

UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA

"Fructuoso Rodríguez Pérez"



Facultad de Ciencias Técnicas

Departamento de Ciencias Básicas



Instituto de Ciencia Animal

Grupo de Bioestadística Aplicada

Tesis en Opción al título de Máster en Biomatemática

**Evaluación de modelos clásicos y alternativos para describir la cinética de
producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes**

Autora: Ing. Yaneilys García Avila

Tutores: Dr.C. Magaly Herrera Villafranca

Dr.C. Rafael Rodríguez Hernández

Mayabeque, 2022

Agradecimientos

Agradezco a Dios, porque sin Él no soy nada.

A mi familia y en especial a mi hijo por su sonrisa inspiradora.

A la profesora Walkiria[†], por su amor, dedicación y perseverancia con alumnas como yo.

A mis tutores Magaly y Rafael por sus consejos, paciencia y ejemplo. Son mucho más que tutores, muchas gracias.

Al claustro de profesores, por transmitir sus conocimientos, experiencias y valores; especialmente a Lucy por su aliento en mis momentos de inseguridad.

A mis compañeros de trabajo del ICA, por brindarme su amistad y darme excelentes sugerencias profesionales y personales.

Dedicatoria

*Jehová, roca mía y castillo mío, y mi libertador;
Dios mío, fortaleza mía, en el confiaré; Mi
escudo, y la fuerza de mi salvación, mi alto
refugio.*

Salmos 18:2

Resumen

El objetivo de la tesis fue evaluar modelos clásicos y alternativos para describir la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes. Los modelos clásicos fueron el Logístico y el Gompertz. Los alternativos consistieron en la extensión de los modelos clásicos, mediante la adición de una función coseno. Por su parte, los modelos mixtos consideraron el efecto aleatorio “botella-tiempo” para explicar las mediciones longitudinales. Los parámetros se estimaron con los procedimientos MODEL y NLMIXED del software SAS 9.3. Para estudiar los puntos críticos y de inflexión de la producción de gas se utilizó el software ProGas v1.1. Para la selección del modelo de mejor ajuste se tuvo en cuenta R^2A_j , CME, significación de los parámetros y el cumplimiento de los supuestos básicos para los residuos. Se concluye que el marco teórico-conceptual sirvió de sustento para la evaluación de los modelos. Se describió la variable en estudio a partir de los puntos críticos y de inflexión, lo que permitió cuantificar los puntos de inflexión y delimitar las fases del proceso de producción de gas. La modelación de las ecuaciones clásicas y alternativas indicó que los modelos clásicos tuvieron problemas con el cumplimiento de los supuestos. El enfoque mixto mejoró el R^2A_j y el CME, sin embargo hubo problemas de normalidad residual. Los modelos extendidos tuvieron un adecuado ajuste y cumplimiento de supuestos. El modelo de Gompertz extendido fue el más integral y se propone para describir la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes.

Palabras clave: modelos extendidos, efecto aleatorio, valor nutritivo, animales.

Abstract

The objective of the thesis was to evaluate classical and alternative models to describe the in vitro gas production kinetics of ruminant feeds. The classic models were the Logistics and the Gompertz. The alternatives consisted of the extension of the classical models, by adding a cosine function. On the other hand, the mixed models considered the random effect "bottle-time" to explain the longitudinal measurements. The parameters were estimated with the MODEL and NLMIXED procedures of the SAS 9.3 software. To study the critical and inflection points of gas production, the ProGas v1.1 software was used. For the selection of the best fit model, R^2A_j , CME, significance of the parameters and compliance with the basic assumptions for the residuals were taken into account. It is concluded that the theoretical-conceptual framework served as support for the evaluation of the models. The variable under study was described from the critical and inflection points, which made it possible to quantify the inflection points and delimit the phases of the gas production process. The modeling of the classical and alternative equations indicated that the classical models had problems fulfilling the assumptions. The mixed approach improved R^2A_j and CME, however there were residual normality issues. The extended models had an adequate adjustment and fulfillment of assumptions. The extended Gompertz model was the most comprehensive and is proposed to describe the in vitro gas production kinetics of ruminant feeds.

Keywords: extended models, random effect, nutritional value, animals.

Listado de símbolos y abreviaturas

AIC	Criterio de información de Akaike
BIC	Criterio de información Bayesiano
CME	Cuadrado medio del error
CV	Coefficiente de variación
DE	Desviación estándar
EE	Error estándar de estimación
R^2	Coefficiente de determinación
R^2_{Aj}	Coefficiente de determinación ajustado
DW	Estadístico Durbin Watson
K-S	<i>Test</i> de Kolmogorov-Smirnov
B-P	<i>Test</i> de Breusch-Pagan
g	Gramos
H_0	Hipótesis nula
PGIV	Producción de gas <i>in vitro</i>
Pa	Pascal
MOinc	Materia orgánica incubada
mL	Mililitros
$\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc}$	Mililitros por gramo de materia orgánica incubada
$\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc} \cdot \text{h}^{-1}$	Mililitros por gramo de materia orgánica por hora
$\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc} \cdot \text{h}^{-2}$	Mililitros por gramo de materia orgánica por hora ²
Máx.	Máximo
n	Tamaño de la muestra
t	Tiempo
Valor P	Valor de probabilidad
V	Velocidad
θ^2	Varianza
%	Por ciento

Índice general

Introducción	1
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	1
1.1. Modelos y sus definiciones. Modelo matemático.....	1
1.2. Modelos y sus clasificaciones. Modelo matemático.....	2
1.3. La modelación matemática en las ciencias agropecuarias.	3
1.4. Técnica de producción de gas <i>in vitro</i> para evaluar el valor nutricional de alimentos para rumiantes.....	4
1.5. Evaluación de alimentos para rumiantes a partir del empleo de la técnica de producción de gas <i>in vitro</i>	5
1.6. Modelos estadísticos matemáticos para describir la producción de gas <i>in vitro</i>	7
1.7. Criterios para seleccionar modelos estadísticos matemáticos.....	11
1.8. Modelos con enfoque mixto.....	16
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.	17
2.1. Métodos de investigación.....	17
2.2. Métodos teóricos.....	17
2.3. Métodos empíricos.....	18
2.4. Métodos matemáticos-estadísticos.	18
2.5. Procedimiento experimental.....	18
2.6. Análisis estadístico matemático.	19
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23

3.1. Caracterización de la producción de gas <i>in vitro</i> de alimentos para rumiantes.....	23
3.2. Modelos clásicos, extendidos y mixtos ajustados a la producción de gas <i>in vitro</i> de alimentos para rumiantes.....	28
3.2.1. Residuos de los modelos ajustados	36
3.2.2. Gráficos de la PGIV estimada por los modelos <i>versus</i> datos reales.....	40
3.2.3. Gráfico de las velocidades de PGIV.....	42
CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45
ANEXOS.....	58

Índice de tablas

Tabla 1. Modelos matemáticos más empleados para describir la cinética de PGIV.....	8
Tabla 2. Modelos matemáticos empleados para describir la cinética de PGIV.....	20
Tabla 3. Pruebas de normalidad para las variables “PGIV” experimentales.....	23
Tabla 4. Modelación de los datos obtenidos del experimento donde se evaluó el valor nutritivo del ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato.....	29
Tabla 5. Modelación de los datos obtenidos del experimento donde se evaluó el valor nutritivo del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo.....	29
Tabla 6. Modelación de los datos obtenidos del experimento donde se evaluó el valor nutritivo de la morera.....	30
Tabla 7. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (a _{ij} : mL*g ⁻¹ MOinc) para el modelo Logístico mixto extendido, en el experimento de ensilaje con OM-22, moringa y boniato.....	33
Tabla 8. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (a _{ij} : mL*g ⁻¹ MOinc) para el modelo Gompertz mixto extendido, en el experimento de ensilaje con OM-22, moringa y boniato.....	34
Tabla 9. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (a _{ij} : mL*g ⁻¹ MOinc) para el modelo Logístico mixto extendido, en el experimento de morera.....	35
Tabla 10. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (a _{ij} : mL*g ⁻¹ MOinc) para el modelo Gompertz mixto extendido, en el experimento de morera.....	36

Índice de figuras

Figura 1. Gráfico de residuos en función de valores predichos en un ejemplo con falta de homogeneidad de varianzas. Fuente: Urbano <i>et al.</i> , 2018.	14
Figura 2. Descripción del valor nutritivo del ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato. Fuente: Software ProGas v1.1.	24
Figura 3. Descripción del valor nutritivo del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo. Fuente: Software ProGas v1.1.	25
Figura 4. Descripción del valor nutritivo de morera. Fuente: Software ProGas v1.1.	25
Figura 5. Residuos estandarizados <i>versus</i> valores predichos para los modelos con ensilaje del 25% de OM-22 25% de moringa y 50% de boniato. Fuente: Elaboración propia.	37
Figura 6. Residuos estandarizados <i>versus</i> valores predichos para los modelos donde se evaluó el valor nutritivo del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo. Fuente: Elaboración propia.	38
Figura 7. Residuos estandarizados <i>versus</i> valores predichos para los modelos donde se evaluó el valor nutritivo el valor nutritivo de la morera. Fuente: Elaboración propia.	39
Figura 8. Contraste entre la PGIV experimental y la estimada por los modelos cuando se evaluó la PGIV del ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato. Fuente: Elaboración propia.	40
Figura 9. Contraste entre la PGIV experimental y la estimada por los modelos cuando se evaluó la PGIV del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo. Fuente: Elaboración propia.	41
Figura 10. Contraste entre la PGIV experimental y la estimada por los modelos cuando se evaluó la PGIV de la morera. Fuente: Elaboración propia.	41
Figura 11. Comportamiento de la velocidad de PGIV cuando se evaluó el ensilaje con OM-22, moringa y boniato. Fuente: Elaboración propia.	42

Introducción

La modelación matemática es una herramienta útil para resumir, interpretar e inferir el comportamiento de los procesos. Su empleo es común en las investigaciones científicas porque con las modernas tecnologías informáticas se pueden obtener resultados de forma rápida, fiable y económica. Por ello, se plantea que la modelación matemática es una alternativa eficiente para procesar las observaciones experimentales (Jay 2012).

Los avances alcanzados en la modelación estadístico-matemática permiten reevaluar la utilización de los modelos clásicos. El estudio de nuevos enfoques o alternativas para modelar los fenómenos puede conducir a resultados más certeros. Con relación a esto, los modelos mixtos en combinación con el análisis de los puntos críticos y de inflexión de las funciones son poderosas herramientas a considerar en la modelación matemática de estos tiempos.

En el ámbito biológico, la modelación matemática juega un papel fundamental porque facilita la descripción de los fenómenos. Su aplicación en el análisis de la producción de gas *in vitro* (PGIV) resulta de gran utilidad para describir el comportamiento de diferentes ambientes de fermentación. Además, proporciona información sobre la composición y las tasas de fermentación de los constituyentes solubles y estructurales de los alimentos (Rodríguez *et al.*, 2020).

Una de las técnicas para obtener la PGIV es la propuesta por Theodorou *et al.* (1994). La misma se aplica de forma rutinaria para evaluar la degradabilidad de alimentos para rumiantes. También se ha empleado para predecir el consumo voluntario de alimentos *in vivo* (Blümmel y Becker 1997 y Blümmel *et al.*, 1997, 2005).

En la técnica de PGIV se emplean botellas de cristal en las que se incuba el alimento en estudio con el líquido ruminal previamente extraído. Luego, se mide la presión del gas con un manómetro de presión (Theodorou *et al.*, 1994). Las mediciones se

realizan en intervalos de tiempo más o menos amplios, según el sustrato a evaluar. Señalar que, la conversión de los valores de presión (Pa) a volumen de gas ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc}$) se realiza a través de una ecuación pre-establecida (Rodríguez *et al.*, 2013).

Por su parte, la PGIV se caracteriza por tener tres fases o etapas: 1) aceleración, 2) desaceleración y 3) lineal o asintótica (Rodríguez *et al.*, 2014). Para representar dicho comportamiento, los investigadores han utilizado diferentes modelos matemáticos. Cada uno se ajusta de forma única de acuerdo al tipo de sustrato, por lo que se hace necesaria su evaluación.

La estadística aporta criterios que permiten hacer una selección (Chacín, 1998, Kiviste *et al.*, 2002, Guerra *et al.*, 2003, Torres *et al.*, 2012 y Domínguez *et al.*, 2013). Sin embargo, aun no existe un método único para comparar los modelos y en numerosas ocasiones, los investigadores reportan muy pocos criterios estadísticos sobre la bondad del ajuste.

Para procesar los datos se cuenta con paquetes estadísticos como el IBM SPSS, Infostat, Statgraphics, SAS y R que facilitan la labor y ahorran tiempo. Estos *software* permiten modelar los datos de interés e incluyen implementaciones de numerosos criterios estadísticos. Queda entonces para el investigador, la tarea de decidir cuál criterio utilizará.

A nivel mundial y especialmente en América Latina, se utilizan los modelos matemáticos para describir la cinética de PGIV. Dentro de los países latinoamericanos que más se destacan en el empleo de esta práctica se encuentran Colombia (Vélez *et al.*, 2017 y Zambrano *et al.*, 2020), Perú (Barros *et al.*, 2017 y Núñez *et al.*, 2018); México (Hernández *et al.*, 2018, Perrusquía *et al.*, 2021 y Chávez *et al.*, 2021) y Cuba. Aquí, resaltan las investigaciones realizadas por la Universidad de Camagüey, Estación Experimental Indio Hatuey y el Instituto de Ciencia Animal (Pedraza *et al.*, 2013, López *et al.*, 2019 y Rodríguez *et al.*, 2020).

En la actualidad, los modelos que más se utilizan para describir la PGIV son el Logístico, Gompertz y los exponenciales (Rodríguez *et al.*, 2014). Estos modelos explican gran parte de la variabilidad de los datos. Sin embargo, estudios con diferentes experimentos evidenciaron limitaciones en el cumplimiento de los supuestos básicos para el análisis de los residuos (García *et al.*, 2022); como es el caso de independencia residual, que se produce al realizar mediciones repetidas en el tiempo sobre la misma unidad experimental. Por otro lado, con el software ProGas v1.1 se constató que la PGIV real puede presentar varios puntos de inflexión. Sin embargo, los modelos clásicos permiten estimar sólo uno.

Gómez y Agüero (2020) proponen que el enfoque mixto es adecuado para analizar datos longitudinales, no requieren que la distribución de los datos sea normal, ayudan a controlar la heterogeneidad de los residuos y mejoran los criterios de ajuste estadístico. Sin embargo, este enfoque ha sido poco tratado en la descripción de la PGIV y consiste en añadir efectos aleatorios a los parámetros del modelo. Es conveniente estudiar nuevos enfoques y herramientas estadísticas para mejorar la toma de decisiones.

Problema científico

¿Cómo mejorar la descripción matemática de la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes?

Hipótesis

La evaluación de ecuaciones clásicas y alternativas permitirá seleccionar los mejores modelos para describir la cinética de producción de gas *in vitro* de los alimentos para rumiantes.

Objetivo general

Evaluar modelos clásicos y alternativos para describir la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes.

Objetivos específicos

1. Elaborar el marco teórico-conceptual que sirva de sustento para la evaluación de modelos matemáticos de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes.
2. Describir la producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes a partir de los puntos críticos y de inflexión.
3. Modelar la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes con ecuaciones clásicas y alternativas.

Novedad científica

- La novedad científica de este trabajo radica en que se modeló la cinética de producción de gas *in vitro* a través ecuaciones que tienen en cuenta el comportamiento atípico de la PGIV. Dichas ecuaciones añaden una función coseno que simula las fluctuaciones observadas, mejorando el cumplimiento de los supuestos básicos del análisis de regresión.

Aporte científico

- Se obtuvieron nuevos modelos estadísticos matemáticos, que permitieron describir las fluctuaciones reales de la PGIV de forma más parsimoniosa.

Aporte teórico

- Contribución al conocimiento sobre la PGIV de alimentos para rumiantes y su modelación matemática.
- La metodología para el ajuste y selección del modelo estadístico matemático se puede utilizar en otras investigaciones.

Aporte práctico

- Radica en que se obtuvo un modelo estadístico matemático más parsimonioso para la descripción de la cinética de PGIV de alimentos para rumiantes.

Línea de investigación

- Modelación de procesos biológicos (proceso de PGIV de alimentos para rumiantes).

Características generales del proyecto al que respondo:

- Período: 2020-2023.
- Programa: Producción de Alimento Animal y Agroindustria.
- Nombre del Proyecto: Conservación de forrajes en formas de ensilaje y harina, para suplementar dietas de bovino de ceba.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

Los modelos se utilizan desde hace más de 150 años y juegan un papel fundamental en la actividad científica. Tienen diversas clasificaciones. Sin embargo, en los últimos 50 años, los modelos matemáticos han ganado terreno en las ciencias biológicas gracias a su capacidad para la explicación de los procesos y al desarrollo de técnicas de cómputo que reducen el tiempo requerido para la estimación de los parámetros.

1.1. Modelos y sus definiciones. Modelo matemático.

En las ciencias se utilizan representaciones con el fin de analizar, describir, explicar, simular, controlar y predecir fenómenos, sistemas o procesos. Se considera que la creación de estas representaciones o modelos, es una parte esencial de toda actividad científica. Según Jay (2012), los modelos son una representación simplificada del mundo real, en los cuales se destacan características relevantes del fenómeno en estudio. Para Cuevas (2014), un modelo es la representación ideal de un sistema y su forma de operar, cuyo objetivo es analizar o predecir el comportamiento futuro.

En general, un modelo no es más que una representación no exacta y simplificada de una realidad, donde se asumen condiciones ideales según convenga. Con ellos es posible obtener efectos o resultados certeros o probables acerca del fenómeno en estudio.

Los modelos matemáticos son ecuaciones o conjuntos de ecuaciones que representan el comportamiento de un sistema y sintetizan el conocimiento científico (Jay, 2012). Son descritos por un conjunto de símbolos y relaciones lógico-matemáticas que interrelacionan las variables de entrada con las variables de salida con el objetivo fundamental de estudiar una realidad y poder tomar decisiones sobre ella (Vidal-Ledo *et al.*, 2020).

