



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATEMÁTICAS  
APLICADAS Y EN SISTEMAS

Aplicación del Modelo de Hill para evaluar  
el efecto del acondicionamiento sobre la  
germinación de semillas de *Castilleja*  
*tenuiflora*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
Especialista en Estadística Aplicada

P R E S E N T A:

JAFET MICHEL BELMONT OSUNA

DIRECTOR DE TESIS:  
M. en C. ANTONIO SORIANO FLORES



2015

Cd.Mx.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Hoja de datos del Jurado

1. Datos del alumno  
Belmont  
Osuna  
Jafet Michel  
55 28 93 86 53  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Instituto de Investigaciones Matemáticas  
Aplicadas y en Sistemas  
Especialización en Estadística Aplicada  
306511590
2. Datos del tutor  
M. en C.  
Antonio  
Soriano  
Flores
3. Datos del sinodal 1  
M. en E.  
Leticia Eugenia  
Gracia-Medrano  
Valdelamar
4. Datos del sinodal 2  
M. en E.  
Patricia Isabel  
Romero  
Mares
5. Datos sinodal 3  
M. en C. José Salvador  
Zamora  
Muñoz
6. Datos sinodal 4  
E.E.A.  
José Antonio  
Aranda  
Román
7. Datos del trabajo escrito Aplicación del Modelo de Hill para evaluar el efecto del acondicionamiento sobre la germinación de semillas de *Castilleja tenuiflora* 2016

*“Las semillas duermen en el secreto de la tierra hasta que a una de ellas se le ocurre la fantasía de despertar”.*

Antoine de Saint-Exupéry

A mi familia por su apoyo y afecto  
A la UNAM por brindarme las herramientas  
necesarias para realizar este trabajo

## Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al apoyo de mi director de tesis M. en C. Antonio Soriano Flores, por tu tiempo y por compartirme tus conocimientos.

A mis sinodales y maestros de la especialización: la M. en E. Leticia Medrano Valdelamar, la M. en E. Patricia Romero Mares, a el M. en C. Salvador Zamora Muñoz, y al E.E.A. José Aranda Roman. También agradezco al Dr. Ignacio Méndez por sus clases impartidas durante la especialidad.

A mis compañeros de la especialidad, especialmente a mis amigos Frieda, Ana y Alexandro, de quienes aprendí muchísimo. Gracias por explicarme una y otra vez los conceptos y demostraciones de inferencia, y a Alexandro, ya que gracias a su apoyo he podido profundizar en el manejo de **R** y  $\LaTeX$ .

A mis amigos siempre presentes Fernando Salgado, Luis y Rodrigo Salvatierra, Paris Aguilar y Héctor Méndez.

A mi familia, mi mamá Marisa Osuna y mi tía Reyna Osuna, por apoyarme e inculcarme los valores necesarios que me han hecho posible llegar hasta este punto.

A mi maestra Irene Pisanty, por su apoyo y ya que gracias a ella pude obtener los datos que fueron analizados en este trabajo.

# Índice general

<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>3</b>
2.1. Historia del Modelo de Hill . . . . .	3
2.2. Propiedades matemáticas . . . . .	4
2.3. Modelo Hill de cuatro parámetros . . . . .	8
2.4. Germinación y acondicionamiento de semillas . . . . .	9
2.5. Aplicaciones del modelo de Hill en la germinación de semillas . . . . .	11
<b>3. Datos de germinación</b>	<b>13</b>
<b>4. Ajuste por mínimos cuadrados y máxima verosimilitud</b>	<b>15</b>
4.1. Análisis de parámetros <sup>I</sup> . . . . .	18
4.1.0.1. Análisis para el <b>TMGR</b> . . . . .	19
4.1.0.2. Análisis para el <b>t10</b> . . . . .	20
4.1.0.3. Análisis para el $C_{50}$ . . . . .	22
4.1.0.4. Análisis para el <b>y<sub>max</sub></b> . . . . .	24
4.1.0.5. Análisis para el parámetro $\alpha$ . . . . .	25
4.1.0.6. Análisis del <b>DI</b> . . . . .	27
4.2. Acondicionamiento natural <sup>II</sup> . . . . .	30
4.3. Análisis de los parámetros del acondicionamiento natural . . . . .	31
4.3.0.7. Análisis para el <b>TMGR</b> . . . . .	31
4.3.0.8. Análisis para el <b>t10</b> . . . . .	33
4.3.0.9. Análisis para el $C_{50}$ . . . . .	34
4.3.0.10. Análisis para el <b>y<sub>max</sub></b> . . . . .	36
4.3.0.11. Análisis para el parámetro $\alpha$ . . . . .	37
<b>5. Discusión y Conclusiones</b>	<b>39</b>
<b>Apéndices</b>	<b>41</b>
<b>A. Apéndice A</b>	<b>43</b>
<b>B. Apéndice B</b>	<b>45</b>
<b>C. Apéndice C</b>	<b>67</b>
<b>D. Apéndice D</b>	<b>83</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>91</b>

---

<sup>I</sup>El código en **R** para ésta sección se encuentra en el apéndice B

<sup>II</sup>El código en **R** para ésta sección se encuentra en el apéndice C

# Capítulo 1

## Introducción

Los modelos lineales son una parte fundamental de las distintas metodologías estadísticas que se han desarrollado y han tenido una gran aceptación debido a su sencillez y fácil interpretación. Es el punto de partida de muchas técnicas estadísticas ya que han sido explorados extensamente y reportados con mucha frecuencia en la literatura (Faraway, 2006). Los modelos lineales han sido utilizados ampliamente en distintas ramas de la ciencia y permiten modelar adecuadamente una gran variedad de fenómenos, son una gran herramienta que nos permiten hacer inferencias acerca de las poblaciones de estudio a partir de la obtención de una muestra representativa de ellas; sin embargo, se requieren de varios supuestos para que las conclusiones acerca de la población sean válidas. En Biología y en particular en Ecología, los datos son muy variables y con mucha frecuencia se tienen modelos no lineales para los cuales estos supuestos no se cumplen. Muy frecuentemente se opta por utilizar una transformación sobre la variable explicativa, sobre la variable respuesta o ambas, con el fin de linealizar la relación entre ambas (Zuur *et al.*, 2009). Las transformaciones de variables son una forma fácil y sencilla de estimar funciones no lineales, sin embargo tienen sus problemáticas particulares. Al utilizar una transformación, ésta afecta la relación entre la variable respuesta  $Y$  y la variable explicativa  $X$  de manera global, es decir, se asume que la relación entre  $X$  y  $Y$  es la misma a lo largo de  $X$ ; sin embargo, muchas veces la relación entre las dos variables es específica en cierta región local de  $X$ . Otro gran problema radica en qué tipo de transformación se decide usar, ya que las estimaciones del modelo dependen en gran medida del tipo de transformación elegida y se debe tener en cuenta que ciertas transformaciones no tienen una interpretación sencilla o lógica (Keele, 2008). La regresión lineal es una herramienta poderosa para analizar datos que pueden ser descritos por modelos que son lineales en sus parámetros, cuando esto no sucede y la variable de respuesta se encuentra en función de predictores asociados con parámetros no lineales, entonces el problema se vuelve más complejo (Bates y Watts, 1998). A diferencia del modelo de regresión lineal, los estimadores para un modelo de regresión no lineal no pueden ser calculados analíticamente, y por lo tanto se requieren de métodos numéricos para aproximar las soluciones a un mínimo global. Afortunadamente, con el poder computacional de hoy en día, resolver este tipo de problemas es más sencillo. Una desventaja es que para iniciar los algoritmos de optimización es necesario indicar valores iniciales de los parámetros, si los valores iniciales son adecuados, entonces el algoritmo convergerá en pocos pasos. Si los valores iniciales no son correctos, entonces se pueden tener estimaciones pobres, o se pueden encontrar soluciones a mínimos locales, en lugar de mínimos globales (Ritz y Streibig, 2008). Otro problema al utilizar modelos no lineales es que, a diferencia de los modelos lineales que han sido estudiados exhaustivamente, los modelos no lineales no se reportan frecuentemente en la literatura y no se tienen propiedades como el coeficiente de determinación  $R^2$  como medida de bondad de ajuste, propiedades como ésta aún siguen explorándose para los modelos no lineales.

El modelo de Hill propuesto en 1910 por Archibald Hill, es un modelo no lineal de tres parámetros utilizado ampliamente en bioquímica y estudios de cinética enzimática, cuyas aplicaciones se han extendido a modelos de dosis-respuesta y más recientemente de Ecología (El-Kassaby *et al.*, 2008; Joosen *et al.*, 2010; Nelson y Cox, 2008; Prinz, 2010). El modelo de Hill es un modelo no lineal de la forma:

$$y = \frac{y_{max}x^\alpha}{c^\alpha + x^\alpha}$$

Donde la variable respuesta  $y$  depende de la ecuación logística donde el parámetro  $y_{max}$  representa el valor máximo que alcanza  $y$ ,  $x$  corresponde a la variable explicativa (generalmente tiempo), el parámetro  $C$  corresponde al valor en  $x$  para el cual se tiene la mitad del valor  $y_{max}$  y el parámetro  $\alpha$  se encuentra asociado con la pendiente de la curva. Gracias a la forma de la ecuación y a que los parámetros del modelo tienen una interpretación biológica, es que se ha propuesto al modelo de Hill como una forma de analizar datos sobre germinación de semillas (El-Kassaby *et al.*, 2008).

La propagación sexual en plantas superiores se lleva a cabo a través de la producción, dispersión y germinación de las semillas. La semilla es un óvulo maduro compuesto por un embrión y una reserva de alimento (Hartmann y Davies, 1990). El proceso germinativo que abarca desde la imbibición de la semilla hasta la emergencia de la radícula, es importante en el reclutamiento de especies en el tiempo, afectando la estructura de las poblaciones y originando cambios en la composición de las comunidades vegetales, ya que las especies que se establecen primero generalmente acaparan los recursos (Bazzaz, 1996; Silvertown *et al.*, 2005).

Existen diversos mecanismos y estructuras de las semillas que regulan su germinación, los diversos requerimientos que tienen las semillas para poder germinar son determinantes para conocer los sitios en los cuales las plantas pueden establecerse (Baskin y Baskin, 1998).

La germinación y el establecimiento de plántulas representan dos etapas críticas en el ciclo de vida de las plantas debido a su alta tasa de mortalidad, por lo que son etapas clave que pueden llegar a limitar la restauración de sitios perturbados (Benítez-Rodríguez *et al.*, 2014). En este aspecto, se utilizan métodos como el acondicionamiento, también conocido como endurecimiento, o *priming* que logran mejorar la respuesta germinativa de las semillas pues permiten la activación de ciertas funciones metabólicas previas a la germinación, mediante la hidratación regulada de las semillas en agua (acondicionamiento hídrico), en soluciones osmóticas (acondicionamiento osmótico) o en matrices sólidas (acondicionamiento mátrico) (González-Zertuche *et al.*, 2000, 2001). El acondicionamiento hídrico es un proceso que consiste en la hidratación y deshidratación consecutiva de las semillas de manera controlada, con la finalidad de incrementar la tasa y el porcentaje de germinación, así como disminuir el tiempo requerido para la misma. El acondicionamiento permite que la emergencia y el crecimiento de las plantas sea uniforme en una amplia gama de ambientes y facilita su establecimiento en condiciones de estrés, particularmente en ambientes secos (Rahman *et al.*, 2001). Las semillas se enfrentan a un ambiente variable y cambiante al estar enterradas en el suelo (fluctuaciones de temperatura, luz, humedad, oxígeno, potencial hídrico, entre otros), lo que induce cambios fisiológicos que les permiten a las semillas responder a condiciones favorables para la germinación y para el establecimiento. Estos cambios mediados por variaciones en las condiciones ambientales son equivalentes a distintos tratamientos experimentales de acondicionamiento por lo que pueden inducir un acondicionamiento natural en las semillas que puede incrementar las probabilidades de establecimiento de las plántulas (González-Zertuche *et al.*, 2001).



# Capítulo 2

## Antecedentes

### 2.1. Historia del Modelo de Hill

La ecuación de Hill fue propuesta por el fisiólogo-matemático Archibald Hill en 1910, con el propósito de describir la cooperatividad entre las moléculas de oxígeno y las de hemoglobina (Nelson y Cox, 2008). El modelo propuesto por Hill es una expresión de tres parámetros que explica cómo la saturación de los sitios de unión del oxígeno modifican la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno, dependiendo de la cantidad de oxígenos que tenga unidos. (ec.2.1). En este modelo, la saturación del receptor (hemoglobina) tiene un comportamiento sigmoidal, y se encuentra en función de la concentración del ligando (oxígeno) (Prinz, 2010):

$$y = \frac{y_{max}x^\alpha}{c^\alpha + x^\alpha} \quad (2.1)$$

Los tres parámetros de la ecuación son  $y_{max}$ ,  $c$ ,  $\alpha$ . Donde  $c$  indica la afinidad del sistema y  $\alpha$  la heterogeneidad de respuesta.

El modelo original de Hill (Hill, 1910) tiene como parámetros fijos a  $y_{max} = 100$  y  $c = K^{-1/\alpha}$  dando como resultado la ecuación original de Hill de dos parámetros :

$$y_1 = 100 \frac{Kx^\alpha}{1 + Kx^\alpha} \quad (2.2)$$

Esta ecuación fue utilizada para modelar el equilibrio de reacciones fisicoquímicas, como la de la cooperatividad del oxígeno y la hemoglobina:

$$\theta = \frac{[L]^n}{[L]^n + K_d} \quad (2.3)$$

Donde

- $\theta$  : la proporción de sitios de unión del receptor ocupados por los ligandos
- $[L]$  : la concentración de ligandos libres
- $K_d = [L]_{0.5}^n$  : constante de equilibrio de disociación (dosis necesaria para obtener el 50 % de efecto en los modelos dosis-respuesta)
- $n$  = número de ligandos unidos, también conocido como el coeficiente de Hill ( $n_H$ ).

El coeficiente de Hill  $n_H$  indica el grado de cooperatividad en el cual:

- Si  $n_H = 1$  la unión al ligando es no cooperativa
- Si  $n_H > 1$  hay una cooperatividad positiva en la unión del ligando (es decir, cuando el ligando se une, la afinidad de la proteína receptora por los ligandos se incrementa)
- Si  $n_H < 1$  hay una cooperatividad negativa (la afinidad de la proteína receptora por los ligandos disminuye cuando el ligando se une)

Si bien se ha demostrado que el modelo de Hill presenta algunas limitaciones (por ejemplo, cuando se tienen receptores con más de un sitio de unión al ligando) (Weiss, 1997), sus extensiones se utilizan en una gran variedad de estudios de farmacocinética y cinética enzimática (Goutelle *et al.*, 2008).

## 2.2. Propiedades matemáticas

Al graficar la ecuación de Hill 2.2, se observa una forma sigmoideal (fig. 2.1), al calcular la primera y segunda derivada de la ecuación, se demuestra la existencia de un punto de inflexión:

La primer derivada está dada por:

$$y'_1 = 100 \frac{K\alpha x^{\alpha-1}}{(1 + Kx^\alpha)^2} \quad (2.4)$$

La segunda derivada se define como:

$$y''_1 = 100 \frac{x^{\alpha-2}}{(1 + Kx^\alpha)^3} [(\alpha - 1) - Kx^\alpha(\alpha + 1)] \quad (2.5)$$

A partir de aquí, se encuentra el punto de inflexión:

$$x = \left[ \frac{\alpha - 1}{K(\alpha + 1)} \right]^{1/\alpha} \quad (2.6)$$

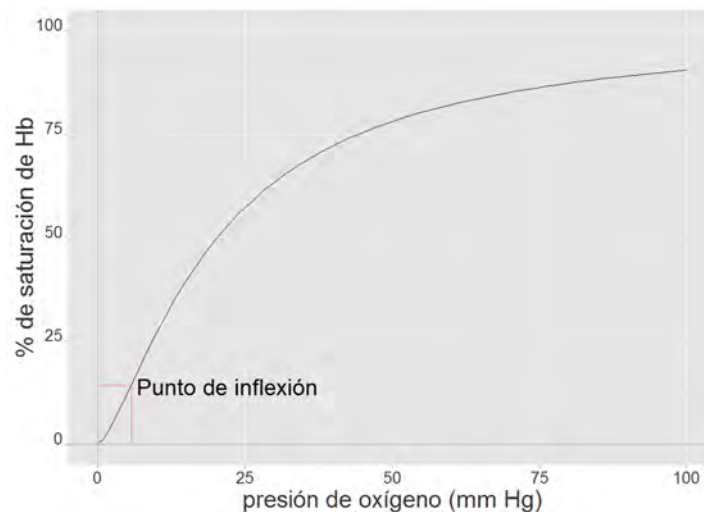


Figura 2.1: Curva del modelo de Hill de 2 parámetros describiendo la cooperatividad entre las moléculas de oxígeno y las de hemoglobina (Hb) ( $\alpha = 1.405$  y  $K = 0.01455$ ) (Hill, 1910)

Por otra parte, el término  $x^\alpha/(c^\alpha + x^\alpha)$  de la ecuación de Hill 2.1 puede expresarse como una función de distribución  $F(x)$  para una variable aleatoria  $X$  i.e.

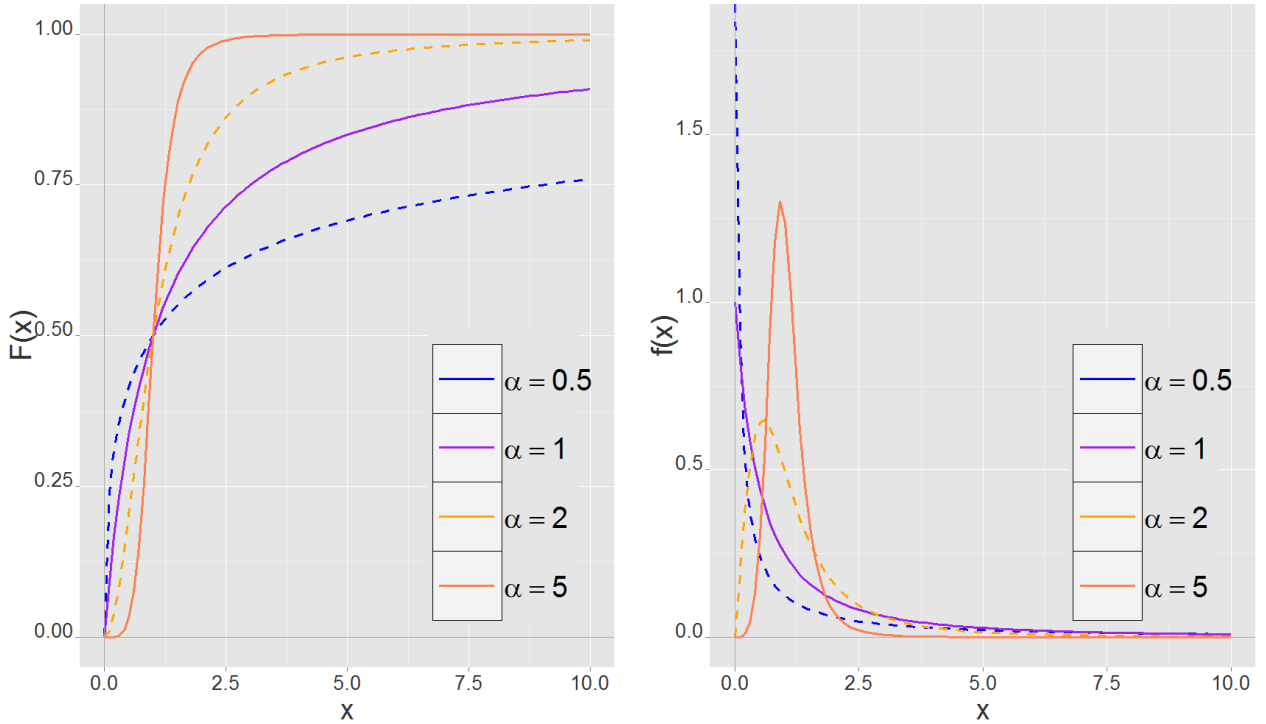
$$F(x) = P\{X < x\} = \frac{x^\alpha}{c^\alpha + x^\alpha}, x \in \mathbb{R}^+, c > 0; \alpha > 0 \quad (2.7)$$

También puede representarse de acuerdo a Goutelle *et al.* (2008) como (fig.2.2a):

$$F(x) = \frac{(x/c)^\alpha}{1 + (x/c)^\alpha} = 1 - \frac{1}{1 + (x/c)^\alpha} \quad (2.8)$$

La función de densidad está dada por (fig.2.2b)

$$f(x) = F'(x) = \frac{\alpha c^\alpha x^{\alpha-1}}{(c^\alpha + x^\alpha)^2} = \frac{(\alpha/c)(x/c)^{\alpha-1}}{[1 + (x/c)^\alpha]^2} \quad (2.9)$$



(a) función de distribución ( ec. 2.8 )

(b) función de densidad ( ec. 2.9 )

Figura 2.2: Efecto del parámetro  $\alpha$  sobre la función de distribución y densidad del modelo de Hill ( $c = 1$ )

Para calcular la expresión del  $k$ -ésimo orden de momentos se tiene (ver Apéndice A):

$$\mathbb{E}(X^k) = \int_0^{\infty} x^k f(x) dx = \int_0^{\infty} x^k \frac{(\alpha/c)(x/c)^{\alpha-1}}{[1 + (x/c)^\alpha]^2} dx \quad (2.10)$$

El  $k$ -ésimo momento está definido únicamente cuando  $k < \alpha$ . Utilizando la función gamma ( $\gamma(\cdot)$ ), la ecuación 2.10 resulta:

$$\mathbb{E}(X^k) = c^k \Gamma(1 + k/\alpha) \Gamma(1 - k/\alpha) \quad (2.11)$$

De aquí se desprende que la esperanza (primer momento):

$$\mathbb{E}(X) = c \Gamma(1 + 1/\alpha) \Gamma(1 - 1/\alpha) \quad (2.12)$$

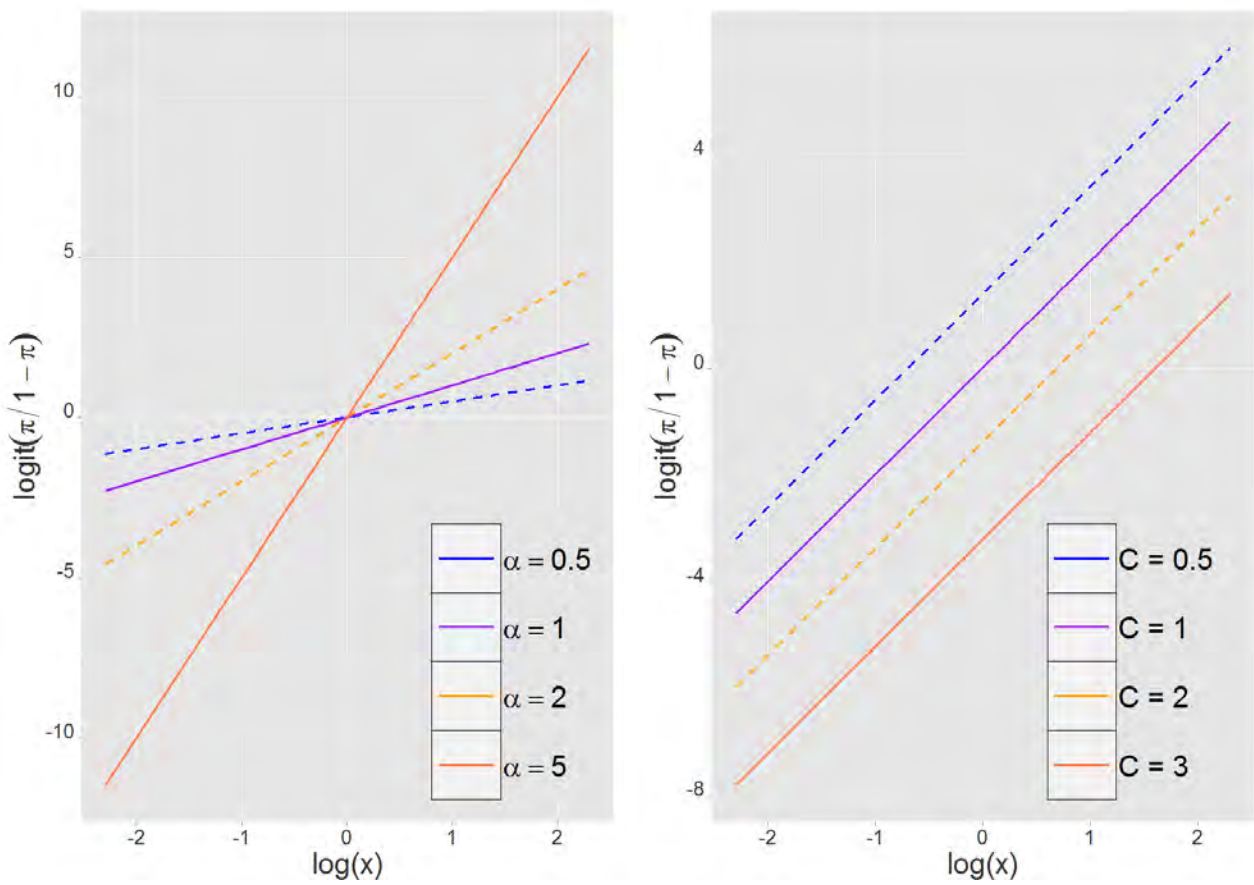
La varianza se define como:

$$\sigma^2 = \mathbb{E}(X^2) - \mathbb{E}^2(X) = c^2 \left[ \Gamma\left(1 + \frac{2}{\alpha}\right) \Gamma\left(1 - \frac{2}{\alpha}\right) - \Gamma^2\left(1 + \frac{1}{\alpha}\right) \Gamma^2\left(1 - \frac{1}{\alpha}\right) \right] \quad (2.13)$$

También puede utilizarse la transformación logit para linealizar la ecuación de Hill  $\frac{x^\alpha}{c^\alpha + x^\alpha}$  (2.8). Sea  $p = \mathbb{P}(X \leq x)$ , entonces

$$\begin{aligned} \text{logit}(p) &= \ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = \ln\left(\frac{\frac{x^\alpha}{c^\alpha + x^\alpha}}{1 - \frac{x^\alpha}{c^\alpha + x^\alpha}}\right) = \ln\left(\frac{x^\alpha(c^\alpha + x^\alpha)}{c^\alpha(c^\alpha + x^\alpha)}\right) \\ &= \alpha \ln(x) + \ln(c^\alpha + x^\alpha) - \alpha \ln(c) - \ln(c^\alpha + x^\alpha) \\ &= \alpha(\ln x - \ln c) \end{aligned} \quad (2.14)$$

Cómo se observa en la figura 2.3a, el parámetro  $\alpha$  controla la pendiente de la recta. Mientras más grande sea el valor del parámetro, la pendiente de la recta será más pronunciada. Por otra parte el parámetro  $C$  determina al intercepto de la recta (fig. 2.3b).



(a) modelo de Hill de tres parámetros variando el parámetro  $\alpha$  (b) modelo de Hill de tres parámetros variando el parámetro  $C$

Figura 2.3: Transformación logit del modelo de Hill de tres parámetros

### 2.3. Modelo Hill de cuatro parámetros

La ecuación de Hill ha sido ampliamente utilizada para modelar la relación entre el efecto de ciertos fármacos y la concentración de éstos. Reescribiendo la ecuación (2.1):

$$E = \frac{E_{max}C^\alpha}{EC_{50}^\alpha + C^\alpha} \quad (2.15)$$

Donde  $E$  equivale al efecto predicho de la droga,  $E_{max}$  es el efecto máximo del fármaco,  $C$  es el efecto de la droga en un tiempo  $t$ ,  $EC_{50}$  es la concentración del fármaco necesario para el cual se obtiene el 50% del efecto máximo, y  $\alpha$  es el coeficiente de Hill (Goutelle *et al.*, 2008).

Algunas veces se incorpora un parámetro extra que corresponde con la respuesta basal  $E_0$  que representa el efecto del control negativo (efecto de la droga bajo concentración 0):

$$E = E_0 + \frac{E_{max}C^\alpha}{EC_{50}^\alpha + C^\alpha} \quad (2.16)$$

Este es el modelo de Hill de 4 parámetros, cuando el parámetro  $\alpha > 0$  la curva es monótona creciente a la derecha, esto quiere decir que la respuesta observada se incrementa al aumentar la concentración del fármaco. Cuando  $\alpha < 0$  la curva es monótona decreciente indicando que la respuesta observada disminuye al aumentar la concentración del fármaco (efecto inhibitorio)(esto se ejemplifica en la figura 2.4).

