composta (*CS*).

As estruturas *UN*, *H-F* e *CS* são ajustadas pelo *MIXED*, respectivamente, por meio dos programas 10, 11 e 12. A opção *Repeated Corte* indica que *Corte* é considerado medidas repetidas; a opção *Sub* = bloco (tratamento) indica que a unidade experimental ou o indivíduo é representado por bloco (tratamento); na opção *Type*, é especificada a estrutura da matriz de variância e covariância a ser testada.

As estruturas *UN* e *H-F* apresentam variâncias diferentes na diagonal e covariâncias diferentes fora da diagonal; as covariâncias na estrutura *H-F* são construídas considerando-se a média aritmética, enquanto que, na matriz *CS*, as variâncias e as covariâncias são iguais (Figura 1). Utilizando-se os programas 10, 11, e 12 para avaliar os graus de liberdade, valores de *-2 Res Log Likelihood* e de *AIC* para as estruturas de covariância, verificou-se que *CS*, *H-F* e *UN*, nesta ordem, apresentaram os menores valores de *AIC* e, portanto, o melhor ajuste aos dados.

No *MIXED*, para verificar se a estrutura de covariância atende à condição de esfericidade, comparou-se *UN versus H-F*, tendo-se valor de $\chi^2 = |14110,3-14416,4| = 306,1$ com graus de

liberdade = 209-20 = 189. Para comparar *CS versus H-F*, tem-se $\chi^2 = |14128,1-14416,4| = 288,3$ com graus de liberdade igual a 19 (20-1).

Para se prosseguir com as análises pelo *MIXED*, novas estruturas de variâncias e covariâncias devem ser avaliadas. Observando-se a tendência das médias de PMS ao longo dos cortes (Figura 2), verifica-se efeito de sazonalidade na produção, em função da existência de estações secas e chuvosas que ocorreram durante a realização dos 20 cortes. Nessa situação, matrizes como a ‘autorregressiva de primeira ordem’-*AR(1)*, que contém um parâmetro autorregressivo (ρ) e a variância residual σ^2 , e a ‘autorregressiva de primeira ordem de média móvel’-*ARMA(1,1)*, que, além de ρ e σ^2 , inclui a variável que modela o componente de média móvel (γ), são fortes candidatas para tal avaliação (Figura 3).

Utilizando-se quaisquer dos programas de 10 a 12 e alterando-se a opção *Type* convenientemente, foram avaliadas as estruturas *AR(1)* e *ARMA(1,1)*, cujos resultados estão na Tabela 10.

Verifica-se que *ARMA(1,1)*, *AR(1)* e *CS* são as que apresentam o melhor ajuste aos dados, pois são as que possuem os menores valores de *AIC*. Para comparar *AR(1)* e *CS*, uma vez que ambas têm dois parâmetros, não é necessário utilizar o teste de χ^2 . Nesse caso, a mais adequada é a *AR(1)*, pois tem o menor valor de *AIC*. Para comparar *AR(1)* e *ARMA(1,1)*, tem-se $\chi^2 = |13957,5 - 14123,8| = 166,3$ com grau de liberdade = 1 (2-1). Consultando-se $\chi^2_1 = 166,3$, verificou-se que o valor de *p* é menor que 0,001, sugerindo que a matriz *ARMA(1,1)* é a que melhor ajusta a correlação entre as medidas repetidas.

No Programa 11, são acrescentadas as opções *Asycorr*, *Asycov* e *Ic* após *PROC MIXED*. As duas primeiras produzem, respectivamente, a matriz de correlação assintótica e a matriz de covariância assintótica das estimativas dos três parâmetros da matriz *ARMA(1,1)*: autorregressivo (ρ), componente de média móvel (γ) e a variância residual (σ^2), conforme apresentadas nas Tabelas 11 e 12. A finalidade dessas matrizes é mostrar o parentesco existente entre os mesmos (WOLFINGER, 1987).