Los modelos estadísticos son un tipo de modelo matemático que se emplea en los diseños experimentales y en la regresión. Los modelos de diseño experimental analizan la varianza y se utilizan generalmente para descomponer la variabilidad de una variable en sus posibles causas. Los modelos de regresión se usan para obtener curvas respuestas de valores promedios. Además, tienen en cuenta los datos suministrados y la influencia que el azar tiene en las observaciones (Prades *et al.*, 2020).

1.2. Modelos y sus clasificaciones. Modelo matemático.

Los modelos tienen diferentes clasificaciones. Chamizo (2010) plantea que se pueden clasificar de acuerdo a su analogía en mentales, materiales o matemáticos; y según su contexto pueden ser didácticos o científicos. Según Candelaria *et al.* (2011), los modelos también se pueden clasificar como: estáticos (no tienen en cuenta el tiempo), dinámicos (tienen en cuenta el tiempo). Se pueden dividir de acuerdo a su objetivo. Serán descriptivos cuando la meta es explicar o entender, o predictivos cuando replican el comportamiento de un sistema real (González, 2016).

Según Candelaria *et al.* (2011), los modelos matemáticos pueden ser lineales o no lineales. De forma general, los modelos lineales son más fáciles de manejar que los modelos no lineales, los cuales se pueden “linealizar”, pero se corre el riesgo que se pierdan aspectos relevantes del problema.

Los modelos matemáticos pueden ser deterministas o estocásticos. En un modelo determinista se pueden controlar los factores que intervienen en el estudio del proceso y por tanto se pueden predecir con exactitud sus resultados. En un modelo estocástico o estadístico no es posible controlar los factores que intervienen en el estudio del fenómeno y en consecuencia no se producen resultados únicos (Pozos *et al.*, 2019). Las variables de estado y los resultados posibles se generan con una función de probabilidad, por tanto el modelo es capaz de recoger aleatoriedad o incertidumbre (Bravo 2010).

1.3. La modelación matemática en las ciencias agropecuarias.

La modelación matemática tiene carácter de método científico general y sus bases están en el empleo de los avances en las matemáticas, la cibernética y el enfoque sistémico (Domínguez, 2013). El objetivo principal de la modelación matemática es determinar la (o las) ecuaciones que relacionan las variables del modelo (Di Rienzo 2012). Los datos experimentales que se obtienen se ajustan a los modelos por medio del análisis de regresión.

En las ciencias agropecuarias los modelos se emplean desde hace más de 50 años. Al principio se utilizaron para evaluar procesos simples e individuales. Luego para evaluar procesos más complejos que integran los componentes del sistema de manera multi o interdisciplinaria (Chuairey *et al.*, 2018).

Estos modelos se han aprovechado para describir la evapotranspiración, crecimiento y desarrollo de las plantas; para estudiar las respuestas de cultivos ante la aplicación de diferentes niveles de fertilizantes (Rodríguez, 2016). También es importante su aplicación en la descripción de sistemas de pastoreo (Mejías 2018), curvas de puesta de huevo en gallinas (Gómez 2017), analizar el crecimiento animal (Fernández, 2005) y el comportamiento de epidemias (Benítez y Miranda 2018).

En Cuba, la modelación ha tenido un amplio desarrollo en el campo de las ciencias agropecuarias. Los trabajos se han encaminados en la estimación y evaluación de parámetros genéticos, productivos, reproductivos, ambientales y sociales. En el caso particular de animales rumiantes son numerosos los estudios que utilizan la modelación matemática. Menchaca (1990) la empleó para describir el comportamiento de la producción de leche, peso vivo, lactancia, consumo de materia seca y utilización de la energía metabolizable. También se usó para describir curvas de crecimiento de animales bajo explotación comercial, estimar parámetros genéticos y balances calóricos (Regalado *et al.*, 2021), cuantificar el amoníaco que se volatiliza diariamente por las bostas frescas de vacas lecheras (Torres, 1996), describir la digestión, el metabolismo del nitrógeno (Larduet y Savón 1995) y

predecir la síntesis de proteína microbiana (Rodríguez 2010). Además, la modelación matemática permite caracterizar la dinámica de degradación ruminal y estimar parámetros que describen la naturaleza intrínseca de los alimentos y las interacciones de los nutrientes que limitan su digestión (Rodríguez, 2016).

El método de los mínimos cuadrados se encuentra entre los más empleados para estimar los parámetros en los modelos de regresión lineal. Sin embargo, en las regresiones no lineales se utilizan algoritmos iterativos, como el método de Levenberg-Marquardt, para resolver el problema de mínimos cuadrados no lineales. Este algoritmo trata de minimizar la suma de cuadrados de los residuos, comenzando con algún valor de los parámetros del modelo. El algoritmo busca si otro vector de parámetros mejora el valor de la función objetivo y se produce un proceso de iteración hasta que se alcanza un cierto criterio de convergencia (Cornejo y Rebolledo, 2016).

1.4. Técnica de producción de gas *in vitro* para evaluar el valor nutricional de alimentos para rumiantes.

Una opción válida ante las necesidades actuales es estudiar el valor alimenticio de los forrajes y dietas que consumen los rumiantes, ya que de ello depende la producción de leche y carne. Los alimentos deben ser capaces de cubrir los requerimientos nutricionales de los animales, tanto para su mantenimiento como para producir. Por ello, se han desarrollado diversas técnicas para evaluar los alimentos que ingieren los rumiantes. Estas técnicas permiten formular dietas apropiadas que aumenten la eficiencia y la productividad de la ganadería.

Entre las técnicas para la evaluación de alimentos para rumiantes se encuentra la denominada técnica *in vitro* de producción de gas (Theodorou *et al.*, 1994). Esta técnica es económica, consume poco tiempo, requiere pequeñas cantidades de material vegetal como sustrato y permite un mayor control de las condiciones experimentales (Rodríguez, 2010). Es una alternativa versátil, que se ajusta a diversos tipos de alimentos y que permite describir la cinética de degradación del

alimento incubado a través de la medición del gas que se libera durante el proceso fermentativo.

Dentro de las condiciones que se tienen en cuenta para que la técnica se ejecute de forma apropiada está: incubar los sustratos con un inóculo microbiano, ya sea líquido ruminal o heces frescas. Los sustratos a evaluar deben tener un tamaño de partícula tal que facilite la degradación (≈ 1 milímetro). Además, se debe garantizar que el inóculo se mantenga con un pH entre 6 y 7, para que los microorganismos se desarrollen adecuadamente, lo que se puede lograr con la adición de una solución *buffer*. En la solución de incubación también se adicionan micro y macrominerales para garantizar que ninguno de estos elementos sean limitantes de la fermentación (Williams, 2000).

Además, se debe proveer un ambiente anaeróbico a los microorganismos, similar al del rumen, por lo que el inóculo se procesa en atmósfera de CO_2 , que disminuye los estados de oxidación de los componentes del inóculo y la presencia de oxígeno. También se debe garantizar temperatura entre 39 y 40°C, equivalente a la temperatura ruminal (Rodríguez, 2010).

Para calcular el gas se usan diferentes procedimientos. Los principios básicos son medir: 1) el volumen de gas a presión atmosférica constante o 2) la presión de gas a un volumen constante (Theodorou *et al.*, 1994). Los elementos anteriores son válidos, aunque los resultados se pueden afectar por la forma en que se realizan las mediciones (manual, semiautomática o automática) y por la sensibilidad de los instrumentos que se utilizan para ello.

1.5. Evaluación de alimentos para rumiantes a partir del empleo de la técnica de producción de gas *in vitro*.

Son numerosos los ejemplos en que se evalúa el valor nutritivo de nuevos alimentos o su inclusión en dietas a partir de la técnica *in vitro* de producción de gases. Se destacan los estudios de:

- Pastos de gramíneas y leguminosas, porque son la principal fuente forrajera disponible para los rumiantes y han mostrado una excelente adaptación a las condiciones de clima y suelo predominantes en el trópico (Hernández *et al.*, 2018 y Álvarez *et al.*, 2019).
- Complementos como la caña de azúcar y sus derivados (Lagos y Castro 2019).
- Plantas tropicales como la *Samanea Saman*, *Albizia Lebbeck* (Sánchez *et al.*, 2018), *Azadirachta Indica*, *T. Diversifolia* (Sandoval *et al.*, 2020), *Cordia Alba*, *L. Leucocephala* (La O *et al.*, 2018), *Pithecellobium Dulce*, *M. oleífera*, *Gliricidia Sepium* (Romero *et al.*, 2020), *Guazuma Ulmifolia* y *Enterolobium Cyclocarpum* (Pinto *et al.*, 2019).
- Ensilajes para la alimentación animal, permiten ofertar un producto terminado, estable en el tiempo y disponible según las necesidades alimentarias de la ganadería en períodos que escasean otras fuentes de alimento (Aragadvay *et al.*, 2022).
- Sorgo, es un alimento convencional en la alimentación de rumiantes, su composición química es similar al maíz pero con más bajo contenido de lípidos (Arce *et al.*, 2020).
- Moringa, ha recibido una gran atención para la alimentación de rumiantes ya que puede acumular más de 20% de proteína en sus hojas, lo que mejora el balance de nitrógeno cuando se mezcla con las gramíneas tropicales. Además, aporta gran cantidad de vitamina A, C, calcio y potasio (Rodríguez *et al.*, 2017).
- Tubérculo de boniato, es rico en almidones y constituye un cultivo tradicional en el país. Sin embargo, existe poca información de su empleo en la confección de ensilajes para rumiantes, aunque se conoce su conservación

en la elaboración de ensilajes integrales conformados por el follaje y el tubérculo y existen estudios recientes que evalúan su inclusión en ensilajes mixtos (Rodríguez *et al.*, 2020).

- Morera, es una fuente de alimentación apta para las necesidades forrajeras de los bovinos en crecimiento ya que ésta no altera los niveles de ingestión de materia seca, fibra neutra y proteína cruda en los niveles evaluados. Mora-Valverde (2010) informó que suplementar la alimentación de terneras de reemplazo no representó limitantes en la aceptación y el consumo.

1.6. Modelos estadísticos matemáticos para describir la producción de gas *in vitro*.

Existen diferentes modelos matemáticos que se pueden utilizar para representar la producción de gas en el tiempo; todos ellos con diferencias de ajuste estadístico, según las condiciones experimentales y el tipo de sustrato, lo que hace necesaria su evaluación previa. Para la selección del modelo que mejor describe la producción de gas *in vitro* se debe considerar el ajuste matemático y la interpretación biológica de cada parámetro (Posada y Rosero, 2007). En la tabla 1 se muestran las ecuaciones de los modelos con mayor aplicación para este análisis. Vale la pena señalar que los modelos que más se utilizan son los sigmoidales (Rodríguez *et al.*, 2014).

Las ecuaciones matemáticas propuestas para modelar la producción de gas han evolucionado desde modelos simples que siguen una cinética de primer orden (Ørskov y McDonald, 1979) a los más sofisticados, como los llamados multifásicos, que dan una descripción más detallada de la cinética de producción de gas de las diferentes fracciones que componen el alimento (Groot *et al.*, 1996). El desarrollo de estos ha estado pautado por la evolución de la propia técnica de producción de gas. Las iniciales generaban perfiles simples de producción de gas con pocas observaciones. Con los avances tecnológicos y la automatización del proceso (Davies *et al.*, 1995; Mauricio *et al.*, 1999) se comenzaron a generar perfiles de alta

resolución y gran cantidad de observaciones, lo que facilitó el empleo de modelos más flexibles y complejos para explicar la variabilidad observada.

Tabla 1. Modelos matemáticos más empleados para describir la cinética de PGIV.

Fuente Bibliográfica	Modelo Matemático
Ørskov y McDonald (1979)	$PGIV(t) = a + b(1 - e^{-ct})$
McDonald (1981)	$PGIV(t) = a + b(1 - e^{-c(t-L)})$
Mertens y Loften (1980); Krishnamoorthy et al. (1991) y France (2000)	$PGIV(t) = Vp(1 - e^{-c(t-L)})$
France et al.(1993)	$PGIV(t) = Vp \left(1 - e^{-Tf(t-L)} - Te^{(\sqrt{t}-\sqrt{L})} \right)$
Schofield et al. (1994)	$PGIV(t) = \frac{Vp}{(1 + e^{(2-4c(t-L))})}$
Groot et al.(1996)	$PGIV(t) = \sum \frac{Vp}{1 + \left(\frac{T}{t}\right)^F}$
Lavrencic et al. (1997)	$PGIV(t) = (Vp)e^{-re^{-kt}}$
Correa (2004)	$PGIV(t) = 0; \text{ para } t \leq L$ $PGIV(t) = Vp(1 - e^{-ct}); \text{ para } t > L$

PG_(t): es la producción de gas in vitro en el tiempo t (ml, mlg⁻¹MS incubada, mlg⁻¹MO incubada), **a**: es el gas producido por la fracción soluble (ml, mlg⁻¹ MS incubada, mlg⁻¹MO incubada), **b**: es el gas producido por la fracción insoluble pero potencialmente fermentable (ml, mlg⁻¹MS incubada, mlg⁻¹MO incubada), **c**: es la tasa de producción de gas (h⁻¹), **r**: factor de eficiencia microbiana, **t**: es el tiempo de fermentación (h), **L**: representa el período de latencia antes que la producción de gas se inicie, es el tiempo de retraso o fase lag (h), **V_p**: es la producción potencial de gas del tratamiento en las condiciones de incubación, asíntota cuando t = ∞ (ml, mlg⁻¹MS incubada, mlg⁻¹MO incubada), **K**, **Te**: son factores constantes de eficiencia microbiana (h⁻¹), (h^{-1/2}), **T_f**: describe la tasa fraccional de producción de gas (h⁻¹), **T**: Es el tiempo en el cual la mitad de la producción de gas ha sido alcanzada (h), **F**: Constante que determina la forma y las características del perfil de la curva y, por lo tanto, la posición del punto de inflexión. **Fuente:** Elaboración propia.

Los modelos planteados se pueden clasificar en tres tipos: modelos exponenciales, sigmoidales y multicompartimentales o multifásicos. A continuación se comentan:

Modelos exponenciales

Se utilizan en muchos casos por su sencillez y relación biológica de sus parámetros. El modelo de primer orden de Ørskov y McDonald (1979) suponen que las fracciones potencialmente digeribles y no digeribles actúan como compartimentos distintos con características cinéticas homogéneas, la tasa fraccional de la digestión es constante y es una función intrínseca del sistema digestivo y del sustrato.

En este modelo se asume también que la digestión comienza instantáneamente (tiempo igual a cero) y continúa indefinidamente (tiempo tiende a infinito), que las enzimas o concentraciones microbianas no son limitantes, que el flujo o la velocidad absoluta es estrictamente una función de la cantidad de sustrato potencialmente digerible presente en cualquier momento y que la solubilización es tan rápida en comparación con la degradación que se considera ocurre de forma instantánea.

El modelo descrito por McDonald (1981) se diferencia del anterior porque incluye un parámetro que se corresponde con el tiempo de retraso o fase *Lag*. En esta fase, los microorganismos se adhieren a las partículas de alimento y preparan la maquinaria enzimática para crecer y utilizar el sustrato disponible en la nueva condición ambiental que se les impone (Yoon y Stern, 1995).

Sin embargo, los datos que se obtienen por la técnica *in vitro*, son los valores totales de gas que se producen a partir de la fracción soluble y de la fracción insoluble pero potencialmente fermentable del alimento. Ante esta situación, no es posible determinar qué proporción proviene de una fracción u otra del sustrato fermentado; por lo que desde el punto de vista práctico los dos modelos anteriores son apropiados para la modelación matemática de datos de técnicas como la de degradación *in situ*, en la que se pueden determinar ambas fracciones, pero son poco útiles para los estudios de producción de gas *in vitro*. Este problema se resolvió al integrar en un solo parámetro la producción de gas potencial del sustrato (Mertens y Loftén, 1980; Krishnamoorthy *et al.*, 1991 y France, 2000).

La ecuación propuesta por France *et al.*, (1993) es empírica pero conserva el concepto de tiempo de retardo y la tasa de degradación se postula de forma que varía en función del tiempo de incubación. Sin embargo, incluye un parámetro que no tiene interpretación biológica conocida (T_f). Por su parte, el modelo que presenta Correa (2004) es similar al de Mertens y Loften (1980). Sin embargo, en este caso, no se produce gas antes del tiempo de retraso.

Rodríguez (2010) señala que algunos ajustes de modelos brindan valores negativos para el parámetro tiempo de retardo (L). Estos valores podrían estar dados por la disponibilidad de nutrientes de rápida fermentación al inicio o a una rápida adaptación de los microorganismos a los sustratos. Por otra parte, Rodríguez *et al.* (2019) refieren que estos valores negativos se pudieran deber a un artificio matemático que forzara el ajuste de la curva.

Modelos sigmoidales

Los modelos Logístico y Gompertz fueron propuestos por Schofield *et al.* (1994) y Lavrencic *et al.* (1997), respectivamente. Ambos modelos son de tipo sigmoidales. Estos se caracterizan por representar tres fases de la curva de producción de gas.

Mientras los modelos de tipo exponencial asumen que el único factor limitante de la fermentación es la cantidad de materia orgánica fermentable, los modelos de tipo sigmoidales suponen que la producción de gas depende del tamaño de la población microbiana del inóculo y de las características intrínsecas del sustrato. Este tipo de modelo asume que al inicio de la fermentación, la población microbiana constituye el factor limitante y al final es la disponibilidad de sustrato fermentable. Además, suponen que se produce gas desde el inicio de la incubación (Arce *et al.*, 2020).

Modelo multicompartimental

Los modelos multicompartimentales permiten estudiar mezclas alimenticias con diferentes tasas de degradación. Según Groot *et al.* (1996), el sustrato se puede considerar como una única entidad con una tasa de producción que no varía en el

tiempo (monocompartimental), o como una entidad múltiple que puede estar constituida por fracciones de rápida y lenta fermentación; donde cada una presenta una tasa de degradación característica (multicompartimental).

Groot *et al.* (1996) proponen un modelo flexible para parametrizar las curvas de producción de gas y cuantificar el número de fases emergentes del perfil observado. La ecuación tiene como limitante que el parámetro “F” aún no se ha podido interpretar desde el punto de vista biológico. Este parámetro es fundamental para el modelo porque cuando $F \leq 1$, la curva no tiene punto de inflexión y presenta la forma de una función exponencial; y cuando $F \geq 1$, la curva entonces tiene punto de inflexión y adopta una forma sigmoideal.