El efecto de la droga puede representarse como una proporción con respecto al efecto máximo, de tal forma que la ecuación (2.16) resulta:

$$\frac{E}{E_{max}} = \frac{E_0}{E_{max}} + \frac{C^\alpha}{EC_{50}^\alpha + C^\alpha} \quad (2.17)$$

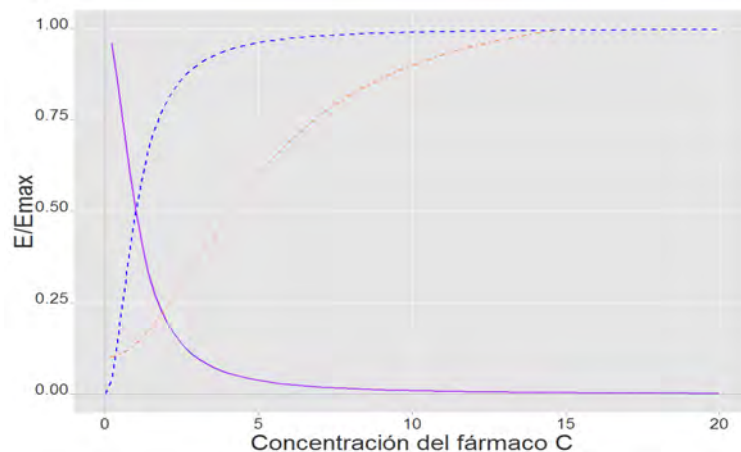


Figura 2.4: Curva del modelo de Hill de 4 parámetros describiendo la relación entre la concentración de la droga y su efecto. La línea azul representa el efecto cuando la respuesta basal = 0, con  $\alpha = 2$  y  $EC_{50} = 1$ . La línea continua morada indica un efecto inhibitorio del fármaco con  $\alpha = -2$ ,  $E_0 = 0$  y  $EC_{50} = 1$ . La línea anaranjada señala el efecto cuando se tiene un efecto basal  $\neq 0$ , con  $\alpha = 2$ ,  $E_0 = 0.1$  y  $EC_{50} = 5$

Cuando no hay un efecto basal, es decir  $E_0 = 0$ , se puede linealizar la ecuación (2.17) de igual forma que con la transformación logit (ec. 2.14):

$$\text{logit}(E/E_{max}) = \log \left[ \frac{E/E_{max}}{1 - E/E_{max}} \right] = \log \left[ \frac{C}{EC_{50}} \right]^\alpha = \alpha[\log(C) - \log(EC_{50})] \quad (2.18)$$

Aunque linealizar el modelo de Hill facilita ajustar una regresión lineal simple, Goutelle *et al.* (2008) señalan que se han reportado diversas situaciones por las cuales el modelo lineal de Hill debe usarse con precaución. Por ejemplo, de acuerdo con Holford y Sheiner (1980), los estimadores obtenidos por el modelo lineal no son los más precisos además de que los parámetros que corresponden a la pendiente y al intercepto no tienen una interpretación real. Por otra parte, el modelo se indetermina cuando el valor  $C = 0$  a diferencia del modelo no lineal (ec. 2.17).

## 2.4. Germinación y acondicionamiento de semillas

La germinación es el periodo que abarca desde la imbibición de la semilla hasta el punto en el que el embrión inicia su crecimiento y protruye, generalmente por medio de la radícula, a través de los tejidos que lo cubren (Bewley y Black, 1994; Bradford y Nonogaki, 2007). Para que la germinación ocurra es necesario que se cumplan tres condiciones: 1) las condiciones ambientales de humedad, temperatura, oxígeno y algunas veces luz, entre otras, deben ser las apropiadas (dependiendo de la especie), 2) la semilla debe ser viable (embrión vivo capaz de germinar) y 3) la semilla no debe presentar latencia (Hartmann *et al.* 1990). La germinación se divide en tres etapas: imbibición, activación del metabolismo, y emergencia de la radícula por acción de la elongación celular (Fig.2.5). Durante la imbibición, el agua es absorbida por la semilla seca y el contenido de humedad se incrementa rápidamente. El agua reblandece la cubierta de la semilla, hidratando el protoplasma. La absorción de agua ocurre en tres etapas: el incremento inicial de hasta 120 % en peso seco (60 % peso húmedo), un periodo de retardo que finaliza con la protrusión radicular y un último incremento del 170 a 180 % de peso seco durante el crecimiento del embrión (Bewley y Black, 1994).

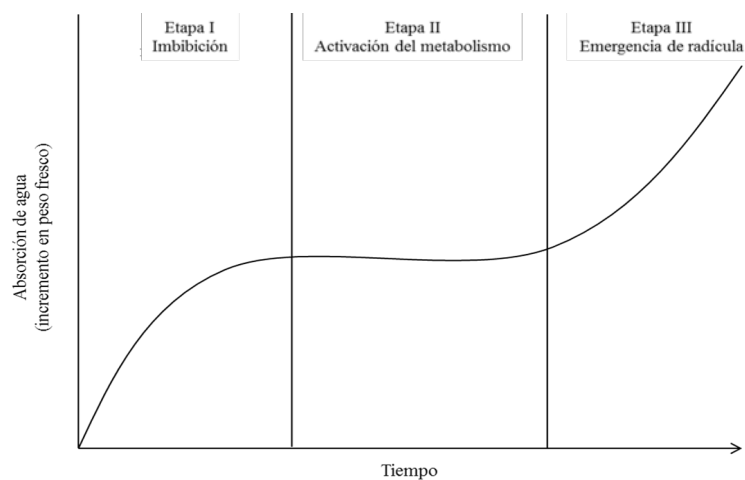


Figura 2.5: Absorción de agua durante la germinación de una semilla. (Modificado de Bewley y Black 1994)

Durante la imbibición y activación del metabolismo de las semillas es posible aplicar un proceso como el acondicionamiento, en el cual las semillas se hidratan hasta alcanzar un nivel de humedad que permite el inicio de las funciones metabólicas básicas de la germinación, sin llegar a la protrusión de la radícula (Sánchez *et al.*, 2001). Los tratamientos de hidratación-deshidratación en semillas fueron estudiados por primera vez por el fisiólogo ruso P. A. Henckel en 1964 como una estrategia para incrementar la germinación de semillas y el establecimiento de especies de interés agrícola bajo condiciones de estrés; sin embargo, los efectos de estos tratamientos ya eran conocidos desde 1918 por Kid y West (Sánchez *et al.*, 2003). Los tratamientos de acondicionamiento han sido ampliamente utilizados en especies cultivadas. Nicasio-Arzeta *et al.* (2011), por ejemplo, reportaron un incremento en la velocidad máxima y porcentaje final de germinación en semillas de *Zea mays* (maíz) tratadas con acondicionamiento natural con dos sustratos distintos. El uso potencial del acondicionamiento en especies útiles para planes de restauración ha recibido atención recientemente. González-Zertuche *et al.* (2002) evaluaron el efecto del acondicionamiento sobre semillas de *Buddleia cordata* (tepozán) tratadas con acondicionamiento hídrico y acondicionamiento osmótico y obtuvieron un mayor porcentaje de germinación en este último. Las semillas enterradas en el suelo, pueden experimentar un acondicionamiento natural como resultado de ciclos de hidratación y deshidratación de los suelos gracias a la precipitación de las lluvias ocasionales que anteceden a la época de lluvias (Orozco-Segovia y Sánchez-Coronado, 2013). Martínez-Orea *et al.* (2012) encontraron que el acondicionamiento natural favoreció el porcentaje de germinación de semillas de *Sedum oxypetalum* enterradas en el matorral conservado del PECM por 2, 4 y 6 meses. Gamboa-de Buen *et al.* (2006) encontraron que este acondicionamiento incluye cambios metabólicos importantes como la movilización de proteínas de almacenamiento como las globulinas y la vicilina, la cual se encarga de proveer una fuente de aminoácidos durante las primeras etapas de la germinación. El incremento de sacarosa como fuente de energía y la expresión de amilasas son otros de los factores que se activan durante el enterramiento, ocasionando que las semillas estén listas para germinar rápidamente una vez que comienza la época de lluvias, lo cual puede facilitar el establecimiento de las plántulas.



## 2.5. Aplicaciones del modelo de Hill en la germinación de semillas

La germinación es un proceso que sigue un patrón sigmoideal, y puede ser caracterizado por tres parámetros: el tiempo de inicio de la germinación (lag), la tasa de germinación y la capacidad germinativa que corresponde al porcentaje final de germinación acumulado hasta el final del estudio. La germinación se ha intentado modelar con distintos índices que agrupan los diferentes parámetros en un solo valor; sin embargo, esto resulta en una pérdida de información ya que no tipifica por completo todo el comportamiento germinativo de las especies. Por otro lado, se ha intentado ajustar curvas de germinación por medio de modelos probit, Gompertz y Weibull (Berry *et al.*, 1988; Bonner y Dell, 1976; Campbell y Sorensen, 1979; Cave *et al.*, 2011). Sin embargo, los parámetros estimados por estos modelos no tienen una interpretación biológica sencilla, por lo que se ha propuesto al modelo de Hill como una alternativa para modelar este proceso (El-Kassaby *et al.*, 2008; Joosen *et al.*, 2010). Reescribiendo el modelo de Hill de cuatro parámetros (ec. 2.16):

$$y = y_0 + \frac{y_{max}x^\alpha}{C_{50}^\alpha + x^\alpha} \quad (2.19)$$

Donde  $y$  corresponde con el porcentaje de germinación acumulado hasta el tiempo  $x$ .  $y_0$  corresponde con el intercepto (en este caso  $y_0 \leq 0$ ),  $y_{max}$  equivale a la capacidad germinativa,  $\alpha$  es el coeficiente de Hill que controla la forma de la curva,  $C_{50}$  corresponde con el tiempo necesario para que el 50 % de las semillas germinen y  $x$  es el tiempo en días.

Cuando  $y = 0$ , el tiempo de inicio de la germinación (lag) puede calcularse como:

$$lag = \sqrt[\alpha]{\frac{-y_0 C_{50}^\alpha}{y_{max} + y_0}} \quad (2.20)$$

El-Kassaby *et al.* (2008) mencionan que la diferencia entre  $C_{50}$  y  $lag$  (denotado como  $D_{lag-50}$ ) es un buen indicador de la tasa de germinación, uniformidad y vigor. Mientras la diferencia entre estos dos parámetros sea menor,  $\alpha$  será mayor y como consecuencia, la pendiente de la curva será más pronunciada, indicando una mayor uniformidad.

La tasa instantánea de germinación se puede calcular con la derivada parcial de la ecuación 2.19, resultando en:

$$r = \frac{\partial y}{\partial x} = \frac{\alpha y_{max} C_{50}^\alpha x^{\alpha-1}}{(C_{50}^\alpha + x^\alpha)^2} \quad (2.21)$$

La función  $r$  corresponde a la tasa diaria de germinación. El tiempo requerido para alcanzar la tasa máxima de germinación (definida por El-Kassaby *et al.* (2008) por sus siglas en inglés como TMGR) se obtiene al maximizar la pendiente de la función de la tasa instantánea contra el tiempo. El TMGR corresponde con el punto de inflexión de la curva de germinación acumulada, es el tiempo a partir al cual la tasa diaria de germinación comienza a decrecer.

$$TMGR = \sqrt[\alpha]{\frac{C_{50}^\alpha (\alpha - 1)}{\alpha + 1}} \quad (2.22)$$

Mientras el TMGR sea más pequeño, el tiempo necesario para que 50% de las semillas germinen ( $C_{50}$ ) será menor, lo cual supone un mayor vigor en el lote de semillas.

Por otra parte, el efecto de distintos tratamientos pregerminativos como el acondicionamiento, puede compararse utilizando el método propuesto por Richter y Switzer (1982). Este método consiste en cuantificar el incremento de la respuesta germinativa al aplicar un tratamiento pregerminativo, mediante la diferencia entre el área bajo la curva de germinación antes y después de aplicar el tratamiento. Esta diferencia es denotada como índice de latencia (DI por su siglas en inglés), y se calcula como:

$$DI = \int_{t_0}^{t_n} (y_1 - y_2) dt \quad (2.23)$$

$DI$  es el índice de latencia, si  $DI \leq 0$  implica que el tratamiento no mejora la respuesta germinativa.  $t_0$  y  $t_n$  son los tiempos (días) del inicio y término de las pruebas de germinación.  $y_1$  y  $y_2$  es el modelo ajustado para el tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente. El área sombreada en la figura 2.6 representa el  $DI$ .

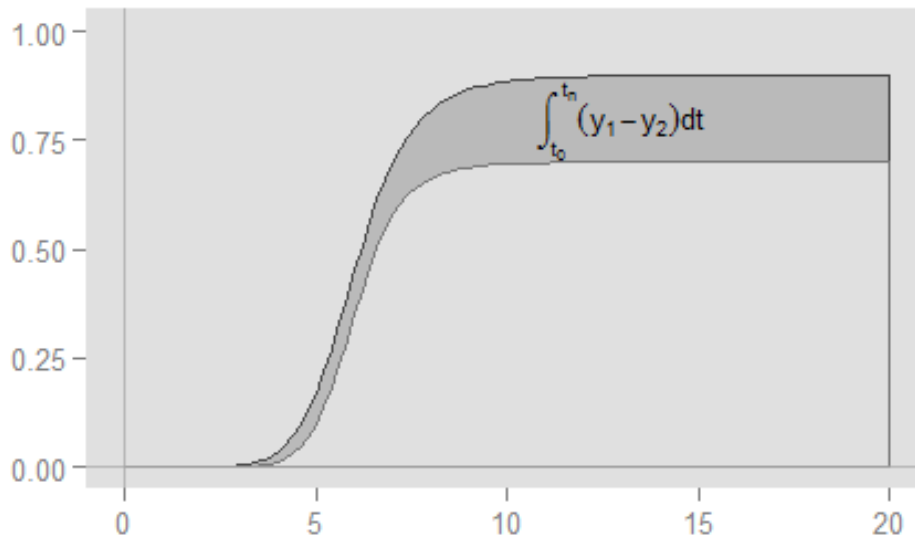


Figura 2.6: Índice de latencia evaluado en  $t_0$  a  $t_n$  para dos tratamientos  $y_1$  ( $\alpha = 8, C_{50} = 6, y_{max} = 0.9$ ) y  $y_2$  ( $\alpha = 10, C_{50} = 12, y_{max} = 0.7$ ).

# Capítulo 3

## Datos de germinación

Los datos de germinación fueron obtenidos con base en el trabajo de investigación de Belmont (2014), donde se muestra la respuesta germinativa de semillas de *Castilleja tenuiflora* tratadas con acondicionamiento natural e hídrico. *Castilleja tenuiflora* (Orobanchaceae) es una especie herbácea, perenne y secundaria común en un matorral perturbado, heterogéneo y con amplias fluctuaciones estacionales, ubicado en el Parque Ecológico de la Ciudad de México (PECM), en el Ajusco medio (fig. 3.1a). Es una planta hemiparásita facultativa, que puede encontrarse floreciendo todo el año, aunque la producción de frutos y semillas se concentra en otoño (Holmgren, 1976; Martínez-Orea *et al.*, 2012; Rzedowski y Rzedowski, 2005). Los frutos de *C. tenuiflora* fueron colectados de octubre hasta diciembre de 2012, y las semillas fueron separadas y almacenadas en tubos Eppendorf a 25°C hasta la fecha de siembra en enero del 2013. Se trabajó únicamente con aquellas semillas que midieran más de 1.8 mm de longitud por 0.8 mm de ancho (incluyendo a la testa reticulada) (fig 3.1b), las semillas que no cumplieron ese criterio fueron excluidas del estudio, ya que éstas podrían contener embriones dañados con bajo potencial de crecimiento y poca o nula capacidad germinativa Belmont (2014).



(a) *Castilleja tenuiflora* Benth.

(b) Semilla de *C. tenuiflora*

Figura 3.1: *Castilleja tenuiflora* Benth. una herbácea hemiparásita común en el PECM

Para conocer el efecto del acondicionamiento hídrico, las semillas se hidrataron durante 24 h y se deshidrataron durante una semana en papel absorbente; después fueron rehidratadas y se sembraron en cajas Petri con sustrato de agar al 2% pH 5.7, en campana de flujo laminar. Las cajas Petri se colocaron en cámaras de germinación (Lab-Line instruments, Inc., 841-1, Melrose Park, Ill; focos luz blanca Osram Universal, 20 watts, Brasil) a 25°C; fotoperiodo 12/12, y se registró la germinación durante 30 días.

Para evaluar el efecto del acondicionamiento natural, las semillas se colocaron en el campo (ver figura 3.4) utilizando canastas de tela y cajas de alambre para protegerlas como se muestra en las figuras 3.2 y 3.3. Las semillas que no germinaron en campo fueron recuperadas bimestralmente durante un año para identificar el efecto del acondicionamiento natural en la germinación (Belmont, 2014).

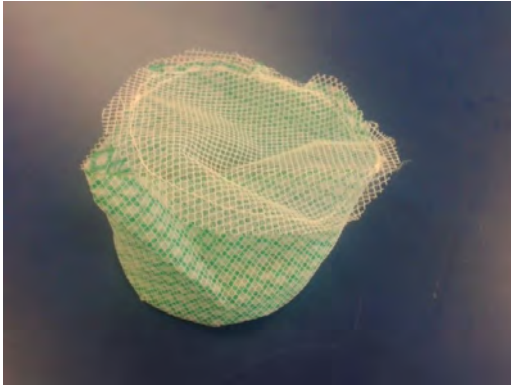


Figura 3.2: Canasta de tela tul



Figura 3.3: Cajas de alambre de acero

El primer diseño experimental, consistió en evaluar el efecto del tratamiento de acondicionamiento hídrico y del primer bimestre de acondicionamiento natural sobre la germinación de las semillas de *C. tenuiflora*. La unidad experimental fue la caja de Petri, cada una con 20 semillas. El diseño experimental del efecto de los tratamientos de acondicionamiento y grupo control sobre la germinación fue:

2 tratamientos de acondicionamiento + control x 15 réplicas (cajas con 20 semillas).

Después se comparó el efecto del acondicionamiento natural entre los distintos periodos de enterramiento (bimestres) con un diseño unifactorial con 5 niveles correspondientes a los 5 periodos de enterramiento.

Dado que el acondicionamiento hídrico y el acondicionamiento natural promueven la activación del metabolismo de la germinación, se espera obtener una mayor respuesta germinativa en menor tiempo de semillas de *C. tenuiflora* expuestas al acondicionamiento con respecto a semillas que no experimentaron este proceso.



Figura 3.4: matorral perturbado del PECM

# Capítulo 4

## Ajuste por mínimos cuadrados y máxima verosimilitud

Para realizar la estimación por máxima verosimilitud del modelo de Hill, se asume que los errores son independientes, idénticamente distribuidos tal que  $\epsilon \sim N(0, \sigma^2)$ .

De esta forma, la función de verosimilitud resulta como  $Y = g_\theta(X) + \epsilon$ .

Donde  $\theta = (y_0, y_{max}, C_{50}, \alpha)$  y  $\epsilon \sim N(0, \sigma^2)$ .

Entonces

$$f(\underline{x}|y_0, y_{max}, C_{50}, \alpha, \sigma^2) = \prod_{i=1}^n (2\pi\sigma^2)^{-\frac{n}{2}} \exp\left(-\frac{\sum_{i=1}^n \left(y_i - y_0 - \frac{y_{max}x_i^\alpha}{C_{50}^\alpha + x_i^\alpha}\right)^2}{2\sigma^2}\right)$$

Bajo este modelo, el estimador máximo verosímil coincide con el estimador de mínimos cuadrados para  $\hat{\theta}$ , ya que se busca minimizar la distancia  $y_i - g_\theta(X)$ . Es decir:

$$f(\theta) = \sum_{i=1}^n (y_i - g_\theta(x_i))^2$$

Los parámetros del modelo de Hill fueron estimados para cada curva de germinación con la función `nls` implementada en R. Se calculó el promedio de cada parámetro así como su intervalo de confianza al 95% por *bootstrap* no paramétrico y se compararon los estimadores por cada tratamiento utilizando una anova. Adicionalmente se estimó el tiempo medio de germinación (TMGR), el tiempo necesario para alcanzar el 10% de germinación (t10) (fig. 4.1), y el índice de latencia ( $DI_t$ ) acotado a los 5,10,15 y 30 t días (Cuadro 4.1).

El parámetro  $y_0$  que corresponde a la respuesta basal no fue incluido ya que se asume que en el tiempo 0, la respuesta germinativa no se ha presentado y por lo tanto todas las curvas tienen un intercepto  $y_0 = 0$ .

Para probar la hipótesis  $H_0 : y_0 = 0$  vs  $H_1 : y_0 \neq 0$  se realizó la prueba de F donde el estadístico F es calculado de acuerdo a Ritz y Streibig (2008) como:

$$F = \frac{(SSR_A(\hat{y}_{0A}) - SSR_B(\hat{y}_{0B})) / (gl_A - gl_B)}{SSR_A / gl_A}$$

Donde

- $SSR_A(\hat{y}_{0A}) = \sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i, \hat{y}_0))^2$  tal que  $f(x) = \left( \hat{y}_0 + \frac{y_{max} x_i^\alpha}{C_{50}^\alpha + x_i^\alpha} \right)^2$ , representa el modelo A bajo  $H_1$  cierta
- $SSR_B(\hat{y}_{0B}) = \sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i, y_0))^2$  tal que  $f(x) = \left( \frac{y_{max} x_i^\alpha}{C_{50}^\alpha + x_i^\alpha} \right)^2$  para  $y_0 = 0$ , representa el modelo B (submodelo de A) bajo  $H_0$  cierta
- $gl_A$  grados de libertad del modelo A
- $gl_B$  grados de libertad del modelo B

En el apéndice B, se muestran los valores de  $AIC$  de las diferentes curvas ajustadas para el modelo A y B, y sus respectivos valores del estadístico  $F$  y su  $p - value$ . Las pruebas de F realizadas en conjunto con los valores de  $\Delta AIC$  apoyan a la hipótesis  $H_0 : y_0 = 0$ . Cabe señalar que las estimaciones de los parámetros fueron más consistentes al variar los valores iniciales cuando no se incluía al parámetro  $y_0$  (incluso se tenían problemas de convergencia al incluir a  $y_0$  por lo que en el apéndice B se muestran únicamente los valores de  $AIC$  de 14 curvas ajustadas en lugar de las 15 que se tienen para el tratamiento de acondicionamiento hídrico) .

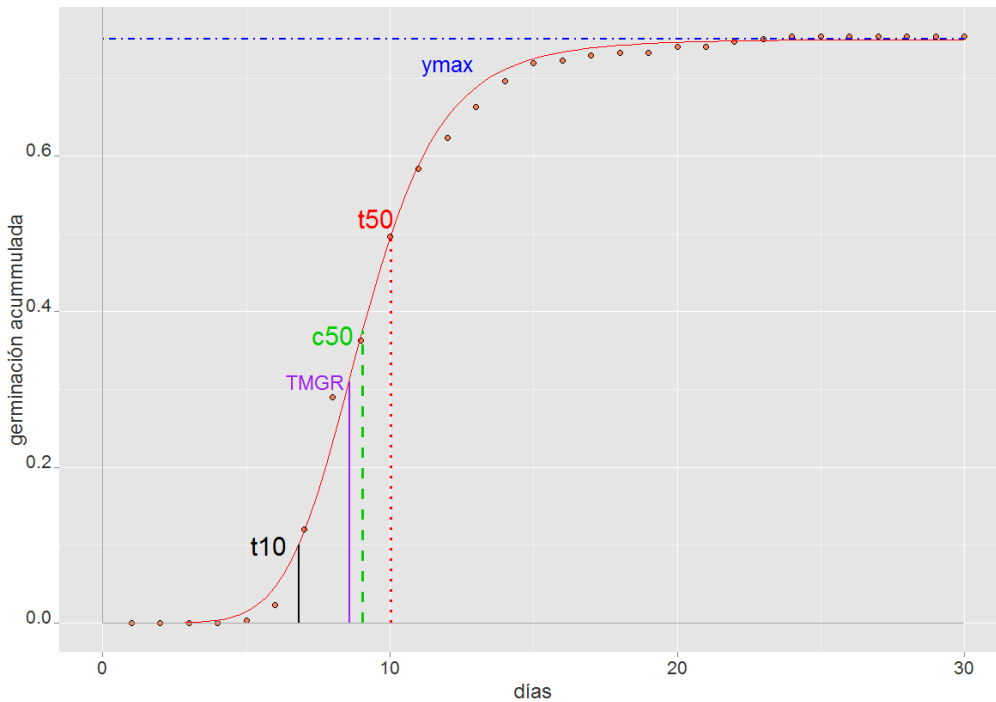


Figura 4.1: Parámetros del modelo de Hill ajustados a la curva promedio de germinación del tratamiento control

Cuadro 4.1: promedio de los parámetros del modelo de Hill y sus intervalos de confianza al 95 % por bootstrap no paramétrico para cada tratamiento (C = control; HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural)

	$y_{max}$	$\alpha$	$C_{50}$	TMGR	t10	tratamiento
lím. inf	0.67	6.03	8.67	8.24	6.46	C
<b>promedio</b>	<b>0.75</b>	<b>6.65</b>	<b>9.04</b>	<b>8.59</b>	<b>6.79</b>	C
lím. sup	0.82	7.27	9.43	8.95	7.17	C
lím. inf	0.65	4.57	7.26	6.66	5.01	HP
<b>promedio</b>	<b>0.72</b>	<b>5.27</b>	<b>7.81</b>	<b>7.13</b>	<b>5.43</b>	HP
lím. sup	0.78	6.07	8.41	7.62	5.84	HP
lím. inf	0.67	4.40	7.79	7.07	5.21	NP
<b>promedio</b>	<b>0.72</b>	<b>5.11</b>	<b>8.18</b>	<b>7.44</b>	<b>5.61</b>	NP
lím. sup	0.78	6.07	8.41	7.62	5.84	NP

En el cuadro 4.1 se puede observar que el parámetro  $y_{max}$ , que corresponde a la capacidad germinativa, es muy parecido entre los tratamientos y sus intervalos de confianza al 95 % se traslapan, indicando que no hay diferencias en la proporción de germinación final entre tratamientos. Por otra parte, el parámetro  $\alpha$  es mayor para el grupo control, recordando que mientras más grande sea el valor de este parámetro, más rápido se alcanza la asíntota en  $y_{max}$ . El parámetro  $C_{50}$  también es mayor para el grupo control y corresponde al tiempo necesario para que el 50 % de las semillas germinen. Sin embargo, es más útil comparar los tratamientos con el TMGR, ya que incorpora tanto al parámetro  $\alpha$  como a  $C_{50}$ . El TMGR es mayor para el grupo control con respecto al tratamiento de acondicionamiento hídrico (HP) y natural (NP), lo cual quiere decir que el tiempo medio de germinación es menor con los tratamientos de acondicionamiento, esto se ve reflejado en un menor tiempo para alcanzar el 10 % de la germinación (t10) con el acondicionamiento.

El valor de  $R^2$  mostrado en el cuadro 4.2 sugiere que una cantidad importante de variabilidad de los datos es explicada por el modelo (no puede ser tomado explícitamente como medida de referencia de bondad de ajuste ya que la igualdad  $SCT = SCE + SCR$  no se cumple en modelos no lineales), gráficamente también se puede ver un buen ajuste del modelo (fig.4.2).

Cuadro 4.2: promedio de *quasi*  $R^2$  de las curvas de germinación por tratamiento e intervalo *bootstrap* no paramétrico al 95 %

	<i>quasi</i> $R^2$	límite inferior	límite superior
control	0.9922	0.9893	0.9945
HP	0.9887	0.9851	0.9915
NP	0.9870	0.9836	0.9901

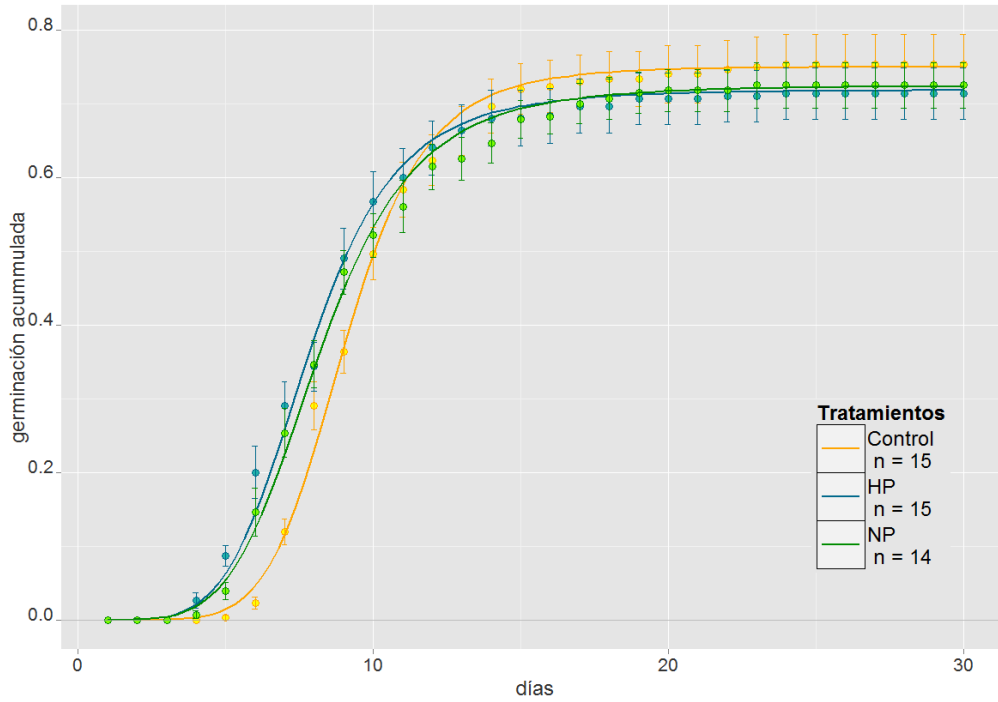


Figura 4.2: Ajuste del modelo de Hill a la curva promedio de germinación por tratamiento con errores estándar (HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural)

## 4.1. Análisis de parámetros <sup>1</sup>

El tiempo medio de germinación (TMGR), el tiempo para alcanzar el 10 % de la germinación ( $t_{10}$ ), el  $C_{50}$ ,  $y_{max}$ , y el parámetro  $\alpha$  se compararon con una anova de una vía contrastando la hipótesis del siguiente modelo de efectos fijos para cada parámetro por separado:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde

- $y_{ij}$  = variable respuesta ( $TMGR$ ,  $t_{10}$ ,  $C_{50}$ ,  $y_{max}$  ó  $\alpha$ )
- $\mu$  = media general
- $\tau_i$  = efecto del tratamiento de acondicionamiento  $i \in \{1, 2, 3\}$
- $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .
- $H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = 0$  vs  $H_1 : \tau_i \neq 0$  para algún  $i \in \{1, 2, 3\}$

En caso de rechazar la hipótesis nula  $H_0$  se realizó una prueba de Tukey para encontrar diferencias entre pares de medias por grupo.