A divergência entre os procedimentos *GLM* e *MIXED* está nos erros ϵ_{ijk} associados a cada indivíduo, conforme descrito na análise de variância

$$\begin{array}{l}
 \text{UN} \begin{bmatrix} \sigma_1^2 & \sigma_{21} & \sigma_{31} & \sigma_{41} \\ \sigma_{21} & \sigma_2^2 & \sigma_{32} & \sigma_{42} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_3^2 & \sigma_{43} \\ \sigma_{41} & \sigma_{42} & \sigma_{43} & \sigma_4^2 \end{bmatrix} \\
 \\
 \text{H-F} \begin{bmatrix} \sigma_1^2 & \frac{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}{2} - \lambda & \frac{\sigma_1^2 + \sigma_3^2}{2} - \lambda \\ \frac{\sigma_2^2 + \sigma_1^2}{2} - \lambda & \sigma_2^2 & \frac{\sigma_2^2 + \sigma_3^2}{2} - \lambda \\ \frac{\sigma_3^2 + \sigma_1^2}{2} - \lambda & \frac{\sigma_3^2 + \sigma_2^2}{2} - \lambda & \sigma_3^2 \end{bmatrix} \\
 \\
 \text{CS} \begin{bmatrix} \sigma^2 + \sigma_1 & \sigma_1 & \sigma_1 & \sigma_1 \\ \sigma_1 & \sigma^2 + \sigma_1 & \sigma_1 & \sigma_1 \\ \sigma_1 & \sigma_1 & \sigma^2 + \sigma_1 & \sigma_1 \\ \sigma_1 & \sigma_1 & \sigma_1 & \sigma^2 + \sigma_1 \end{bmatrix}
 \end{array}$$

Figura 1. Estruturas de variâncias e covariâncias não estruturada (*UN*), Huynh-Feldt (*H-F*) e simetria composta (*CS*).