1.7. Criterios para seleccionar modelos estadísticos matemáticos.

Para elegir un modelo se deben tener presente el mejor balance entre la capacidad de ajuste de los datos, complejidad e interpretación biológica de los parámetros que arrojen esos modelos. Según Posada y Rosero (2007), cuanto mayor es el número de parámetros, tienden a ajustar mejor a una base de datos. Sin embargo, resultan ser más inestables y es más difícil encontrar una interpretación biológica para todos sus parámetros.

Diversos autores utilizan criterios estadísticos para la selección de modelos de mejor ajuste (Posada y Rosero, 2007 y Augusto, 2009), pero estos pueden variar de una investigación a otra. Entre los más que se utilizan en las investigaciones se encuentran: el coeficiente de determinación, coeficiente de determinación ajustado, cuadrado medio del residuo (o del error), error estándar de la estimación, significación de los parámetros y su interpretación, así como la prueba de Durbin-Watson, esta última para el análisis de los residuos.

El coeficiente de determinación (R^2) declara la proporción de la variación de la variable dependiente que es explicada por las variables predictoras. Los valores de este estadístico cercanos a 1 implican que la mayor parte de la variable dependiente

esta explicada por el modelo de regresión. Por su parte, el coeficiente de determinación ajustado (R^2_{Aj}) es similar al coeficiente de determinación pero tiene en cuenta el tamaño de la muestra y el número de parámetros incluidos en el modelo. El cuadrado medio del error (CME) informa sobre la precisión de las estimaciones. El error estándar (EE) de los parámetros estimados permite determinar los intervalos de confianza para los parámetros, mientras que el EE del modelo muestra la desviación normal de los residuos y se puede utilizar para la predicción de nuevas observaciones (Chacín, 1998, Kiviste *et al.*, 2002, Guerra *et al.*, 2003, Torres *et al.*, 2012, Domínguez *et al.*, 2013 y Rodríguez, 2016).

Por su parte, el coeficiente de variación (CV) establece una relación entre el tamaño de la media y la variabilidad de la variable. La prueba de CHI-cuadrado (X^2) es una prueba de hipótesis que compara la distribución observada de los datos con una distribución esperada de los datos. Por su parte, la prueba de Durbin-Watson (DW) es una prueba que se utiliza para detectar la presencia de autocorrelación en los residuos (Uyanto 2020). La hipótesis nula (H_0) de la prueba de autocorrelación de Durbin-Watson es que la autocorrelación es cero *versus* la alternativa que afirma que es distinta de cero. Se calcula el estadístico d : Si $d < d_L$; se rechaza H_0 . Si $d > d_U$; no se rechaza H_0 y si $d_L < d < d_U$; el test no es concluyente. Los valores críticos de “ d ” se pueden localizar en tablas según el número de regresores del modelo, nivel de significación y el tamaño de muestra.

También se utilizan la prueba de significación de los parámetros que determina la significación estadística de los parámetros del modelo. El criterio de información de Akaike (AIC) y el criterio de información bayesiano (BIC) se utilizan para seleccionar modelos entre varios candidatos. Estos criterios de información permiten elegir el número de parámetros que minimice el valor del criterio. Su idea clave es la de penalizar la función de verosimilitud del modelo de acuerdo con su complejidad, de modo que los mejores modelos no deben tener un exceso de parámetros ajustados (Montoya & Quiroz 2021). El término de penalización varía en función del criterio de

información seleccionado (Posada y Rosero, 2007). En el momento de seleccionar modelos se deben preferir aquellos con valores más bajos.

El residual se le llama a las diferencias entre el valor observado (y_n) el valor ajustado correspondiente ($\hat{y}_n$). Los residuales tienen un papel importante para investigar la adecuación del modelo de regresión ajustado, y para detectar diferencias respecto a las hipótesis básicas. La diferencia agregada o sesgo evalúa la desviación media de los residuos del modelo respecto a los valores observados. El signo del error de predicción promedio expresa si la función examinada sobrestima (-) o subestima (+) el valor de los datos analizados (Chacín, 1998, Kiviste *et al.*, 2002, Guerra *et al.*, 2003, Torres *et al.*, 2012, Domínguez *et al.*, 2013 y Rodríguez, 2016).

Por su parte, a través de los gráficos de dispersión de residuos estandarizados *versus* valores predichos se puede valorar el supuesto de homocedasticidad de los errores. La homocedasticidad u homogeneidad de varianza residual se define como:

$$\text{Varianza } (y_1 - \hat{y}_1)/x_1 = \text{Varianza } (y_2 - \hat{y}_2)/x_2 = \text{Varianza } (y_3 - \hat{y}_3)/x_3 = \text{Varianza } (y_n - \hat{y}_n)/x_n = \theta^2$$

El gráfico debe mostrar una nube de puntos sin patrón alguno (patrón aleatorio) y los residuos tipificados deben estar entre -2 y 2. Si se observa estructura o forma de embudo que se ensancha indica la falta de homogeneidad de varianzas. Un patrón típico que indica falta de homogeneidad en las varianzas, se muestra en la Figura 1. Aunque los *test* estadísticos permiten evaluar el cumplimiento de los supuestos para los residuos, a través de los gráficos residuales se pueden evaluar los intervalos donde existió heterogeneidad, falta de ajustes y puntos atípicos (Urbano *et al.*, 2018).

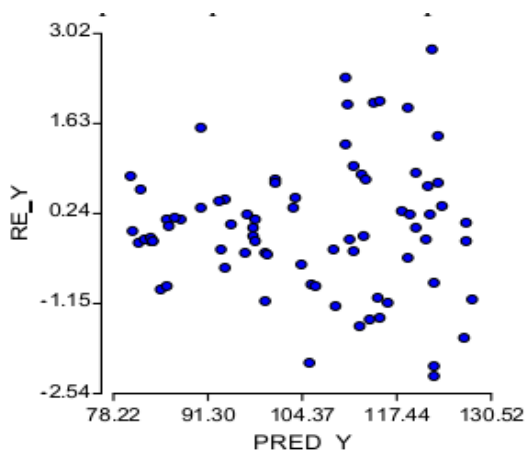


Figura 1. Gráfico de residuos en función de valores predichos en un ejemplo con falta de homogeneidad de varianzas. **Fuente:** Urbano *et al.*, 2018.

El comportamiento de los residuos también se puede analizar a través del gráfico de los residuos estandarizados *versus* valores calculados estandarizados. Se debe observar que la nube de puntos no revela ningún patrón específico; indicando de esta manera que el modelo de regresión analizado es “Homocedástico”.

Hasta el momento, la mejor manera de determinar la homogeneidad de varianzas de los residuos es a través de sus gráficos. También existen pruebas como las de White (1980) y la de Breusch-Pagan (1979) para determinar la presencia de heterocedasticidad en regresiones lineales. A continuación se comentan:

White (1980) derivó un contraste asintótico que no precisa especificar las variables que provocan la heterocedasticidad. Con el cuadrado de los residuos de la regresión original, se efectúa una regresión (auxiliar) sobre las variables X originales, sobre sus valores al cuadrado y sobre los productos cruzados de las variables explicativas. Bajo la H_0 de que no hay heterocedasticidad (homocedasticidad), puede demostrarse que el tamaño de la muestra (n) multiplicado por el R^2 obtenido de la regresión auxiliar, asintóticamente sigue la distribución Chi-cuadrado con un número de grados de libertad (p) igual al número de variables explicativas (Stanislaus 2022).

En la prueba de Breusch y Pagan (1979) la idea fundamental es comprobar si existe una variable o un conjunto de variables Z (algunas de las X o todas ellas,) que sirvan para explicar la varianza de las perturbaciones aleatorias. El contraste de Breusch-Pagan, requiere conocer tanto la forma funcional como las variables que causan la heterocedasticidad. Esta prueba tiene una ventaja con respecto a la de White, pues se trata de un contraste constructivo. En caso de rechazar H_0 de homocedasticidad, el contraste de Breusch-Pagan indica las variables que están causando la heterocedasticidad.

De manera general, dichas pruebas utilizan una función de tipo lineal en los parámetros para describir el comportamiento de los residuos en función de las variables explicativas. Sin embargo, estas podrían servir como indicadores de heterocedasticidad con forma funcional lineal y apoyar la toma de decisiones sobre el comportamiento de los residuos en los modelos no lineales. Vale la pena señalar que ambas pruebas son asintóticas por lo que requieren un número suficiente de observaciones para tener una respuesta potente.

La prueba no paramétrica de Rachas (prueba de Wald y Wolfowitz) permite verificar la H_0 de que la muestra es aleatoria. Se basa en el número de rachas que presenta una muestra. Para conocerla se debe organizar en categorías (por ejemplo, por encima o por debajo de la media) y luego se cuenta la cantidad de grupos consecutivos de una misma categoría. Además, tiene en cuenta el número de datos que correspondió a cada categoría (Stanislaus 2022).

Para la selección del modelo de mejor ajuste es necesario considerar diferentes criterios estadísticos y tener en cuenta la interpretación biológica de los parámetros. Aunque existen numerosos criterios para seleccionar el modelo más adecuado, la mayoría de los estudios consultados sobre la temática no los refieren y estos están en correspondencia con la decisión del investigador.

1.8. Modelos con enfoque mixto.

Un problema frecuente al modelar los datos de producción de gas *in vitro* es que los residuos se correlacionan entre sí. Esto puede estar relacionado a que en este tipo de estudios se realizan mediciones, repetidas en el tiempo, sobre la misma unidad experimental. Esta forma de medición conduce al incumplimiento del supuesto de independencia de los errores. Ante esta circunstancia se hace necesario buscar modelos adecuados a los datos. Autores como García *et al.* (2014), proponen los modelos con enfoques condicionales, también denominados modelos mixtos o específicos del sujeto.

Según Botero y Barajas (2017) la ecuación del modelo sujeto-específico es común para todos los grupos. Sin embargo, se añaden efectos aleatorios que permiten que algunos de los parámetros varíen entre los individuos. El enfoque condicional es diferente al del marginal o promedio poblacional, estos últimos modelan de forma directa la covarianza intra-individuo, centrando el interés en los parámetros que describen las medias marginales y tratando a los de la estructura de covarianza como parámetros de ruido (error). Sin embargo, los modelos condicionales o sujeto-específicos permiten obtener perfiles individuales en adición al perfil promedio. La elección de uno u otro enfoque dependerá fundamentalmente de los objetivos que se pretendan alcanzar.

En este sentido los modelos con enfoque mixto ofrecen nuevas posibilidades ante el incumplimiento de los supuestos básicos en los modelos tradicionales, por lo que resulta una alternativa adecuada. Estos permiten analizar datos correlacionados, modelan diferentes estructuras de varianza y covarianza, asociada a estos. Además, al introducir un efecto aleatorio mejoran su estimación y la de sus parámetros (Gómez y Agüero 2020).

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.

Una vez se realizó la revisión bibliográfica de la PGIV, es posible definir los métodos y herramientas a utilizar en la investigación. Para ello, el presente capítulo recoge los siguientes aspectos: métodos teóricos, empíricos y matemáticos-estadísticos; metodología experimental empleada, análisis estadístico matemático realizado para el desarrollo de la investigación, los modelos seleccionados para describir la PGIV, así como las herramientas utilizadas para el procesamiento y análisis de la información.

2.1. Métodos de investigación.

Los métodos de la investigación se clasificaron en teóricos, empíricos y estadísticos matemáticos. A continuación se describen:

2.2. Métodos teóricos.

Histórico-lógico: Permite conocer la evolución y desarrollo de la modelación matemática de la PGIV de alimentos para rumiantes.

Tránsito de lo abstracto a lo concreto: Permite comprender las cualidades esenciales de la cinética de PGIV, destacar sus propiedades y relaciones con el fin de sintetizar conceptos, obtener conocimientos más profundos y de mayor contenido esencial, que se puedan llevar a la práctica.

Análisis-síntesis: Con el objetivo de separar el objeto de la investigación en cada una de sus partes. Descubrir sus interrelaciones. Además, de realizar un análisis de la información obtenida en las fuentes bibliográficas y resumirla para la elaboración adecuada de la investigación.

Inducción-deducción: Permite hacer un análisis de los conceptos teóricos y estudios realizados por diferentes autores, sobre el empleo de la modelación de la cinética de PGIV de alimentos para rumiantes y poder arribar a conclusiones, donde se establezcan relaciones entre lo singular, particular y general.

Enfoque de sistema: Este método está dirigido a modelar el objeto, PGIV, mediante la determinación de sus componentes (alimento, fracción soluble, insoluble, tiempo, etc.) así como las relaciones entre ellos, las que determinan su dinámica, su movimiento.

Modelación: Para la descripción del proceso de PGIV.

2.3. Métodos empíricos.

Observación: Se realizó con el objetivo de obtener información del objeto de estudio y seleccionar aquello que se quiere analizar y diagnosticar aquellos elementos que se pueden utilizar para el cumplimiento de las hipótesis.

Análisis documental: Permitió realizar un análisis de los documentos encontrados durante el proceso de investigación para la realización de la fundamentación teórica y el desarrollo de la investigación. Se tomó información confiable nacional e internacional sobre la cinética de PGIV de alimentos para rumiantes.

Criterio de expertos: Permitió validar la propuesta de investigación a través del criterio de expertos, sus conocimientos, investigaciones, experiencia, estudios bibliográficos, etc. Esto da la posibilidad a los expertos de analizar el tema con tiempo, sobre todo si no hay posibilidades de que lo hagan de manera conjunta.

2.4. Métodos matemáticos-estadísticos.

Estadística descriptiva e inferencial: para caracterizar la PGIV y hacer inferencias sobre el comportamiento de los alimentos para rumiantes basadas en la información contenida en los experimentos. Se utilizaran tablas y gráficos para representar la información obtenida y lograr una mejor comprensión de la investigación.

2.5. Procedimiento experimental.

Se utilizó la información proveniente del departamento de Ciencias Fisiológicas perteneciente al Instituto de Ciencia Animal. Se seleccionaron tres experimentos que

utilizaron la técnica de gas *in vitro* descrita por Theodorou *et al.* (1994) para evaluar el efecto de incluir diferentes sustratos en la fermentación ruminal. Como inóculo microbiano se empleó líquido ruminal y el gas se midió de forma manual a través de un manómetro de presión.

En el **primer experimento**, se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial (3x2). Los factores fueron: tres niveles de inclusión (0, 25 y 50%) de tubérculo de boniato (*Ipomoea batata*) y el empleo o no de cepa bacteriana como aditivo microbiano a ensilajes con un núcleo fibroso de *Cenchrus purpureus* de Cuba (OM-22) y moringa (*Moringa oleífera*). Cada tratamiento se reprodujo en 3 botellas diferentes. La PGIV se midió a las 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 29, 48, 72, 77 y 144 horas. Para la presente investigación se utilizaron los datos del ensilaje formado por una componente básica (25% de OM-22 y 25% de moringa) a la cual se le añadió 50% de boniato, sin aditivos microbianos.

El **segundo experimento** se empleó un diseño experimental completamente aleatorizado de 5 ensilados formados por combinaciones de pulpa de cítrico y sorgo (*Sorghum vulgare*). Cada tratamiento se reprodujo en 4 botellas distintas. La PGIV se midió a las 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas. En este caso se tomaron los datos de PGIV del ensilaje formado por 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo.

En el **tercer experimento** se evaluaron 4 tratamientos. Para ello se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado con 4 repeticiones por tratamiento. Para este estudio se seleccionó la PGIV de la fermentación de la morera (*Morus alba*) y las mediciones se realizaron en los siguientes horarios 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 36, 48, 72, y 96 horas.

2.6. Análisis estadístico matemático.

Antes de modelar los datos, se caracterizaron los perfiles de producción de gas. Para ello se calcularon los puntos críticos y de inflexión de la velocidad de PGIV

mediante el software ProGas v1.1. Dicho programa utiliza la ecuación 1 (Rodríguez *et al.*, 2013) para convertir los datos de presión a valores de volumen de gas:

$$\text{Volumen (mL g}^{-1} \text{ MOinc)} = (\text{Presión (Pa} \cdot 10^3) + 4.95) / (\text{MOinc}) \text{ (Ecuación 1).}$$

Además, para calcular los puntos críticos y de inflexión se consideró que, existe un máximo local de la función “f” en el punto “a” sí: $f'(a)=0$ y $f''(a) < 0$ y existe un mínimo local en el punto “a” sí: $f'(a)=0$ y $f''(a) > 0$. Por otra parte, sí f’ es derivable en el punto “a” y $f''(a)=0$; existe un punto de inflexión en “a” (González y Llamas 2017).

Posteriormente, cada perfil de PGIV se modeló con las ecuaciones descritas en la tabla 2. Primero se utilizaron los modelos clásicos Logístico (Schofield *et al.*, 1994) y Gompertz (Lavrencic *et al.*, 1997). Luego se proponen los modelos alternativos Logístico y Gompertz extendidos. La extensión consistió en añadir a los modelos clásicos una función coseno de amplitud (A) y frecuencia constante (1/T).

Tabla 2. Modelos matemáticos empleados para describir la cinética de PGIV.

Modelo	Tipo	Ecuación matemática	Ecuación
Logístico	Clásico	$PGIV(t) = \frac{b}{(1 + e^{(2-4c(t-L))})}$	(2)
	Extendido	$PGIV(t) = \left(\frac{b}{(1 + e^{(2-4c(t-L))})} \right) + (A) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right)$	(3)
	Mixto extendido	$PGIV_{ij}(t) = \left(\frac{b + a_{ij}}{(1 + e^{(2-4c(t-L))})} \right) + (A) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right)$	(4)
Gompertz	Clásico	$PGIV(t) = be^{-ke^{-rt}}$	(5)
	Extendido	$PGIV(t) = be^{-ke^{-rt}} + (A) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right)$	(6)
	Mixto extendido	$PGIV_{ij}(t) = (b + a_{ij})e^{-ke^{-rt}} + (A) \cos\left(\frac{2\pi t}{T}\right)$	(7)

PGIV: producción de gas in vitro en el tiempo t (ml g-1MO incubada), c: tasa de PGIV (h^{-1}), t: tiempo de fermentación (h), L: fase Lag (h), b: asíntota cuando $t \rightarrow \infty$ (ml g-1MO incubada), r: factor constante de eficiencia microbiana (h^{-1}), a_{ij} : efecto aleatorio asociado a la botella “i” en el tiempo “j” (ml g-1MO incubada), A: valor de la desviación estándar del error en los modelos clásicos y T: período de la función coseno para simular las fluctuaciones observadas, está relacionado con el comportamiento no esperado en las botellas de incubación.