<sup>1</sup>El código en **R** para ésta sección se encuentra en el apéndice B



#### 4.1.0.1. Análisis para el TMGR

Con una significancia del 5 % se rechaza la hipótesis nula de que el promedio del tiempo medio de germinación es el mismo en todos los tratamientos ( $F = 12.815$ ,  $p < 0.05$ ) (cuadro 4.3).

Cuadro 4.3: tabla anova para el tiempo medio de germinación (TMGR)

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
priming	2	17.65	8.83	12.82	4.751e-05
Residuals	41	28.24	0.69		

A partir de la prueba post-hoc de Tukey (cuadro 4.4), se encuentran diferencias significativas entre los pares de medias de los tratamientos de acondicionamiento con respecto al tratamiento control. No hay diferencias significativas de los TMGR entre el acondicionamiento hídrico y el acondicionamiento natural. Por lo tanto, el tiempo medio de germinación disminuye con ambos tratamientos de acondicionamiento (fig.4.3).

Cuadro 4.4: prueba de Tukey de comparaciones múltiples para el TMGR

	diff	lwr	upr	p adj
HP-C	-1.46000	-2.19684	-0.72315	0.00006
NP-C	-1.14753	-1.89742	-0.39765	0.00169
NP-HP	0.31247	-0.43742	1.06235	0.57285

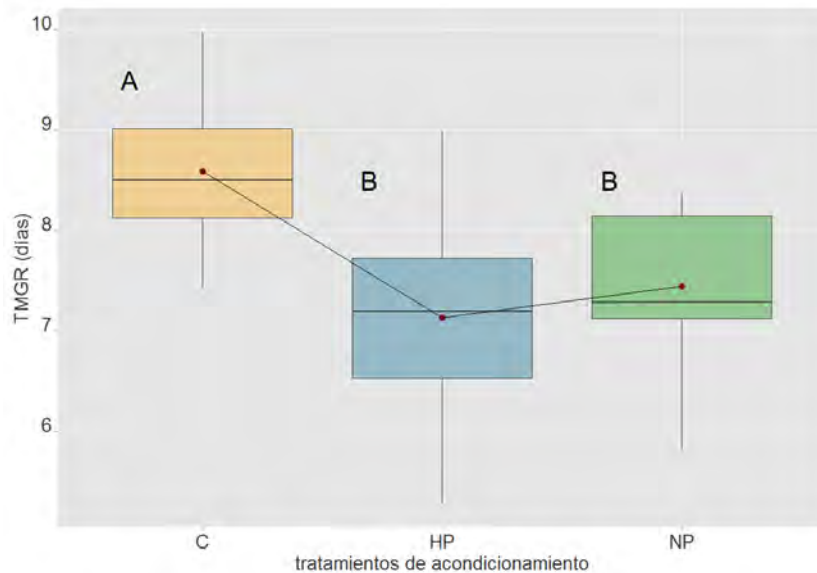


Figura 4.3: Box-plot de los TMGR por tratamiento de acondicionamiento (C = control, HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural); los puntos señalan los promedios de la variable respuesta por tratamiento, letras distintas denotan diferencias significativas

Se puede observar en la figura 4.4 que el supuesto de normalidad se cumple, ya que los residuos se distribuyen de acuerdo a una normal centrada en cero. Tampoco se observan problemas de heteroscedasticidad en el modelo, lo cual es confirmado por la prueba de Bartlett que con una significancia del 5 % no provee de evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homogeneidad de varianzas ( $K^2 = 1.909$ ,  $p = 0.385$ ).

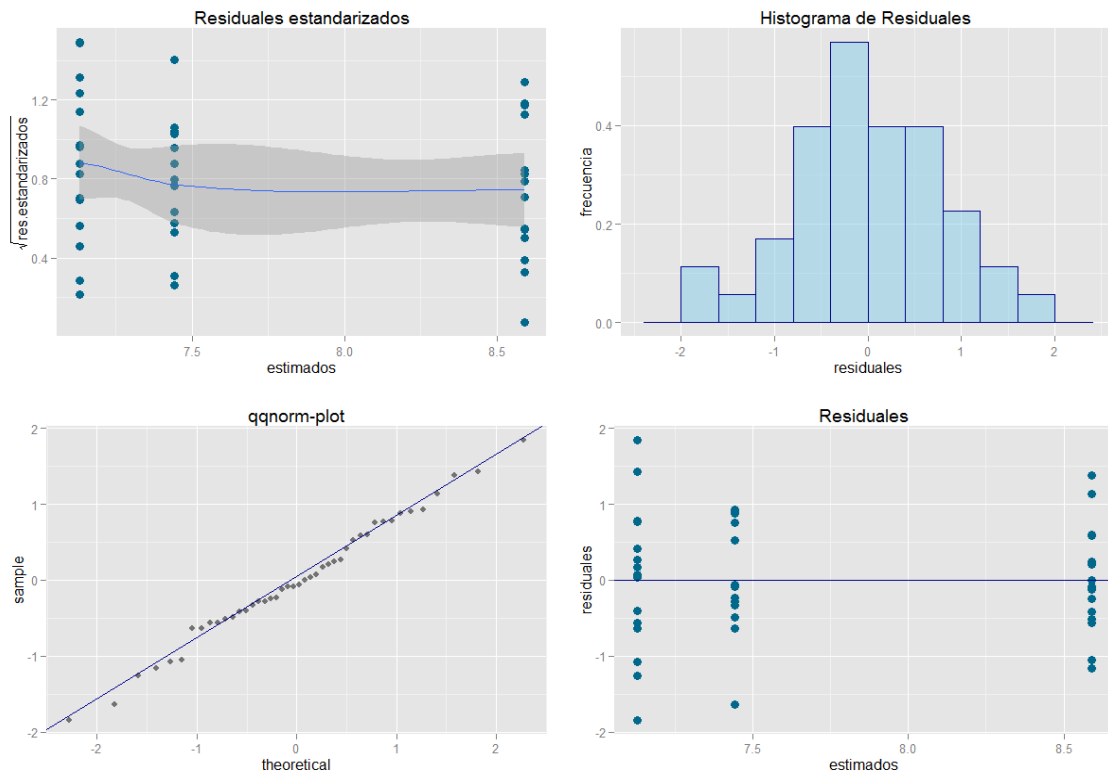


Figura 4.4: Gráficos diagnósticos del modelo para el TMGR

#### 4.1.0.2. Análisis para el t10

Con una significancia del 5% se rechaza la hipótesis nula de que el tiempo necesario para alcanzar el 10% de germinación es el mismo en todos los tratamientos ( $F = 12.888$ ,  $p < 0.05$ ) (cuadro 4.5).

Cuadro 4.5: tabla anova para el t10

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
priming	2	16.28	8.14	12.89	0.0000
Residuals	41	25.90	0.63		

A partir de la prueba post-hoc de Tukey (cuadro 4.6), se encuentran diferencias significativas entre los pares de medias de los tratamientos de acondicionamiento con respecto al tratamiento control. No hay diferencias significativas de los t10 entre el acondicionamiento hídrico y el acondicionamiento natural. Por lo tanto, el tiempo para alcanzar el 10% de la germinación es menor con ambos tratamientos de acondicionamiento (fig.4.5)

Cuadro 4.6: prueba de Tukey de comparaciones múltiples para el t10

	diff	lwr	upr	p adj
HP-C	-1.36320	-2.06889	-0.65750	0.00009
NP-C	-1.17722	-1.89541	-0.45903	0.00077
NP-HP	0.18598	-0.53221	0.90416	0.80472

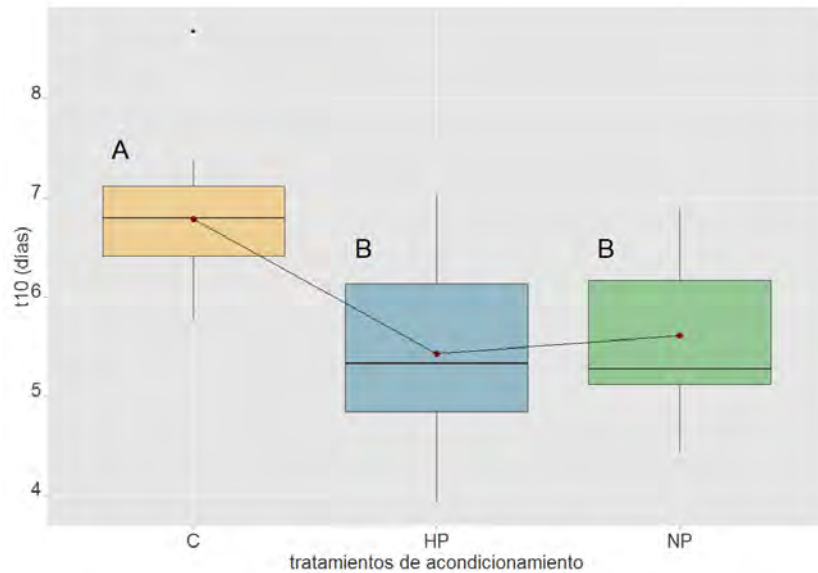


Figura 4.5: Diagrama de caja y bigote del t10 por tratamiento de acondicionamiento (C = control, HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural); los puntos señalan los promedios de la variable respuesta por tratamiento, letras distintas denotan diferencias significativas

No hay violaciones a la normalidad del modelo, lo cual se puede observar en el *qqplot* y en el histograma de los residuos (fig. 4.6). Tampoco hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homogeneidad de varianzas ( $K^2 = 0.358, p = 0.836$ ).

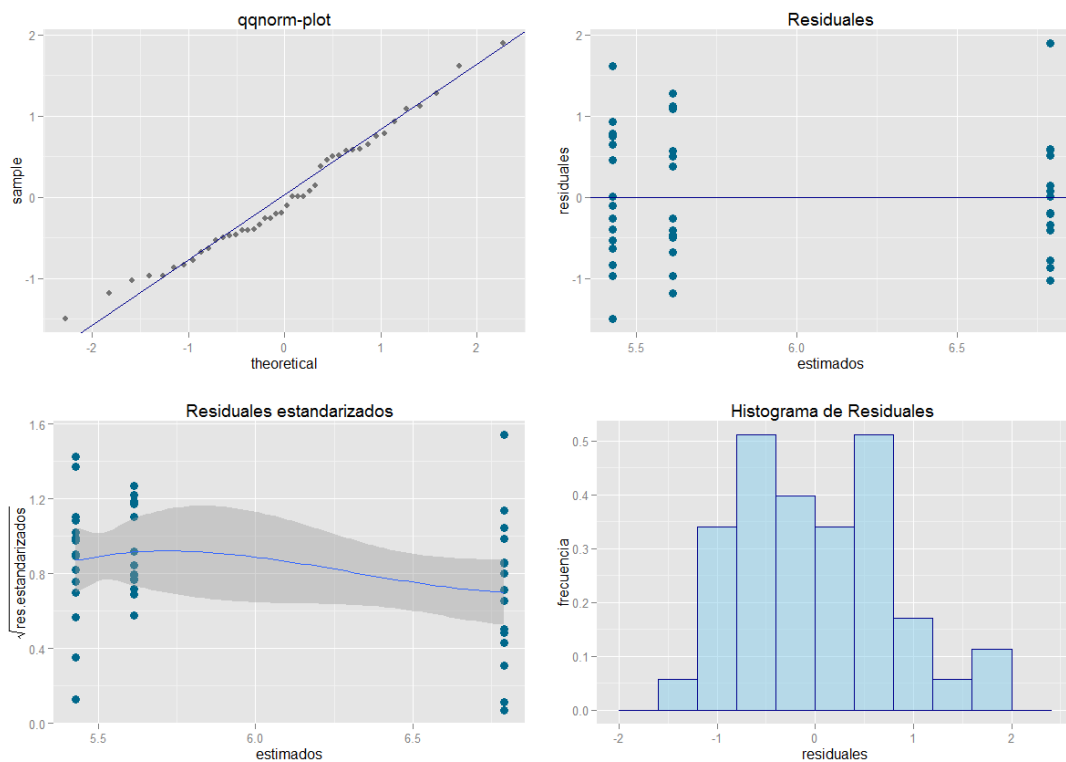


Figura 4.6: Gráficos diagnósticos del modelo para el t10

4.1.0.3. Análisis para el  $C_{50}$ 

Con una significancia del 5% se rechaza la hipótesis nula de que el tiempo que tardan en germinar 50% de las semillas es el mismo en todos los tratamientos ( $F = 7.0075$ ,  $p < 0.05$ ) (cuadro 4.7).

Cuadro 4.7: tabla anova para el  $C_{50}$ 

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
priming	2	12.00	6.00	7.01	0.0024
Residuals	41	35.09	0.86		

A partir de la prueba post-hoc de Tukey (cuadro 4.8), se encuentran diferencias significativas entre los pares de medias de los tratamientos de acondicionamiento con respecto al tratamiento control con una significancia del 5%. No hay diferencias significativas de los  $C_{50}$  entre el acondicionamiento hídrico y el acondicionamiento natural. Por lo tanto, el tiempo que tardan en germinar 50% de las semillas de *C. tenuiflora* es menor con ambos tratamientos de acondicionamiento (fig.4.7)

Cuadro 4.8: prueba de Tukey de comparaciones múltiples para el  $C_{50}$ 

	diff	lwr	upr	p adj
HP-C	-1.23497	-2.05643	-0.41352	0.00205
NP-C	-0.85901	-1.69500	-0.02301	0.04288
NP-HP	0.37597	-0.46003	1.21196	0.52344

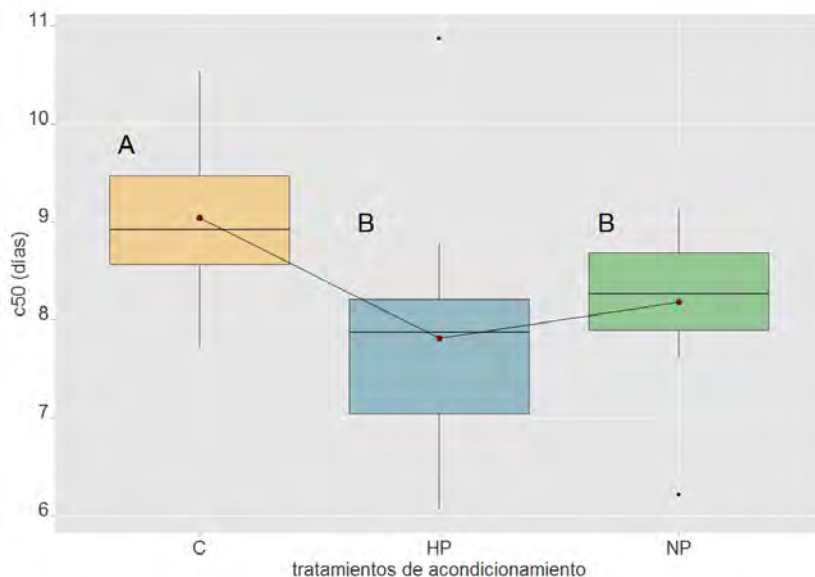


Figura 4.7: Box-plot del  $C_{50}$  por tratamiento de acondicionamiento (C = control, HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural); los puntos señalan los promedios de la variable respuesta por tratamiento, letras distintas denotan diferencias significativas con una significancia del 5%

Los residuos del modelo se distribuyen aproximadamente normal con media centrada en cero. No hay problemas grandes de falta normalidad salvo por un valor extremo del tratamiento de acondicionamiento hídrico (fig.4.7) que provoca una discrepancia entre los cuantiles teóricos y los observados en el *qqplot* (fig. 4.8); sin embargo, la prueba de normalidad *Anderson-Darling*

utilizada sobre esta variable no provee de evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de normalidad ( $A = 0.455, p = 0.2301$ ). No se realizaron pruebas de bondad de ajuste sobre los residuales del modelo debido a que  $cov(e_i, e_j) \neq 0$ , así que se aplica directamente sobre los datos ya que cada observación  $x_i \perp x_j$  y por lo tanto brinda una medida de la normalidad en los mismos.

#### Anderson-Darling normality test

data: estHP\$c50

A = 0.4554, p-value = 0.2301

Tampoco hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homogeneidad de varianzas ( $K^2 = 3.954, p = 0.138$ ).

#### Bartlett test of homogeneity of variances

data: Mod.c50\$res and priming

Bartlett's K-squared = 3.9538, df = 2, p-value = 0.1385

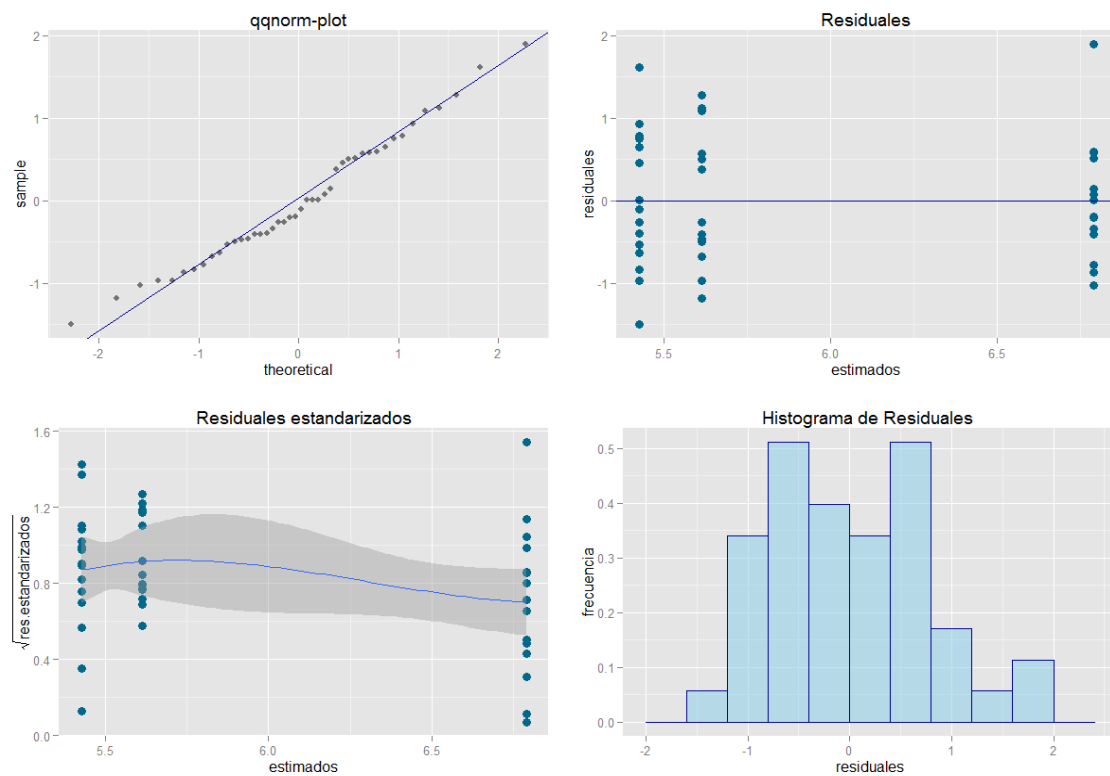


Figura 4.8: Gráficos diagnósticos del modelo para el  $C_{50}$

4.1.0.4. Análisis para el  $y_{max}$ 

Con una significancia del 5% no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula de que el coeficiente asociado al parámetro  $y_{max}$  es igual a cero ( $F = 0.2316$ ,  $p = 0.7943$ ). Por lo tanto, la capacidad germinativa de las semillas de *C. tenuiflora* no difiere significativamente entre tratamientos (cuadro 4.9, fig.4.9).

Cuadro 4.9: tabla anova para  $y_{max}$ 

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
priming	2	0.01	0.00	0.23	0.7943
Residuals	41	0.74	0.02		

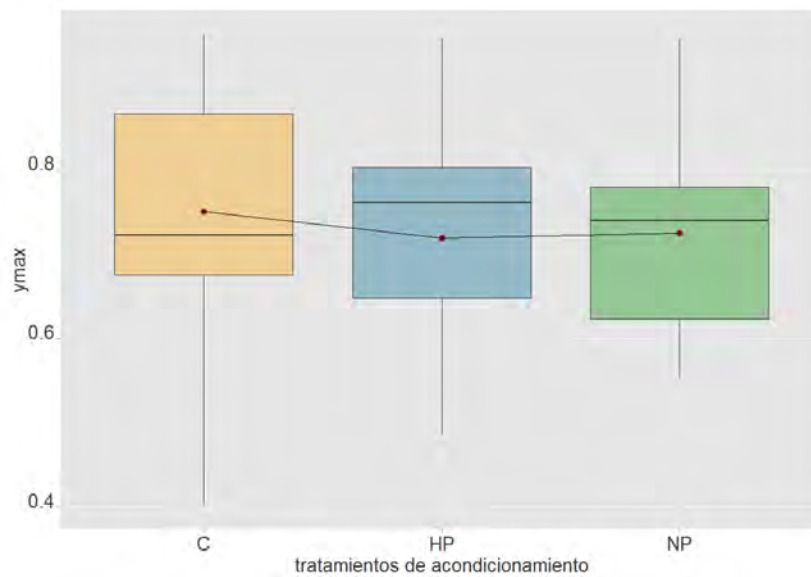


Figura 4.9: Box-plot de la capacidad germinativa  $y_{max}$  por tratamiento de acondicionamiento (C = control, HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural); los puntos señalan los promedios de la variable respuesta por tratamiento.

Se puede observar en la figura 4.10 que el supuesto de normalidad se cumple, ya que los residuos se distribuyen de acuerdo a una normal centrada en cero. Tampoco se observan problemas de heteroscedasticidad en el modelo, lo cual es confirmado por la prueba de Bartlett que con una significancia del 5% no provee de evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homogeneidad de varianzas ( $K^2 = 1.365$ ,  $p = 0.505$ ).

Bartlett test of homogeneity of variances

data: Mod.ymax\$res and priming

Bartlett's K-squared = 1.3649, df = 2, p-value = 0.5054

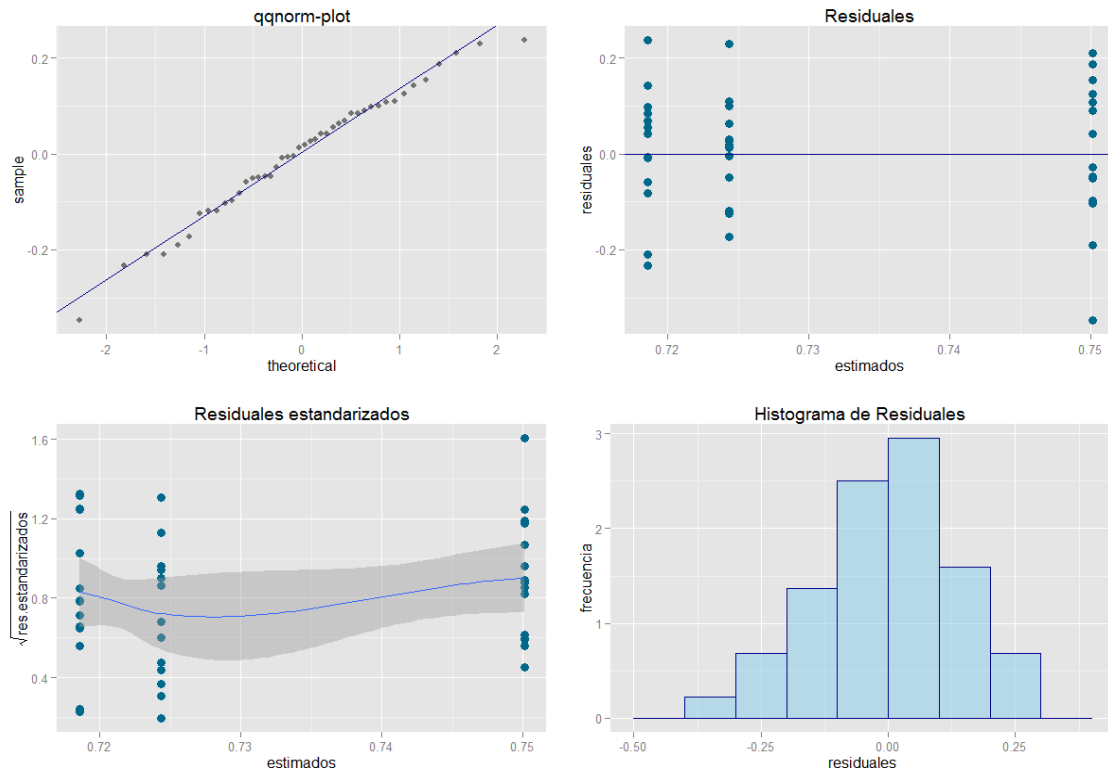


Figura 4.10: Gráficos diagnósticos del modelo para el  $y_{max}$

#### 4.1.0.5. Análisis para el parámetro $\alpha$

Con una significancia del 5% se rechaza la hipótesis nula de que el promedio  $\bar{\alpha}$  es el mismo en todos los tratamientos ( $F = 5.0297$ ,  $p < 0.05$ ) (cuadro 4.10).

Cuadro 4.10: tabla anova para el parámetro  $\alpha$

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
priming	2	21.28	10.64	5.03	0.0111
Residuals	41	86.75	2.12		

A partir de la prueba de Tukey (cuadro 4.11), se encuentran diferencias significativas entre los pares de medias de los tratamientos de acondicionamiento con respecto al tratamiento control con una significancia del 5%. No hay diferencias significativas de los parámetros  $\alpha$  entre el acondicionamiento hídrico y el acondicionamiento natural ( $p = 0.9508$ ). Por lo tanto, el parámetro  $\alpha$  asociado a la pendiente del modelo, es mayor en el grupo control con respecto a los tratamientos de acondicionamiento (fig.4.11)

Cuadro 4.11: prueba de Tukey de comparaciones múltiples para el parámetro  $\alpha$

	diff	lwr	upr	p adj
HP-C	-1.38	-2.67	-0.09	0.03
NP-C	-1.55	-2.86	-0.23	0.02
NP-HP	-0.16	-1.48	1.15	0.95

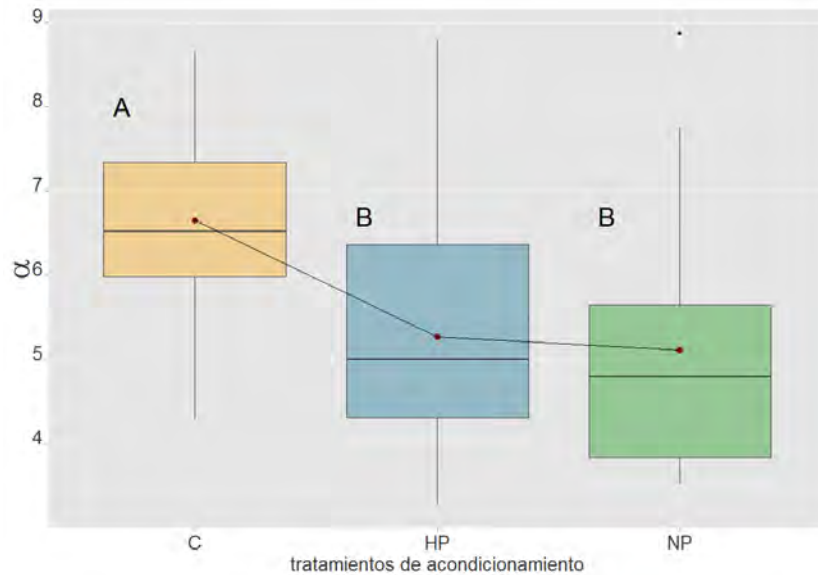


Figura 4.11: Box-plot del parámetro  $\alpha$  por tratamiento de acondicionamiento (C = control, HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural); los puntos señalan los promedios de la variable respuesta por tratamiento, letras distintas denotan diferencias significativas con una significancia del 5 %

A pesar de que los residuos del modelo se alejan de la normalidad, no hay violaciones la supuesto de homoscedasticidad en el modelo ( $K^2 = 0.674, p = 0.714$ ). (fig. 4.12).