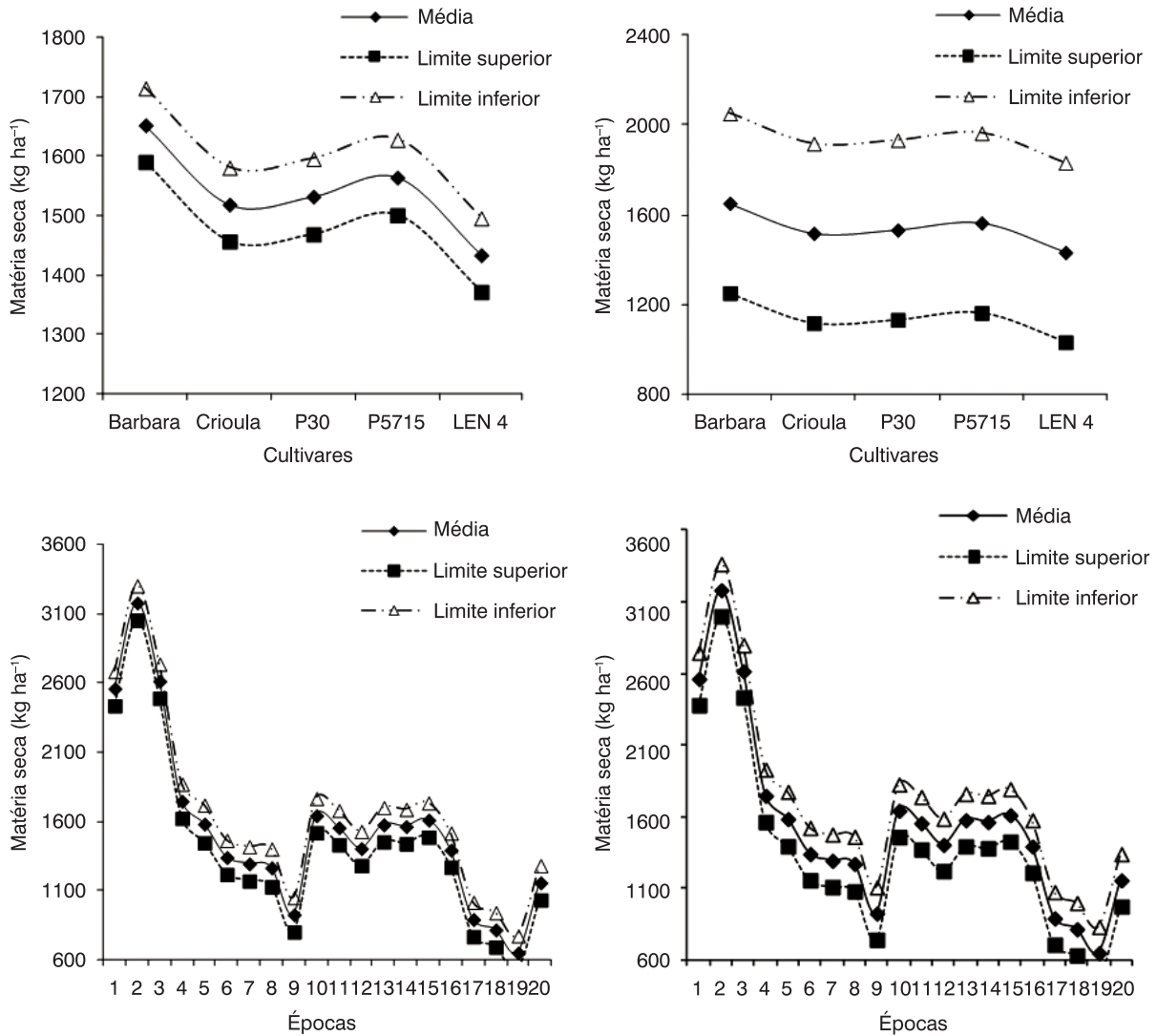


Figura 2. Intervalos de confiança com 95% de probabilidade para produção de matéria seca, em função de cultivares e épocas de cortes.

Tabela 10. Graus de liberdade, valores de -2 Res Log Likelihood e de AIC.

Estrutura	GL	-2 Res Log Likelihood	AIC
Estruturas avaliadas nos programas de 9 a 11			
UN	209	14110,3	14850,3
CS	1	14128,1	14132,1
HF	20	14416,4	14458,4
Estruturas de covariância			
AR (1)	1	14123,8	14127,8
ARMA (1,1)	2	13957,5	13963,5
CS	1	14128,1	14132,1

(ANOVA). Essa diferença reflete no cálculo dos erros-padrão (EP) associados às médias e demais análises derivadas destes, tais como testes de hipóteses e intervalos de confiança. No *GLM* e

MIXED, o EP é obtido, respectivamente, da raiz quadrada de $\sigma^2 L(X'X)^{-1}L'$ e $L(X'V^{-1}X)^{-1}L'$, em que: X é a matriz de especificação; L é a matriz de hipótese; σ^2 é o quadrado médio residual, e V é a matriz de

Tabela 11. Estimativas das variáveis de covariância com resultados parciais do programa 12 e análise de variância e valores do teste F para *GLM* e *MIXED*.

Efeito	GL Numerador	Prob > F
ANOVA para estimativas das variáveis de covariância - programa 12		
Tratamento	91	0,0151
Corte	19	<0,0001
Tratamento × Corte	1728	<0,0003
Valores do teste F para GLM e MIXED		
Efeito	GLM	MIXED
Tratamento	0,8524	0,8932
Corte	<0,0001	<0,0001
Tratamento × Corte	0,9662	0,9563

Tabela 12. Matriz de covariância e correção assintótica das estimativas das variáveis da matriz de covariância ARMA (1,1).