Fuente: Elaboración propia.

La finalidad de la adición de la función trigonométrica fue aumentar los puntos de inflexión y describir mejor las fluctuaciones reales de la PGIV. Estas oscilaciones puedan estar relacionadas con pequeños microambientes que se producen en las botellas en el transcurso de la fermentación de los sustratos. Los valores de A y T estuvieron en correspondencia con la dimensión de las fluctuaciones observadas y con los tiempos del muestreo del experimento.

Se asumió una $A=10$ para el coseno porque fue la desviación estándar promedio de los errores obtenidos cuando se ajustaron los modelos clásicos ($=\sqrt{CME}$). De esta forma, se simulaban las dimensiones de las fluctuaciones observadas. Por otra parte se asumió la ocurrencia de más de una fluctuación por hora. Se determinó que:

$$T=t_1-t_0-1; \text{ donde } t_1: \text{ hora donde se realizó la segunda toma de muestra y } t_0: \text{ hora donde se realizó la primera toma de muestra y } 1: \text{ constante (Ecuación 8)}$$

Se sustrae la constante “1” para garantizar que ocurra más de un punto de inflexión o “fluctuación” en cada hora de incubación. Es importante señalar que la amplitud “A” y el período “T” se pueden considerar como parámetros del modelo, lo que sería innecesario debido a la facilidad y rapidez con que se pueden obtener sus valores.

Los modelos mixtos son adecuados para modelar datos longitudinales (Gómez y Agüero 2020). Por ello, además de considerar el efecto aleatorio de los residuales, se añadió un efecto aleatorio al parámetro “b” de los modelos extendidos, pues fue el parámetro que mostró mayor variabilidad entre los individuos. El efecto aleatorio se asoció a la PGIV asintótica y varió según el individuo y el tiempo de incubación (botella-tiempo). Esto significa que cada botella tiene un efecto aleatorio característico para cada horario.

El procesamiento de la información se realizó en el paquete estadístico SAS 9.3 (2013). Para la estimación de los parámetros de los modelos mixtos se utilizó el procedimiento (proc) NLMIXED. Para aplicar este procedimiento se supuso que las observaciones son independientes y que existe una función de densidad de

probabilidad conjunta que vincula las observaciones y los vectores de efectos aleatorios. Es decir, el procedimiento se basa en la maximización de la función de verosimilitud integrada sobre los efectos aleatorios. Estos fueron Normales, con media cero y varianza constante y se estimaron por el método empírico de Bayes (Gaver y O’Muircheartaigh 1987).

El proc MODEL se utilizó para estimar parámetros de los modelos sin efectos aleatorios a través de métodos numéricos de solución. Se ejecutó el *test* de Breusch-Pagan (B-P) para valorar homogeneidad de varianzas de los residuos. Se analizó el gráfico de los residuos estandarizados contra valores predichos. La prueba de Durbin-Watson (DW) se empleó para determinar la presencia de autocorrelación residual de primer orden (Rozo 2017). Se aplicó el *test* de normalidad Kolmogorov Smirnov con la ayuda del proc CAPABILITY (De Roa 2020).

Se analizó la prueba no paramétrica de rachas a los residuos. Dicha prueba permitió contrastar la hipótesis de un ordenamiento aleatorio contra una alternativa de tendencia. Se utilizó el software SPSS (2013).

Para la selección del modelo de mejora ajuste se tuvieron en cuenta los criterios estadísticos, cuadrado medio del error (CME), el coeficiente de determinación ajustado a los grados de libertad (R^2_{Aj}), la significación de los parámetros. Se valoró el cumplimiento de las hipótesis de aleatoriedad, homocedasticidad y normalidad de la componente residual. Además, se consideró la relación entre ajuste matemático, cumplimiento de supuestos y significación biológica de los modelos.

Se calculó el tiempo en que los modelos Logístico y Gompertz estimaron el punto de inflexión (igualando a cero la segunda derivada) resultando como se muestra a continuación:

$$\text{Gompertz, punto de inflexión en } t = \frac{\ln(k)}{r} \text{ (Ecuación 9)}$$

$$\text{Logístico, punto de inflexión en } t = \frac{0.5(2cL+1)}{c} \text{ (Ecuación 10)}$$

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el presente capítulo se muestran los resultados de la descripción y modelación matemática de la PGIV. Se mencionan los procedimientos para la selección de los modelos de mejor ajuste. Se analizan los residuos. Por último, se arriban a las conclusiones generales.

3.1. Caracterización de la producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes.

Según (Herrera 2013), la dócima Kolmogorov-Smirnov se emplea cuando la variable que se analiza es continua y está en una escala de intervalo. Además, se puede aplicar a muestras de cualquier tamaño. En la tabla 3 se exponen los resultados de las dócimas. Se observaron valores de probabilidad superiores a 0.05, los que manifiestan que los datos siguieron una distribución Normal.

Tabla 3. Pruebas de normalidad para las variables “PGIV” experimentales.

Variables	Normalidad (Kolmogorov-Smirnov) p valor
PGIV: ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato	p>0.1500
PGIV: ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo	p>0.1500
PGIV: morera	p>0.1500

Fuente: Elaboración propia.

En las figura 2, 3 y 4 se presenta la descripción de la PGIV, teniendo en cuenta las gráficas de velocidad y aceleración estimadas por ProGasv1.1; esto ocurrió sin la necesidad de un modelo matemático. Se observó que, a partir de las 72 horas la velocidad se acercó a cero. Este comportamiento fue similar al de los concentrados, cuya velocidad de PGIV disminuye a las 72 horas. Por su parte, los alimentos fibrosos pueden tener actividad hasta las 120 y 144 horas (Vargas *et al.*, 2013).

La figura 2 muestra que la velocidad inicial del ensilado fue de $2 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc} \cdot \text{h}^{-1}$ y que ocurrieron tres puntos de inflexión en la PGIV (18, 48 y 72 horas

aproximadamente). Se pudo identificar que los puntos de inflexión de la PGIV ocurrieron cuando la aceleración fue cero. En este caso, el valor máximo de velocidad estuvo alrededor de las 18 horas de incubación ($9 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc} \cdot \text{h}^{-1}$). Sin embargo, a las 48 horas la velocidad comenzó a descender y luego, alrededor de las 72 horas, tuvo un ligero incremento.

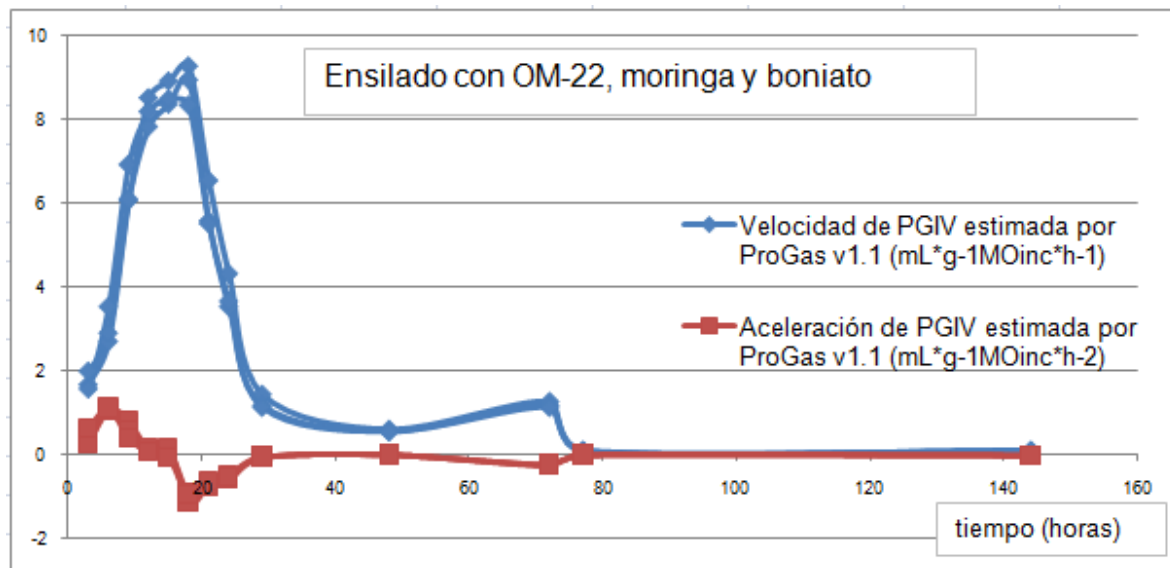


Figura 2. Descripción del valor nutritivo del ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato. **Fuente:** Software ProGas v1.1.

En la figura 3 se presenta la caracterización de la PGIV del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo. Se observó que la velocidad inicial estuvo entre los 5 y los $9 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc} \cdot \text{h}^{-1}$; siendo el promedio de $6 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{MOinc} \cdot \text{h}^{-1}$. Al igual que en el análisis anterior, se observó más de un punto de inflexión (9 y 72 horas). Además, la velocidad alcanzó su valor máximo alrededor de las 9 horas de incubación, menor tiempo que en el ensilado anterior, lo cual indicó que la degradación del ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato fue más rápida.

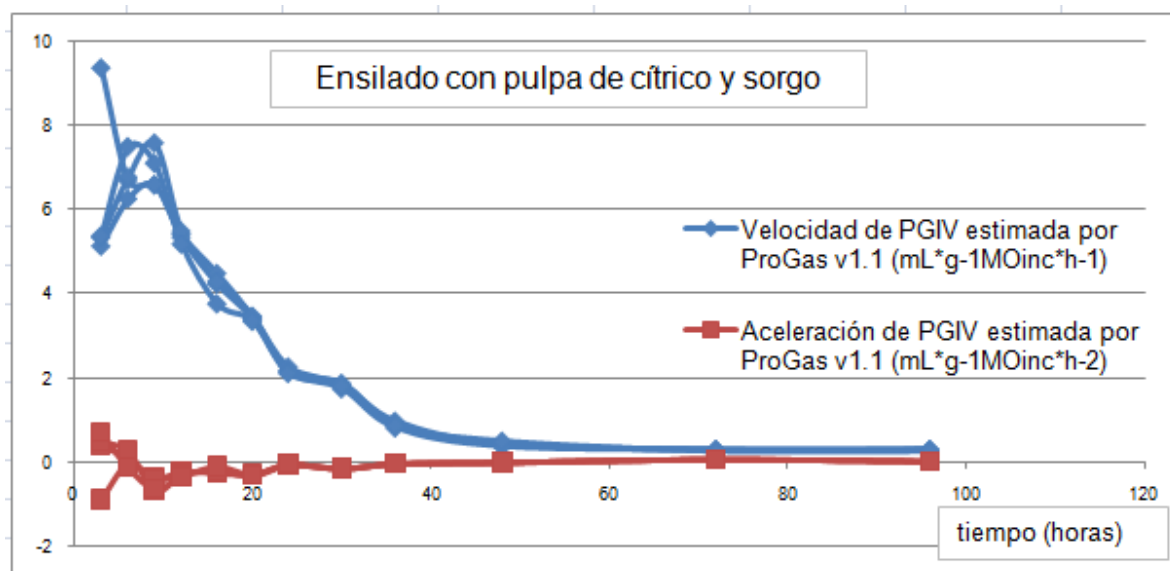


Figura 3. Descripción del valor nutritivo del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo. **Fuente:** Software ProGas v1.1.

La velocidad inicial promedio de la morera (figura 4) está cerca de los 8 mL*g⁻¹MOinc*h⁻¹. La caracterización indicó que la PGIV de la morera tuvo varios puntos de inflexión (10 y 72 horas). El valor de máxima velocidad se logró alrededor de las 10 horas de incubación.

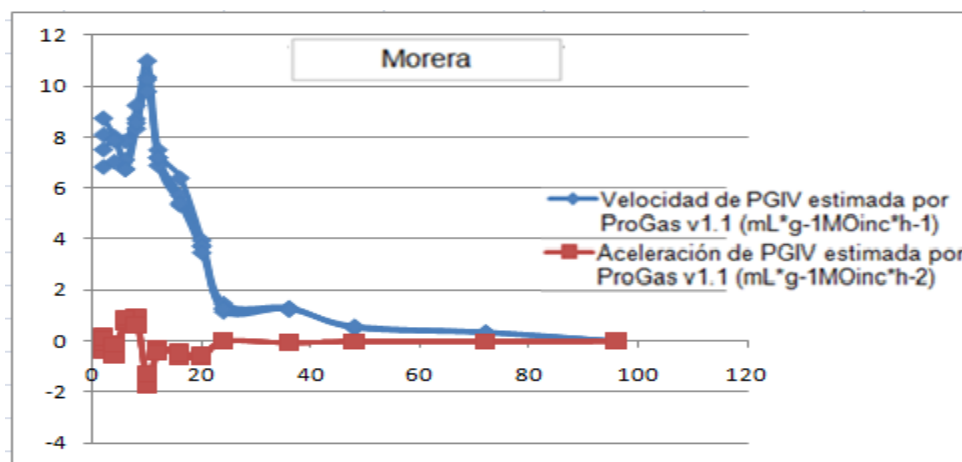


Figura 4. Descripción del valor nutritivo de morera. **Fuente:** Software ProGas v1.1.

Según Rodríguez *et al.* (2013, 2014), la PGIV se caracteriza por tener tres fases o etapas de crecimiento. La primera es de rápida producción de gas; la segunda es de desaceleración, con velocidad de producción de gas que comienza a disminuir porque el sustrato es menos digestible y precisa de más tiempo para ser degradado. Por último, en la fase lineal o asintótica se produce poca o casi nula producción de gas, producto a que la fracción potencialmente degradable ya ha sido fermentada.

Se conoce que los modelos sigmoidales presentan un punto de inflexión, donde se produce la velocidad máxima de PGIV y posteriormente el sustrato pasa a la segunda fase, marcando así la duración de la primera fase. Al presentar un solo punto de inflexión, estos modelos no permiten cuantificar la duración de la segunda fase de PGIV.

El empleo del software ProGas v1.1 fue útil para delimitar cada fase de PGIV, a través de la localización de los puntos de inflexión. En base a ello, se identificó que la primera fase de PGIV varió según el sustrato (18, 9 y 10 horas respectivamente). Por su parte, la segunda fase transcurrió, como promedio, hasta las 72 horas de incubación, dándole inicio a la tercera etapa de crecimiento de la PGIV.

Además, se observaron las siguientes características:

1. La descripción del comportamiento de la velocidad de PGIV, graficado a partir de las pendientes de los puntos observados, evidenció que no todos los alimentos comenzaron a producir gas con la misma velocidad.
2. Los alimentos evaluados alcanzaron velocidades máximas ($V_{m\acute{a}x}$) diferentes (9, 8 y 11 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\text{MOinc}\cdot\text{h}^{-1}$) y en distintos horarios (18, 9 y 10 horas de incubación respectivamente).
3. Se observaron máximos locales menores que $V_{m\acute{a}x}$ (alrededor de los 2 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\text{MOinc}\cdot\text{h}^{-1}$), lo que indicó que la velocidad real de PGIV presenta subidas y bajadas no esperadas. Estas fluctuaciones pueden estar dadas por la interacción entre el líquido ruminal y el alimento ó por la formación de

microambientes al ser un sistema estático y no existir un movimiento constante como cuando ocurre *in vivo*.

4. Las fluctuaciones atípicas ocurrieron en diferentes momentos de la fermentación (inicio, intermedio y final), dependiendo del alimento, pero en algunas ocasiones varió entre las botellas que contenían un mismo sustrato.
5. El tiempo entre una fluctuación y otra no fue constante.

Con relación a la observación “2”, Rodríguez *et al.* (2014) realizaron una investigación donde midieron la PGIV de harinas de follaje cubano. Estos autores señalaron como altas las $V_{\max}$ superiores a los $8 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{MOinc} \cdot \text{h}^{-1}$. También se planteó que los mejores momentos para alcanzar la $V_{\max}$ estuvieron entre las 9 y 11 horas de incubación.

Por su parte, Groot *et al.* (1996) atribuyeron las fluctuaciones en la velocidad a que los sustratos se pueden considerar como una entidad múltiple, constituida por diferentes fracciones, y que cada fracción puede presentar su propia tasa de degradación. Al respecto, Jay (2012) planteó que con el enfoque multicompartimental se pueden despreciar los efectos de las interacciones que puedan existir entre el sustrato y los microorganismos.

Vale la pena señalar que un estudio realizado por Dhanoa *et al.* (2021) manifestó que pueden existir perfiles atípicos de producción de gas, especialmente cuando se usan las heces cerdos, caballos y ponis como inóculo microbiano. En dicho estudio, los perfiles de PGIV se identificaron por la presencia de múltiples fases o características extrañas no descritas que dificultaron la aplicación de las funciones clásicas de crecimiento. Para superar tales dificultades, propusieron extensiones de la ecuación de Mitscherlich y una opción de modelado numérico basado en Mitscherlich.

En este trabajo se asumió que el alimento es una unidad integrada con una única tasa de degradación, despreciándose el enfoque multicompartimental planteado por Groot *et al.* (1996). Aclarar que se utilizó un inóculo microbiano (líquido ruminal de

vacas) diferente al evaluado por de Dhanoa *et al.* (2021). Sin embargo, fue útil consultar investigaciones que describieron comportamientos atípicos en la velocidad de PGIV, los que se necesitan considerar en los modelos.

3.2. Modelos clásicos, extendidos y mixtos ajustados a la producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes.

En las tablas 4, 5 y 6 se presentan los criterios estadísticos de bondad de ajuste, así como el cumplimiento de los supuestos de la componente residual. Se evidenció que la mayoría de los parámetros fueron significativos, excepto el parámetro “L” del ensilado de cítrico y sorgo. Desde el punto de vista biológico la pulpa de cítrico y sorgo tienen mucho contenido de nutrientes fácilmente fermentables por eso los microorganismos comienzan enseguida a fermentarlos (Rodríguez *et al.*, 2019). Generalmente se desean las fases “Lag” más pequeñas porque se asocian con alimentos con mayor fracción soluble. Dicha fase puede durar más de 15 horas (Ramírez *et al.*, 2020). Por otra parte, se observó que los modelos lograron explicar más del 95% de la variabilidad de la PGIV y los CME fueron aceptables.