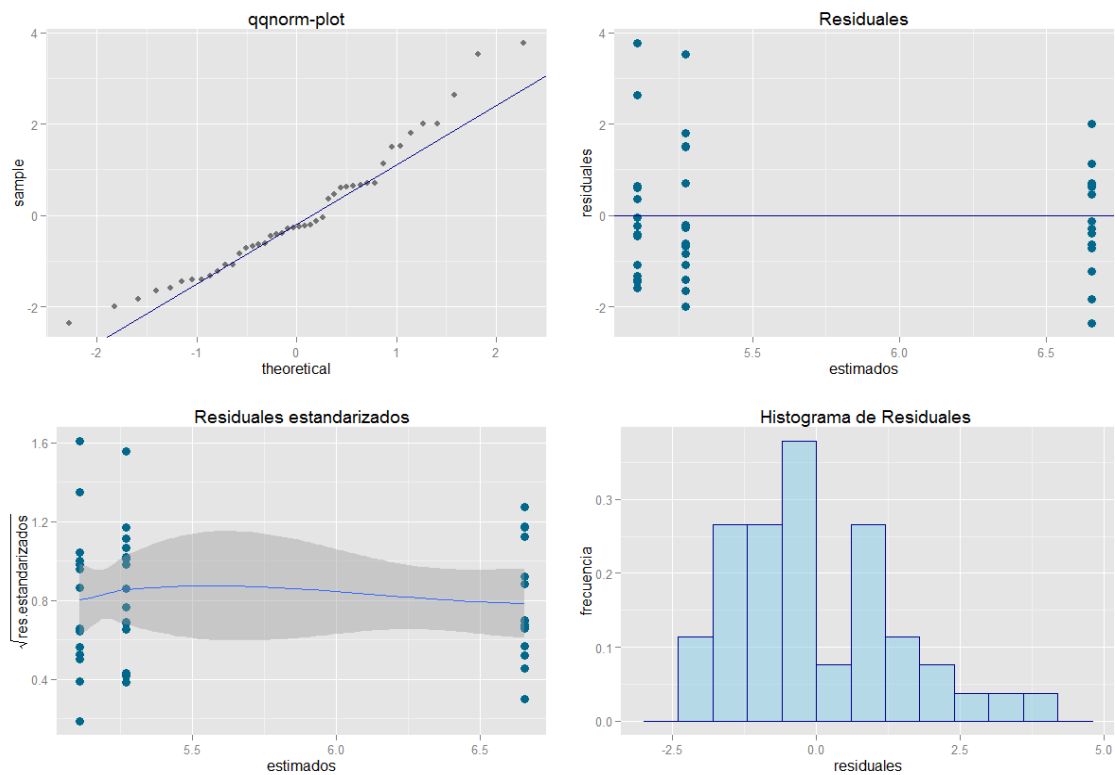


Figura 4.12: Gráficos diagnósticos del modelo para el parámetro  $\alpha$



#### 4.1.0.6. Análisis del DI

Se puede observar que el promedio del índice de latencia entre el grupo control y el del acondicionamiento hídrico evaluado a los 30 días ( $DI_{30} = \int_0^{30} (y_C - y_{HP}) dt$ ) resulta ser:  $D\bar{I}_{30} < 0$  (cuadro 4.12); indicando que en promedio, se acumula más área bajo la curva con el tratamiento de acondicionamiento hídrico (fig. 4.13). Por otra parte, el  $D\bar{I}_{30}$  para las comparaciones entre el grupo control vs. acondicionamiento natural, y el acondicionamiento hídrico vs. acondicionamiento natural, es positivo (cuadro 4.12). Por lo tanto el área bajo la curva acumulada en el grupo control y en el acondicionamiento hídrico, es mayor que la del acondicionamiento natural (fig. 4.13). Los intervalos *bootstrap* no paramétricos del promedio de  $DI'_{30}$ s contienen al cero (cuadro 4.13), por lo tanto no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de que el área acumulada bajo las curvas promedio de germinación es diferente entre los tratamientos de acondicionamiento y el grupo control.

Cuadro 4.12: promedio de los índices de latencia DI a los 5,10,15 y 30 días por cada tratamiento (C = control; HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural)

	5 días	10 días	15 días	30 días
C-HP	-0.07	-0.65	-0.63	-0.10
C-NP	-0.06	-0.47	-0.40	0.06
HP-NP	0.01	0.18	0.24	0.17

El promedio de los índices de latencia entre el grupo control y el del acondicionamiento hídrico ( $DI_{15} = -0.63$ ) y natural ( $DI_{15} = -0.40$ ) evaluados a los 15 días indican que el área acumulada bajo la curva de germinación promedio es mayor con los tratamientos de acondicionamiento (cuadro 4.12, fig. 4.14). Como los intervalos de confianza al 95 % no contiene al cero (cuadro 4.13), entonces estas diferencias son significativas, y la respuesta germinativa de las semillas de *C. tenuiflora* se acelera con ambos tratamientos de acondicionamiento. Lo mismo sucede en el  $DI_{10}$  (fig. 4.15) y  $DI_5$  (fig. 4.16), aunque en este último sucede con menor magnitud, ya que sus intervalos, aunque no contienen al cero, son muy cercanos a éste (cuadro 4.13).

Por otra parte, el  $DI_{15}$ ,  $DI_{10}$  y  $DI_5$  entre el tratamiento de acondicionamiento hídrico y natural (cuadro 4.12), sugiere que el acondicionamiento hídrico acumula más área bajo la curva que con respecto al acondicionamiento natural (fig. 4.14, 4.15, 4.16), esto se comprueba con el intervalo de confianza al 95 % (cuadro 4.13).

Cuadro 4.13: intervalo de confianza al 95 % con bootstrap de las DI entre los tratamientos

	5 días	10 días	15 días	30 días
C-HP	[-0.08 , -0.06]	[-0.74 , -0.56]	[-0.83 , -0.44]	[-0.66 , 0.45]
C-NP	[-0.06, -0.05]	[-0.55 , -0.39]	[-0.57 , -0.22]	[-0.45 , 0.57]
HP-NP	[0.00 , 0.02]	[0.07 , 0.28]	[0.03 , 0.44]	[-0.36 , 0.69]

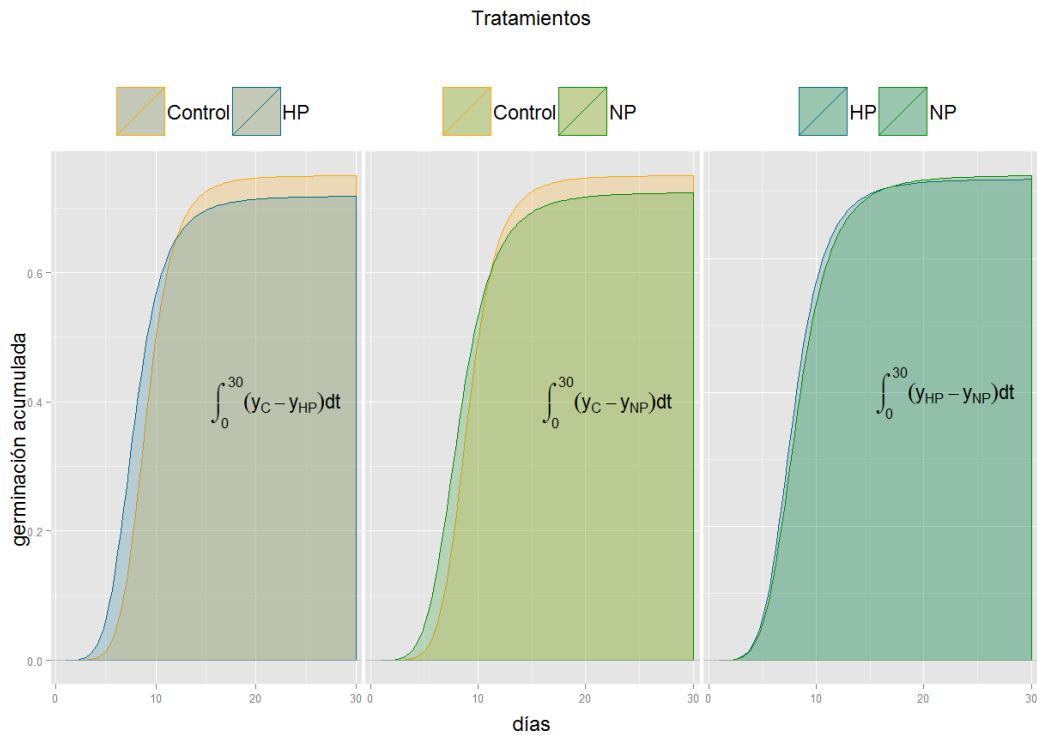


Figura 4.13: Diferencias del área bajo la curva promedio de germinación de los tratamientos de acondicionamiento evaluada hasta los 30 días (HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural.)

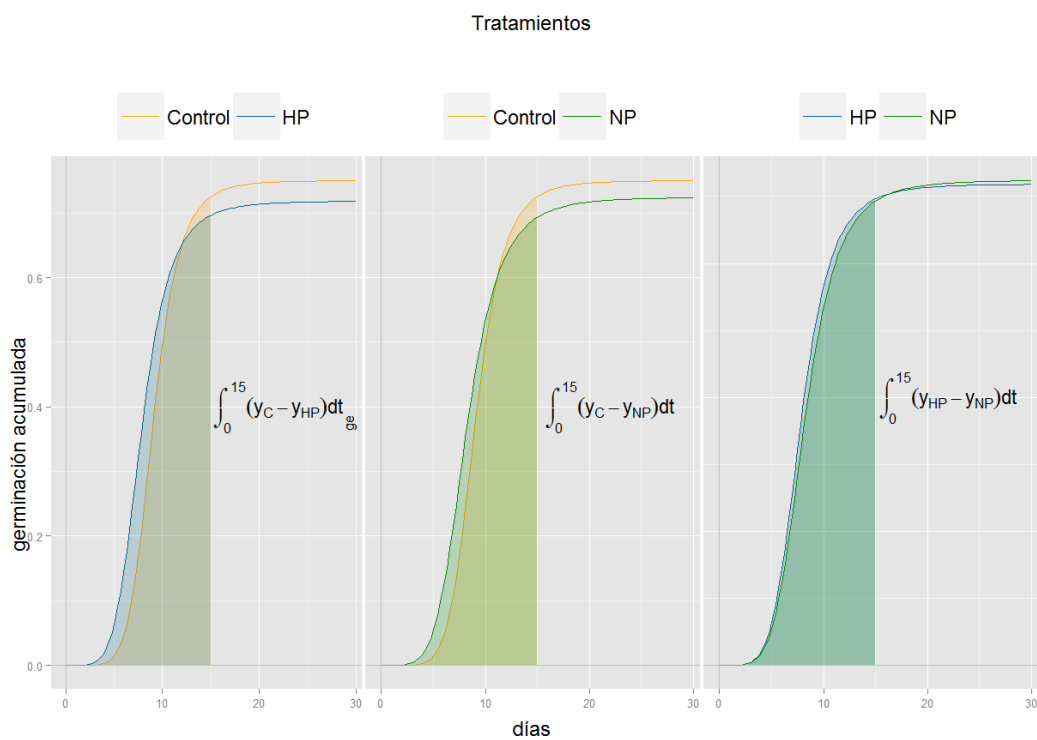


Figura 4.14: Diferencias del área bajo la curva promedio de germinación de los tratamientos de acondicionamiento evaluada hasta los 15 días (HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural).

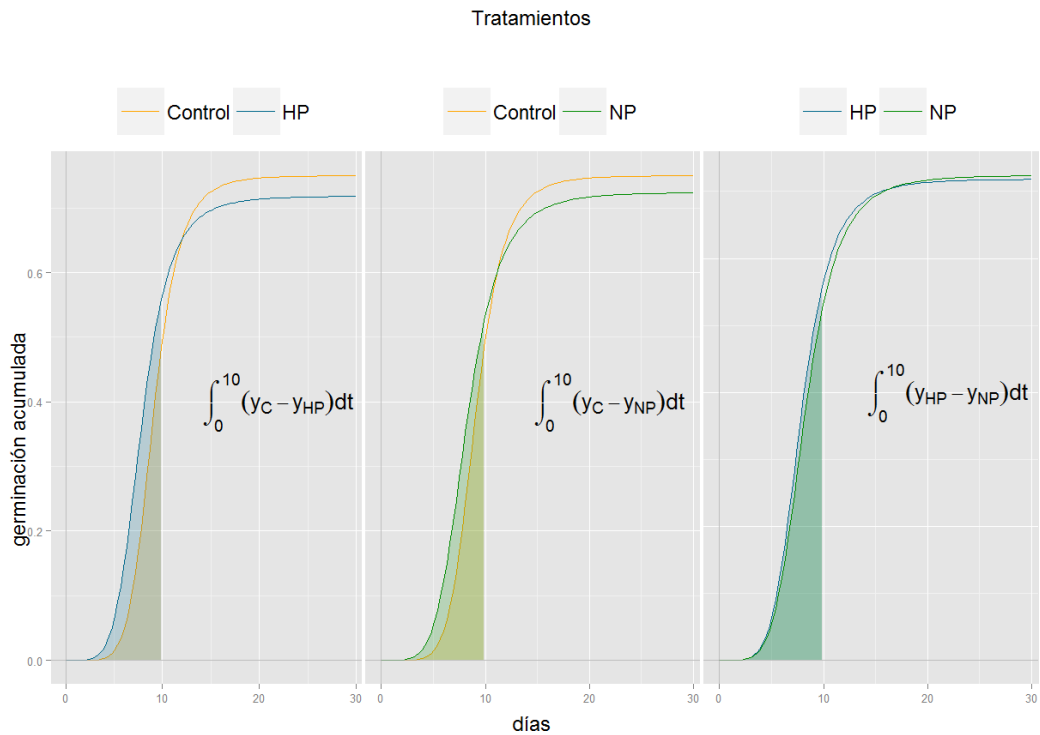


Figura 4.15: Diferencias del área bajo la curva promedio de germinación de los tratamientos de acondicionamiento evaluada hasta los 10 días (HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural).

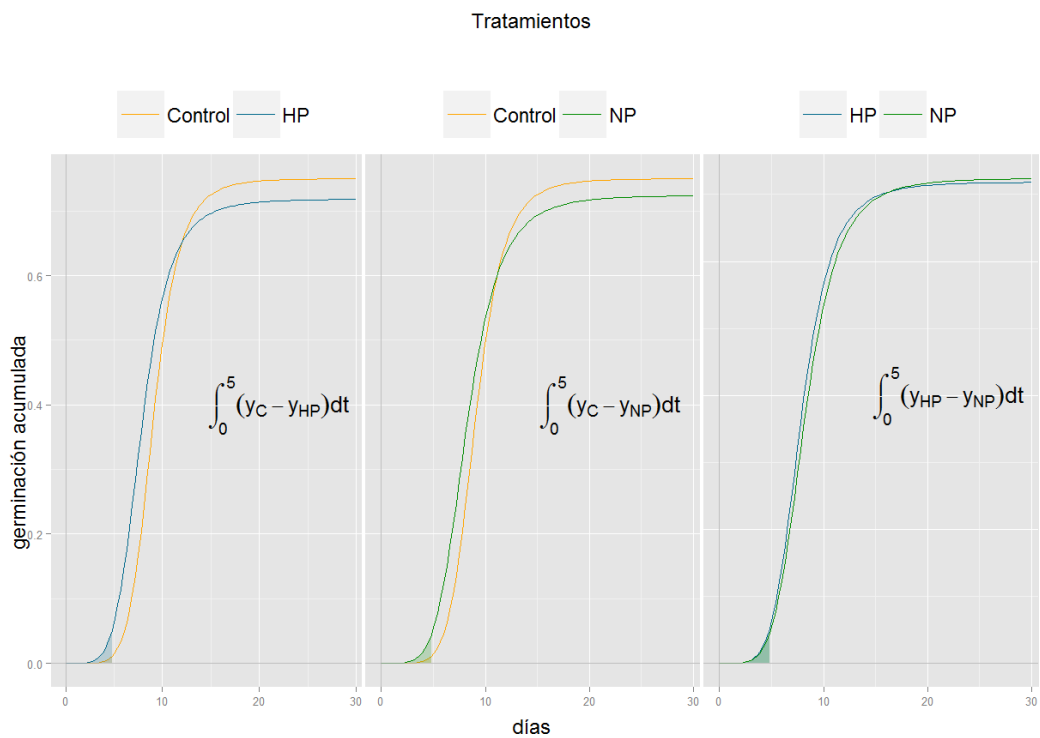


Figura 4.16: Diferencias del área bajo la curva promedio de germinación de los tratamientos de acondicionamiento evaluada hasta los 5 días (HP = acondicionamiento hídrico; NP = acondicionamiento natural).

## 4.2. Acondicionamiento natural <sup>1</sup>

En el cuadro 4.14 se puede observar que la capacidad germinativa de las semillas de *C. tenuiflora* disminuye conforme se incrementa el periodo de enterramiento (parámetro  $y_{max}$ ). También se observa que los parámetros asociados al tiempo medio de germinación, el tiempo para que 50% de las semillas germinen y el tiempo para alcanzar el 10% de la germinación aumentan con el periodo de enterramiento. Con base en la gráfica 4.17 y en los valores de  $\bar{R}^2$  (cuadro 4.15), se puede ver que el modelo ajusta bien a los datos.

Cuadro 4.14: promedio de los parámetros del modelo de Hill y sus intervalos de confianza al 95% por cada tratamiento bimestre de enterramiento.

	$y_{max}$	$\alpha$	$C_{50}$	$TMGR$	$t_{10}$	periodo de enterramiento
<b>promedio</b>	<b>0.72</b>	<b>5.11</b>	<b>8.18</b>	<b>7.44</b>	<b>5.61</b>	<b>Ene-Mar</b>
lím inf	0.67	4.39	7.80	7.06	5.20	Ene-Mar
lím sup	0.78	5.96	8.51	7.80	6.03	Ene-Mar
<b>promedio</b>	<b>0.66</b>	<b>4.47</b>	<b>9.06</b>	<b>7.99</b>	<b>6.01</b>	<b>Mar-May</b>
lím inf	0.61	3.85	8.51	7.60	5.75	Mar-May
lím sup	0.71	5.20	9.64	8.40	6.29	Mar-May
<b>promedio</b>	<b>0.37</b>	<b>4.92</b>	<b>9.05</b>	<b>8.19</b>	<b>7.64</b>	<b>May-Jul</b>
lím inf	0.29	4.25	8.29	7.65	6.60	May-Jul
lím sup	0.46	5.76	9.92	8.82	8.84	May-Jul
<b>promedio</b>	<b>0.36</b>	<b>3.75</b>	<b>14.03</b>	<b>11.50</b>	<b>11.53</b>	<b>Jul-Sep</b>
lím inf	0.26	2.76	12.26	9.36	9.40	Jul-Sep
lím sup	0.44	4.65	16.08	13.81	13.53	Jul-Sep
<b>promedio</b>	<b>0.55</b>	<b>7.74</b>	<b>12.72</b>	<b>12.23</b>	<b>10.41</b>	<b>Sep-Nov</b>
lím inf	0.46	6.51	12.00	11.56	9.66	Sep-Nov
lím sup	0.63	9.20	13.30	12.71	10.96	Sep-Nov

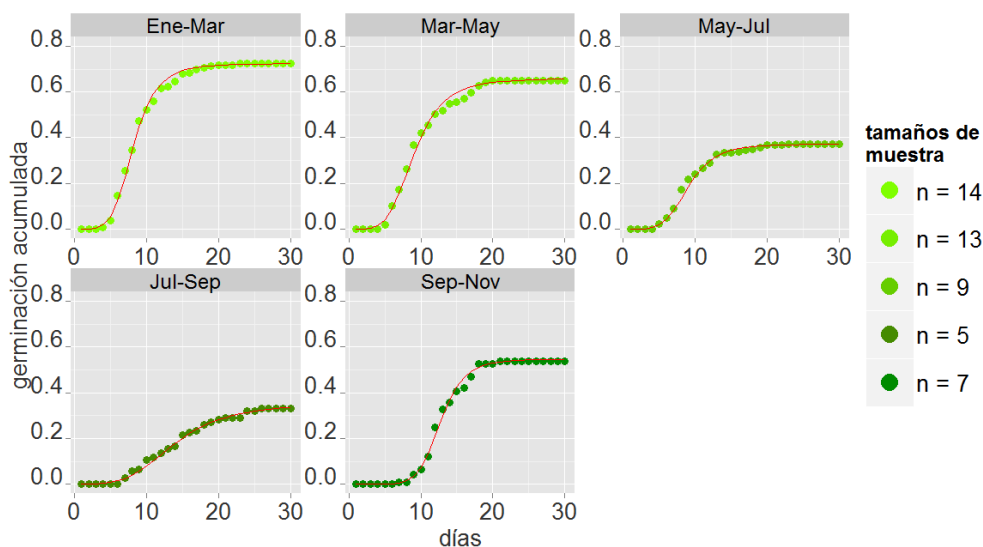


Figura 4.17: Ajuste del modelo de Hill a la curva promedio de germinación para cada periodo de enterramiento

<sup>1</sup>El código en **R** para ésta sección se encuentra en el apéndice C

Cuadro 4.15: promedio de *quasi R*<sup>2</sup> de las curvas de germinación del acondicionamiento natural por tratamiento e intervalo *bootstrap* no paramétrico al 95 %

	<i>R</i> <sup>2</sup>	límite inferior	límite superior
Ene-Mar	0.9870	0.9836	0.9902
Mar-May	0.9870	0.9844	0.9895
May-Jul	0.9755	0.9693	0.9826
Jul-Sep	0.9578	0.9221	0.9813
Sep-Nov	0.9859	0.9744	0.9930

### 4.3. Análisis de los parámetros del acondicionamiento natural

El tiempo medio de germinación (TMGR), el tiempo para alcanzar el 10 % de la germinación (*t*<sub>10</sub>), el *C*<sub>50</sub>, *y*<sub>max</sub>, y el parámetro  $\alpha$  se compararon con el siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Donde

- $y_{ij}$  = variable respuesta (*TMGR*, *t*<sub>10</sub>, *C*<sub>50</sub>, *y*<sub>max</sub> ó  $\alpha$ )
- $\mu$  = media general
- $\tau_i$  = efecto del enterramiento  $i \in \{1, 2, 3, 4, 5\}$
- $\epsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .

En los casos en los que no se cumpliera el supuesto de normalidad, se utilizó la prueba no paramétrica de *Fligner-Killeen* para probar la hipótesis de homoscedasticidad (W. J. Conover, 1981), después los parámetros fueron comparados con el estadístico no paramétrico de *Kruskal-Wallis*. En caso de rechazar la hipótesis nula del modelo  $H_0 : \tilde{x}_1 = \tilde{x}_2 = \dots = \tilde{x}_n$ , (donde  $\tilde{x}_i = \text{mediana}_i$ ) se utilizó la prueba de *Dunn* para encontrar diferencias entre grupos (Dunn, 1964).

#### 4.3.0.7. Análisis para el TMGR

Los residuos del modelo lineal ajustado para el tiempo medio de germinación entre los distintos bimestres de enterramiento difiere de una distribución normal (fig. 4.18), por lo tanto se utilizó la prueba *Fligner-Killeen* para probar la hipótesis de homoscedasticidad en el modelo (W. J. Conover, 1981). Con una significancia de 5 % no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homoscedasticidad ( $X^2 = 8.613, p = 0.0715$ ).

Fligner-Killeen test of homogeneity of variances

```
data: Mod.tmgr$res and bimestres
```

```
Fligner-Killeen:med chi-squared = 8.6133, df = 4, p-value = 0.07153
```

Con base en la prueba de *Kruskal -Wallis* se tiene que con una significancia del 5 % se rechaza la hipótesis nula de que la mediana del tiempo medio de germinación es el mismo en todos los tiempo de enterramiento ( $X^2 = 27.0923, p < 0.05$ ).

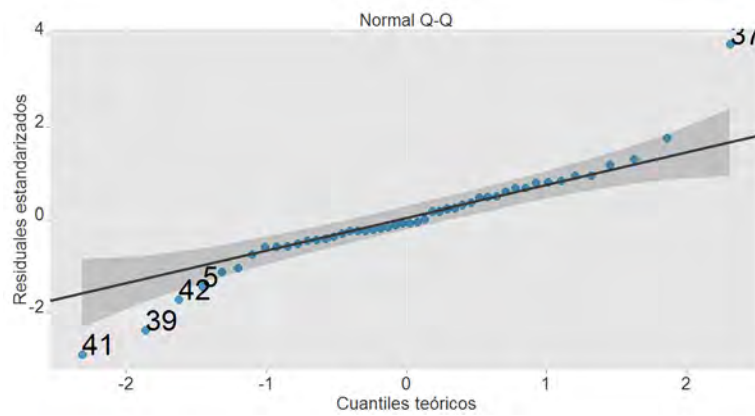


Figura 4.18: qqplot para el parámetro *TMGR*

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Y.tmgr by bimestres

Kruskal-Wallis chi-squared = 27.0923, df = 4, p-value = 1.904e-05

A partir de la prueba de comparaciones múltiples de *Dunn* (?), se observa que el tiempo medio de germinación es significativamente mayor después de 4 bimestres de enterramiento con una significancia del 5% (periodo septiembre - noviembre cuadro 4.16). No hay diferencias en las medianas del *TMGR* durante los primero 3 bimestres de enterramiento (fig.4.19).

Cuadro 4.16: P- values de la prueba de *Dunn* de comparaciones múltiples para el parámetro *TMGR*

	Ene-Mar	Mar-May	May-Jul	Jul-Sep
Mar-May	0.5549			
May-Jul	0.5175	1.0000		
Jul-Sep	0.0039	0.0716	0.1676	
Sep-Nov	0.0001	0.0062	0.0301	1.0000

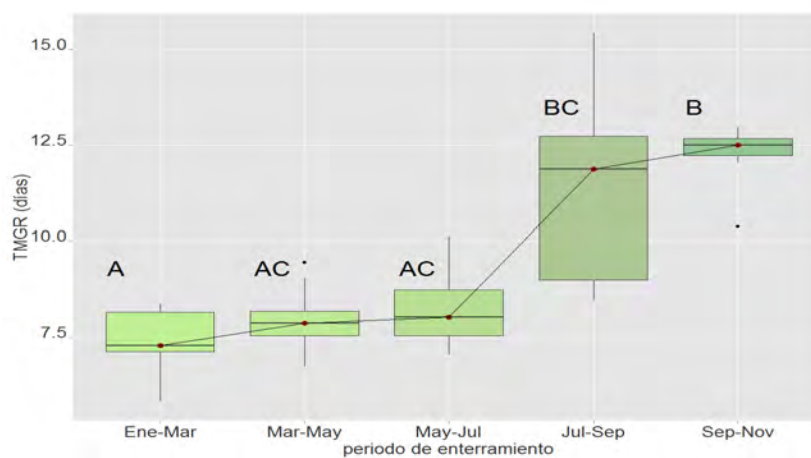


Figura 4.19: Box-plot del tiempo medio de germinación por periodo de enterramiento ; los puntos señalan la mediana de la variable respuesta por bimestre, letras distintas denotan diferencias significativas con una significancia del 5%

4.3.0.8. Análisis para el t10

Los residuales del modelo lineal ajustado para el t10 entre los distintos bimestres de enterramiento difiere de una distribución normal (fig. 4.20). La prueba de *Fligner-Killeen* no provee evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homoscedasticidad con una significancia del 5% ( $X^2 = 8.741, p = 0.0679$ ).

Fligner-Killeen test of homogeneity of variances

data: Mod.t10\$res and bimestres  
 Fligner-Killeen:med chi-squared = 8.7414, df = 4, p-value = 0.0679

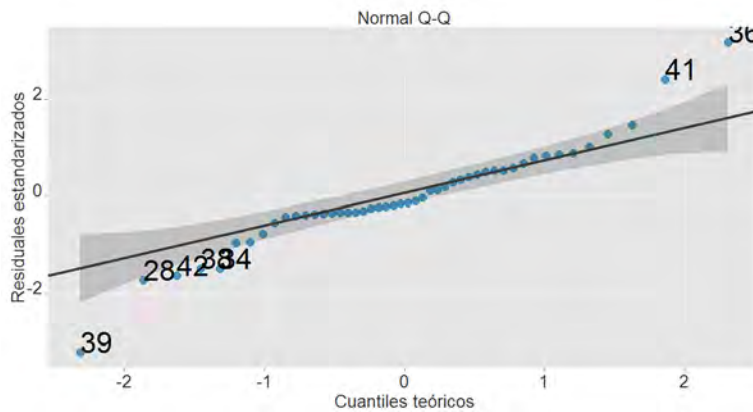


Figura 4.20: qqplot para el parámetro t10

Con una significancia del 5% se rechaza la hipótesis de que la medianas del tiempo necesario para alcanzar 10% de la germinación es igual entre grupos son iguales ( $X^2 = 31.189, p < 0.05$ ).

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Y.t10 by bimestres  
 Kruskal-Wallis chi-squared = 31.1897, df = 4, p-value = 2.8e-06

No hay diferencias significativas en el t10 entre los primeros dos bimestres de enterramiento (cuadro 4.17), ni entre el segundo (periodo mayo-mayo) y el tercero (mayo-julio)(fig. 4.21). El tiempo necesario para alcanzar el 10% de la germinación tampoco es diferente en los últimos 3 bimestres de germinación (periodo que va de mayo a noviembre). La respuesta germinativa más rápida se obtiene en el primer bimestre con respecto al resto de los periodos de enterramiento (4.21).

Cuadro 4.17: P- values de la prueba de Dunn de comparaciones múltiples para el parámetro t10

	Ene-Mar	Mar-May	May-Jul	Jul-Sep
Mar-May	0.6661			
May-Jul	0.0373	0.3319		
Jul-Sep	0.0004	0.0061	0.3467	
Sep-Nov	0.0002	0.0045	0.3467	0.8181

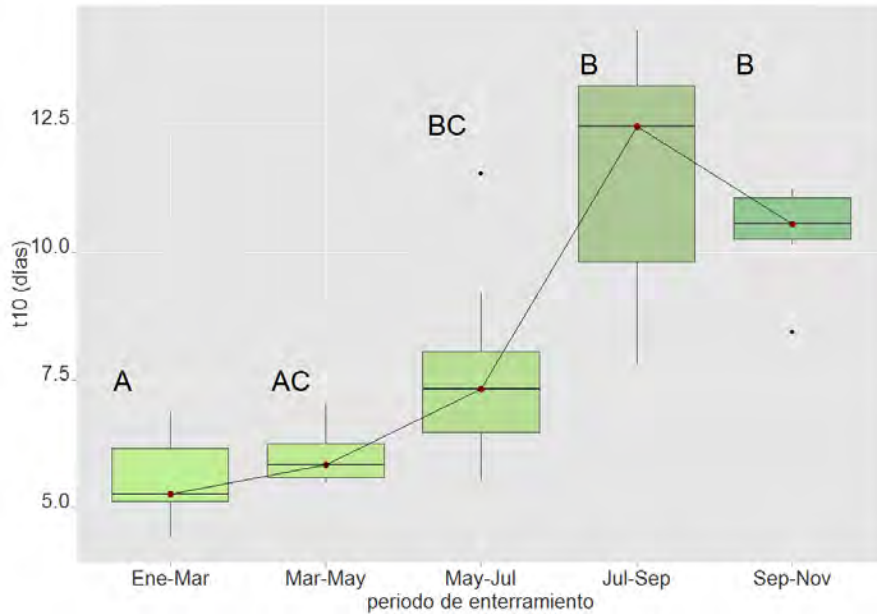


Figura 4.21: Diagrama de caja y bigote del  $t_{10}$  por periodo de enterramiento; los puntos señalan la mediana de la variable respuesta por bimestre, letras distintas denotan diferencias significativas con una significancia del 5 %

#### 4.3.0.9. Análisis para el $C_{50}$

En la figura 4.22 se puede observar cómo los residuos del modelo lineal no se distribuyen de acuerdo a una normal centrada en cero. Con una significancia del 5 %, no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homocedasticidad ( $X^2 = 5.859, p = 0.209$ ).