Variáveis	ρ	ρ	σ^2
Matriz de covariância assintótica			
ρ	0,000091	0,000146	35,9798
γ	0,000146	0,000789	150,3700
σ^2	35,9798	150,3700	36061142
Matriz de correção assintótica			
ρ	1,0000	0,5445	0,6272
γ	0,5445	1,0000	0,8912
σ^2	0,6272	0,8912	1,0000

$$\sigma^2 \begin{bmatrix} 1 & \rho & \rho^2 & \rho^3 \\ \rho & 1 & \rho & \rho^2 \\ \rho^2 & \rho & 1 & \rho \\ \rho^3 & \rho^2 & \rho & 1 \end{bmatrix}$$

AR (1)

$$\sigma^2 \begin{bmatrix} 1 & \gamma & \gamma\rho & \gamma\rho^2 \\ \gamma & 1 & \gamma & \gamma\rho \\ \gamma\rho & \gamma & 1 & \gamma \\ \gamma\rho^2 & \gamma\rho & \gamma & 1 \end{bmatrix}$$

ARMA (1,1)

Figura 3. Estruturas de variâncias e covariâncias autoregressiva de primeira ordem -AR(1) e autoregressiva de primeira ordem de média móvel - ARMA(1,1).

variâncias e covariâncias. Ou seja: os EP no *GLM* são função principal do σ^2 , enquanto no *MIXED*, são função de V.

A diferença entre *GLM* e *MIXED* quanto aos erros-padrão e às estatísticas derivadas destes está ilustrada, respectivamente, nos resultados

Tabela 13. Médias e erros-padrão para as cinco principais variedades e vinte cortes de alfafa obtidas por meio dos procedimentos *GLM* e *MIXED*.

Tratamento	GLM	MIXED
Variedades de alfafa		
Len 4	1653,1 + 31,2 ^a	1653,1 + 155,33 ^a
Bárbara	1519,5 + 31,2 ^{bc}	1519,5 + 155,33 ^a
Crioula	1532,8 + 32,0 ^{bc}	1534,3 + 155,47 ^a
P 30	1565,0 + 32,0 ^{ab}	1565,5 + 155,47 ^a
P 5715	1434,2 + 31,2 ^c	1434,2 + 155,33 ^a
Cortes de alfafa		
1	2563,4 + 62,5 ^b	2563,5 + 92,1 ^b
2	3182,5 + 62,5 ^a	3182,5 + 92,1 ^a
3	2616,7 + 62,5 ^b	2616,7 + 92,1 ^b
4	1748,9 + 62,5 ^c	1748,9 + 92,1 ^c
5	1584,3 + 68,75 ^{cde}	1586,5 + 95,7 ^{cdef}
6	1342,7 + 62,5 ^{df}	1342,7 + 92,1 ^{def}
7	1296,1 + 62,5 ^{bef}	1296,1 + 92,1 ^{efg}
8	1269,2 + 68,7 ^{ef}	1273,5 + 95,7 ^{fg}
9	928,6 + 62,5 ^{gh}	928,5 + 92,1 ^{hi}
10	1644,5 + 62,5 ^{cd}	1644,5 + 92,1 ^{cd}
11	1557,9 + 62,5 ^{cde}	1557,9 + 92,1 ^{cdef}
12	1406,7 + 62,5 ^{def}	1406,7 + 92,1 ^{defg}
13	1578,8 + 62,5 ^{cde}	1578,8 + 92,1 ^{cdef}
14	1565,9 + 62,5 ^{cde}	1565,9 + 92,1 ^{cdef}
15	1613,2 + 62,5 ^{cd}	1613,2 + 92,1 ^{cde}
16	1395,5 + 62,5 ^{def}	1395,5 + 92,1 ^{defg}
17	866,4 + 68,7 ^{gh}	894,5 + 92,1 ^{hi}
18	819,1 + 62,5 ^h	819,1 + 92,1 ⁱ
19	652,2 + 62,5 ^h	652,2 + 92,1 ⁱ
20	1159,5 + 62,5 ^g	1159,5 + 92,1 ^{gh}

^{a,b,c,d,e,f,g,h,i} Médias com letras diferentes na coluna diferem (P < 0,05).

dos programas 9 e 12. Nesses programas, a opção *Lsmeans* fornece as médias obtidas por quadrado mínimo; a opção *Adjust* produz comparações múltiplas que são ajustadas para os valores de p e para os intervalos de confiança para as diferenças de médias consideradas duas a duas; a opção *Cl* produz intervalos de confiança das médias, e a opção *Pdiff* produz todas as diferenças de médias pareadas. Na tabela 13, são apresentadas as médias e os erros-padrão para tratamento e cortes. Na organização dessa tabela, foram utilizados os resultados do *Lsmeans*, *Adjust* e *Pdiff*, enquanto que a opção *Cl* foi utilizada na organização da Figura 2.