De forma general, el perfil de fermentación de los tratamientos arrojó un valor asintótico de PGIV que osciló entre 162.55 y 194.53 mL*g⁻¹ MOinc, dependiendo del sustrato. También pudo influir que la duración de los experimentos no fue la misma. En el primer experimento la PGIV se muestreó hasta las 144 horas y en los otros, hasta las 96 horas. Por ello, antes de realizar cualquier suposición, es necesario que los datos se obtengan con la misma metodología y se procesen con los mismos modelos (Telles *et al.*, 2018).

Con respecto a los valores asintóticos de PGIV obtenidos, Rodríguez *et al.* (2014) obtuvieron intervalos similares, asociando PGIV superiores a 140 mL*g⁻¹ MOinc con un alto valor nutritivo. Según esa investigación, los factores de eficiencia microbiana alrededor de 0.15 h⁻¹ son los más convenientes. Por su parte, Rojas *et al.* (2018), exponen que la PGIV asintótica es una medida indirecta de la degradación de los sustratos, especialmente de los carbohidratos solubles o estructurales. Por otro lado,

en un estudio realizado por Barros *et al.* (2017) sobre la composición química, cinética de degradación ruminal y PGIV de arvenses con potencial forrajero; se observó que la mayor PGIV no se asoció con el aumento de la digestibilidad *in vitro* de los nutrientes.

Tabla 4. Modelación de los datos obtenidos del experimento donde se evaluó el valor nutritivo del ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato.

Modelo	Parámetros Error Estándar Nivel de significación	R ² Aj%	CME	DW	K-S Valor P	B-P Valor P	Rachas Valor P
Logístico	b=191.79±2.44; p<0.0001 c= 0.04; p<0.0001 L=8.16±0.57; p<0.0001	98.60	72.28	0.88	0.13	0.003	0.009
Logístico extendido	b=187.66 ±3.7; p<0.0001 c=0.05±0.004; p<0.0001 L=8.21±0.9; p<0.0001	96.77	170.2	2.29	>0.15	0.25	0.98
Logístico mixto extendido	b=187.19±4.29; p<0.0001 c= 0.05±0.004; p<0.0001 L= 8.39±0.69; p<0.0001	98.62	72.6	2.9	0.04	0.05	0.98
Gompertz	b=194.53±2.08; p<0.0001 r=0.11±0; p<0.0001 k=6.03±0.49; p<0.0001	99.1	47.67	0.82	0.05	0.002	0.023
Gompertz extendido	b=190.1±3.79; p<0.0001 r=0.12±0.009; p<0.0001 k=6.39±1.02; p<0.0001	96.93	161.7	2.53	0.05	0.41	0.99
Gompertz mixto extendido	b=190.27±4.25; p<0.0001 r= 0.12±0.009; p<.0001 k=6.41±0.96; p<.0001	98.44	82.08	2.95	0.02	0.03	0.99

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 5. Modelación de los datos obtenidos del experimento donde se evaluó el valor nutritivo del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo.

Modelos	Parámetros Error estándar Nivel de Significación	R ² Aj%	CME	DW	K-S Valor P	B-P Valor P	Rachas Valor P
Logístico	b=170.27±2.32; p<0.0001 c=0.03±0.002; p<0.0001 L=-0.63±0.79; p=0.4278	97.6	68.83	0.97	>0.15	0.39	0.013
Logístico extendido	b=162.55±2.58; p<0.0001 c=0.03±0.002; p<0.0001 L=-2.4±0.99; p=0.0198	97.32	75.59	1.64	>0.15	0.34	0.001
Gompertz	b=173.46±1.89; p<0.0001 r=0.09±0.004; p<0.0001 k=2.58±0.11; p<0.0001	98.6	38.82	0.73	0.08	0.09	0.001
Gompertz extendido	b=165.5 ±2.46; p<0.0001 r=0.08±0.004; p<0.0001 k=2.28±0.12; p<0.0001	97.96	57.57	1.87	>0.15	0.22	0.03

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 6. Modelación de los datos obtenidos del experimento donde se evaluó el valor nutritivo de la morera.

Modelos	Parámetros Error estándar Nivel de Significación	R ² Aj%	CME	DW	K-S Valor P	B-P Valor P	Rachas Valor P
Logístico	b=185.71±3.02; p<0.0001 c=0.05; p<0.0001 L=3.49±0.62; p<0.0001	97.1	139.0	1.06	>0.15	0.01	0.002
Logístico extendido	b=184.5±3.6; p<0.0001 c= 0.05±0.004; p<0.0001 L= 3.47±0.7; p<0.0001	95.85	197.9	1.88	>0.15	0.0027	0.24
Logístico mixto extendido	b=182.42±4.43; p<0.0001 c=0.05±0.004; p<0.0001 L=4.03±0.53; p<0.0001	98.97	42.27	2.17	>0.15	0.1953	0.44
Gompertz	b= 189.49±2.55; p<0.0001 r=0.12±0.006; p<0.0001 k=3.72±0.25; p<0.0001	98.2	84.83	0.99	>0.15	0.01	0.012
Gompertz extendido	b=188.8±3.46; p<0.0001 r=0.12±0.008; p<0.0001 k=3.62±0.32; p<0.0001	96.76	154.5	1.98	>0.15	0.0022	0.44
Gompertz mixto extendido	b=187.84±4.13; p<0.0001 r= 0.12±0.007; p<0.0001 k=3.81±0.26; p<0.0001	99.16	40.13	1.97	>0.15	0.0047	0.66

Fuente: Elaboración propia.

La evaluación de los modelos clásicos evidenció problemas de autocorrelación. Los valores del estadístico DW fueron inferiores a 1.5 (Durbin y Watson 1950), valor correspondiente con el número de regresores y observaciones. La autocorrelación, sobre todo si se trata de datos longitudinales, se podría deber a que en el modelo no se incluyeron las variables que realmente afectan o no se seleccionó el modelo adecuado (Gómez y Agüero 2020). El incumplimiento del supuesto de independencia de los errores es una limitación que puede conducir a estimaciones sesgadas (Pérez 2018).

Por su parte, la prueba de rachas para la aleatoriedad arrojó que los residuos no fueron aleatorios en los modelos clásicos (p<0.05). Resultados similares obtuvieron García *et al.* (2022) al describir el comportamiento de la PGIV de alimentos para rumiantes. En dicha investigación se manifestaron algunas limitaciones de los modelos clásicos en cuanto al cumplimiento de los supuestos para los residuos.

Con la utilización de los modelos extendidos se alcanzaron menores R^2_{Aj} y mayores CME. Los resultados obtenidos se consideran adecuados según las investigaciones de Noguera *et al.* (2004), Rosero *et al.* (2004), Giraldo *et al.* (2006) y Posada *et al.* (2007) en las que se obtuvieron CME mayores de $180 \text{ (mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MOinc)}^2$ al ajustar los modelos Logístico y Gompertz a la PGIV. El CME puede ser mayor que los parámetros del modelo (La O *et al.*, 2018) y se altera de forma considerable con la existencia de puntos atípicos, dándole mayor peso a los errores más altos. Por su parte, R^2_{Aj} por encima del 95% se consideran altos. Posada *et al.* (2007) plantearon que se pueden observar R^2_{Aj} altos en modelos con limitada capacidad de predicción y este no debe ser el principal criterio para definir si un modelo es adecuado.

Los modelos extendidos cumplieron con mayor número de supuestos para la componente residual. Lo anterior indicó que la PGIV posee fluctuaciones adicionales que se deben tener en cuenta en los modelos. Referente a la función coseno añadida ($A=10$ y $T=2$, 1 y 2 horas respectivamente), no se encontró otro modelo matemático que recurriera a una función trigonométrica para describir las fluctuaciones en la velocidad de PGIV. Sin embargo, Darmani *et al.*, 2019 utilizaron una función sinusoidal como una alternativa para describir el crecimiento de pavos.

De forma general, cuando se añadió el efecto aleatorio al parámetro "b" de los modelos extendidos, se cumplió la independencia y la aleatoriedad residual. Mejoró el R^2_{Aj} y CME. Deducciones similares obtuvieron Gómez y Agüero (2020) al estudiar curvas de lactación bovina y Corral *et al.* (2019) al evaluar la relación altura/diámetro de *Pinus*. Sin embargo, en el caso del ensilado con OM-22, moringa y boniato, se incumplió la normalidad de los residuos. Sería recomendable añadir dichos efectos cuando se deseen estudiar las características individuales de los sujetos en el tiempo (botellas) y evaluar sus diferencias con el resto. De lo contrario, cuando se quiere conocer el comportamiento general de los individuos en un mismo tratamiento, se deben utilizar los modelos marginales (Sáez 2001).

La utilización de nuevos enfoques estadísticos como los condicionales, permiten explicar la correlación presente en experimentos longitudinales (Corral *et al.*, 2019). Sin embargo, García *et al.* (2022) concluyeron que los efectos aleatorios añadidos a los parámetros del modelo de regresión, mejoran el ajuste matemático pero no solucionan el problema de la correlación residual. No obstante, el estudio de tales efectos permite identificar comportamientos comunes y también atípicos.

De los modelos que se analizaron, los extendidos con la función coseno tuvieron una mayor integralidad en el cumplimiento de los supuestos básicos para los residuos; alcanzaron R^2_{Aj} y CME aceptables y sus parámetros tuvieron interpretación biológica. Es importante aclarar que Rodríguez *et al.* (2014) propusieron el modelo de Gompertz como el de mejor comportamiento para describir el comportamiento de la PGIV de los alimentos. Sin embargo, para ello solo tuvieron en cuenta el R^2 .

3.2.2. Efectos aleatorios asociados a los modelos mixtos extendidos.

En las tablas 7, 8, 9 y 10 se aprecian las estimaciones de los efectos aleatorios según el enfoque sujeto específico, para los diferentes individuos y sus horarios de muestreo. Aclarar que en el caso del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo, no se obtuvieron estimaciones para los efectos aleatorios debido a que el proc NLMIXED estimó una componente de varianza para el efecto aleatoria negativa. Cuando esto ocurre, Silva *et al.* (2018) plantearon que el modelo pudo reflejar alguna deficiencia y la componente de varianza se debe asumir como cero.

Los efectos aleatorios estimados " a_{ij} " se comportaron de forma Normal, con media cero y varianza constante. Su adición a los modelos produjo una PGIV característica para cada botella según el horario. Además, se reflejaron las diferencias entre las PGIV asintóticas " $b+a_{ij}$ " y la media general " b " (Bandera y Pérez 2018).

En las tablas 7 y 8 se observó que los efectos aleatorios " a_{ij} ", estimados para la PGIV del ensilaje con OM-22, moringa y boniato, no fueron estadísticamente significativos. Esto indicó que los modelos extendidos representaron, de forma

adecuada, la variabilidad que pudo existir en las botellas durante los diferentes horarios del muestreo, sin necesidad de añadir un efecto aleatorio. No obstante, el empleo de los modelos extendidos mejoró el R^2_{Aj} , el CME y aumentó el valor del estadístico DW (García *et al.*, 2022).

Tabla 7. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (aij: mL*g⁻¹MOinc) para el modelo Logístico mixto extendido, en el experimento de ensilaje con OM-22, moringa y boniato.

Hora	i=1	±EE	Valor p	i=2	± EE	Valor p	i=3	± EE	Valor p
j=3h	0.43	11.34	0.97	0.41	11.34	0.97	0.45	11.34	0.97
j=6h	-1.45	11.39	0.90	-1.39	11.38	0.90	-1.45	11.39	0.90
j=9h	0.73	11.25	0.95	0.94	11.26	0.93	1.15	11.28	0.92
j=12h	-3.40	11.46	0.77	-3.03	11.37	0.79	-2.06	11.20	0.86
j=15h	4.52	11.35	0.69	4.28	11.28	0.71	6.04	11.85	0.61
j=18h	-3.32	10.48	0.75	-4.38	10.71	0.68	-2.02	10.27	0.84
j=21h	7.72	10.63	0.47	6.02	10.19	0.56	7.65	10.61	0.48
j=24h	-5.59	9.70	0.57	-9.00	10.57	0.40	-7.41	10.13	0.47
j=29h	2.68	8.33	0.75	-3.03	8.46	0.72	-1.09	8.32	0.90
j=48h	-5.73	8.12	0.48	-14.22	9.70	0.15	-12.79	9.36	0.18
j=72h	2.42	7.91	0.76	-6.69	8.23	0.42	-5.43	8.09	0.51
j=77h	17.43	10.77	0.11	8.08	8.58	0.35	9.19	8.78	0.30
j=144h	10.73	9.09	0.25	0.96	7.84	0.90	1.64	7.87	0.84

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 8. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (a_{ij} : mL*g⁻¹MOinc) para el modelo Gompertz mixto extendido, en el experimento de ensilaje con OM-22, moringa y boniato.

Hora	i=1	±EE	Valor p	i=2	± EE	Valor p	i=3	± EE	Valor p
j=3h	0.2	10.1	1.0	0.2	10.1	1.0	0.2	10.1	1.0
j=6h	-0.3	10.1	1.0	-0.3	10.1	1.0	-0.3	10.1	1.0
j=9h	0.8	10.1	0.9	1.0	10.1	0.9	1.1	10.1	0.9
j=12h	-2.9	10.4	0.8	-2.7	10.3	0.8	-1.9	10.1	0.9
j=15h	2.3	9.9	0.8	2.1	9.8	0.8	3.5	10.2	0.7
j=18h	-4.1	9.9	0.7	-5.0	10.2	0.6	-3.1	9.6	0.8
j=21h	6.4	10.2	0.5	5.0	9.7	0.6	6.3	10.2	0.5
j=24h	-2.4	8.7	0.8	-5.2	9.2	0.6	-3.9	8.9	0.7
j=29h	6.5	9.0	0.5	1.6	8.1	0.9	3.2	8.3	0.7
j=48h	-5.0	7.9	0.5	-12.4	10.0	0.2	-11.1	9.6	0.3
j=72h	0.7	7.5	0.9	-7.3	8.4	0.4	-6.2	8.2	0.5
j=77h	13.8	10.3	0.2	5.6	8.0	0.5	6.6	8.2	0.4
j=144h	7.9	8.5	0.4	-0.7	7.5	0.9	-0.1	7.5	1.0

Fuente: Elaboración propia.

En las tablas 9 y 10 se observó que algunos efectos aleatorios “ a_{ij} ”, estimados para la PGIV de morera fueron estadísticamente significativos. La estructura de correlación inducida cuando se añadió el efecto aleatorio “botella-tiempo” explicó parte de la variabilidad de los datos. Con estos resultados se evidenció que hubo heterogeneidad dentro de las botellas y que es importante considerar esta fuente de variación en el modelo.

Por otra parte, se observó que las botellas 2, 3 y 4 a las 36 horas y las botellas 1 y 2 a las 96 horas, mostraron efectos significativos. Esto indicó que las horas 36 y 96 de incubación fueron determinantes para la estimación de la asíntota de PGIV. En estos horarios, los modelos mixtos caracterizaron de forma parcial la producción de gas de la morera.

Urbina (2016) planteó que en los modelos no lineales mixtos, el componente aleatorio se deriva del análisis de medidas repetidas, lo cual genera una estructura de covarianzas. Conjuntamente, el ajuste de un modelo no lineal con solo efectos fijos asume que la curva de crecimiento es estándar o única a través de la población de estudio. En la realidad, cada individuo presenta una curva de crecimiento propia y por consiguiente, los coeficientes de regresión que componen dicho modelo.

Tabla 9. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (aij: mL*g⁻¹MOinc) para el modelo Logístico mixto extendido, en el experimento de morera.

Hora	i=1	±EE	Valor p	i=2	± EE	Valor p	i=3	± EE	Valor p	i=4	± EE	Valor p
j=2	-3.7	14.8	0.8	-3.7	14.8	0.8	-3.7	14.8	0.8	-3.7	14.8	0.8
j=4	1.6	14.5	0.9	1.2	14.5	0.9	0.9	14.5	1.0	0.4	14.5	1.0
j=6	3.4	14.4	0.8	2.8	14.4	0.9	2.3	14.3	0.9	1.0	14.3	1.0
j=8	-0.4	13.8	1.0	-2.0	13.8	0.9	-3.1	13.9	0.8	-4.8	14.0	0.7
j=10	1.8	13.2	0.9	-0.9	13.2	1.0	-2.7	13.3	0.8	-4.5	13.4	0.7
j=12	15.3	14.0	0.3	11.2	13.2	0.4	9.1	12.9	0.5	6.3	12.7	0.6
j=16	6.3	11.0	0.6	1.0	11.0	0.9	-2.4	11.1	0.8	-4.3	11.2	0.7
j=20	0.9	9.8	0.9	-6.5	10.1	0.5	-11.0	10.4	0.3	-12.6	10.6	0.2
j=24	3.9	8.8	0.7	-3.8	8.9	0.7	-8.2	9.1	0.4	-10.5	9.2	0.3
j=36	-8.2	8.3	0.3	-18.4	8.7	0.0	-21.3	8.9	0.0	-23.8	9.1	0.0
j=48	11.8	8.7	0.2	1.4	8.3	0.9	-1.6	8.3	0.9	-4.4	8.3	0.6
j=72	11.7	8.7	0.2	1.0	8.3	0.9	-2.2	8.3	0.8	-3.8	8.3	0.7
j=96	30.3	10.1	0.0	19.8	9.2	0.0	15.9	8.9	0.1	15.0	8.9	0.1

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 10. Efectos aleatorios asociados a la PGIV asintótica de la botella “i” en el tiempo “j” (a_{ij} : $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{MOinc}$) para el modelo Gompertz mixto extendido, en el experimento de morera.