Fligner-Killeen test of homogeneity of variances

data: Mod.c50\$res and bimestres

Fligner-Killeen:med chi-squared = 5.8599, df = 4, p-value = 0.2099

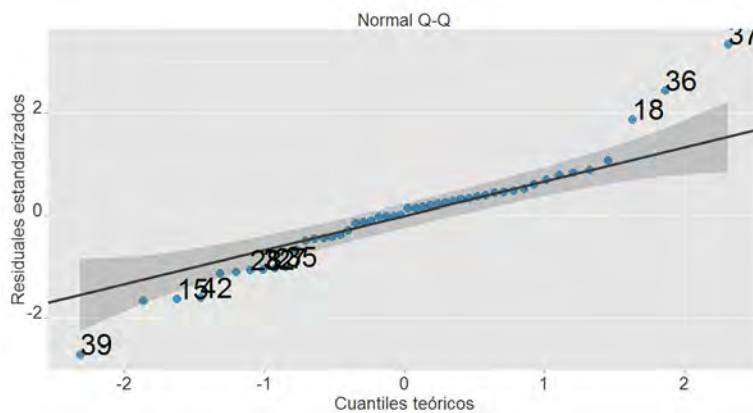


Figura 4.22: qqplot para el parámetro  $C_{50}$



Con una significancia del 5% se rechaza la hipótesis de que las medianas del parámetro  $C_{50}$  son las mismas entre los diferentes periodos de enterramiento ( $X^2 = 28.545, p < 0.05$ ).

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Y.c50 by bimestres

Kruskal-Wallis chi-squared = 28.5452, df = 4, p-value = 9.669e-06

A partir de la prueba de comparaciones múltiples (cuadro 4.18) se observa que el tiempo necesario para que 50% de las semillas germinen es significativamente menor en los primeros tres bimestres de enterramiento (periodo de enero a julio) con respecto a los últimos dos (julio - noviembre) (fig. 4.23).

Cuadro 4.18: prueba de Dunn de comparaciones múltiples para el parámetro  $C_{50}$

	Ene-Mar	Mar-May	May-Jul	Jul-Sep
Mar-May	0.3845			
May-Jul	0.7434	1.0000		
Jul-Sep	0.0004	0.0267	0.0264	
Sep-Nov	0.0002	0.0267	0.0264	1.0000

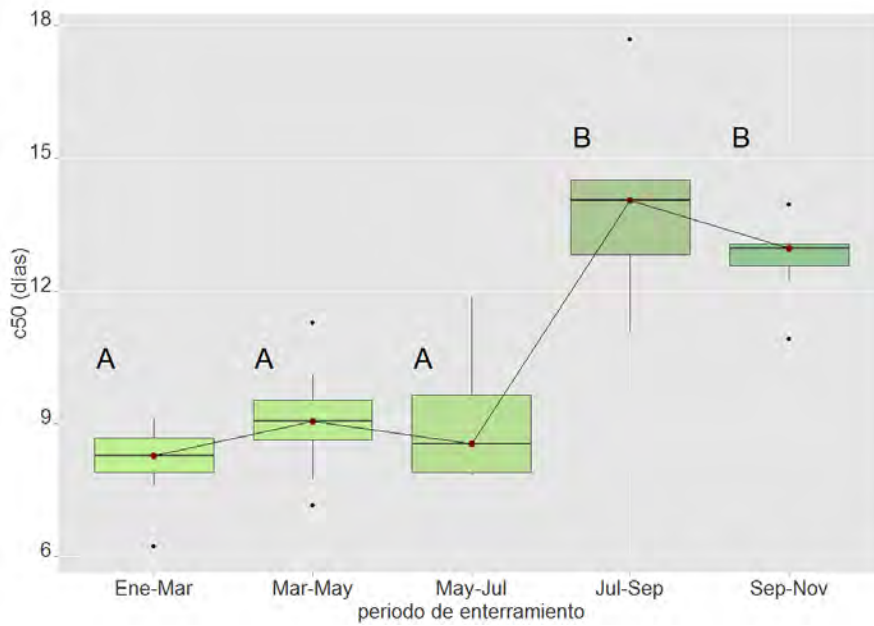


Figura 4.23: Box-plot del  $C_{50}$  por periodo de enterramiento; los puntos señalan la mediana de la variable respuesta por bimestre, letras distintas denotan diferencias significativas con una significancia del 5%

4.3.0.10. Análisis para el  $y_{max}$ 

Se puede observar en el gráfico cuantil-cuantil que los residuos del modelo lineal ajustado para la capacidad germinativa entre los distintos bimestres de enterramiento difieren de una distribución normal (fig. 4.24). La prueba de *Fligner-Killeen* no provee evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homoscedasticidad ( $K^2 = 1.906, p = 0.753$ ).

Fligner-Killeen test of homogeneity of variances

data: Mod.ymax\$res and bimestres

Fligner-Killeen:med chi-squared = 1.9056, df = 4, p-value = 0.7531

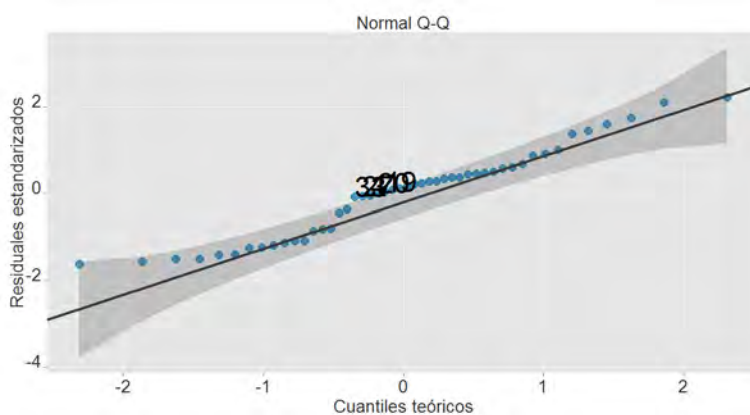


Figura 4.24: qqplot para el parámetro  $y_{max}$

Con una significancia del 5% se rechaza la hipótesis de que las medianas del parámetro  $y_{max}$  son las mismas entre los diferentes periodos de enterramiento ( $X^2 = 28.28.717, p < 0.05$ ).

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Y.ymax by bimestres

Kruskal-Wallis chi-squared = 28.7172, df = 4, p-value = 8.922e-06

La capacidad germinativa es significativamente mayor en los primeros dos bimestres (enero-marzo, marzo-mayo) con respecto al periodo de mayo - septiembre. En el último bimestre (periodo septiembre- noviembre) se observa un incremento del parámetro  $y_{max}$  (cuadro 4.19, fig. 4.25)

Cuadro 4.19: P- values de la prueba de Dunn de comparaciones múltiples para el parámetro  $y_{max}$

	Ene-Mar	Mar-May	May-Jul	Jul-Sep
Mar-May	0.6194			
May-Jul	0.0001	0.0063		
Jul-Sep	0.0014	0.0217	0.8577	
Sep-Nov	0.0865	0.6194	0.6194	0.6194

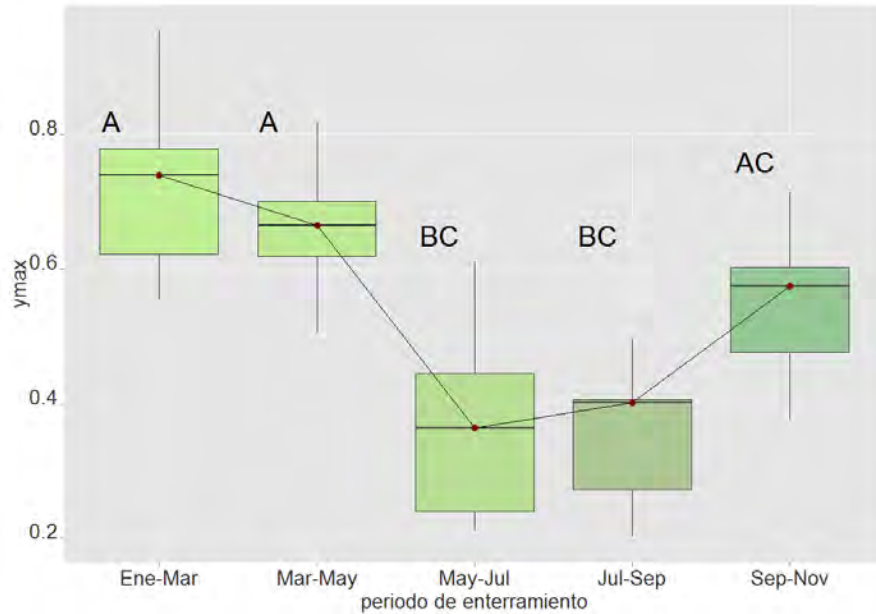


Figura 4.25: Box-plot del  $y_{max}$  por periodo de enterramiento; los puntos señalan la mediana de la variable respuesta por bimestre, letras distintas denotan diferencias significativas con una significancia del 5 %

#### 4.3.0.11. Análisis para el parámetro $\alpha$

En la figura 4.26 se puede observar cómo los residuos del modelo lineal no se distribuyen de acuerdo a una normal centrada en cero. Con una significancia del 5 %, no hay evidencia suficiente para rechazar la hipótesis de homoscedasticidad ( $X^2 = 0.984, p = 0.912$ ).

Fligner-Killeen test of homogeneity of variances

data: Mod.a\$res and bimestres

Fligner-Killeen:med chi-squared = 0.9842, df = 4, p-value = 0.9122

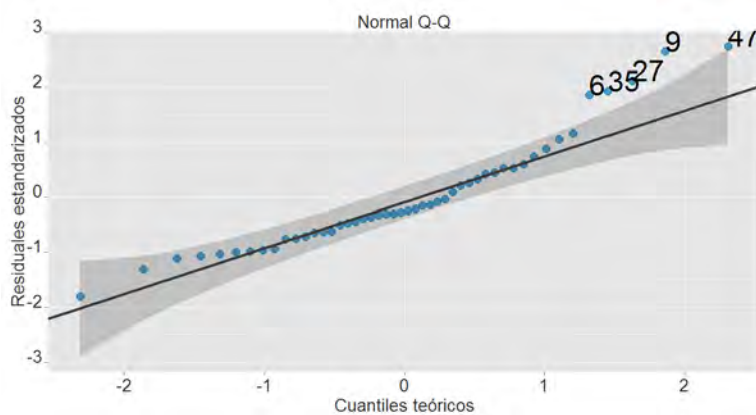


Figura 4.26: qqplot para el parámetro  $\alpha$

Con una significancia del 5% se rechaza la hipótesis de que las medianas del parámetro  $\alpha$  son iguales entre los periodos de enterramiento ( $X^2 = 15.055, p < 0.05$ ).

Kruskal-Wallis rank sum test

data: Y.a by bimestres

Kruskal-Wallis chi-squared = 15.055, df = 4, p-value = 0.004589

A partir de la prueba de *Dunn* se puede observar que el parámetro  $\alpha$  es significativamente mayor para el periodo septiembre- noviembre con respecto a los periodos marzo-mayo y julio-septiembre (cuadro 4.20, fig. 4.27).

Cuadro 4.20: P- values de la prueba de *Dunn* de comparaciones múltiples para el parámetro  $\alpha$

	Ene-Mar	Mar-May	May-Jul	Jul-Sep
2Mar-May	0.9769			
May-Jul	1.0000	1.0000		
Jul-Sep	0.7167	1.0000	0.9769	
Sep-Nov	0.1118	0.0063	0.1118	0.0079

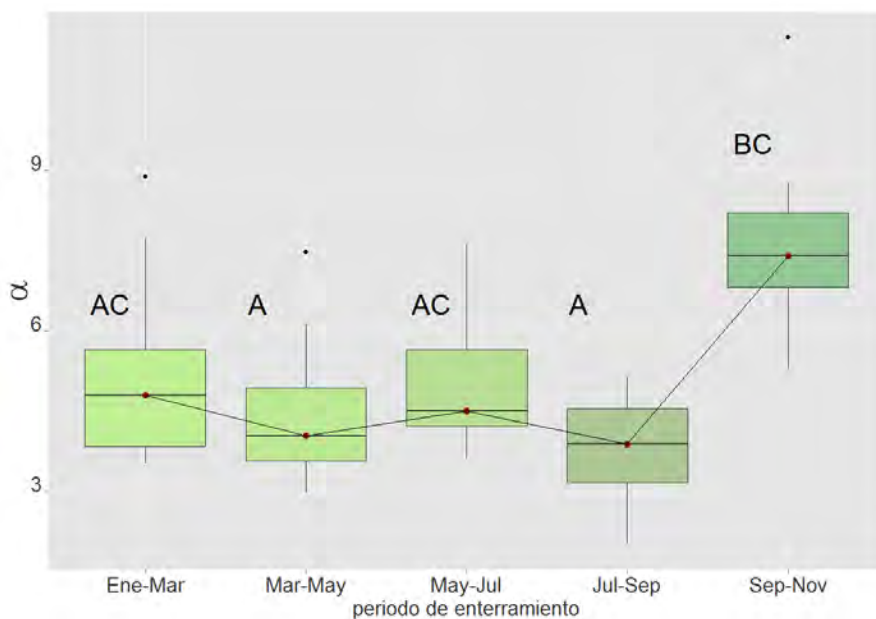


Figura 4.27: Box-plot del  $\alpha$  por periodo de enterramiento; los puntos señalan la mediana de la variable respuesta por bimestre, letras distintas denotan diferencias significativas con una significancia del 5%

# Capítulo 5

## Discusión y Conclusiones

El modelo de Hill (ec.2.1) es un modelo no lineal que tiene un buen ajuste a los datos de germinación de las semillas de *C. tenuiflora*. Gracias a que los parámetros del modelo tienen una interpretación directa sobre la respuesta germinativa, se pueden contrastar diferentes pruebas de hipótesis sobre los parámetros y se puede comparar el efecto de algún tratamiento sobre los mismos. A diferencia con lo reportado por Belmont (2014) y Joosen *et al.* (2010), el parámetro  $y_0$  que corresponde al intercepto no fue incluido en el modelo, ya que no ayudaba a explicar la variable respuesta. Por lo tanto expresiones como el *lag*, que corresponde al tiempo que tarda en iniciar la germinación (ec. 2.20), no pudieron ser calculadas. En su lugar se estimó el tiempo necesario para alcanzar el 10% de la germinación ( $t_{10}$ ) como un valor de referencia a las primeras etapas de este proceso. Si bien los parámetros estimados permiten representar la respuesta germinativa de las semillas, utilizar estos valores como único punto de referencia nos lleva a resumir dentro de un solo índice toda la información que se tiene acerca de la curva de germinación, tal y como mencionan El-Kassaby *et al.* (2008). Es por esto que el índice de latencia *DI* es una medida muy útil cuando se quiere probar el efecto de algún factor con pocos niveles, ya que permite representar toda la curva de germinación. En este caso, tanto los valores de *DI* como los parámetros del modelo concuerdan con lo reportado en la literatura. Por ejemplo, González-Zertuche *et al.* (2002) reportan un efecto positivo del acondicionamiento hídrico sobre la tasa de germinación y el tiempo medio de germinación en semillas de *Buddleja cordata*, sin embargo, la capacidad germinativa tampoco se incrementó con los tratamientos de acondicionamiento. En el trabajo realizado por Belmont (2014) también se analizó la germinación de *Penstemon roseus*, otra especie herbácea del PECM cuya respuesta germinativa se ve acelerada por igual con el tratamiento hídrico como con el natural en las primeras etapas de la germinación. Los tratamientos de acondicionamiento no generan un incremento en la capacidad germinativa; de acuerdo con Belmont (2014), los pulsos de hidratación inducidos por el acondicionamiento natural e hídrico activan la germinación de una pequeña proporción de semillas hasta un “punto de no retorno” en el cual una vez activado el metabolismo, la semilla pierde la capacidad de resistir la desecación y el pulso de deshidratación subsecuente a la hidratación daña a sus embriones, lo cual se ve reflejado en una menor producción de plántulas.

Los resultados del efecto del acondicionamiento natural evaluado en distintos periodos de enterramiento, indica que la respuesta germinativa se favorece en los primeros 2 a 3 bimestres de enterramiento, antes de que se establezca la época de lluvias (mayo-julio, julio-septiembre). Gamboa-de Buen *et al.* (2006) mencionan que las lluvias ocasionales que se presentan en el parque durante el invierno y la primavera causan cambios en la humedad del suelo, lo cual promueve el acondicionamiento natural de las semillas que se encuentran enterradas. De esta forma, las lluvias ocasionales que se presentan en el parque promueve el acondicionamiento natural de las semillas para que éstas pueden germinar lo más rápido posible una vez que la temporada de lluvias se establece (Belmont, 2014).

Belmont (2014) discute que el inicio rápido de la germinación permite a estas especies ocupar los recursos de manera anticipada, a pesar de generar un menor número de plántulas, esto representan una ventana de oportunidades para colonizar ambientes perturbados con condiciones ambientales que varían estacionalmente de forma marcada, en los que los nutrientes no son muy abundantes y el sustrato es superficial. En el presente trabajo se abordaron distintos métodos estadísticos para abordar una pregunta de investigación previamente formulada; sin embargo, existen otro tipo de metodologías que pueden ser consideradas para abordar el mismo problema. Por ejemplo, se puede optar por utilizar la transformación *logit* y modelos lineales generalizados para comparar el cociente de momios entre tratamientos de acondicionamiento. También se puede utilizar un análisis de supervivencia donde los tiempos de falla corresponden a los diferentes tiempos de germinación de las semillas; las semillas que no alcanzan a germinar al término del estudio o que sufren de alguna contaminación por hongos son tomadas como censuras. Por parte del enfoque bayesiano se pueden encontrar los estimadores del modelo a partir de información *a priori* y compararlos con los métodos estadísticos clásicos. Los fenómenos en biología y sobretodo en ecología son muy complejos y se requiere de un bagaje amplio de técnicas estadísticas para poder plantear un diseño de investigación completo que comprenda desde el planteamiento del problema, hasta la conducción y análisis del mismo.

# Apéndices





# Apéndice A

La expresión del k-ésimo momento se define a partir de la función de densidad 2.9 como:

$$\mathbb{E}(X^k) = \int_0^{\infty} x^k f(x) dx = \int_0^{\infty} x^k \frac{(\alpha/c)(x/c)^{\alpha-1}}{[1 + (x/c)^\alpha]^2} dx \quad (\text{A.1})$$

Se define

$$\frac{1}{y} = 1 + \left(\frac{x}{c}\right)^\alpha \therefore$$

$$y = \frac{1}{1 + \left(\frac{x}{c}\right)^\alpha}$$

$$\frac{x}{c} = \left(\frac{1}{y} - 1\right)^{\frac{1}{\alpha}}$$

$$\Rightarrow x^k = c^k \left(\frac{1}{y} - 1\right)^{\frac{k}{\alpha}}$$

$$dx = c \left(\frac{1}{\alpha}\right) \left(\frac{1}{y} - 1\right)^{\frac{1}{\alpha}-1} \left(-\frac{1}{y^2}\right)$$

Entonces

$$\begin{aligned} \mathbb{E}(X^k) &= \int_0^1 \frac{c^k \left(\frac{1}{y} - 1\right)^{\frac{k}{\alpha}} \left(\frac{\alpha}{c}\right) \left[\left(\frac{1}{y} - 1\right)^{\frac{1}{\alpha}}\right]^{\alpha-1}}{\left(\frac{1}{y}\right)^2} c \left(\frac{1}{\alpha}\right) \left(\frac{1}{y} - 1\right)^{\frac{1}{\alpha}-1} \left(\frac{1}{y^2}\right) dy \\ &= \int_0^1 c^k \left(\frac{\alpha}{c}\right) \left(\frac{c}{\alpha}\right) \left(\frac{1}{y} - 1\right)^{\frac{k}{\alpha}+1-\frac{1}{\alpha}+\frac{1}{\alpha}-1} dy \\ &= c^k \int_0^1 \left(\frac{1-y}{y}\right)^{\frac{k}{\alpha}} dy \\ &= c^k \int_0^1 y^{-\frac{k}{\alpha}} (1-y)^{\frac{k}{\alpha}} dy = c^k \text{Beta} \left(1 - \frac{k}{\alpha}, 1 + \frac{k}{\alpha}\right) \end{aligned}$$

De aquí se desprende que  $1 - \frac{k}{\alpha} > 0 \therefore 1 > \frac{k}{\alpha} \Rightarrow k > \alpha$

$$= c^k \frac{\Gamma(1 - \frac{k}{\alpha}) \Gamma(1 + \frac{k}{\alpha})}{\Gamma(1 - \frac{k}{\alpha} + 1 + \frac{k}{\alpha})}$$

$$= c^k \Gamma\left(1 - \frac{1}{\alpha}\right) \Gamma\left(1 + \frac{1}{\alpha}\right)$$



# Apéndice B

## Pruebas de F para el modelo con intercepto y sin intercepto

$$\text{Sea } A = y_0 + \frac{y_{max}x_i^\alpha}{C_{50}^\alpha + x_i^\alpha} \text{ y } B = \frac{y_{max}x_i^\alpha}{C_{50}^\alpha + x_i^\alpha}$$

Cuadro B.1: Comparación de  $AIC$  y estadístico  $F$  para las curvas de germinación del grupo control con y sin intercepto

	$AIC_A$	$AIC_B$	$\Delta AIC$	F value	Pr(>F)
1	-111.93	-113.34	-1.42	0.51	0.48
2	-129.49	-130.45	-0.96	0.91	0.35
3	-136.50	-137.49	-0.99	0.89	0.35
4	-135.86	-135.70	0.16	1.94	0.18
5	-182.58	-183.17	-0.59	1.25	0.27
6	-110.75	-111.46	-0.71	1.14	0.30
7	-122.07	-121.60	0.48	2.24	0.15
8	-134.67	-135.86	-1.19	0.71	0.41
9	-133.99	-135.12	-1.13	0.77	0.39
10	-138.54	-139.68	-1.14	0.76	0.39
11	-144.28	-145.36	-1.08	0.81	0.38
12	-113.27	-114.18	-0.92	0.96	0.34
13	-133.51	-134.69	-1.18	0.72	0.40
14	-120.47	-122.45	-1.98	0.02	0.89
15	-98.12	-99.51	-1.39	0.53	0.47

Cuadro B.2: Comparación de  $AIC$  y estadístico  $F$  para las curvas de germinación del grupo tratado con acondicionamiento hídrico con y sin intercepto

	$AIC_A$	$AIC_B$	$\Delta AIC$	F value	Pr(>F)
1	-102.21	-103.67	-1.46	0.47	0.50
2	-133.66	-134.31	-0.66	1.19	0.29
3	-132.83	-124.31	8.52	10.92	0.00
4	-121.58	-123.43	-1.85	0.13	0.72
5	-125.83	-127.77	-1.94	0.05	0.82
6	-140.08	-141.52	-1.45	0.48	0.49
7	-144.76	-145.97	-1.20	0.70	0.41
8	-121.01	-121.56	-0.55	1.29	0.27
9	-112.45	-113.43	-0.98	0.90	0.35
10	-105.17	-104.67	0.49	2.25	0.15
11	-126.06	-127.59	-1.53	0.41	0.53
12	-140.14	-142.13	-1.99	0.00	0.95
13	-140.99	-142.83	-1.83	0.15	0.71
14	-112.98	-114.51	-1.53	0.41	0.53

Cuadro B.3: Comparación de  $AIC$  y estadístico  $F$  para las curvas de germinación del grupo tratado con acondicionamiento natural con y sin intercepto

	$AIC_A$	$AIC_B$	$\Delta AIC$	F value	$Pr(>F)$
1	-137.89	-139.48	-1.59	0.36	0.55
2	-118.03	-120.03	-2.00	0.00	0.97
3	-107.33	-106.79	0.54	2.30	0.14
4	-122.51	-124.16	-1.65	0.30	0.59
5	-91.24	-92.06	-0.82	1.04	0.32
6	-159.20	-160.13	-0.93	0.94	0.34
7	-106.01	-105.73	0.28	2.06	0.16
8	-126.22	-128.07	-1.84	0.14	0.71
9	-104.10	-106.07	-1.96	0.03	0.86
10	-117.60	-118.27	-0.67	1.18	0.29
11	-111.87	-112.54	-0.67	1.18	0.29
12	-110.49	-112.15	-1.66	0.30	0.59
13	-117.49	-117.56	-0.07	1.73	0.20
14	-130.69	-131.02	-0.33	1.49	0.23

Código en **R** utilizado para generar los cuadros anteriores:

```
compC<-matrix(0,15,5)
for(i in 1:15){
  mod0c <- nls(control[,i]~y0 + (ymax*x^a)/(c50^a+x^a),
              start=c(y0= 0,ymax=.55,a=8,c50=9))
  mod1c <- nls(control[,i]~( (ymax*x^a)/(c50^a+x^a)),
              start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
  compC[i,]<- cbind(AIC(mod0c),AIC(mod1c),AIC(mod1c)-AIC(mod0c),
                  anova(mod1c,mod0c) [2,5],anova(mod1c,mod0c) [2,6])
}

colnames(compC)<-c("AICintercepto","AICsin inter","deltaAIC",
"F value"," Pr(>F)")

hp2<-hp[-10]
compHP<-matrix(0,14,5)
for(i in 1:14){
  mod0hp <- nls(hp2[,i]~y0 + (ymax*x^a)/(c50^a+x^a),
               start=c(y0= 0,ymax=.55,a=8,c50=9))
  mod1hp <- nls(hp2[,i]~( (ymax*x^a)/(c50^a+x^a)),
               start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
  compHP[i,]<- cbind(AIC(mod0hp),AIC(mod1hp),AIC(mod1hp)-AIC(mod0hp),
                    anova(mod1hp,mod0hp) [2,5],anova(mod1hp,mod0hp) [2,6])
}

colnames(compHP)<-c("AICintercepto","AICsin inter","deltaAIC",
"F value"," Pr(>F)")
```

```

compNP<-matrix(0,14,5)

for(i in 1:14){
  mod0np <- nls(np[,i]~y0 + (ymax*x^a)/(c50^a+x^a),
               start=c(y0= 0,ymax=.55,a=8,c50=9))
  mod1np <- nls(np[,i]~( ((ymax*x^a)/(c50^a+x^a))),
               start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
  compNP[i,]<- cbind(AIC(mod0np),AIC(mod1np),AIC(mod1np)-AIC(mod0np),
                   anova(mod1np,mod0np)[2,5],anova(mod1np,mod0np)[2,6])
}

colnames(compNP)<-c("AICintercepto","AICsin inter","deltaAIC",
                  "F value"," Pr(>F)")

```

Código en **R** para la estimación de los parámetros del modelo de Hill con la función `nls` para el grupo control, grupo tratado con acondicionamiento hídrico (HP) y natural (NP).

```

# Proporción de semillas que germinaron por día (20 semillas por réplica)
control<-cdata/20
hp<-hpdata/20
np<-npdata/20

x<-seq(1,30) # número de días

# matrices donde se guardarán las estimaciones por curva
estC<-matrix(0,15,3)
estHP<-matrix(0,15,3)
estNP<-matrix(0,14,3)
for(i in 1:15){
  mod1 <- nls(control[,i]~( ((ymax*x^a)/(c50^a+x^a))),
              start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
  modc<-summary(mod1)$param[,1] #extraemos los parámetros por curva
  estC[i,]<-modc

  mod2 <- nls(hp[,i]~( ((ymax*x^a)/(c50^a+x^a))),
              start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
  modhp<-summary(mod2)$param[,1]
  estHP[i,]<-modhp
}

for(i in 1:15){
  mod1 <- nls(control[,i]~( ((ymax*x^a)/(c50^a+x^a))),
              start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
  modc<-summary(mod1)$param[,1] #extraemos los parámetros por curva
  estC[i,]<-modc

  mod2 <- nls(hp[,i]~( ((ymax*x^a)/(c50^a+x^a))),
              start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
  modhp<-summary(mod2)$param[,1]
  estHP[i,]<-modhp}

```

```

for(i in 1:14){
mod3 <- nls(np[,i]~( ((ymax*x^a)/(c50^a+x^a))),
           start=c(ymax=.55,a=8,c50=9))
modnp<-summary(mod3)$param[,1]
estNP[i,]<-modnp
}