Os valores de $Pr > F$ para os efeitos de tratamentos, cortes e interação tratamentos *versus* cortes, havendo significância apenas para o efeito de cortes. Como os dados eram balanceados, os dois métodos são concordantes quanto às estimativas de efeitos fixos. No entanto, observou-se que os erros-padrão obtidos por máxima verossimilhança (*MIXED*) são maiores do que os obtidos por quadrados mínimos ordinários (Tabela 13). Essa superioridade pode ser também observada nos intervalos de confiança, com 95% de probabilidade (HICKS, 1973) para as médias de tratamentos e de cortes (Figura 2).

4 Conclusões

O modelo linear simples do SAS é apropriado para ajustar modelos lineares gerais pelo método dos quadrados e permite executar várias análises univariadas, multivariadas por meio da opção *MANOVA* e de medidas repetidas por meio da opção *Repeated*.

O modelo linear simples do SAS somente produz resultados corretos em análises de medidas repetidas quando a condição de circularidade e esfericidade é atendida.

O modelo misto do SAS apresenta matriz mais apropriada do que a CS, por disponibilizar cerca de 40 tipos de estruturas de matriz de covariâncias, quando os dados têm distribuição normal.

Referências

BOZDOGAN, H. Model selection and Akaike's information criterion (AIC): the general theory and its analytical extensions. *Psychometrika*,

v. 52, p. 345-370, 1987. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02294361>

DAVIDIAN, M.; GILTINAN, D. M. *Nonlinear models for repeated measurement data: monographs on statistics and applied probability 62*. London: Chapman & Hall, 1996. 359 p.

FREITAS, A. R.; BARONI JUNIOR, W.; FERREIRA, R. P.; CRUZ, C. D.; MOREIRA, A.; VILELA, D. Técnicas de análises exploratórias em dados de cultivares de alfafa. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v. 37, p. 1531-1536, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982008000900003>

HICKS, C. R. *Fundamental Concepts the Design of Experiments*. New York: Rinehart and Winston. 1973. 349 p.

LITTELL, R. C.; HENRY, P. R.; AMMERMAN, C. B. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science*, v. 76, p. 1216-1231, 1998.

LITTELL, R. C.; MILLIKEN, G. A.; STROUP, W. W.; WOLFINGER, R. D. *SAS System for Mixed Models*. Cary: Statistical Analysis System Institute, 1996. 633 p.

PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. Piracicaba: Nobel, 1985. 466 p.

RASSINI, J. B.; FERREIRA, R. P.; MOREIRA, A.; VILELA, D. Avaliação de cultivares alfafa na região de São Carlos, São Paulo. *Boletim de Indústria Animal*, v. 64, n. 4, p. 289-293, 2007.

REIEZIGEL, J. Analysis of experimental data with repeated measurement. *Biometrics*, v. 55, p. 1059-1063, 1999. PMID:11315048. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0006-341X.1999.01059.x>

SCHEINER, S. M.; GUREVITCH, J. *The design and analysis of ecological experiments*. New York: Chapman & Hall, 1993. 445 p.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE - SAS. *The SAS-System for Windows. User's Guide*. versão 9.1.3. Cary: Statistical Analysis System Institute, 2003

WOLFINGER, R. Covariance structure selection in general mixed models. *Communication Statistical Simulation*, v. 2, p. 1079-1106, 1993. <http://dx.doi.org/10.1080/03610919308813143>

YAFFEE, R. A. *Analysis of Variance with GLM and Mixed Models in SAS: Some class notes*. New York: Academic Computing Services. 2004. 108 p.