Hora	i=1	±EE	Valor p	i=2	± EE	Valor p	i=3	± EE	Valor p	i=4	± EE	Valor p
j=2	-1.7	13.4	0.9	-1.7	13.4	0.9	-1.7	13.4	0.9	-1.7	13.4	0.9
j=4	2.5	13.3	0.9	2.1	13.3	0.9	1.8	13.3	0.9	1.4	13.3	0.9
j=6	3.9	13.1	0.8	3.2	13.1	0.8	2.7	13.0	0.8	1.3	13.0	0.9
j=8	-1.8	12.5	0.9	-3.6	12.6	0.8	-4.8	12.7	0.7	-6.7	12.9	0.6
j=10	-0.9	11.8	0.9	-3.9	11.9	0.8	-5.9	12.1	0.6	-7.9	12.3	0.5
j=12	13.6	12.2	0.3	9.2	11.6	0.4	6.9	11.3	0.6	3.9	11.1	0.7
j=16	8.0	10.0	0.4	2.3	9.8	0.8	-1.3	9.8	0.9	-3.3	9.8	0.7
j=20	6.9	8.9	0.4	-1.0	8.8	0.9	-5.7	8.9	0.5	-7.4	9.0	0.4
j=24	11.2	8.4	0.2	3.0	8.1	0.7	-1.7	8.1	0.8	-4.2	8.2	0.6
j=36	-7.7	7.4	0.3	-18.4	7.9	0.0	-21.5	8.1	0.0	-24.1	8.3	0.0
j=48	9.5	7.4	0.2	-1.3	7.3	0.9	-4.4	7.3	0.6	-7.3	7.4	0.3
j=72	8.1	7.5	0.3	-3.0	7.4	0.7	-6.3	7.4	0.4	-7.9	7.4	0.3
j=96	27.1	8.4	0.0	16.4	7.8	0.0	12.3	7.6	0.1	11.4	7.6	0.1

Fuente: Elaboración propia.

3.2.1. Residuos de los modelos ajustados

Las figuras 5, 6 y 7 muestran las gráficas de los residuos estandarizados *versus* valores predichos. Estos gráficos, junto a las pruebas Breusch-Pagan y rachas, ayudaron a determinar los modelos que tuvieron falta de homocedasticidad y aleatoriedad en los residuos. Los mismos no deben tener estructura o relación de dependencia.

Como característica singular se observó que los residuos de los modelos clásicos fueron positivos en el intervalo de 50 y 120 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{MOinc}$, lo cual indicó que los modelos subestimaron las observaciones experimentales. Cabe señalar que cuando la PGIV fue superior que 150 $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{MOinc}$, la dispersión de estos residuos tendió al aumento, mostrando así problemas de heterocedasticidad.

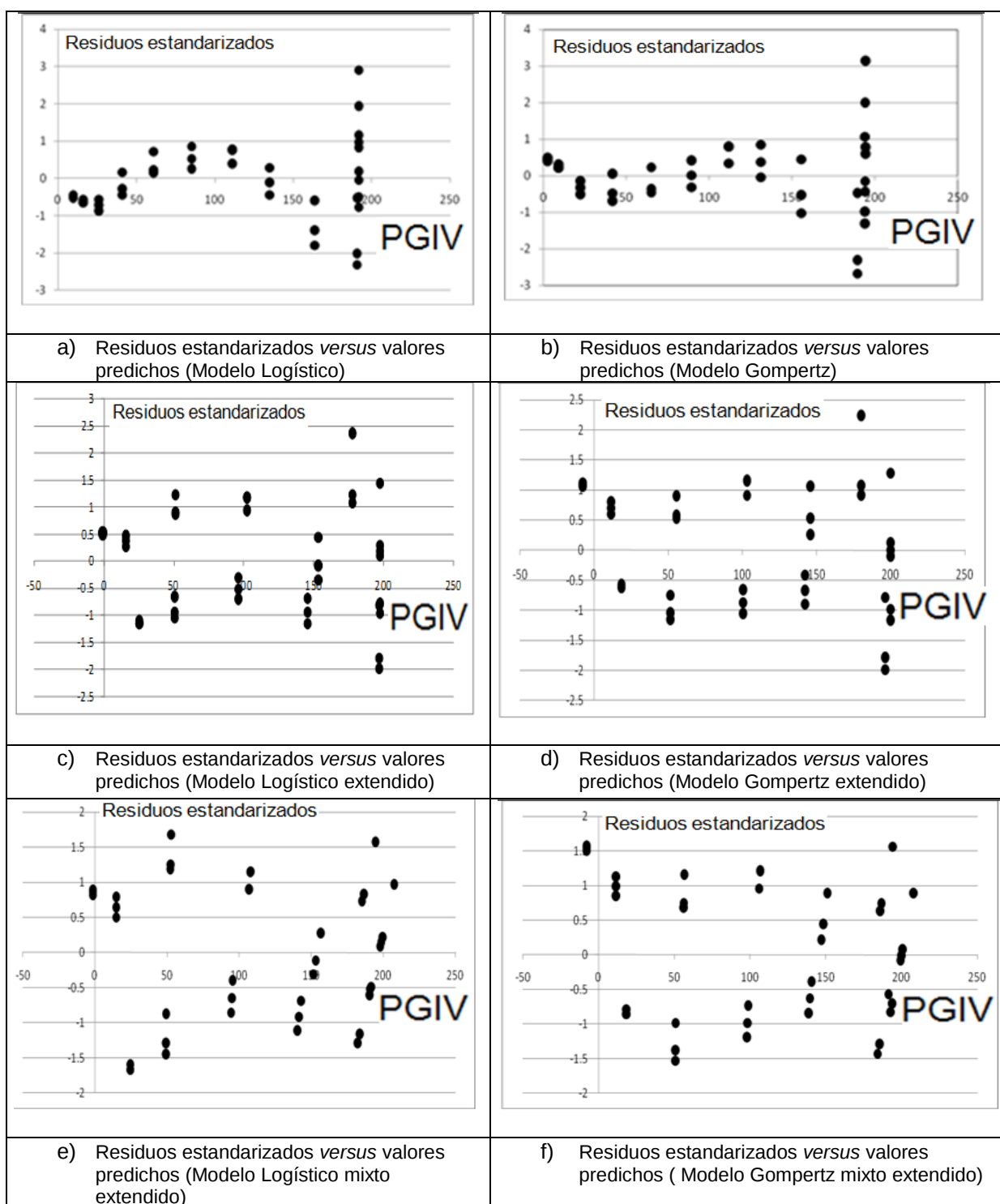


Figura 5. Residuos estandarizados *versus* valores predichos para los modelos con ensilaje del 25% de OM-22 25% de moringa y 50% de boniato. **Fuente:** Elaboración propia.

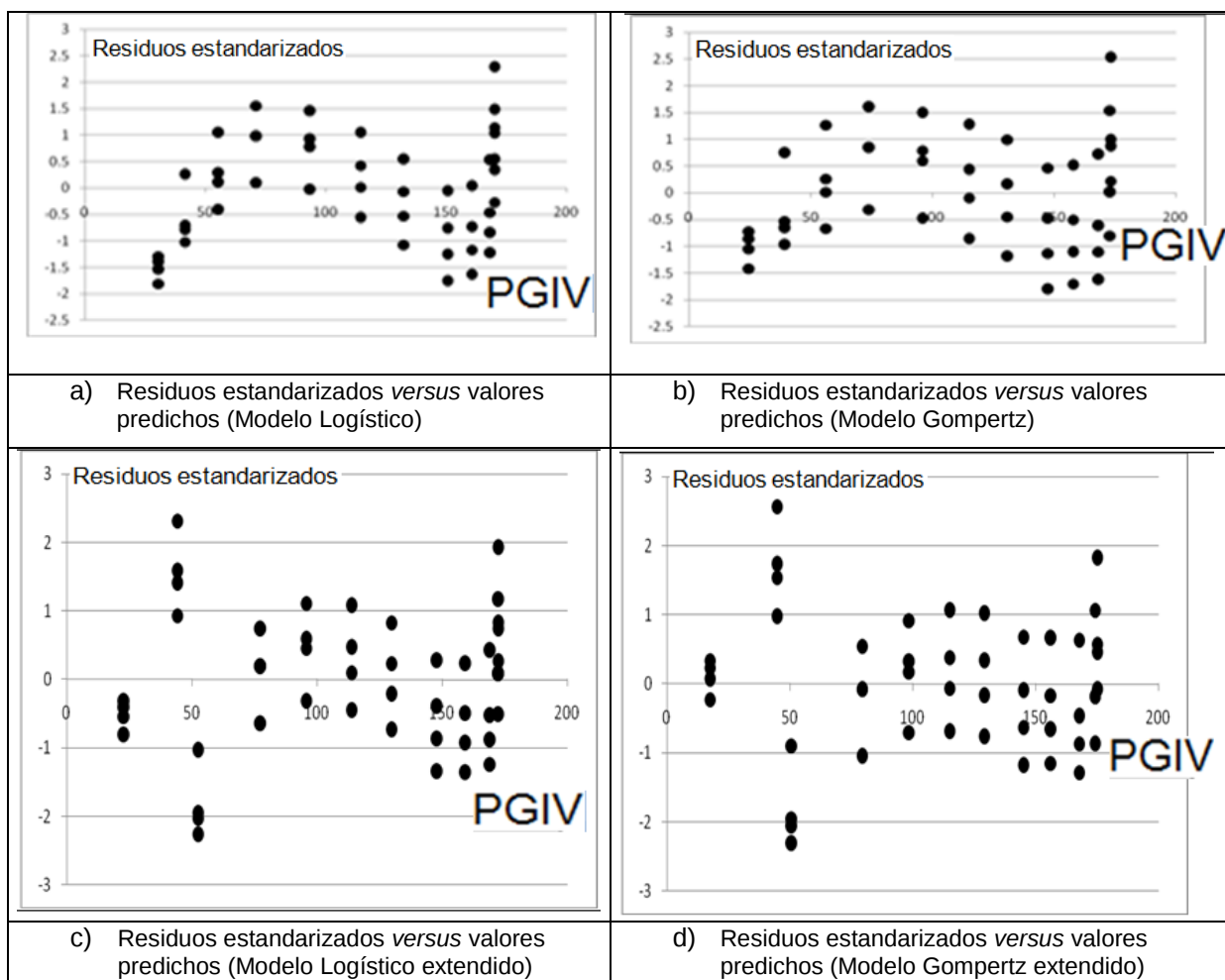


Figura 6. Residuos estandarizados *versus* valores predichos para los modelos donde se evaluó el valor nutritivo del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo. **Fuente:** Elaboración propia.

Cuando se emplearon los modelos extendidos, mejoró la aleatoriedad de los residuos y se encontraron mayor cantidad de valores por encima y por debajo de la línea central. También se observaron residuos estandarizados atípicos (cercaos a ± 3), lo cual afectó el criterio de B-P.

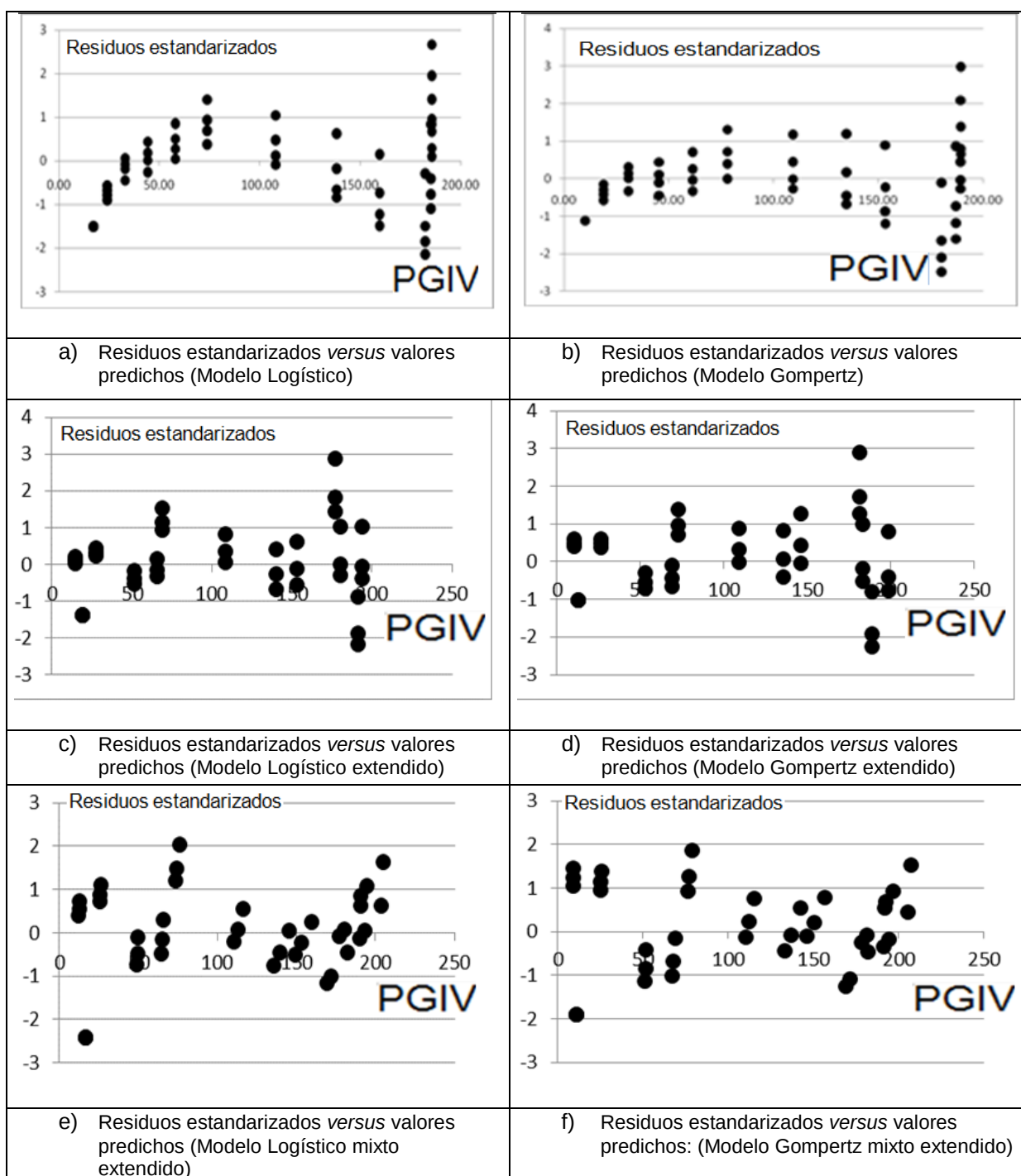


Figura 7. Residuos estandarizados *versus* valores predichos para los modelos donde se evaluó el valor nutritivo el valor nutritivo de la morera. **Fuente:** Elaboración propia.

Como se observó en las figuras anteriores, los modelos alternativos propuestos amortiguaron los problemas de heterocedasticidad de los modelos clásicos. La prueba de B-P fue sensible ante la presencia de puntos atípicos. Sin embargo, la prueba de rachas se caracterizó por ser más tolerante y certera ante el rechazo de la H_0 de aleatoriedad residual. Al respecto, Corso (2005) planteó que, pruebas no paramétricas como la de rachas, son más robustas y tienen ventaja sobre los métodos paramétricos clásicos, especialmente cuando los datos tienen problemas con observaciones extremas o atípicas.

3.2.2. Gráficos de la PGIV estimada por los modelos *versus* datos reales.

En las figuras 8, 9 y 10 se observó que los modelos sobreestimaron la PGIV cuanto el tiempo estuvo cercano a las 48 horas y la subestimaron en los momentos finales de la incubación. También se pueden ver las fluctuaciones generadas por los modelos extendidos y mixtos, más marcadas en estos últimos.

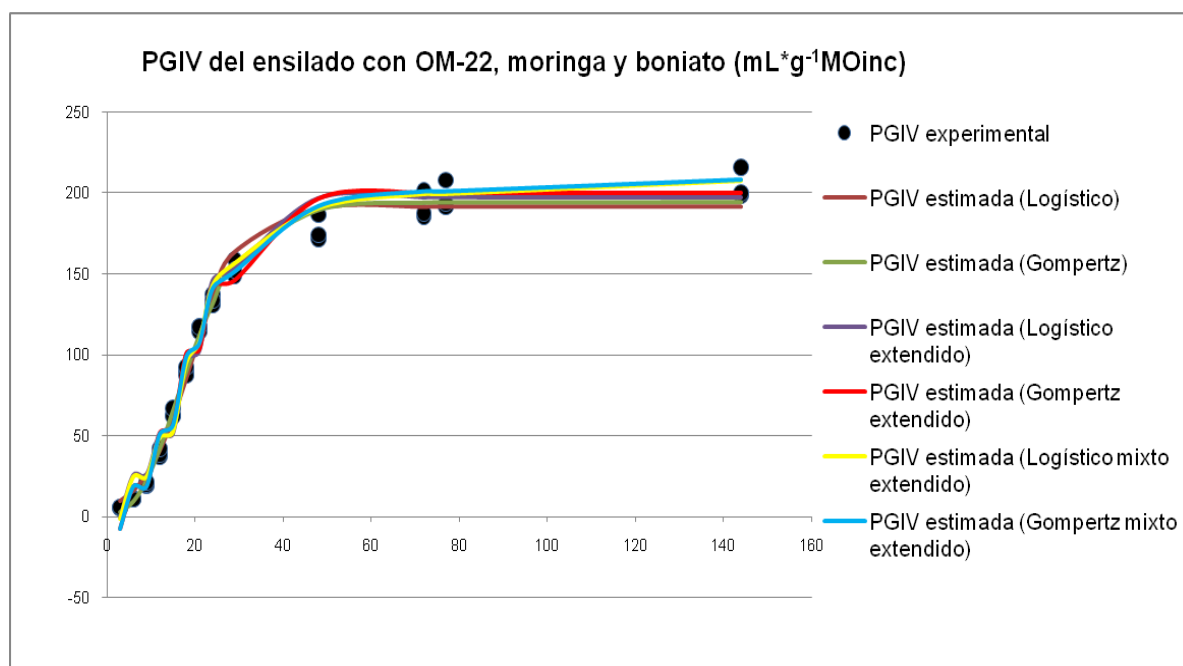


Figura 8. Contraste entre la PGIV experimental y la estimada por los modelos cuando se evaluó la PGIV del ensilaje con 25% de OM-22, 25% de moringa y 50% de boniato. **Fuente:** Elaboración propia.

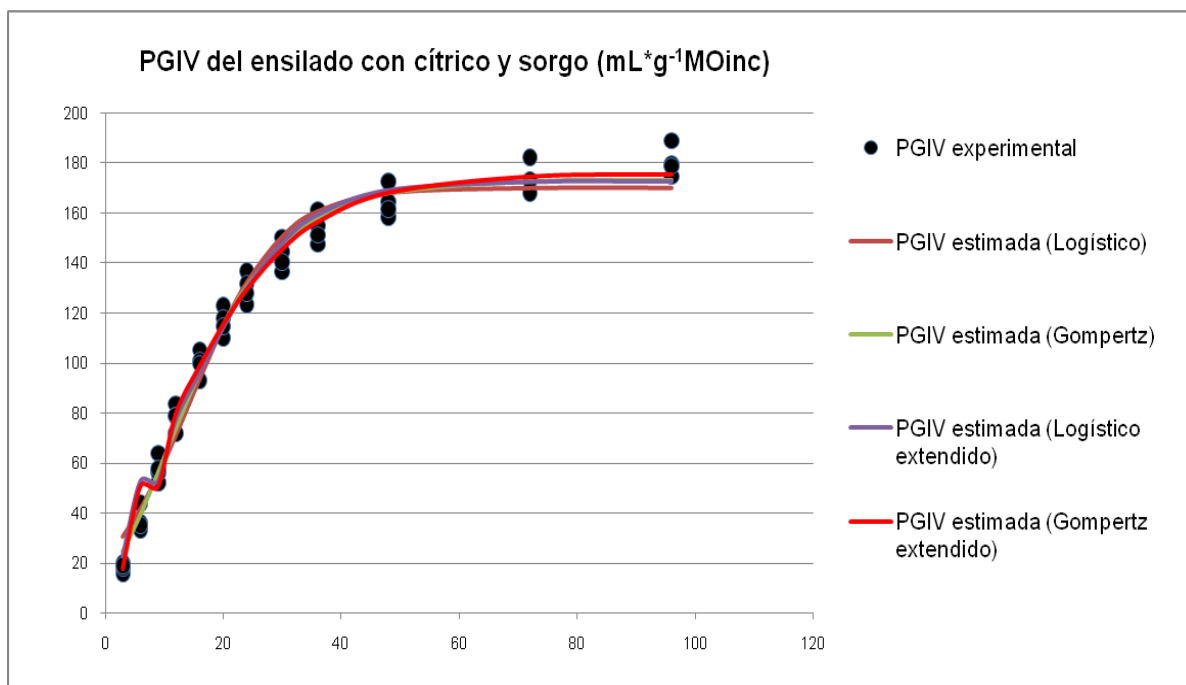


Figura 9. Contraste entre la PGIV experimental y la estimada por los modelos cuando se evaluó la PGIV del ensilaje con 25% pulpa de cítrico más un 75% de sorgo. **Fuente:** Elaboración propia.

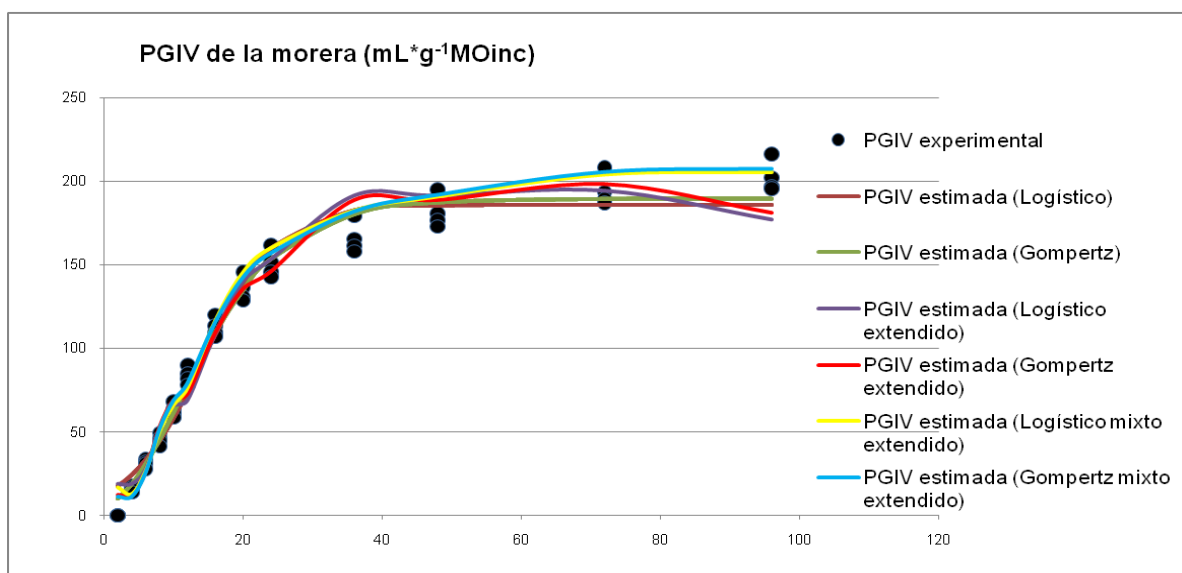


Figura 10. Contraste entre la PGIV experimental y la estimada por los modelos cuando se evaluó la PGIV de la morera. **Fuente:** Elaboración propia.

3.2.3. Gráfico de las velocidades de PGIV.

En la figura 11 se muestra el comportamiento de la velocidad de PGIV de las diferentes opciones; estimadas para el caso del ensilaje con OM-22, moringa y boniato. La velocidad estimada por los modelos fue cercana a la velocidad obtenida con el software ProGas v1.1. Sin embargo, el modelo Logístico extendido se alejó más del valor de velocidad máxima promedio, constituyendo este elemento una desventaja a considerar.

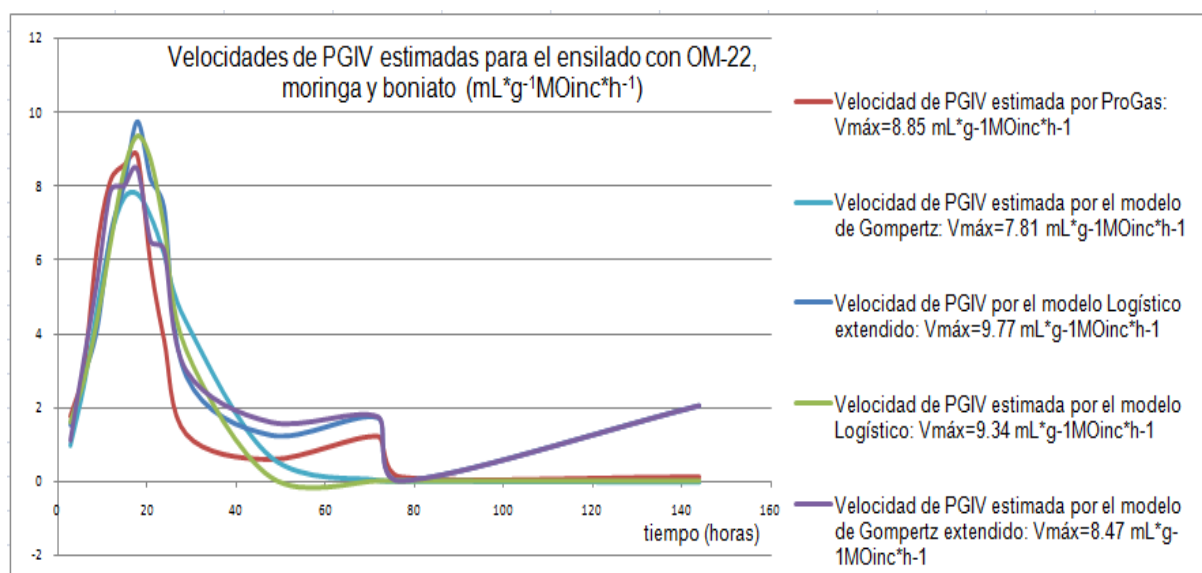


Figura 11. Comportamiento de la velocidad de PGIV cuando se evaluó el ensilaje con OM-22, moringa y boniato. **Fuente:** Elaboración propia.

A partir de los análisis anteriores se evidenciaron algunas causas del por qué los modelos clásicos (Logístico y Gompertz) no fueron los más adecuados para describir la PGIV. Primero, porque la velocidad puede tener varios puntos de inflexión y con ellos solo se puede identificar uno. Segundo, porque no cumplieron con supuestos básicos para los residuos, necesarios para validar el modelo de regresión (Molina 2021). Por su parte, los modelos alternativos sobreestimaron los puntos de inflexión, pero cumplieron con los supuestos y describieron mejor los cambios no esperados de la degradación *in vitro* de los alimentos.

CONCLUSIONES

1. El análisis del marco teórico-conceptual permitió definir que los modelos clásicos para describir la cinética de producción de gas *in vitro* se clasifican en exponenciales, sigmoidales y multicompartimentales.
2. La descripción de la producción de gas *in vitro* ayudó a identificar dos o más puntos de inflexión en cada alimento. Dichos puntos facilitaron la delimitación de las fases del proceso de producción de gas.
3. El modelo de Gompertz extendido fue el más integral y se propone como alternativa para describir la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes.

RECOMENDACIONES

1. Utilizar los modelos mixtos “sujeto específicos” cuando se deseen estudiar las características individuales de las botellas de incubación en el tiempo.
2. Emplear los modelos mixtos con más de un efecto aleatorio, los que se asocien a otros parámetros del modelo.
3. Buscar nuevos modelos alternativos que no sobreestimen los puntos de inflexión.
4. Profundizar, en investigaciones futuras, los aspectos relacionados con el empleo de los nuevos modelos propuestos para describir la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arce-Ramírez, W., Rojas-Bourrillon, A. & Campos-Granados, C. M. 2020. Determinación del contenido energético de materiales forrajeros a través de la relación entre la técnica de producción de gas *in vitro* y la ecuación mecanicista del NRC (2001). *Nutrición Animal Tropical*.14 (1): 13-35.

Aragadvay-Yungán, R., Rodríguez, M. B., Basantes-Basantes, E. & Cando, Á. C. 2022. Valor nutricional, producción de gas *in vitro* y degradación ruminal in situ de ensilaje de maíz enriquecido con *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 33(1), e20890-e20890.

Álvarez, C. N. A., Armas, P. J. L. & Viera, R. V. G. 2019. Manejo de asociaciones gramíneas-leguminosas en pastoreo con rumiantes para mejorar su persistencia, la productividad animal y el impacto ambiental en los trópicos y regiones templadas. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal*. 2 (2): 1-31.

Augusto, T. 2009. Modelo de regresión para estimar el volumen total con corteza de árboles de *Pinus taeda* L. en el sur de Brasil. *Revista Forestal Mesoamericana* Kurú. 6 (16): 16-20.

Bandera, E. & Pérez, L. 2018. Los modelos lineales generalizados mixtos. Su aplicación en el mejoramiento de plantas. *Cultivos tropicales*. 39(1): 127-133.

Barros, M., Rovalino, V., Núñez, O., Mera, R., Artieda, J., Vaca, L. & Iraola, J. 2017. Composición química, cinética de degradación ruminal y producción de gas *in vitro* de arvenses con potencial forrajero. *Livestock Research for Rural Development*. 29 (4), ISSN: 0121-3784.

Bravo, J. A. 2010. Aplicación del método Bootstrap para la estimación de parámetros poblacionales en Parcelas Permanentes de Muestreo y en la modelación Matemática en plantaciones de *Pinus cubensis* Griseb. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Forestales, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba.

Breusch, T.S. & Pagan, A.R. 1979. A Simple Test for Heteroscedasticity and Random Coefficient Variation. *Econometrica*. 47: 1287-1294. DOI: <http://dx.doi.org/10.2307/1911963>.

Benítez, H. L. & Miranda, I. 2018. Desarrollo y aplicación de los modelos de simulación para el estudio de la dinámica de poblaciones. *Revista de Protección Vegetal*. 33(2).

Botero, D. & Barajas, F. 2017. El impacto de especificar incorrectamente la distribución de los efectos aleatorios en las estimaciones de modelos lineales generalizados mixtos. *Comunicaciones en Estadística*. 10(2): 247-280.

Blümmel, M. & Becker, K. 1997. The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibers as described by *in vitro* gas production and their relationship to voluntary feed intake. *British Journal of Nutrition*. 77(5): 757–768, ISSN: 1475-2662, 0007⁻¹145, DOI: 10.1079/BJN19970073.

Blümmel, M., Cone, J. W., Van Gelder, A. H., Nshalai, I., Umunna, N. N., Makkar, H. P. S. & Becker, K. 2005. Prediction of forage intake using *in vitro* gas production methods: Comparison of multiphase fermentation kinetics measured in an automated gas test, and combined gas volume and substrate degradability measurements in a manual syringe system. *Animal Feed Science and Technology*. 123–124 (Part 1): 517–526, ISSN: 0377-8401, DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2005.04.040.

Candelaria, B., Rosado, O., López, G., Pérez, P., Martínez, A. & Vargas, L. 2011. Aplicación de modelos de simulación en el estudio y planificación de la agricultura. Una revisión. Recuperado el 15 de Abril de 2018, de <http://www.scielo.org.mx>

Chacín, F. 1998. Análisis de regresión y superficie de respuesta. Cásares. R. Segovia, A. Gaskin. D. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. pp.111.

Chamizo, J. A. 2010. Una tipología de los modelos para la enseñanza de las ciencias. *Revista Eureka sobre enseñanza y divulgación de las ciencias*. 26(1): 41.

Chuairey, L. F., Bustillo, C. W. G., de Calzadilla Pereyra, J. & Chang, N. U. L. 2018. Desarrollo de la modelación estadístico–matemática en las ciencias agrarias. Retos y perspectivas. *Investigación operacional*. 38(5): 462-467.

Corral, S., Silva, A. M. & Quiñonez, G. 2019. Modelo generalizado no-lineal altura-diámetro con efectos mixtos para siete especies de *Pinus* en Durango, México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 10(53): 86-117, ISSN: 2448-6671.

Cornejo, O. & Rebolledo, R. 2016. Estimación de parámetros en modelos no lineales: algoritmos y aplicaciones. *Revista EIA*. 13(25): 81-98.

Correa, H.J. 2004. Rumenal: Procedimiento para estimar los parámetros de cinética ruminal mediante la función Solver de Microsoft Excel®. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 17 (3): 250-254.

Cuevas, R. 2014. Matemáticas para la toma de decisiones. Recuperado el 2 de Noviembre de 2017, de <http://www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r76474.pdf>

Chávez, M. 2021. Composición nutricional, digestibilidad y producción de gas *in vitro* de las hojas de cinco especies forrajeras del matorral espinoso tamaulipeco. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Forestales, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Darmani, H., López, S., France, J., Mohit, A., Shabanpour, A., Ghavi, N. & Falahi, S. 2019. A sinusoidal equation as an alternative to classical growth functions to describe growth profiles in turkeys. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. 41: 45990, ISSN on-line: 1807-8672, DOI: 10.4025/actascianimsci.v41i1.45990.

Davies, P. F., Mundel, T. & Barbee, K. A. 1995. A mechanism for heterogeneous endothelial responses to flow in vivo and *in vitro*. *Journal of biomechanics*. 28(12): 1553-1560.

De Roa, E.M.G. 2020. Potencia y Robustez en pruebas de Normalidad con Simulación Montecarlo. Revista Scientific. 5(18):108119, ISSN: 2542-2987.

Dhanao, M.S., López, S., Powell, C.D., Sanderson, R., Ellis, J.L., Murray, J., Garber, A., Williams, B.A. & France, J. 2021. An Illustrative Analysis of Atypical Gas Production Profiles Obtained from *In Vitro* Digestibility Studies Using Fecal Inoculum. Animals. 11 (1069), ISSN: 2076-2615, DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11041069>.

Di Rienzo, J.A., Balzarini, M., Casanoves, F., González, L., Tablada, M., Guzmán, W. & Robledo, C.W. 2012. Software estadístico InfoStat. Estadística y Biometría. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

Domínguez, J., Rodríguez, F.A., Núñez, R., Ramírez, R., Ortega, J.A. & Ruiz, A. 2013. Adjustment of nonlinear models and estimation of growth parameters in tropicane cattle. Agrociencias. 47(1): 25-34.

Durbin, J. & Watson, GS. 1950. Prueba de correlación serial en regresión de mínimos cuadrados, I. Biometrika. 37(3-4): 409-428. DOI: 10.1093 / biomet / 37.3-4.409.

Fernández, L., Menéndez B. A. & Guerra, C. W. 2005. Factors affecting milk yield in the Siboney de Cuba genotype. Linear models with controlled lactation curve effect. Cuban Journal of Agricultural Science. 39:255.

France, J. 2000. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. British Journal of Nutrition. 83: 143-150.

France, J., Dhanao, M.S., Theodorou, M.K., Lister, S.J. & Davies, D.R. 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with *in vitro* degradation of ruminant feeds. Journal of Theoretical Biology. 163(1): 99-111.

García, M.C., Castellana, N., Rapelli, C., Koegel, L. & Catalano, M. 2014. Criterios de información y predictivos para la selección de un modelo lineal mixto. *SaberEs*. 6(1): 61-76.

García, Y., Rodríguez, R., Herrera, M & Ontivero, Y. 2022. Evaluación de modelos no lineales y no lineales mixtos para describir la cinética de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes. *Revista cubana de ciencia agrícola*. 56(1):1-9.

García, Y., Rodríguez, R. & Torres, M. 2022. ProGas v1.1: Programa para el procesamiento y análisis de datos de producción de gas *in vitro* de alimentos para rumiantes. Nota técnica. *Revista cubana de ciencia agrícola*. 56(2): 105-109.

Gaver, D. P. & O'Muircheartaigh, I. G. 1987. Robust Empirical Bayes Analysis of Event Rates. *Technometrics*. 29 (1): 1-15, ISSN: 0040-1706, DOI: <http://doi.org/10.2307/1269878>.

Giraldo, L. A., Gutiérrez, L. A., Sánchez, J. & Bolívar, P. A. 2006. Relación entre presión y volumen para el montaje de la técnica *in vitro* de producción de gas en Colombia. *Livestock Research for Rural Development*. 18(6).

Gómez, M.A. & Agüero, Y. 2020. Ajuste de modelos mixtos no lineales para la descripción de curvas de lactación bovina bajo pastoreo en El Mantaro, Junín, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 31(4): 19027, ISSN: 1609-9117, DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i4.19027>.

Gómez, J. E., Fraga, L. M., Pedraza, R. M., Vázquez, R., Domingo, L. & Valdivié, M. 2017. Modelación de curvas de puesta de los tres últimos años en gallinas White Leghorn en la provincia Ciego de Ávila. *Revista de Producción Animal*. 29(2): 42-49.

Guerra, C. W., Cabrera, A. & Fernández, L. 2003. Criterios para la selección de modelos estadísticos en la investigación científica. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*. 37(1): 3-10.

González, U.A., Corona, L., Castrejon, F., Balcells, J., Castelan, O. & Gonzales, M. 2016. A comparison of processed sorghum grain using different digestion

techniques. Journal of Applied Animal Research, [online] Available at:<
<http://www.tandfonline.com/loi/taar20>> [Accessed 22 June 2016].

González, J. P. & Llamas, C. G. 2017. Análisis y representación gráfica de funciones matemáticas con Excel. Anales de ASEPUMA. 25(103): 1-20, ISSN: 2171-892X.

Groot, J.C.J., Cone, J.W., Williams, B.A., Debersaques, F.M.A. & Latinga, E.A. 1996. Multiphasic analysis of gas production kinetic for *in vitro* fermentation of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 64 (1): 77-89.

Herrera, M. 2013. Métodos estadísticos alternativos de análisis con variables discretas y categóricas en investigaciones agropecuarias. Instituto de Ciencia Animal. San José-Mayabeque, Universidad Agraria de la Habana. Doctor en Ciencias.

Hernández, J., Sánchez, P., Torres, N., Herrera, J., Rojas, A. R., Reyes, I. & Mendoza, M. A. 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. Revista mexicana de ciencias pecuarias. 9(1): 105-120.

Hernández-Morales, J., Sánchez-Santillán, P., Torres-Salado, N., Herrera-Pérez, J., Rojas-García, A. R., Reyes-Vázquez, I. & Mendoza-Núñez, M. A. 2018. Composición química y degradaciones *in vitro* de vainas y hojas de leguminosas arbóreas del trópico seco de México. Revista mexicana de ciencias pecuarias. 9(1): 105-120.

IBM SPSS. 2013. Sistema de análisis estadístico. Universidad de Chicago. Versión 22.

Jay, O. 2012. Metodología para la comparación de tratamientos en modelos de regresión no lineal aplicados a procesos biológicos. Tesis presentada en opción al título de Doctor en Ciencias Veterinarias, Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba. 100 p.

Krishnamoorthy, U., Soller, H., Steingass, H. & Menke, K.H. 1991. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements *in vitro*. Journal Animal of Physiologic and Animal Nutrition. 65 (5): 28-35.

Kiviste, A. J., G., Álvarez, A., Rojo, A. & Ruíz, D. 2002. Funciones decrecimiento de aplicación en el ámbito forestal. Ministerio de Ciencia y Tecnología. Instituto de Investigaciones y Tecnología Agraria y Alimentaría. Madrid. 190 p.

Lagos, E. & Castro, E. 2019. Caña de azúcar y subproductos de la agroindustria azucarera en la alimentación de rumiantes. Agronomía Mesoamericana. 917-934.

Larduet, R. & Savón, L. 1995. Prediction of protein quality from a model of N digestion and metabolism in pigswithnon-conventional rations. Cuban Journal of Agricultural Science. 29: 1.

Lavrencic, A., Stefanon, B. & Susmel, P. 1997. An evaluation of the Gompertz model in degradability studies of forage chemical components. Journal of Animal Science. 64 (3): 423-431, ISSN: 1525-3163.

La O, M., Guevara, F., Fonseca, N., Rodríguez, L., Pinto, R., Gómez, H., Medina, F. & Hernández, A.2018. Aplicación de los modelos logístico y Gompertz al análisis de curvas de peso vivo en cabritos criollos cubanos. Revista cubana de ciencia agrícola. 47(1):1-5.

López, O., Lamela, L., Sánchez, T., Olivera, Y., García, R., Herrera, M. & González, M. 2019. Evaluación del valor nutricional de los forrajes en un sistema silvopastoril. Pastos y Forrajes. 42(1): 57-67.

Mauricio, R. M., Mould, F. L., Dhanoa, M. S., Owen, E., Channa, K. S. & Theodorou, M. K. 1999. A semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal Feed Science and Technology. 79(4): 321-330.

Mcdonald, I. 1981. A Revised Model for the Estimation of Protein Degradability in the Rumen. The Journal of Agricultural Science. 96 (1): 251-252.

Mertens, D.R. & Loften J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. Journal Dairy Science. 63 (9): 1437-1446.

Menchaca, M. 1990. The use of the stage models for describing animal growth curves. Cuban Journal of Agricultural Science. 24:31.

Mejías, A. 2018. Modelación matemática para describir el crecimiento y producción de biomasa de la especie *Pennisetum purpureum*. Anuario Ciencia en la UNAH. 16(1).

Montoya, E. A. F. & Quiroz, A. B. 2021. Un Enfoque Bayesiano en Modelos Heterocedásticos de Series de Tiempo y su Aplicación en la Volatilidad de Activos Financieros. Pesquimat. 24(2): 1-12.

Molina, M. 2021. No lo dejes a medias. Diagnóstico del modelo de regresión. Revista electrónica de AnestesiaR. 13(7):2.

Mora-Valverde, D. 2010. Usos de la morera (*Morus alba*) en la alimentación del conejo. El rol de la fibra y la proteína en el tracto digestivo. Agronomía mesoamericana. 21(2): 357-366.

Noguera, R. R., Saliba, E. O. & Mauricio, R. M. 2004. Comparación de modelos matemáticos para estimar los parámetros de degradación obtenidos a través de la técnica de producción de gas. Livestock Research for Rural Development. 16(11).

Núñez, O., Barros, M., Sánchez, D. & Guishca, C. 2018. Comportamiento productivo, degradación ruminal y producción de gas *in vitro* en ovinos alimentados con dietas a base de residuos pos-cosecha de *Chenopodium quinoa*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 29(3): 765-773.

Ørskov, E. R. & McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science Cambridge. 92 (2): 499-503.

Pedraza, R., Pérez, S., González, M., González, E., León, M. & Espinosa, E. 2013. Indicadores *in vitro* del valor nutritivo de *Moringa oleifera* en época de seca para rumiantes. Revista de Producción Animal. 25 (3): 1-7.

Pérez, L. 2018. ¿Cómo proceder ante el incumplimiento de las premisas de los métodos paramétricos? o ¿cómo trabajar con variables biológicas no normales? Revista del Jardín Botánico Nacional. 39: 1-12, ISSN: 2410-5546.

Perrusquía Tejeida, V. M. 2021. Determinación de la producción de gas *in vitro* y valor nutricional de forrajes y suplementos para ovinos y caprinos Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias, Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Pinto-Trinidad, L.R., Ramírez-Díaz, R. & Sandoval-González, L. 2019. Efeito do uso de sementes de árvores forrageiras sobre a atividade fermentativa de microrganismos ruminais. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 17(2): 46-52.

Posada, S. & Rosero, R. 2007. Comparación de modelos matemáticos: una aplicación en la evaluación de alimentos para animales. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 20 (2): 141-148.

Pozos, R. Á., Jiménez-Munguía, R. R. & Temoltzi-Ávila, R. 2019. Modelos estocásticos en epidemiología. Päd. Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI. 6(12): 95-101.

Prades-Escobar, E. & Marín-Sánchez, D. 2020. Modelos estadísticos para las predicciones de la COVID-19 en Cuba. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 57.

ProGas. 2017. Programa para el procesamiento de datos de producción de gas. Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba. Versión 1.0. Número de registro en CENDA: 3556-11-2017.

Ramírez, R., Pinto, R., Medina, F. & Guevara, F. 2020. Efectos de inoculantes y aditivos sobre fracciones de fermentación ruminal y degradación *in vitro* de ensilaje de sorgo (*Sorghum sp*). Ciencia UAT. 15(1): 172-179, ISSN: 2007-7521.

Regalado, A. V. E., López, R. G., Cárdenas, V. T. & Méndez, P. C. M. 2021. Análisis multifactorial de la producción de leche en una lechería comercial con silvopastoreo en Cuba. Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal. 5(2), 53-67.

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 en opción al grado de Doctor en Ciencias. Departamento Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España.

Rodríguez, R., Lores, J., Gutiérrez, D., Ramírez, A., Gómez, S., Elías, A., Aldana, A.I., Moreira, O., Sarduy, L. & Jay, O. 2013. Inclusion of the microbial additive *Vitafert* in the *in vitro* ruminal fermentation of a goat diet. Cuban Journal of Agricultural Science. 47(2): 171-178, ISSN: 2079-3480.

Rodríguez, R., González, N., Alonso, J. Domínguez, M. & Sarduy, L. 2014. Valor nutritivo de harinas de follaje de cuatro especies arbóreas tropicales para rumiantes. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 48(4):371-378, ISSN: 2079-3480.

Rodríguez, R., González, N., Domínguez, M. & Sarduy, L. 2016. Nutritional value of foliage meal from four species of tropical trees for feeding ruminants. Cuban Journal of Agricultural Science. 48(4).

Rodríguez, R., Galindo, J. L., Iraola, J. & Gómez, S. 2017. Uso de la técnica de producción de gas para predecir la relación entre el nivel de consumo e indicadores de la fermentación ruminal *in vitro*. Cuban Journal of Agricultural Science. 51(3): 301-310, ISSN: 2079-3480.

Rodríguez, R., Galindo, J., Ruiz, T. E., Solis, C., Scull, I. & Gómez, S. 2019. Valor nutritivo de siete ecotipos de *Tithonia diversifolia* colectados en la zona oriental de Cuba. Livestock Research for Rural Development. 31(8).

Rodríguez, R., Ontivero, Y., García, Y., Sosa, D. & Gómez, S. 2020. Empleo del tubérculo de boniato (*Ipomoea batatas* L.) y la cepa *Lactobacillus pentosus* LB-31 como aditivos a ensilajes mixtos para rumiantes. *Livestock Research for Rural Development*. 32(117), ISSN: 0121-3784, DOI: <http://www.lrrd.org/lrrd32/7/rodri32117.html>

Rojas, A. R., Hernández, A., Sánchez, P., Alaniz, L., Torres, N., Herrera, J. & Escobar, J. C. 2018. Cinética de fermentación y degradación *in vitro* de tres leguminosas rastreras nativas del municipio de Cuajinicuilapa. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 29(4): 1229-1236, ISSN: 1609-9117, DOI: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i4.14340>

Rozo, A. J. 2017. La educación secundaria y sus dos dimensiones. Efectos del barrio y del colegio sobre los resultados saber 11. *Revista de Economía del Rosario*. 20 (1): 33-69, ISSN-e: 2145-454X, DOI: dx.doi.org/10.12804/revistas.urosario.edu.co/economia/a.6148.

Sáez, M. 2001. El problema de las medidas repetidas. Análisis longitudinal en epidemiología. *Gaceta Sanitaria*. 15 (4): 347-352, ISSN: 0213-9111.

SAS. 2013. Sistema de análisis estadístico. Universidad de Nebraska. Versión 9.3.

Sánchez, N., Torres, A., Rojas, M., Méndez, A. & Mayren, F. 2017. Producción de gas *in vitro* de un cultivo bacteriano celulolítico obtenido de búfalos de agua. In: *Memoria del XLI Congreso Nacional de Buiatría*. 3-5 de agosto. Acapulco, Guerrero, México. pp: 420-424.

Sánchez-Santillán, P., Torres-Cardona, M. G., Campos-Montiel, R. G., Soriano-Robles, R., Fernández-Luqueño, F., Medina-Pérez, G. & Almaraz-Buendía, I. 2018. Potencial de emisión de gases efecto invernadero de plantas forrajeras por fermentación entérica. *Agroproductividad*. 11 (2).

Stanislaus S. 2022. Monte Carlo power comparison of seven most commonly used heteroscedasticity tests. *Communications in Statistics - Simulation and Computation*. 51(4): 2065-2082, DOI: 10.1080/03610918.2019.1692031.

Schofield, P., Pitt, R.E. & Pell, A.N. 1994. Kinetics of fiber digestion from *in vitro* gas production. Journal of Animal Science. 72 (11): 2980-2991, ISSN: 1525-3163.

Shapiro, S. & Wilk, B. 1965. *An analysis of variance test for normality (complete samples)*. Biometrika. 52 (2): 591-611.

Silva, R., García, P., Faleiro, D. & Lopes, C. 2018. Determinación de componentes de varianza y parámetros genéticos en una población segregante de maíz tropical. Bioagro. 30(1): 67-77, ISSN: 1316-3361.

Telles, R., Gómez, M., Alanís, E., Aguirre, O. A. & Jiménez, J. 2018. Ajuste y selección de modelos matemáticos para predecir el volumen fustal de *Tectona grandis* L. f. en Nuevo Urecho, Michoacán, México. Madera y bosques. 24(3), ISSN: 1405-0471.

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. & France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 48: 185-197, ISSN: 0377-8401.

Torres, V. & Cobo, R. 2015. La Matemática Aplicada en las investigaciones del Instituto de Ciencia Animal, cincuenta años de experiencia. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 49(2): 117-125.

Urbano, E., Machado, S. D. A., Figueiredo Filho, A., Sanquetta, C. R. & Zea-Camaño, J. D. 2018. Modelación del volumen de rodal para especies secundarias en bosques nativos de Mimosa scabrella en la región metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil. Bosque (Valdivia). 39(2): 227-237.

Uyanto, S. S. 2020. Power comparisons of five most commonly used autocorrelation tests. Pakistan. Journal of Statistics and Operation Research. 119-130.

Vargas, B.J., Mejía, G., Bedoya, J. & Gómez, J.F. 2013. Estimación de la técnica *in vitro* de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. SpeiDomus. 9(18): 59-70.

Yoon, I.K. & Stern, M.D. 1995. Influence of direct fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: a review. Asian-Aust. Journal of Animal Science. 8 (2): 533- 555.

Zambrano, J., Barreto, O., Castañeda, R. & Gallego, A. 2020. Digestibilidad y degradabilidad *in vitro* de dietas con torta de sachá inchi en rumiantes. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 31(4).

Vidal-Ledo, M., Guinovart-Díaz, R., Baldoquín-Rodríguez, W., Valdivia-Onega, N. C. & Morales-Lezca, W. 2020. Modelos matemáticos para el control epidemiológico. Educación Médica Superior. 34 (2).

ANEXOS

Anexo 1:

Horario (h)	PGIV (i=1)	PGIV (i=2)	PGIV (i=3)
3	5.70	5.36	6.01
6	10.77	11.39	10.77
9	18.93	20.17	21.41
12	37.18	38.58	42.21
15	62.79	62.17	66.81
18	89.59	87.38	92.29
21	117.47	114.34	117.35
24	137.15	131.16	133.94
29	158.85	148.95	152.31
48	186.46	171.61	174.12
72	201.35	185.42	187.62
77	207.77	191.41	193.34
144	215.70	198.60	199.80
$V_o =$ i	$(PGIV(t=6)-PGIV(t=3))/(6-3); i=1$	$(PGIV(t=6)-PGIV(t=3))/(6-3); i=2$	$(PGIV(t=6)-PGIV(t=3))/(6-3); i=3$
$V_o =$ i	$(10.77-5.70)/(6-3)=5.07/3=1.69$	$(11.39-5.36)/(6-3)=6.03/3=2.01$	$(10.77-6.01)/(6-3)=4.76/3=1.59$
$V_o =$	$(1.69+2.01+1.59)/3=1.76$		

Anexo 2:

Horario (h)	PGIV (i=1)	PGIV (i=2)	PGIV (i=3)	PGIV (i=4)
3	15.82	18.06	20.03	19.23
6	43.87	33.41	36.00	35.32
9	63.91	52.13	56.27	57.76
12	83.62	71.86	78.97	79.02
16	105.22	93.16	100.85	99.68
20	123.08	110.05	117.94	114.66
24	136.78	123.56	131.75	127.98
30	150.25	136.48	144.54	140.53
36	161.14	147.60	154.90	151.29
48	172.58	158.34	164.47	161.45
72	182.25	167.96	173.04	172.98
96	188.86	174.70	179.51	178.72
Voi=	$(PGIV(t=6)-PGIV(t=3))/(6-3);$ i=1	$(PGIV(t=6)-PGIV(t=3))/(6-3);$ i=2	$(PGIV(t=6)-PGIV(t=3))/(6-3);$ i=3	$(PGIV(t=6)-PGIV(t=3))/(6-3);$ i=4
Voi=	$(43.87-15.82)/(6-3)=$ 28.05/3=9.35	$(33.41-18.06)/(6-3)=$ 15.35/3=5.12	$(36-23.03)/(6-3)=$ 15.97/3=5.32	$(35.32-19.23)/(6-3)=$ 16.09/3=5.36
Vo=	$(9.35+5.12+5.32+5.36)/4=6.29$			

Anexo 3:

Horario (h)	PGIV (i=1)	PGIV (i=2)	PGIV (i=3)	PGIV (i=4)
2	0.00	0.00	0.00	0.00
4	17.52	16.23	15.06	13.70
6	33.61	32.07	30.85	27.81
8	49.33	46.33	44.39	41.32
10	67.86	63.80	61.10	58.47
12	89.88	84.54	81.66	78.09
16	119.94	113.39	109.29	106.95
20	145.58	136.32	130.72	128.68
24	161.45	151.35	145.64	142.61
36	179.19	165.32	161.28	157.87
48	194.99	180.65	176.59	172.74
72	208.13	193.42	189.06	186.89
96	216.34	201.99	196.62	195.37
$V_o =$ i	$(PGIV(t=4) - PGIV(t=2))/(4-2);$ $i=1$	$(PGIV(t=4) - PGIV(t=2))/(4-2);$ $i=2$	$(PGIV(t=4) - PGIV(t=2))/(4-2);$ $i=3$	$(PGIV(t=4) - PGIV(t=2))/(4-2);$ $i=4$
$V_o =$ i	$(17.52-0)/(4-2)=17.52/2=8.76$	$(16.23-0)/(4-2)=16.23/2=8.11$	$(15.06-0)/(4-2)=15.06/2=7.53$	$(13.70-0)/(4-2)=13.7/2=6.85$
$V_o =$	$(8.76+8.11+7.53+6.85)/4=7.81$			