```

Estimación del **t10** y del **TMGR** calculado a partir de la ecuación 2.5 y utilizando la función `optimize` de R.

```

# Tiempo para alcanzar el 10% de germinación

y=0.1
t10c<-rep(0,15)
t10hp<-rep(0,15)
t10np<-rep(0,14)

for(i in 1:15){
t10c[i]<-((y*estC[i,]$c50**estC[i,]$a)/(estC[i,]$ymax-y))^(1/estC[i,]$a)
t10hp[i]<-((y*estHP[i,]$c50**estHP[i,]$a)/(estHP[i,]$ymax-y))^(1/estHP[i,]$a)
for(j in 1:14){
t10np[j]<-((y*estNP[j,]$c50**estNP[j,]$a)/(estNP[j,]$ymax-y))^(1/estNP[j,]$a)
}
}

# TMGR
# control
tmgr.C<-rep(0,15)
for(i in 1:15){
  tmgr.C[i]<-((estC[i,]$c50**estC[i,]$a*(estC[i,]$a-1))/
  (estC[i,]$a+1))^(1/estC[i,]$a)
}
# cálculo de todos los TMGR para cada curva con función optimize
tmgr.Coptim<-rep(0,15)
fx<-function(x,estC){
  (estC[i,]$a*estC[i,]$ymax*estC[i,]$c50**estC[i,]$a*x**(estC[i,]$a-1))/
  (estC[i,]$c50**estC[i,]$a+x**estC[i,]$a)**2
}

for(i in 1:15){
  optm<-optimize(fx, interval=c(00, 30), maximum=TRUE,est=estC)
  tmgr.Coptim[i]<-optm$"maximum"
}

# Los promedios por ambos métodos coinciden
mean(tmgr.C);mean(tmgr.Coptim)

## [1] 8.589999
## [1] 8.589995

```

```
# TMGR para tratamiento HP

tmgr.HP<-rep(0,15)
for(i in 1:15){
  tmgr.HP[i]<-((estHP[i,]$c50**estHP[i,]$a*(estHP[i,]$(a-1)))/
  (estHP[i,]$(a+1))^(1/estHP[i,]$a)
}

# TMGR para tratamiento NP

tmgr.NP<-rep(0,14)
for(i in 1:14){
  tmgr.NP[i]<-((estNP[i,]$c50**estNP[i,]$a*(estNP[i,]$(a-1)))/
  (estNP[i,]$(a+1))^(1/estNP[i,]$a)
}
```

Cálculo de la *quasi* $R^2$  por tratamiento con su intervalo *bootstrap* no paramétrico al 95% presentado en el cuadro 4.2.

```
# quasi R^2 para el grupo control
R2.C<-rep(0,15)
for (i in 1:15){
  SCE<-sum((control[,i]-(((estC[i,]$ymax*x^estC[i,]$a)/
  (estC[i,]$c50^estC[i,]$(a+x^estC[i,]$a))))**2)
  SCT<-sum((control[,i]-mean(control[,i]))**2)
  R2.C[i]<-1-(SCE/SCT)
}

#bootstrap

n = length(R2.C)
B = 10000
R2.C.boot= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  R2.C.boot[i] = mean(R2.C[boot.sample])
}

IC.boot.R2<-cbind(quantile(R2.C.boot, .025), quantile(R2.C.boot, 0.975))

# quasi R^2 para el grupo HP

R2.HP<-rep(0,15)
for (i in 1:15){
  SCE.hp<-sum((hp[,i]-(((estHP[i,]$ymax*x^estHP[i,]$a)/
  (estHP[i,]$c50^estHP[i,]$(a+x^estHP[i,]$a))))**2)
  SCT.hp<-sum((hp[,i]-mean(hp[,i]))**2)
  R2.HP[i]<-1-(SCE.hp/SCT.hp)
}
```



```

#Bootstrap

n = length(R2.HP)
B = 10000
R2.HP.boot= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  R2.HP.boot[i] = mean(R2.HP[boot.sample])
}

ICHP.boot.R2<-cbind(quantile(R2.HP.boot, .025), quantile(R2.HP.boot, 0.975))

# quasi R^2 para el grupo NP

R2.NP<-rep(0, 14)
for (i in 1:14){
  SCE.np<-sum((np[,i]-(((estNP[i,]$ymax*x^estNP[i,]$a)/
  (estNP[i,]$c50^estNP[i,]$a+x^estNP[i,]$a))))**2)
  SCT.np<-sum((np[,i]-mean(np[,i]))**2)
  R2.NP[i]<-1-(SCE.np/SCT.np)
}

# bootstrap

n = length(R2.NP)
B = 10000
R2.NP.boot= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  R2.NP.boot[i] = mean(R2.NP[boot.sample])
}

ICNP.boot.R2<-cbind(quantile(R2.NP.boot, .025), quantile(R2.NP.boot, 0.975))

```

Código para calcular los intervalos de confianza al 95% por aproximación normal y por *bootstrap* no paramétrico de los parámetros del modelo de Hill.

```
#####
### Intervalo asumiendo normalidad ###
#####

intervalo<-function(x,alpha,e){
  li<-x-qnorm(1-alpha/2)*e
  ls<-x+qnorm(1-alpha/2)*e
  idec<-cbind(li,ls)
  colnames(idec)<-c("lím. inferior","lí. superior")
  return(idec)
}

C.ci<-rbind(apply(estC,2,mean),apply(estC,2,var),apply(estC,2,sd)/sqrt(15))
HP.ci<-rbind(apply(estHP,2,mean),apply(estHP,2,var),apply(estHP,2,sd)/sqrt(15))
NP.ci<-rbind(apply(estNP,2,mean),apply(estNP,2,var),apply(estNP,2,sd)/sqrt(14))
ICC<-intervalo(C.ci[1,],0.05,C.ci[3,])
IHP<-intervalo(HP.ci[1,],0.05,HP.ci[3,])
ICNP<-intervalo(NP.ci[1,],0.05,NP.ci[3,])

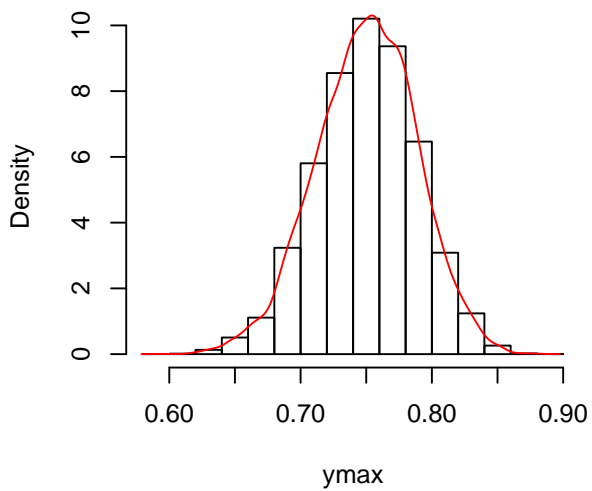
#####
### Intervalos por Bootstrap no paramétrico ###
#####

### Control
n = length(estC$ymax)
B = 10000
ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)

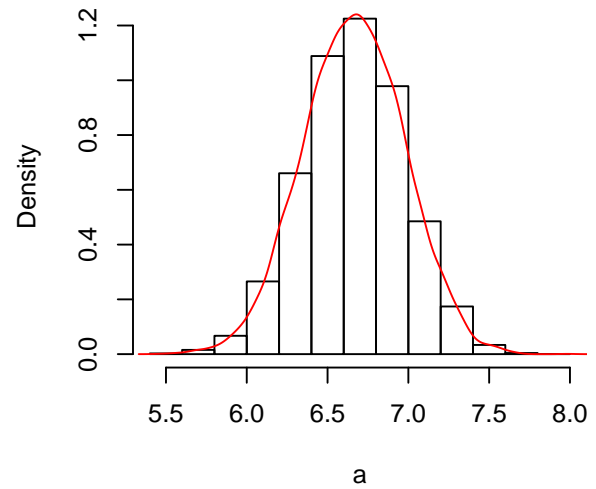
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estC$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estC$a[boot.sample])
  c50[i] = mean(estC$c50[boot.sample])
}
#intervalo para el control

ICC.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax,.025),quantile(ymax,0.975)),
cbind(quantile(a,.025),quantile(a,0.975)),cbind(quantile(c50,.025),
quantile(c50,0.975)))
colnames(ICC.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICC.boot)<-c("ymax","a","c50")
```

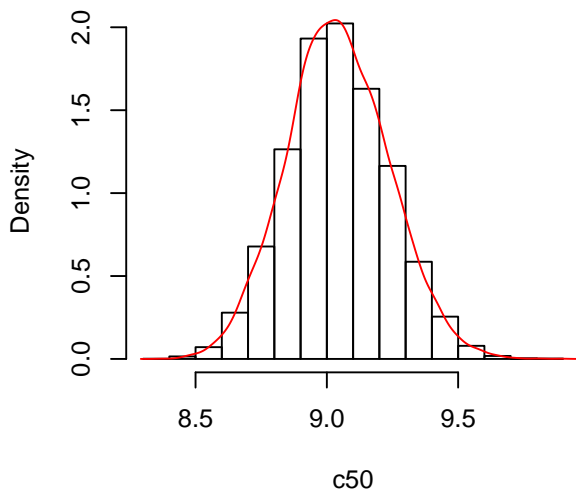
Histogram of ymax



Histogram of a



Histogram of c50



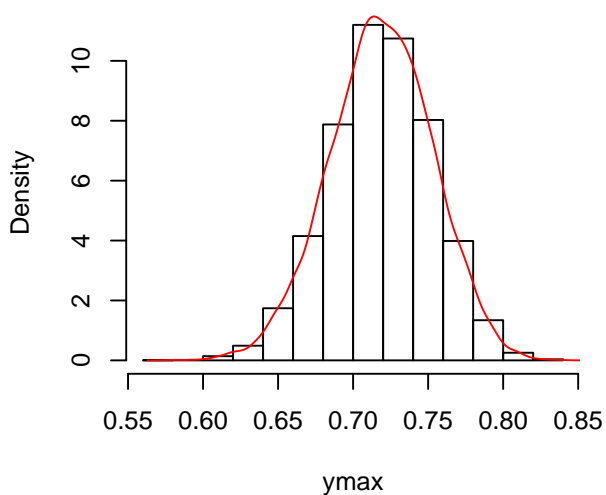
```
### HP
n = length(estHP$ymax)
B = 10000
ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estHP$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estHP$a[boot.sample])
  c50[i] = mean(estHP$c50[boot.sample])
}
```

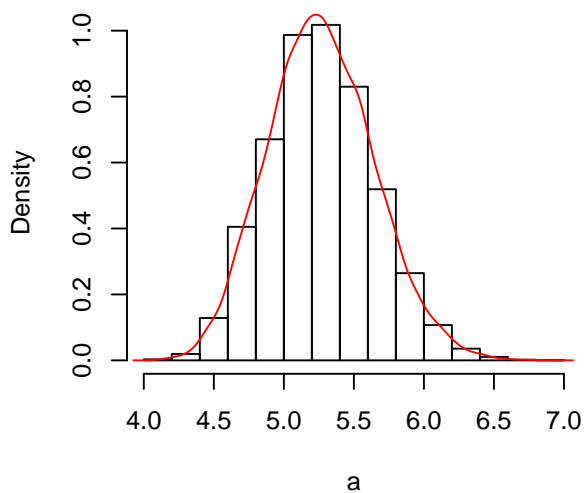
```
#intervalo para HP
```

```
ICHP.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax,.025),quantile(ymax,0.975)),
cbind(quantile(a,.025),quantile(a,0.975)),cbind(quantile(c50,.025),
quantile(c50,0.975)))
colnames(ICHP.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICHP.boot)<-c("ymax","a","c50")
```

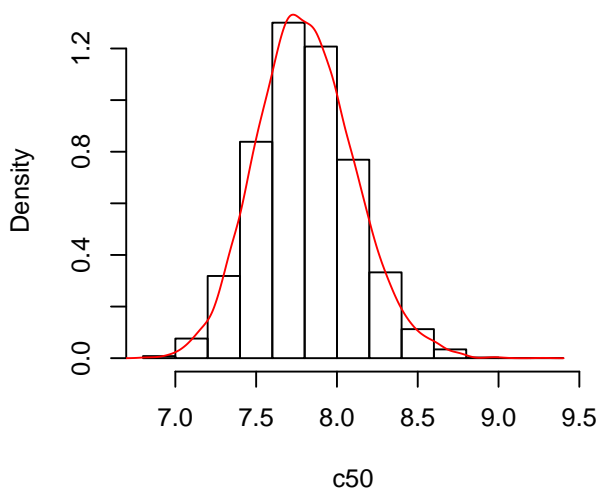
**Histogram of ymax**



**Histogram of a**



**Histogram of c50**



```
### NP
```

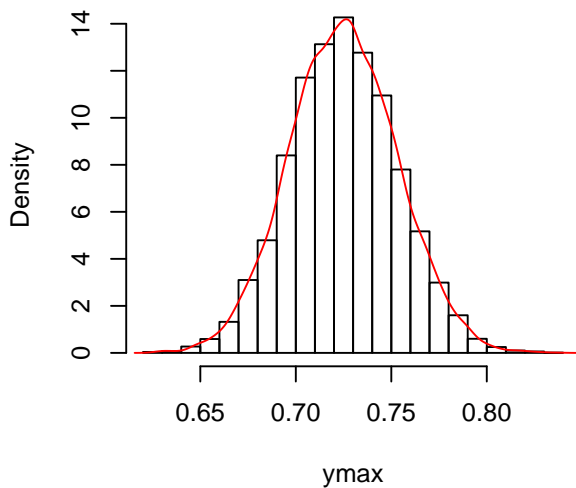
```
n = length(estNP$ymax)
B = 10000
ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)
```

```
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estNP$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estNP$a[boot.sample])
  c50[i] = mean(estNP$c50[boot.sample])
}
```

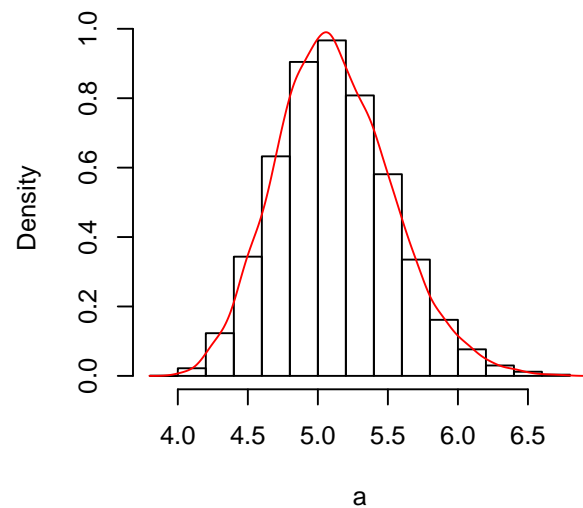
```
#intervalo para NP
```

```
ICNP.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax,.025),quantile(ymax,0.975)),
cbind(quantile(a,.025),quantile(a,0.975)),cbind(quantile(c50,.025),
quantile(c50,0.975)))
colnames(ICNP.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICNP.boot)<-c("ymax","a","c50")
```

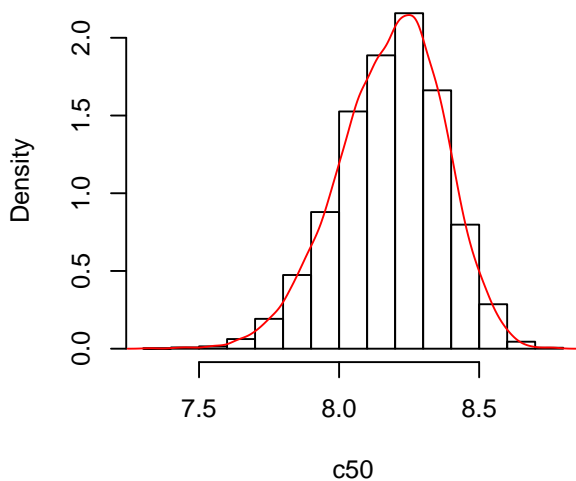
**Histogram of ymax**



**Histogram of a**



**Histogram of c50**



*##Intervalos boot vs normales**ICC # intervalos para el grupo control*

##	lím. inferior	lí. superior
## ymax	0.6730199	0.827176
## a	6.0128932	7.295532
## c50	8.6472202	9.438126

*ICHP # intervalos para el grupo tratado HP*

##	lím. inferior	lí. superior
## ymax	0.6493146	0.7878122
## a	4.5044965	6.0407709
## c50	7.2074422	8.4079582

*ICNP # intervalos para el grupo tratado con NP*

##	lím. inferior	lí. superior
## ymax	0.6667996	0.7819551
## a	4.2871430	5.9310002
## c50	7.8035280	8.5638069

*ICC.boot # intervalos bootstrap para el grupo control*

##	lím inferior	lím superior
## ymax	0.6717828	0.8228096
## a	6.0507540	7.2663277
## c50	8.6747433	9.4291994

*ICHP.boot # intervalos bootstrap para el grupo tratado HP*

##	lím inferior	lím superior
## ymax	0.649301	0.7834634
## a	4.569705	6.0427219
## c50	7.254581	8.4244258

*ICNP.boot # intervalos bootstrap para el grupo tratado NP*

##	lím inferior	lím superior
## ymax	0.6707121	0.7803738
## a	4.3817888	5.9936645
## c50	7.7879195	8.5162222

Código en **R** para calcular el intervalo al 95% de confianza por *bootstrap* no paramétrico para el **TMGR** y el **t10**.

```
#IdeC 95% por bootstrap para TMGR

n = length(tmgr.C)
B = 10000
tmgrc = rep(NA, B)
tmgrhp= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  tmgrc[i] = mean(tmgr.C[boot.sample])
  tmgrhp[i] = mean(tmgr.HP[boot.sample])
}
n = length(tmgr.NP)
tmgrnp= rep(NA, B)

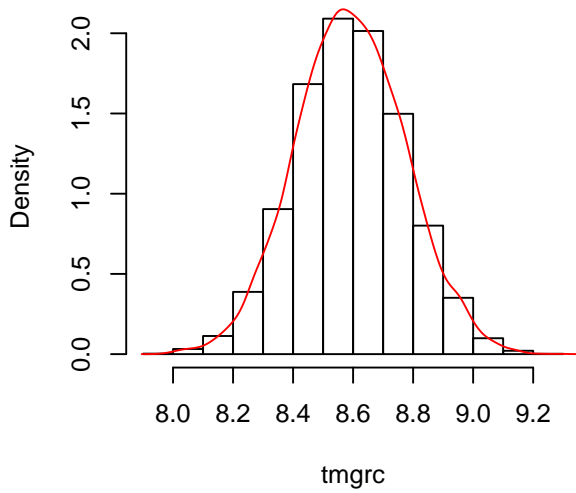
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  tmgrnp[i] = mean(tmgr.NP[boot.sample])
}

#intervalos 95%

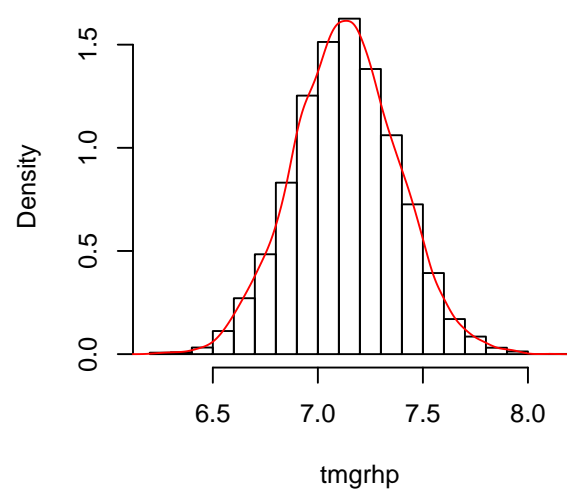
ICTMGR.boot<-rbind(cbind(quantile(tmgrc,.025),quantile(tmgrc,0.975)),
                  cbind(quantile(tmgrhp,.025), quantile(tmgrhp,0.975)),
                  cbind(quantile(tmgrnp,.025),quantile(tmgrnp,0.975)))
colnames(ICTMGR.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICTMGR.boot)<-c("Control","HP","NP")
ICTMGR.boot

##          lím inferior lím superior
## Control      8.242046      8.953922
## HP           6.639986      7.622865
## NP           7.071271      7.805966
```

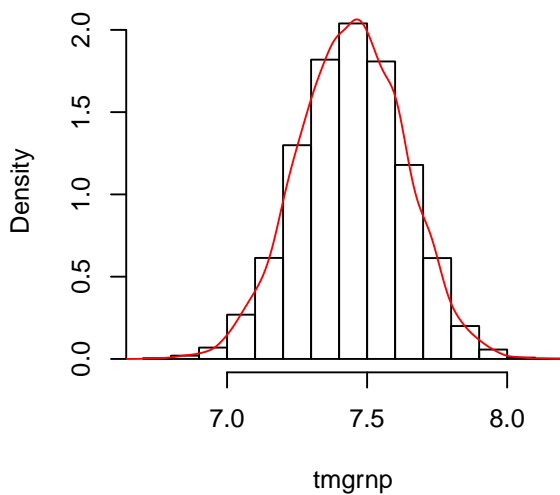
Histogram of tmgrc



Histogram of tmgrhp



Histogram of tmgrnp



```
## Bootstrap t10

n = length(t10c)
B = 10000
T10c = rep(NA, B)
T10hp= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  T10c[i] = mean(t10c[boot.sample])
  T10hp[i] = mean(t10hp[boot.sample])
}

n = length(t10np)
T10np= rep(NA, B)
```



```

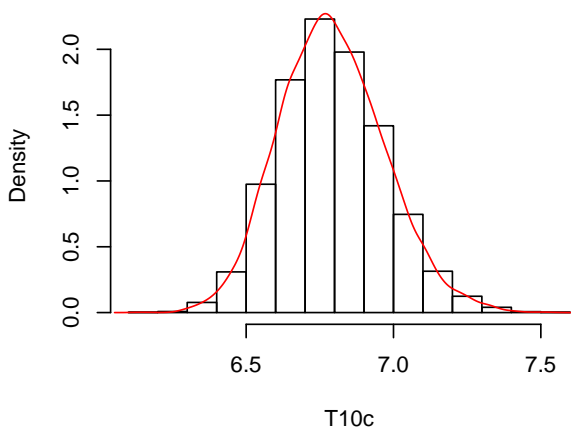
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  T10np[i] = mean(t10np[boot.sample])
}
#intervalos 95%

ICt10.boot<-rbind(cbind(quantile(T10c,.025),quantile(T10c,0.975)),
                  cbind(quantile(T10hp,.025), quantile(T10hp,0.975)),
                  cbind(quantile(T10np,.025),quantile(T10np,0.975)))
colnames(ICt10.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICt10.boot)<-c("Control","HP","NP")
ICt10.boot

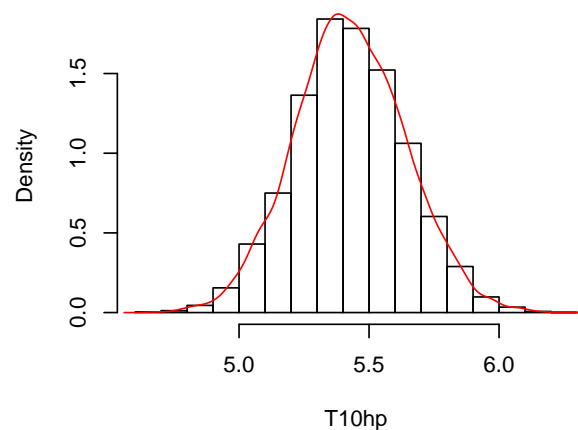
##          lím inferior lím superior
## Control      6.465387      7.159858
## HP            5.015642      5.851874
## NP            5.213117      6.022310

```

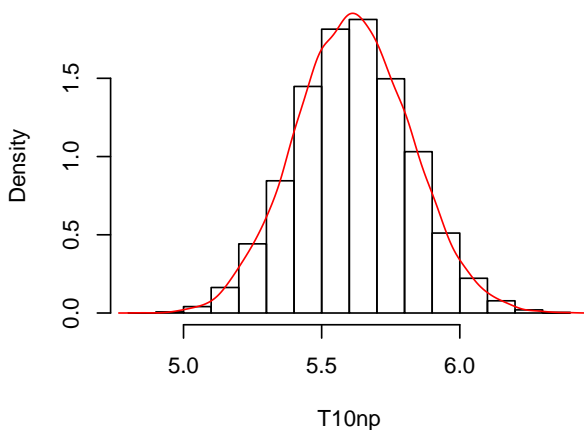
Histogram of T10c



Histogram of T10hp



Histogram of T10np



## Resumen del promedio de las estimaciones

```

trat1<-rbind(rbind(apply(estC,2,mean),apply(estC,2,var),apply(estC,2,sd)/sqrt(15)),
rbind(apply(estHP,2,mean),apply(estHP,2,var),apply(estHP,2,sd)/sqrt(15)),
rbind(apply(estNP,2,mean),apply(estNP,2,var),apply(estNP,2,sd)/sqrt(14)))
priming<-gl(3,3,9)
levels(priming)<-c("C","HP","NP")
trat1<-as.data.frame(trat1)
trat1[,"Trat"]<-priming
parametros<-rep(c("mean","var","e.e"),3)
trat1<-cbind(parametros,trat1)

TMGR<-rbind(rbind(mean(tmgr.C),var(tmgr.C),sd(tmgr.C)/sqrt(15)),
rbind(mean(tmgr.HP),var(tmgr.HP),sd(tmgr.HP)/sqrt(15)),
rbind(mean(tmgr.NP),var(tmgr.NP),sd(tmgr.NP)/sqrt(14)))
trat1["TMGR"]<-TMGR
trat1<-cbind(trat1[-5],trat1[5])
t10<-rbind(rbind(mean(t10c),var(t10c),sd(t10c)/sqrt(15)),
rbind(mean(t10hp),var(t10hp),sd(t10hp)/sqrt(15)),
rbind(mean(t10np),var(t10np),sd(t10np)/sqrt(14)))

trat1["t10"]<-t10
trat1<-cbind(trat1[-6],trat1[6])

trat1

##      parametros      ymax      a      c50      TMGR      t10 Trat
## 1      mean 0.75009796 6.6542124 9.0426729 8.5899995 6.7897462 C
## 2      var 0.02319831 1.6059926 0.6106386 0.5216225 0.5225536 C
## 3      e.e 0.03932625 0.3272097 0.2017653 0.1864801 0.1866465 C
## 4      mean 0.71856341 5.2726337 7.8077002 7.1300006 5.4265509 HP
## 5      var 0.01872490 2.3039480 1.4069251 0.9983045 0.7201527 HP
## 6      e.e 0.03533167 0.3919139 0.3062597 0.2579799 0.2191123 HP
## 7      mean 0.72437734 5.1090716 8.1836674 7.4424662 5.6125267 NP
## 8      var 0.01208206 2.4620679 0.5266447 0.5351161 0.6539049 NP
## 9      e.e 0.02937694 0.4193590 0.1939523 0.1955060 0.2161192 NP

```

Estimación del índice de latencia  $DI$  en  $\mathbf{R}$ .

```

## AUC todas posibles combinaciones
# Definimos funciones

fc<-function(x){
  (estC[i,]$ymax*x^estC[i,]$a)/(estC[i,]$c50^estC[i,]$a+x^estC[i,]$a)
}
fhp<-function(x){
  (estHP[i,]$ymax*x^estHP[i,]$a)/(estHP[i,]$c50^estHP[i,]$a+x^estHP[i,]$a)
}
fnp<-function(x){
  (estNP[j,]$ymax*x^estNP[j,]$a)/(estNP[j,]$c50^estNP[j,]$a+x^estNP[j,]$a)
}

#Guardamos el AUC de todas las posibles combinaciones
##### AUC hasta los 5,10, 15 y 30 días

DIc.start<-matrix(0,15,4)
DIhp.start<-matrix(0,15,4)
DInp.start<-matrix(0,14,4)

for (i in 1:15){
  for (j in 1:14){
    fc<-function(x){
      (estC[i,]$ymax*x^estC[i,]$a)/(estC[i,]$c50^estC[i,]$a+x^estC[i,]$a)
    }

    DIc.start[i,1]<-integrate(fc, lower = 0, upper = 5)$value
    DIc.start[i,2]<-integrate(fc, lower = 0, upper = 10)$value
    DIc.start[i,3]<-integrate(fc, lower = 0, upper = 15)$value
    DIc.start[i,4]<-integrate(fc, lower = 0, upper = 30)$value
    DIhp.start[i,1]<-integrate(fhp, lower = 0, upper = 5)$value
    DIhp.start[i,2]<-integrate(fhp, lower = 0, upper = 10)$value
    DIhp.start[i,3]<-integrate(fhp, lower = 0, upper = 15)$value
    DIhp.start[i,4]<-integrate(fhp, lower = 0, upper = 30)$value
    DInp.start[j,1]<-integrate(fnp, lower = 0, upper = 5)$value
    DInp.start[j,2]<-integrate(fnp, lower = 0, upper = 10)$value
    DInp.start[j,3]<-integrate(fnp, lower = 0, upper = 15)$value
    DInp.start[j,4]<-integrate(fnp, lower = 0, upper = 30)$value
  }
}

colnames(DIc.start)<-c(seq(5,15,length=3),30)
colnames(DIhp.start)<-c(seq(5,15,length=3),30)
colnames(DInp.start)<-c(seq(5,15,length=3),30)

```

```

#####
### Control vs HP ###
#####

DI.c.hp5<-matrix(0,15,15)
DI.c.hp10<-matrix(0,15,15)
DI.c.hp15<-matrix(0,15,15)
DI.c.hp30<-matrix(0,15,15)

for(i in 1:15){
  for(j in 1:15){
    DI.c.hp5[i,j]<-DIc.start[i,1]-DIhp.start[j,1]
    DI.c.hp10[i,j]<-DIc.start[i,2]-DIhp.start[j,2]
    DI.c.hp15[i,j]<-DIc.start[i,3]-DIhp.start[j,3]
    DI.c.hp30[i,j]<-DIc.start[i,4]-DIhp.start[j,4]
  }
}

#Control vs HP 5 días
hist(DI.c.hp5)
mean(DI.c.hp5)
#Cuantiles
cbind(quantile(DI.c.hp5,0.025),quantile(DI.c.hp5,0.975))

#Control vs HP 10 días
hist(DI.c.hp10)
mean(DI.c.hp10)
cbind(quantile(DI.c.hp10,0.025),quantile(DI.c.hp10,0.975))

#Control vs HP 15 días
hist(DI.c.hp15)
mean(DI.c.hp15)
cbind(quantile(DI.c.hp15,0.025),quantile(DI.c.hp15,0.975))

#Control vs HP 30 días
hist(DI.c.hp30)
mean(DI.c.hp30)
cbind(quantile(DI.c.hp30,0.025),quantile(DI.c.hp30,0.975))

##Bootstrap

n = length(DI.c.hp5)
B = 10000
DI.c.hp5.boot = rep(NA, B)
DI.c.hp10.boot = rep(NA, B)
DI.c.hp15.boot = rep(NA, B)
DI.c.hp30.boot = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)

```

```

DI.c.hp5.boot [i] = mean(DI.c.hp5[boot.sample])
DI.c.hp10.boot [i] = mean(DI.c.hp10[boot.sample])
DI.c.hp15.boot[i] = mean(DI.c.hp15[boot.sample])
DI.c.hp30.boot[i] = mean(DI.c.hp30[boot.sample])
}

#intervalos 95%

IC.c.hp.boot<-rbind(cbind(quantile( DI.c.hp5.boot, .025),
                           quantile( DI.c.hp5.boot,0.975)),
                   cbind(quantile( DI.c.hp10.boot, .025),
                           quantile( DI.c.hp10.boot,0.975)),
                   cbind(quantile( DI.c.hp15.boot, .025),
                           quantile( DI.c.hp15.boot,0.975)),
                   cbind(quantile( DI.c.hp30.boot, .025),
                           quantile( DI.c.hp30.boot,0.975)))
colnames(IC.c.hp.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(IC.c.hp.boot)<-c("5 días","10 días","15 días","30 días")

#####
### Control vs NP ###
#####

DI.c.np5<-matrix(0,15,14)
DI.c.np10<-matrix(0,15,14)
DI.c.np15<-matrix(0,15,14)
DI.c.np30<-matrix(0,15,14)

for(i in 1:15){
  for(j in 1:14){
    DI.c.np5[i,j]<-DIc.start[i,1]-DInp.start[j,1]
    DI.c.np10[i,j]<-DIc.start[i,2]-DInp.start[j,2]
    DI.c.np15[i,j]<-DIc.start[i,3]-DInp.start[j,3]
    DI.c.np30[i,j]<-DIc.start[i,4]-DInp.start[j,4]
  }
}

#Control vs NP 5 días
hist(DI.c.np5)
mean(DI.c.np5)
cbind(quantile(DI.c.np5,0.025),quantile(DI.c.np5,0.975))

#Control vs NP 10 días
hist(DI.c.np10)
mean(DI.c.np10)
cbind(quantile(DI.c.np10,0.025),quantile(DI.c.np10,0.975))

```

```

#Control vs NP 15 días
hist(DI.c.np15)
mean(DI.c.np15)
cbind(quantile(DI.c.np15,0.025),quantile(DI.c.np15,0.975))

#Control vs NP 30 días
hist(DI.c.np30)
mean(DI.c.np30)
cbind(quantile(DI.c.np30,0.025),quantile(DI.c.np30,0.975))

#Bootstrap
n = length(DI.c.np5)
B = 10000
DI.c.np5.boot = rep(NA, B)
DI.c.np10.boot = rep(NA, B)
DI.c.np15.boot = rep(NA, B)
DI.c.np30.boot = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  DI.c.np5.boot [i] = mean(DI.c.np5[boot.sample])
  DI.c.np10.boot [i] = mean(DI.c.np10[boot.sample])
  DI.c.np15.boot[i] = mean(DI.c.np15[boot.sample])
  DI.c.np30.boot[i] = mean(DI.c.np30[boot.sample])
}

#intervalos 95%

IC.c.np.boot<-rbind(cbind(quantile( DI.c.np5.boot, .025),
                           quantile( DI.c.np5.boot,0.975)),
                   cbind(quantile( DI.c.np10.boot, .025),
                           quantile( DI.c.np10.boot,0.975)),
                   cbind(quantile( DI.c.np15.boot, .025),
                           quantile( DI.c.np15.boot,0.975)),
                   cbind(quantile( DI.c.np30.boot, .025),
                           quantile( DI.c.np30.boot,0.975)))
colnames(IC.c.np.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(IC.c.np.boot)<-c("5 días","10 días","15 días","30 días")

#####
### HP vs NP ###
#####

DI.hp.np5<-matrix(0,15,14)
DI.hp.np10<-matrix(0,15,14)
DI.hp.np15<-matrix(0,15,14)
DI.hp.np30<-matrix(0,15,14)

for(i in 1:15){

```

```

for(j in 1:14){
  DI.hp.np5[i,j]<-DIhp.start[i,1]-DInp.start[j,1]
  DI.hp.np10[i,j]<-DIhp.start[i,2]-DInp.start[j,2]
  DI.hp.np15[i,j]<-DIhp.start[i,3]-DInp.start[j,3]
  DI.hp.np30[i,j]<-DIhp.start[i,4]-DInp.start[j,4]
}
}

#HP vs NP 5 días
hist(DI.hp.np5)
mean(DI.hp.np5)
cbind(quantile(DI.hp.np5,0.025),quantile(DI.hp.np5,0.975))

#HP vs NP 10 días
hist(DI.hp.np10)
mean(DI.hp.np10)
cbind(quantile(DI.hp.np10,0.025),quantile(DI.hp.np10,0.975))

#HP vs NP 15 días
hist(DI.hp.np15)
mean(DI.hp.np15)
cbind(quantile(DI.hp.np15,0.025),quantile(DI.hp.np15,0.975))

#HP vs NP 30 días
hist(DI.hp.np30)
mean(DI.hp.np30)
cbind(quantile(DI.hp.np30,0.025),quantile(DI.hp.np30,0.975))

#Bootstrap
n = length(DI.hp.np5)
B = 10000
DI.hp.np5.boot = rep(NA, B)
DI.hp.np10.boot = rep(NA, B)
DI.hp.np15.boot = rep(NA, B)
DI.hp.np30.boot = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  DI.hp.np5.boot [i] = mean(DI.hp.np5[boot.sample])
  DI.hp.np10.boot [i] = mean(DI.hp.np10[boot.sample])
  DI.hp.np15.boot [i] = mean(DI.hp.np15[boot.sample])
  DI.hp.np30.boot [i] = mean(DI.hp.np30[boot.sample])
}

#intervalos 95%

IC.hp.np.boot<-rbind(cbind(quantile( DI.hp.np5.boot,.025),
                             quantile( DI.hp.np5.boot,0.975)),
                    cbind(quantile( DI.hp.np10.boot,.025),

```

```
quantile( DI.hp.np10.boot,0.975)),  
cbind(quantile( DI.hp.np15.boot,.025),  
quantile( DI.hp.np15.boot,0.975)),  
cbind(quantile( DI.hp.np30.boot,.025),  
quantile( DI.hp.np30.boot,0.975))  
colnames(IC.hp.np.boot)<-c("lím inferior","lím superior")  
rownames(IC.hp.np.boot)<-c("5 días","10 días","15 días","30 días")
```



# Apéndice C

Las estimaciones para los parámetros del modelo de Hill evaluado en los distintos bimestres de enterramiento se realizaron con el siguiente código en **R**:

```
x<-seq(1,30)

Hill <- function(Beta, x, y){
  a <- Beta[1]
  b <- Beta[2]
  c <- Beta[3]
  return (sum((y - (((a*x^b)/(c^b+x^b))))**2))
}

estnpEN<-matrix(0,14,3)
estnpMA<-matrix(0,13,3)
estnpAB<-matrix(0,9,3)
estnpJU<-matrix(0,5,3)
estnpSE<-matrix(0,7,3)

for(i in 1:14){
  m1<-nlm(Hill, p=c(0.55,8,9), x = x, y = np.ene[,i])
  m1ene<-m1$estimate
  estnpEN[i,]<-m1ene
}
for(j in 1:13){
  m2 <- nlm(Hill, p=c(0.55,8,9), x = x, y = np.mar[,j])
  m2mar<-m2$estimate
  estnpMA[j,]<-m2mar}

  for(k in 1:9){
    m3 <- nlm(Hill, p=c(0.55,8,9), x = x, y = np.abr[,k])
    m3abr<-m3$estimate
    estnpAB[k,]<-m3abr
  }

for(l in 1:5){
  m4 <-nlm(Hill, p=c(0.55,8,9), x = x, y = np.jul[,l])
  m4jul<-m4$estimate
  estnpJU[l,]<-m4jul}
```

```

for(v in 1:7){
  m5 <-nlm(Hill, p=c(0.55,8,9), x = x, y = np.sep[,v])
  m5sep<-m5$estimate
  estnpSE[v,]<-m5sep
}

```

Estimación del **t10** y del **TMGR** calculado a partir de la ecuación 2.5:

```

# Tiempo para alcanzar el 10% de la germinación

y=0.1
t10en<-rep(0,14)
t10ma<-rep(0,13)
t10ab<-rep(0,9)
t10ju<-rep(0,5)
t10se<-rep(0,7)

for(i in 1:14){
  t10en[i]<-((y*estnpEN[i,]$c50**estnpEN[i,]$a)/
  (estnpEN[i,]$ymax-y))^(1/estnpEN[i,]$a)
}
for(i in 1:13){
  t10ma[i]<-((y*estnpMA[i,]$c50**estnpMA[i,]$a)/
  (estnpMA[i,]$ymax-y))^(1/estnpMA[i,]$a)
}
for(i in 1:9){
  t10ab[i]<-((y*estnpAB[i,]$c50**estnpAB[i,]$a)/
  (estnpAB[i,]$ymax-y))^(1/estnpAB[i,]$a)
}
for(i in 1:5){
  t10ju[i]<-((y*estnpJU[i,]$c50**estnpJU[i,]$a)/
  (estnpJU[i,]$ymax-y))^(1/estnpJU[i,]$a)
}
for(i in 1:7){
  t10se[i]<-((y*estnpSE[i,]$c50**estnpSE[i,]$a)/
  (estnpSE[i,]$ymax-y))^(1/estnpSE[i,]$a)
}

# TMGR

# Ene - Mar

tmgr.en<-rep(0,14)
for(i in 1:14){
  tmgr.en[i]<-((estnpEN[i,]$c50**estnpEN[i,]$a*(estnpEN[i,]$a-1))/
  (estnpEN[i,]$a+1))^(1/estnpEN[i,]$a)
}

# Mar - May

```

```

tmgr.ma<-rep(0,13)
for(i in 1:13){
  tmgr.ma[i]<-((estnpMA[i,]$c50**estnpMA[i,]$a*(estnpMA[i,]$(a-1))/
  (estnpMA[i,]$(a+1)))^(1/estnpMA[i,]$a)
}

# May - Jul

tmgr.ab<-rep(0,9)
for(i in 1:9){
  tmgr.ab[i]<-((estnpAB[i,]$c50**estnpAB[i,]$a*(estnpAB[i,]$(a-1))/
  (estnpAB[i,]$(a+1)))^(1/estnpAB[i,]$a)
}

# Jul - Sep

tmgr.ju<-rep(0,5)
for(i in 1:5){
  tmgr.ju[i]<-((estnpJU[i,]$c50**estnpJU[i,]$a*(estnpJU[i,]$(a-1))/
  (estnpJU[i,]$(a+1)))^(1/estnpJU[i,]$a)
}

# Sep - Nov

tmgr.se<-rep(0,7)
for(i in 1:7){
  tmgr.se[i]<-((estnpSE[i,]$c50**estnpSE[i,]$a*(estnpSE[i,]$(a-1))/
  (estnpSE[i,]$(a+1)))^(1/estnpSE[i,]$a)
}

```

Cálculo de la  $quasiR^2$  por tratamiento con su intervalo *bootstrap* no paramétrico al 95% presentado en el cuadro 4.2.

```

## R2

# Enero

R2.EN<-rep(0,14)
for (i in 1:14){
  SCE.en<-sum((np.ene[,i]-(((estnpEN[i,]$ymax*x^estnpEN[i,]$a)/
  (estnpEN[i,]$c50^estnpEN[i,]$(a+x^estnpEN[i,]$(a))))**2)
  SCT.en<-sum((np.ene[,i]-mean(np.ene[,i]))**2)
  R2.EN[i]<-1-(SCE.en/SCT.en)
}

#bootstrap

n = length(R2.EN)
B = 10000
R2.EN.boot= rep(NA, B)

```

```

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  R2.EN.boot[i] = mean(R2.EN[boot.sample])
}

ICEN.boot.R2<-cbind(quantile(R2.EN.boot, .025),
quantile(R2.EN.boot, 0.975))

# Marzo

R2.MA<-rep(0, 13)
for (i in 1:13){
  SCE.ma<-sum((np.mar[,i]-(((estnpMA[i,]$ymax*x^estnpMA[i,]$a)/
(estnpMA[i,]$c50^estnpMA[i,]$a+x^estnpMA[i,]$a))))**2)
  SCT.ma<-sum((np.mar[,i]-mean(np.mar[,i]))**2)
  R2.MA[i]<-1-(SCE.ma/SCT.ma)
}

# bootstrap

n = length(R2.MA)
B = 10000
R2.MA.boot= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  R2.MA.boot[i] = mean(R2.MA[boot.sample])
}

ICMA.boot.R2<-cbind(quantile(R2.MA.boot, .025),
quantile(R2.MA.boot, 0.975))

# Mayo

R2.AB<-rep(0, 9)
for (i in 1:9){
  SCE.ab<-sum((np.abr[,i]-(((estnpAB[i,]$ymax*x^estnpAB[i,]$a)/
(estnpAB[i,]$c50^estnpAB[i,]$a+x^estnpAB[i,]$a))))**2)
  SCT.ab<-sum((np.abr[,i]-mean(np.abr[,i]))**2)
  R2.AB[i]<-1-(SCE.ab/SCT.ab)
}

n = length(R2.AB)
B = 10000
R2.AB.boot= rep(NA, B)

```

```

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  R2.AB.boot[i] = mean(R2.AB[boot.sample])
}

ICAB.boot.R2<-cbind(quantile(R2.AB.boot, .025),
quantile(R2.AB.boot, 0.975))

# Julio

R2.JU<-rep(0,5)
for (i in 1:5){
  SCE.ju<-sum((np.jul[,i]-(((estnpJU[i,]$ymax*x^estnpJU[i,]$a)/
(estnpJU[i,]$c50^estnpJU[i,]$a+x^estnpJU[i,]$a))))**2)
  SCT.ju<-sum((np.jul[,i]-mean(np.jul[,i]))**2)
  R2.JU[i]<-1-(SCE.ju/SCT.ju)
}

# bootstrap

n = length(R2.JU)
B = 10000
R2.JU.boot= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  R2.JU.boot[i] = mean(R2.JU[boot.sample])
}

ICJU.boot.R2<-cbind(quantile(R2.JU.boot, .025),
quantile(R2.JU.boot, 0.975))

# Septiembre

R2.SE<-rep(0,7)
for (i in 1:7){
  SCE.se<-sum((np.sep[,i]-(((estnpSE[i,]$ymax*x^estnpSE[i,]$a)/(estnpSE[i,]$c50^estnpSE
SCT.se<-sum((np.sep[,i]-mean(np.sep[,i]))**2)
  R2.SE[i]<-1-(SCE.se/SCT.se)
}

# bootstrap

n = length(R2.SE)
B = 10000
R2.SE.boot= rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)

```

```
R2.SE.boot[i] = mean(R2.SE[boot.sample])
}

ICSE.boot.R2<-cbind(quantile(R2.SE.boot,.025),
quantile(R2.SE.boot,0.975))
```

Código para calcular los intervalos de confianza al 95% por aproximación normal y por *bootstrap* no paramétrico de los parámetros del modelo de Hill evaluados en los distintos bimestres de enterramiento.

```
#Intervalo asumiendo normalidad

intervalo<-function(x,alpha,e){
  li<-x-qnorm(1-alpha/2)*e
  ls<-x+qnorm(1-alpha/2)*e
  idec<-cbind(li,ls)
  colnames(idec)<-c("lím. inferior","lí. superior")
  return(idec)
}

EN.ci<-rbind(apply(estnpEN,2,mean),apply(estnpEN,2,var),
apply(estnpEN,2,sd)/sqrt(14))
MA.ci<-rbind(apply(estnpMA,2,mean),apply(estnpMA,2,var),
apply(estnpMA,2,sd)/sqrt(13))
AB.ci<-rbind(apply(estnpAB,2,mean),apply(estnpAB,2,var),
,apply(estnpAB,2,sd)/sqrt(10))
JU.ci<-rbind(apply(estnpJU,2,mean),apply(estnpJU,2,var),
apply(estnpJU,2,sd)/sqrt(5))
SE.ci<-rbind(apply(estnpSE,2,mean),apply(estnpSE,2,var),
apply(estnpSE,2,sd)/sqrt(7))

ICEN<-intervalo(EN.ci[1,],0.05,EN.ci[3,])
ICMA<-intervalo(MA.ci[1,],0.05,MA.ci[3,])
ICAB<-intervalo(AB.ci[1,],0.05,AB.ci[3,])
ICJU<-intervalo(JU.ci[1,],0.05,JU.ci[3,])
ICSE<-intervalo(SE.ci[1,],0.05,SE.ci[3,])

ICEN # periodo enero - marzo

##      lím. inferior lí. superior
## ymax      0.6667989      0.7819541
## a          4.2871607      5.9310306
## c50        7.8035175      8.5637977

ICMA # periodo marzo - mayo

##      lím. inferior lí. superior
## ymax      0.6118983      0.7076759
## a          3.7683018      5.1809144
## c50        8.4743119      9.6549098
```

```
ICAB # periodo mayo - julio
```

```
##      lím. inferior lí. superior
## ymax      0.2830283      0.4620429
## a          4.1645677      5.6762576
## c50        8.2104223      9.8841957
```

```
ICJU # periodo julio - septiembre
```

```
##      lím. inferior lí. superior
## ymax      0.6216168      0.8271362
## a          4.0431784      6.1750129
## c50        6.0419901     10.3253252
```

```
ICSE # periodo septiembre -noviembre
```

```
##      lím. inferior lí. superior
## ymax      0.4572134      0.635384
## a          6.2797126      9.198391
## c50       12.0209849     13.424391
```

```
#####
##Intervalos por Bootstrap##
#####

## Ene- Mar

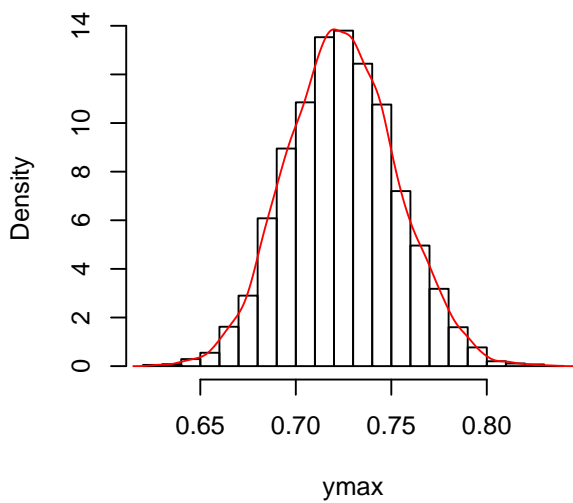
n = length(estnpEN$ymax)
B = 10000
ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estnpEN$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estnpEN$a[boot.sample])
  c50[i] = mean(estnpEN$c50[boot.sample])
}

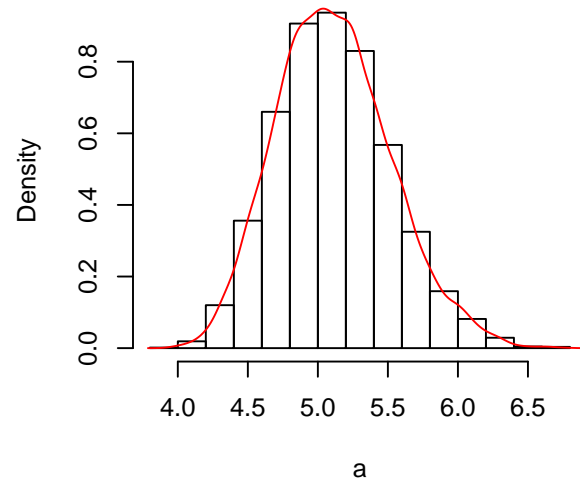
#intervalo para enero - marzo

ICEN.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax,.025),
quantile(ymax,0.975)),cbind(quantile(a,.025),
quantile(a,0.975)),cbind(quantile(c50,.025),quantile(c50,0.975)))
colnames(ICEN.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICEN.boot)<-c("ymax","a","c50")
```

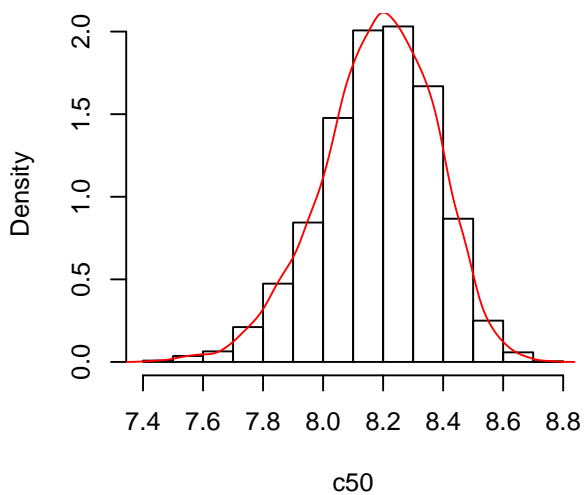
Histogram of ymax



Histogram of a



Histogram of c50



```
## Mar-May
```

```
n = length(estnpMA$ymax)
B = 10000
ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estnpMA$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estnpMA$a[boot.sample])
  c50[i] = mean(estnpMA$c50[boot.sample])
}
ICMA.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax, .025), quantile(ymax, 0.975)),
cbind(quantile(a, .025), quantile(a, 0.975)), cbind(quantile(c50, .025),
```

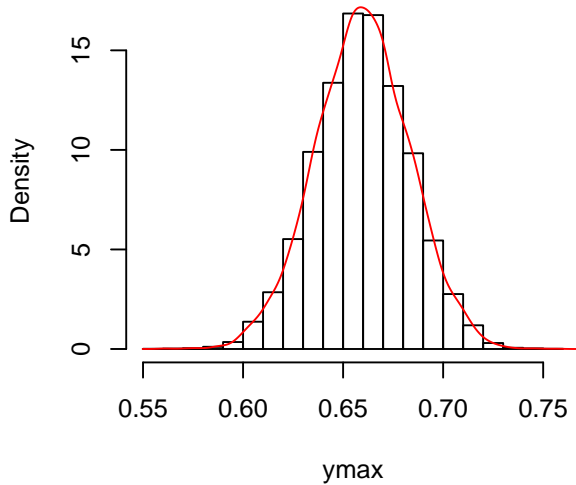


```

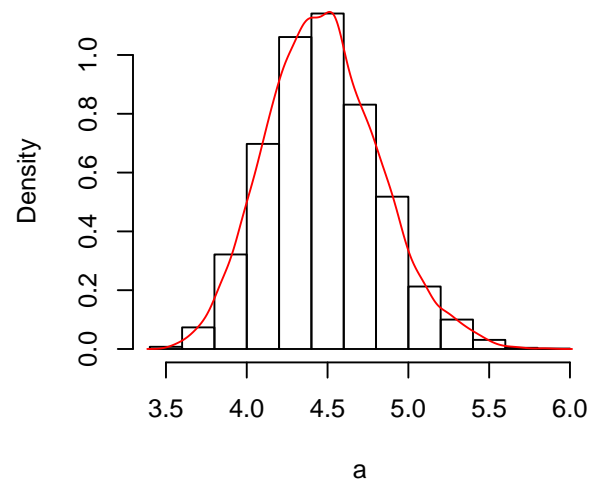
quantile(c50,0.975))
colnames(ICMA.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICMA.boot)<-c("ymax","a","c50")

```

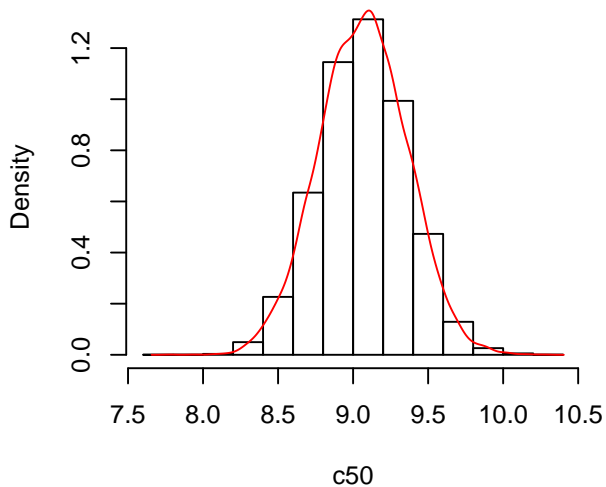
Histogram of ymax



Histogram of a



Histogram of c50



```
## May-Jul
```

```

n = length(estnpAB$ymax)
B = 10000
ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estnpAB$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estnpAB$a[boot.sample])
}

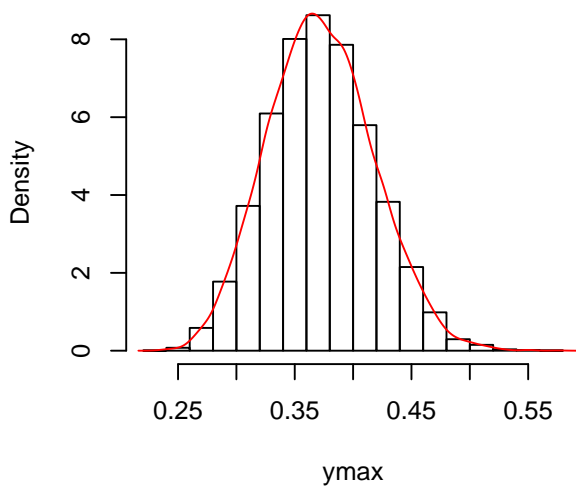
```

```

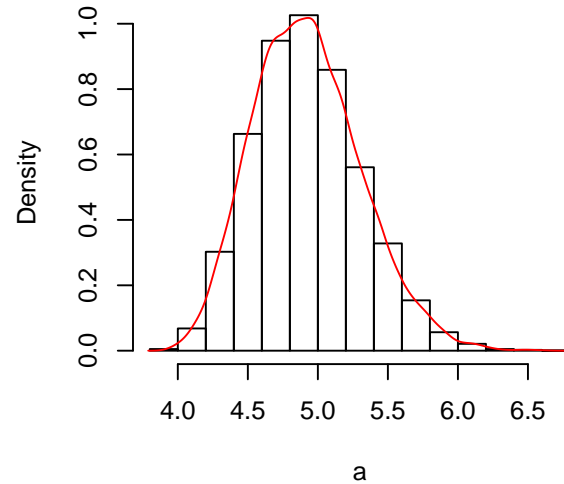
  c50[i] = mean(estnpAB$c50[boot.sample])
}
ICAB.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax,.025),quantile(ymax,0.975)),
cbind(quantile(a,.025),quantile(a,0.975)),cbind(quantile(c50,.025),
quantile(c50,0.975)))
colnames(ICAB.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICAB.boot)<-c("ymax","a","c50")

```

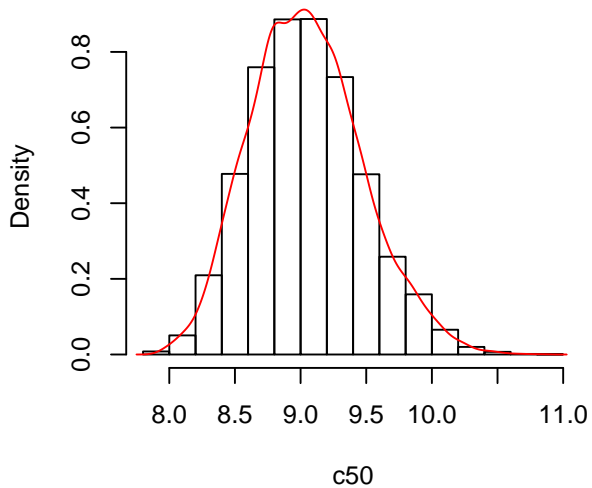
Histogram of ymax



Histogram of a



Histogram of c50



```
## Jul-Sep
```

```

n = length(estnpJU$ymax)
B = 10000
ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)

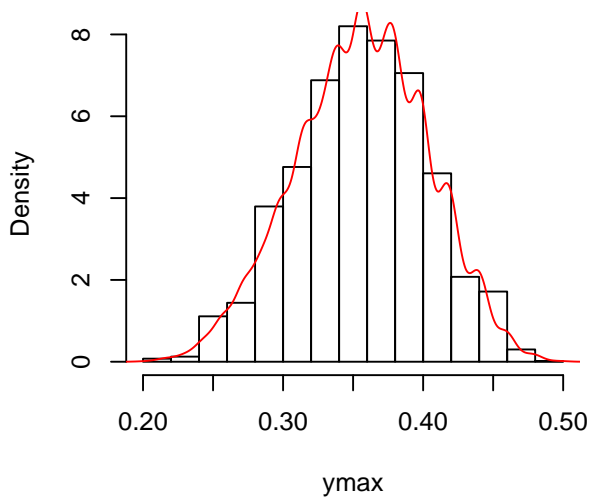
```

```

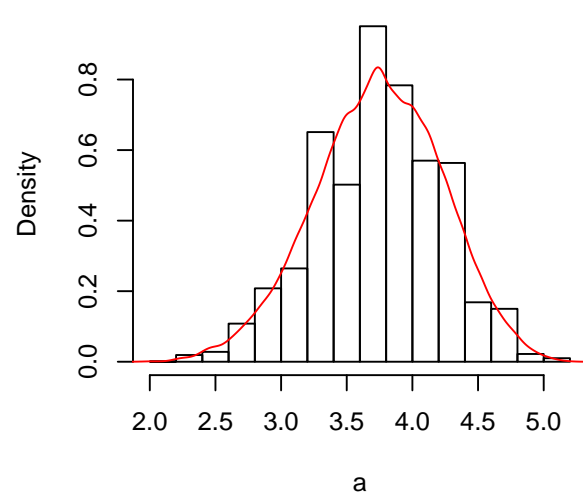
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estnpJU$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estnpJU$a[boot.sample])
  c50[i] = mean(estnpJU$c50[boot.sample])
}
ICJU.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax, .025), quantile(ymax, 0.975)),
cbind(quantile(a, .025), quantile(a, 0.975)), cbind(quantile(c50, .025),
quantile(c50, 0.975)))
colnames(ICJU.boot)<-c("lím inferior", "lím superior")
rownames(ICJU.boot)<-c("ymax", "a", "c50")

```

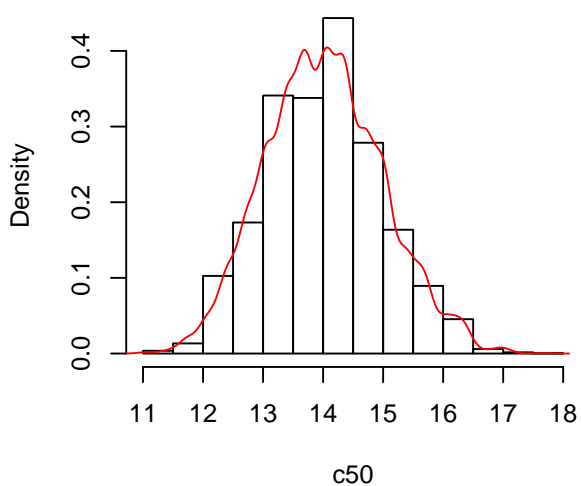
Histogram of ymax



Histogram of a



Histogram of c50



```
## Sep - Nov
```

```

n = length(estnpSE$ymax)
B = 10000

```

```

ymax = rep(NA, B)
a= rep(NA, B)
c50 =rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  ymax[i] = mean(estnpSE$ymax[boot.sample])
  a[i] = mean(estnpSE$a[boot.sample])
  c50[i] = mean(estnpSE$c50[boot.sample])
}
ICSE.boot<-rbind(cbind(quantile(ymax, .025),quantile(ymax,0.975)),
cbind(quantile(a, .025),quantile(a,0.975)),cbind(quantile(c50, .025),
quantile(c50,0.975)))
colnames(ICSE.boot)<-c("lím inferior","lím superior")
rownames(ICSE.boot)<-c("ymax","a","c50")

```

*# intervalos al 95 % por bootstrap*

*ICEN.boot # periodo enero - marzo*

```

##      lím inferior lím superior
## ymax      0.6695931      0.781233
## a          4.3790452      5.993370
## c50        7.7776058      8.513258

```

*ICMA.boot # periodo marzo - mayo*

```

##      lím inferior lím superior
## ymax      0.6128821      0.7061471
## a          3.8389975      5.2160300
## c50        8.4916736      9.6302771

```

*ICAB.boot # periodo mayo - julio*

```

##      lím inferior lím superior
## ymax      0.2884516      0.4632732
## a          4.2584179      5.7435870
## c50        8.2903656      9.9464203

```

*ICJU.boot # periodo julio - septiembre*

```

##      lím inferior lím superior
## ymax      0.2583541      0.4414922
## a          2.7492466      4.6457271
## c50       12.2552674     16.0767828

```

*ICSE.boot # periodo septiembre - noviembre*

```

##      lím inferior lím superior
## ymax      0.4618276      0.6250311
## a          6.5132772      9.1735756
## c50       12.0077488     13.2905294

```

Código en **R** para calcular el intervalo al 95% de confianza por *bootstrap* no paramétrico para el **TMGR** y el **t10** por periodo de enterramiento.

```
#IdeC bootstrap para TMGR En-Ma

n = length(tmgr.en)
B = 10000
tmgr.EN = rep(NA, B)
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  tmgr.EN[i] = mean(tmgr.en[boot.sample])
}

#IdeC bootstrap para TMGR Mar- May

n = length(tmgr.ma)
B = 10000
tmgr.MA = rep(NA, B)
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  tmgr.MA[i] = mean(tmgr.ma[boot.sample])
}

#IdeC bootstrap para TMGR May - Jul

n = length(tmgr.ab)
B = 10000
tmgr.AB = rep(NA, B)
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  tmgr.AB[i] = mean(tmgr.ab[boot.sample])
}

#IdeC bootstrap para TMGR Jul - Sep

n = length(tmgr.ju)
B = 10000
tmgr.JU = rep(NA, B)
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  tmgr.JU[i] = mean(tmgr.ju[boot.sample])
}

#IdeC bootstrap para TMGR Sep - Nov

n = length(tmgr.se)
B = 10000
tmgr.SE = rep(NA, B)
for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
```

```
tmgr.SE[i] = mean(tmgr.se[boot.sample])
}
```

```
#IdeC bootstrap para t10 En-Ma
n = length(t10en)
B = 10000
T10EN = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  T10EN[i] = mean(t10en[boot.sample])}
}
```

```
#IdeC bootstrap para t10 Mar- May
n = length(t10ma)
B = 10000
T10MA = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  T10MA[i] = mean(t10ma[boot.sample])}
}
```

```
#IdeC bootstrap para t10 May - Jul
n = length(t10ab)
B = 10000
T10AB = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  T10AB[i] = mean(t10ab[boot.sample])}
}
```

```
#IdeC bootstrap para t10 Jul - Sep

n = length(t10ju)
B = 10000
T10JU = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  T10JU[i] = mean(t10ju[boot.sample])}
}
```

```
#IdeC bootstrap para t10 Sep - Nov

n = length(t10se)
B = 10000
T10SE = rep(NA, B)

for (i in 1:B) {
  boot.sample = sample(n, replace = TRUE)
  T10SE[i] = mean(t10se[boot.sample])}
}
```

## Resumen del promedio de las estimaciones

```
#promedio y varianza de los estimadores ~ N(estimado, sigma/sqrt(n))

tratnp<-rbind(rbind(apply(estnpEN,2,mean),apply(estnpEN,2,var),
apply(estnpEN,2,sd)/sqrt(14)),rbind(apply(estnpMA,2,mean),apply(estnpMA,2,var),
apply(estnpMA,2,sd)/sqrt(13)),rbind(apply(estnpAB,2,mean),apply(estnpAB,2,var),
apply(estnpAB,2,sd)/sqrt(10)),rbind(apply(estnpJU,2,mean),apply(estnpJU,2,var),
apply(estnpJU,2,sd)/sqrt(5)),rbind(apply(estnpSE,2,mean),apply(estnpSE,2,var),
apply(estnpSE,2,sd)/sqrt(7)))

meses<-gl(5,3,15)
levels(meses)<-c("Ene-Mar","Mar-May","May-Jul","Jul-Sep","Sep-Nov")
tratnp<-as.data.frame(tratnp)
tratnp[,"bimestres"]<-meses
parametros<-rep(c("mean","var","e.e"),5)
tratnp<-cbind(parametros,tratnp)
tratnp["TMGR"]<-TMGR
tratnp<-cbind(tratnp[-5],tratnp[5])

tratnp["t10"]<-t10
tratnp<-cbind(tratnp[-6],tratnp[6])
cbind(tratnp[1],round(tratnp[2:6],3),tratnp[7])

##      parametros  ymax      a      c50      TMGR      t10 bimestres
## 1          mean 0.724 5.109  8.184  7.442  5.613  Ene-Mar
## 2           var 0.012 2.462  0.527  0.535  0.654  Ene-Mar
## 3           e.e 0.029 0.419  0.194  0.196  0.216  Ene-Mar
## 4          mean 0.660 4.475  9.065  7.991  6.009  Mar-May
## 5           var 0.008 1.688  1.179  0.598  0.268  Mar-May
## 6           e.e 0.024 0.360  0.301  0.214  0.144  Mar-May
## 7          mean 0.373 4.920  9.047  8.194  7.641  May-Jul
## 8           var 0.021 1.487  1.823  0.916  3.399  May-Jul
## 9           e.e 0.046 0.386  0.427  0.303  0.583  May-Jul
## 10         mean 0.356 3.747 14.025 11.498 11.531  Jul-Sep
## 11          var 0.014 1.479  5.970  8.164  7.160  Jul-Sep
## 12          e.e 0.052 0.544  1.093  1.278  1.197  Jul-Sep
## 13         mean 0.546 7.739 12.723 12.234 10.411  Sep-Nov
## 14          var 0.014 3.881  0.897  0.757  0.918  Sep-Nov
## 15          e.e 0.045 0.745  0.358  0.329  0.362  Sep-Nov
```





# Apéndice D

En esta sección se presenta el código para generar las gráficas del ajuste del modelo.

- Gráfica del ajuste del modelo de Hill a la curva promedio de germinación por tratamiento de acondicionamiento (fig. 4.2).

```
library(ggplot2)
library(grid)
library(gridExtra)
library(gtable)

#control
mean_control<-apply(control,1,FUN=mean)
sd_control<-apply(control,1,FUN=sd)
e.e_control<-sd_control/sqrt(15)
#hp
mean_hp<-apply(hp,1,FUN=mean)
sd_hp<-apply(hp,1,FUN=sd)
e.e_hp<-sd_hp/sqrt(15)
#np
mean_np<-apply(np,1,FUN=mean)
sd_np<-apply(np,1,FUN=sd)
e.e_np<-sd_np/sqrt(14)

#barras de error
graf<-data.frame(cbind(mean_control,x))
limits<- aes(ymax = mean_control + e.e_control,
  ymin=mean_control - e.e_control)
limits_hp<- aes(ymax = mean_hp + e.e_hp,
  ymin=mean_hp - e.e_hp)
limits_np<- aes(ymax = mean_np + e.e_np,
  ymin=mean_np - e.e_np)

p<-ggplot(data = graf, aes(x = x, y = mean_control)) +
  geom_point(colour = "#FFA500",size=3,fill="#FFFF00",
  shape=21)+
  geom_errorbar(limits, width=0.2,colour = "#FFA500")+
  labs(title = "",
  x = "días",
  y = "germinación acummulada") +
```

```

stat_function(data = as.data.frame(x),
             fun = function(x) ((mean(estC$ymax)*
                                x^mean(estC$a))/
                                (mean(estC$c50)^mean(estC$a)+
                                 x^mean(estC$a))),
             size = .8, aes(colour = "Control"))
p <- p + geom_point(aes(x = x, y = mean_hp), size=3,
colour = "#00688B", fill="#20B2AA", shape=21) +
geom_errorbar(limits_hp, width=0.2, colour = "#00688B")+
stat_function(data = as.data.frame(x),
             fun = function(x) ((mean(estHP$ymax)*
                                x^mean(estHP$a))/
                                (mean(estHP$c50)^mean(estHP$a)+
                                 x^mean(estHP$a))),
             size = .8, aes(colour = "HP"))

p<- p + geom_point(aes(x = x, y = mean_np), size=3,
colour = "#008B00", fill="#7CFC00", shape=21) +
geom_errorbar(limits_np, width=0.2, colour = "#008B00")+
stat_function(data = as.data.frame(x),
             fun = function(x) ((mean(estNP$ymax)*
                                x^mean(estNP$a))/
                                (mean(estNP$c50)^mean(estNP$a)+
                                 x^mean(estNP$a))),
             size = 0.8, aes(colour = "NP")) +
scale_colour_manual("Tratamientos", values = c("#FFA500",
"#00688B", "#008B00"), labels=c("Control\n n = 15", "HP\n n = 15",
"NP\n n = 14"))+
geom_hline(yintercept=0, col="darkgray", alpha=0.75)+
theme(legend.justification=c(1,0), legend.position=c(.95,.1),
legend.title=element_text(size=18))+
theme(legend.background = element_rect(fill="gray90",
size=.5, linetype="dotted"))+
theme(legend.key = element_rect(colour = "black"))+
theme(legend.key.size = unit(1.48, "cm"))+
theme(legend.text = element_text(size = 18))+
theme(axis.text.x = element_text(colour="grey20",
size=16, angle=0, hjust=.5, vjust=.5, face="plain"),
axis.text.y = element_text(colour="grey20",
size=16, angle=0, hjust=1, vjust=0, face="plain"),
axis.title.x = element_text(colour="grey20",
size=18, angle=0, hjust=.5, vjust=0, face="plain"),
axis.title.y = element_text(colour="grey20",
size=18, angle=90, hjust=.5, vjust=.5, face="plain"))

```

- Diagrama de caja y bigote que muestra la el promedio del TMGR por tratamiento de acondicionamiento (fig. 4.3)( El mismo código fue utilizado para graficar el resto de los parámetros).

```

# variable respuesta por factor
Y.tmgr<-c(tmgr.C,tmgr.HP,tmgr.NP)
# niveles del factor
priming<-as.factor(c(rep("C",15),rep("HP",15),
rep("NP",14)))

# lo convertimos en data.frame
TMGRdf<-as.data.frame(cbind(Y.tmgr,priming))
TMGRdf$priming<-as.factor(TMGRdf$priming)
levels(TMGRdf$priming)<-c("C","HP","NP")

# creamos la gráfica
fill<-c("#FFA500","#00688B","#008B00")

ggplot(TMGRdf,aes(priming,Y.tmgr,fill=priming))+
  geom_boxplot(alpha=0.35)+
  stat_summary(fun.y=mean, colour="darkred",
  geom="point", size=3,show_guide = FALSE) +
  stat_summary(fun.y=mean, geom="line", aes(group=1))+
scale_fill_manual(values=fill,guide=F)+labs(title = "",
      x = "tratamientos de acondicionamiento",
      y = "TMGR (días)")+
  annotate("text",.7,9.5,label="A",size=10)+
  annotate("text",1.7,8.5,label="B",size=10)+
  annotate("text",2.7,8.5,label="B",size=10)+
  theme(axis.text.x = element_text(colour="grey20",size=20,
  angle=0,hjust=.5,vjust=.5,face="plain"),
  axis.text.y = element_text(colour="grey20",size=20,
  angle=0,hjust=1,vjust=0,face="plain"),
  axis.title.x = element_text(colour="grey20",size=20,
  angle=0,hjust=.5,vjust=0,face="plain"),
  axis.title.y = element_text(colour="grey20",size=20,
  angle=90,hjust=.5,vjust=.5,face="plain"))

```

- Gráfico de diagnóstico del modelo lineal para el TMGR (fig. 4.4)( El mismo código fue utilizado para graficar el resto de los parámetros).

```

# Modelo lineal
Mod.tmgr<-lm(Y.tmgr~priming)

# Función para crear gráfico qq-norm
ggqnorm <- function(LM) # argumento: modelo lineal
{
  y <- quantile(LM$resid[!is.na(LM$resid)], c(0.25, 0.75))
  x <- qnorm(c(0.25, 0.75))
  slope <- diff(y)/diff(x)
  int <- y[1L] - slope * x[1L]
  p <- ggplot(LM, aes(sample=.resid)) +

```

```

stat_qq(alpha = 0.5) +
geom_abline(slope = slope, intercept = int,
color="darkblue")+labs(title= "qqnorm-plot")

return(p)
}
plot1<-ggqqnorm(Mod.tmgr)

#residuales del modelo
e<-Mod.tmgr$res

# Gráfico de residuales vs. ajustados

plot2<-ggplot(data = data.frame(x = Mod.tmgr$fit, y = e), aes(x = x, y = y)) +
geom_point(colour = "#00688B", size = 3) +
labs(title = "Residuales",
x = "estimados",
y = "residuales")+geom_hline(yintercept=0,col="darkblue")

# raíz cuadrada de los residuales estandarizados

s <- sqrt(deviance(Mod.tmgr)/df.residual(Mod.tmgr))
rs <- e/s
e.std<-sqrt(abs(rs))

# Gráfico de residuales estandarizados vs. ajustados

plot3<-ggplot(data = data.frame(x = Mod.tmgr$fit, y = e.std), aes(x = x, y = y)) +
geom_point(colour = "#00688B", size = 3) +
labs(title = "Residuales estandarizados",
x = "estimados",
y = expression(sqrt(res.estandarizados))) + geom_smooth()

# Histograma de los residuales

plot4<-ggplot(Mod.tmgr, aes(x=e))+ geom_histogram(aes(y=..density..),
colour = "darkblue", alpha=.5,fill = "skyblue", binwidth = 0.4)+
labs(title = "Histograma de Residuales ",
x = "residuales",
y = "frecuencia")

```

- Código para generar los gráficos de las *DI* (fig. 4.13,4.14,4.15,4.16).

```

# Funciones del modelo de Hill por tratamiento

hillC<-function(x){
((mean(estC$ymax)*
x^mean(estC$a)))/

```

```

      (mean(estC$c50)^mean(estC$a)+
        x^mean(estC$a)))}
hillHP<-function(x){
  ((mean(estHP$ymax)*
    x^mean(estHP$a))/
    (mean(estHP$c50)^mean(estHP$a)+
      x^mean(estHP$a))))}
hillNP<-function(x){
  ((mean(estNP$ymax)*
    x^mean(estNP$a))/
    (mean(estNP$c50)^mean(estNP$a)+
      x^mean(estNP$a))))}
# Función para delimitar el área de integración
limitRange <- function(fun, min, max) {
  function(x) {
    y <- fun(x)
    y[x < min | x > max] <- NA
    return(y)
  }
}

#### DI 15 días ####

# control vs HP

C_HP15<-ggplot(data = graf, aes(x = x)) +
  stat_function(fun=hillC,aes(colour = "Control"))+
  stat_function(fun = limitRange(hillC, 0, 15),
    geom="area", fill="#FFA500", alpha=0.2)+
  stat_function(fun=hillHP,aes(colour = "HP"))+
  stat_function(fun = limitRange(hillHP, 0, 15),
    geom="area", fill="#00688B", alpha=0.2)+
  scale_colour_manual("", values = c("#FFA500", "#00688B"))+
  geom_hline(yintercept=0,col="darkgray",alpha=0.75)+
  geom_vline(xintercept=0,col="darkgray",alpha=0.75)+
  labs(title = "",
    x = "",
    y = "")+
  annotate("text",22,0.4,label="integral((y[C]-y[HP])*dt, 0, 15)",
    parse=T,size=6)

# control vs NP

C_NP15<-ggplot(data = graf, aes(x = x)) +
  stat_function(fun=hillC,aes(colour = "Control"))+
  stat_function(fun = limitRange(hillC, 0, 15),
    geom="area", fill="#FFA500", alpha=0.2)+
  stat_function(fun=hillNP,aes(colour = "NP"))+
  stat_function(fun = limitRange(hillNP, 0, 15),
    geom="area", fill="#008B00", alpha=0.2)+

```

```

scale_colour_manual("", values = c("#FFA500", "#008B00"))+
geom_hline(yintercept=0,col="darkgray",alpha=0.75)+
geom_vline(xintercept=0,col="darkgray",alpha=0.75)+
labs(title = "",
      x = "",
      y = "ge")+
annotate("text",22,0.4,label="integral((y[C]-y[NP])*dt, 0, 15)",
         parse=T,size=6)

```

# HP vs NP

```

HP_NP15<-ggplot(data = graf, aes(x = x)) +
  stat_function(fun=hillHP,aes(colour = "HP"))+
  stat_function(fun = limitRange(hillHP, 0, 15),
               geom="area", fill="#00688B", alpha=0.2)+
  stat_function(fun=hillNP,aes(colour = "NP"))+
  stat_function(fun = limitRange(hillNP, 0, 15),
               geom="area", fill="#008B00", alpha=0.2)+
  scale_colour_manual("", values = c("#00688B", "#008B00"))+
  geom_hline(yintercept=0,col="darkgray",alpha=0.75)+
  geom_vline(xintercept=0,col="darkgray",alpha=0.75)+
  labs(title = "",
        x = "",
        y = " ")+
  annotate("text",22,0.4,label="integral((y[HP]-y[NP])*dt, 0, 15)",
         parse=T,size=6)

```

- Código para generar la gráfica 4.17 que muestra el ajuste de las curvas de germinación de acuerdo a los bimestres de enterramiento.
- Función para graficar un *qqplot* con bandas de confianza (4.18,4.26,4.22,4.20,4.24).

```

gg_qq <- function(lm, distribution = "norm", ...,
  line.estimate = NULL, conf = 0.95,
  labels = names(x)){
  q.function <- eval(parse(text = paste0("q", distribution)))
  d.function <- eval(parse(text = paste0("d", distribution)))
  x <- rstandard(lm)
  x <- na.omit(x)
  ord <- order(x)
  n <- length(x)
  P <- ppoints(length(x))
  df <- data.frame(ord.x = x[ord], z = q.function(P, ...))

  if(is.null(line.estimate)){
    Q.x <- quantile(df$ord.x, c(0.25, 0.75))
  }
}

```

```

Q.z <- q.function(c(0.25, 0.75), ...)
b <- diff(Q.x)/diff(Q.z)
coef <- c(Q.x[1] - b * Q.z[1], b)
} else {
  coef <- coef(line.estimate(ord.x ~ z))
}

zz <- qnorm(1 - (1 - conf)/2)
SE <- (coef[2]/d.function(df$z)) * sqrt(P * (1 - P)/n)
fit.value <- coef[1] + coef[2] * df$z
df$upper <- fit.value + zz * SE
df$lower <- fit.value - zz * SE

if(!is.null(labels)){
  df$label <- ifelse(df$ord.x > df$upper | df$ord.x < df$lower, labels[ord], "")
}

p <- ggplot(df, aes(x=z, y=ord.x)) +
  geom_point(shape=21, size=4.5, fill="steelblue3", col="turquoise4") +
  labs(title="Normal Q-Q",
       x="Cuantiles teóricos",
       y="Residuales estandarizados")+
  geom_abline(intercept = coef[1], slope = coef[2], size=1.5, col="grey24") +
  geom_ribbon(aes(ymin = lower, ymax = upper), alpha=0.2) +
  theme(axis.text.x = element_text(colour="grey20", size=20,
    angle=0, hjust=.5, vjust=.5, face="plain"),
        axis.text.y = element_text(colour="grey20", size=20,
    angle=0, hjust=1, vjust=0, face="plain"),
        axis.title.x = element_text(colour="grey20", size=20,
    angle=0, hjust=.5, vjust=0, face="plain"),
        axis.title.y = element_text(colour="grey20", size=20,
    angle=90, hjust=.5, vjust=.5, face="plain"),
        plot.title = element_text(colour="grey20", size=20,
    angle=0, hjust=.5, vjust=.5, face="plain"))

if(!is.null(labels)) p <- p + geom_text( aes(label = label),
  hjust=0, vjust=0, size=12)
print(p)
}

#ejemplo

gg_qq(lm(Y.tmgr~bimestres))

```





# Bibliografía

- Baskin, C. C. y Baskin, J. M. (1998). *Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Academic Press.
- Bates, M. y Watts, D. (1998). *Nonlinear Regression Analysis and its Applications*. John Wiley and Sons.
- Bazzaz, F. (1996). *Plants in Changing Environments: linking physiological, population, and community ecology*. Cambridge University Press.
- Belmont, J. (2014). Efecto del acondicionamiento en la germinación de semillas de *Penstemon roseus* (plantaginaceae) y *Castilleja tenuiflora* (orobanchaceae). Master's thesis, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Benítez-Rodríguez, L., Gamboa-deBuen, A., Sánchez-Coronado, M. E., Alvarado-López, S., Soriano, D., Méndez, I., Vázquez-Santana, S., Carabias-Lillo, J., Mendoza, A., y Orozco-Segovia, A. (2014). Effects of seed burial on germination, protein mobilisation and seedling survival in *Dodonaea viscosa*. *Plant Biology*, 16(4):732–739.
- Berry, G. J., Cawood, R. J., y Flood, R. G. (1988). Curve fitting of germination data using the richards function. *Plant, Cell and Environment*, 11(3):183–188.
- Bewley, J. y Black, M. (1994). *Seeds: physiology of development and germination*. Plenum.
- Bonner, F. y Dell, T. (1976). The weibull function: a new method of comparing seed vigor. *Journal of Seed Technology*, pages 96–103.
- Bradford, K. J. y Nonogaki, H. (2007). *Seed development, dormancy and germination*. Blackwell.
- Campbell, R. K. y Sorensen, F. C. (1979). A new basis for characterizing germination. *Journal of seed technology*, pages 24–34.
- Cave, R. L., Birch, C. J., Hammer, G. L., Erwin, J. E., y Johnston, M. E. (2011). Cardinal temperatures and thermal time for seed germination of *brunonia australis* (goodeniaceae) and *calandrinia* sp.(portulacaceae). *HortScience*, 46(5):753–758.
- Dunn, O. J. (1964). Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics*, 6(3):241–252.
- El-Kassaby, Y. A., Moss, I., Kolotelo, D., y Stoehr, M. (2008). Seed germination: mathematical representation and parameters extraction. *Forest Science*, 54(2):220–227.
- Faraway, J. (2006). *Extending the Linear Model with R*. Chapman and Hall/CRC.
- Gamboa-de Buen, A., Cruz-Ortega, R., Eleazar, M., Sánchez-Coronado, M., y A., O.-S. (2006). Natural conditioning as an important metabolic event in the life history of *Wigandia urens* (hydrophyllaceae) seeds. *Physiologia Plantarum*, 128:520–530.

- González-Zertuche, L., Orozco-Segovia, A., Baskin, C., y Baskin, J. (2002). Effects of priming on germination of *Buddleja cordata* ssp. *cordata* (loganiaceae) seeds and possible ecological significance. *Seed Science and Technology*, 30:535–548.
- González-Zertuche, L., Orozco-Segovia, A., y Vázquez-Yanes, C. (2000). El ambiente de la semilla en el suelo: su efecto en la germinación y en la sobrevivencia de la plántula. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 65:73–81.
- González-Zertuche, L., Vázquez-Yanes, C., Gamboa, A., Sánchez-Coronado, M. Aguilera, P., y Orozco-Segovia, A. (2001). Natural conditioning of *Wigandia urens* seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression. *Seed Science Research*, 11(1):27–34.
- Goutelle, S., Maurin, M., Rougier, F., Barbaut, X., Bourguignon, L., Ducher, M., y Maire, P. (2008). The hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 22(6):633–648.
- Hartmann, H; Kester, D. y Davies, F. (1990). *Plant propagation: principles and practices*. Prentice Hall.
- Hill, A. (1910). The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.*, 40:iv—vii.
- Holford, N. y Sheiner, L. (1980). Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling in vivo. *Critical reviews in bioengineering*, 5(4):273–322.
- Holmgren, N. H. (1976). Four new species of mexican castilleja (subgenus castilleja, scrophulariaceae) and their relatives. *Brittonia*, 28(2):195–208.
- Joosen, R. V. L., Kodde, J., Willems, L. A. J., Ligterink, W., van der Plas, L. H. W., y Hilhorst, H. W. (2010). germinator: a software package for high-throughput scoring and curve fitting of arabidopsis seed germination. *The Plant Journal*, 62(1).
- Keele, L. (2008). *Semiparametric Regression for the Social Sciences*. John Wiley and Sons Ltd.
- Martínez-Orea, Y., Castillo-Argüero, S., Romero-Romero, A., R., C.-D., Gabriela, I., Reyes, G., Pizaro, C., Santibáñez, G., y Castro, C. (2012). *Diásporas de la cuenca del río Magdalena*. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Nelson, D. y Cox, M. (2008). *Lehninger Principles of biochemistry*. W.H. Freeman and Company.
- Nicasio-Arzeta, S., Sánchez-Coronado, M. E., Orozco-Segovia, A., y Gamboa-de Buen, A. (2011). Efecto del precondicionamiento y el sustrato salino en la germinación y crecimiento de plántulas de maíz (*Zea mays*) raza chalqueño. *Agrociencia*, 45:195–205.
- Orozco-Segovia, A. y Sánchez-Coronado, M. E. (2013). *Biología de Angiospermas*, chapter La germinación, pages 219–222. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Prinz, H. (2010). Hill coefficients, dose–response curves and allosteric mechanisms. *Journal of Chemical Biology*, 3(1):37–44.
- Rahman, M., Ahammad, K., y Alam, M. (2001). Effect of soaking condition and temperature on imbibition rate of maize and chickpea seeds. *Research Journal of Seed Science*, 4(2):117–124.
- Richter, D. y Switzer, G. (1982). A technique for determining quantitative expressions of dormancy in seeds. *Annals of Botany*, 50(4):459–463.

- Ritz, C. y Streibig, J. (2008). *Nonlinear Regression with R*. Springer.
- Rzedowski, G. C. y Rzedowski, J. (2005). *Flora fanerogámica del Valle de México*. Instituto de Ecología, A. C., CONABIO.
- Silvertown, J., Francisco-Ortega, J., y Carine, M. (2005). The monophyly of island radiations: an evaluation of niche pre-emption and some alternative explanations. *Journal of Ecology*, 93(4):653–657.
- Sánchez, J., Muñoz, B., y Montejó, L. (2003). Efectos de tratamientos robustecedores de semillas sobre la germinación y establecimiento de árboles pioneros bajo condiciones de estrés. 16(2):91–112.
- Sánchez, J., Orta, R., y Muñoz, B. (2001). Tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación de las semillas y sus efectos en plantas de interés agrícola.
- W. J. Conover, Mark E. Johnson, M. M. J. (1981). A comparative study of tests for homogeneity of variances, with applications to the outer continental shelf bidding data. *Technometrics*, 23(4):351–361.
- Weiss, J. (1997). The hill equation revisited: uses and misuses. *The Federation of American Societies for Experimental Biology*, 11(11):835–841.
- Zuur, F. A., Ieno, N. E., Walker, J. N., Saveliev, A. A., y Smith, M. G. (2009). *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer.