



Video tutorials to support the

# Best Practice Guide for Multiple Drivers Marine Research

---

## Desenho Experimental para estudos com forçantes múltiplas

- Tutorial:** O vídeo tutorial [Desenho Experimental](#) pode ser encontrado no canal do YouTube [MEDDLE para pesquisas com forçantes múltiplas](#).
- Apresentador:** [Jon Havenhand](#), Universidade de of Gothenburg, Suécia
- Vídeo:** [Christina McGraw](#), Universidade de Otago, Nova Zelândia
- Transcrição :** Rebecca Zitoun, Universidade de Otago, Nova Zelândia
- Recursos:** O conjunto de recursos para o *Guia de Boas Práticas para Forçantes Múltiplas* estão disponíveis no sítio de web do [MEDDLE](#).
- 

### 0:00 – Introdução

Você provavelmente já compreende este conceito, mas uma das coisas mais importantes que precisamos fazer quando iniciamos o desenho de um experimento é resolver “o que será incluso em nosso experimento?” Assim, precisamos primeiro fazer uma lista de todos os fatores, aqui chamados de forçantes, que podem interferir no que estamos interessados em saber. No caso de você ainda não ter assistido, existe um vídeo excelente que faz parte desta série de [vídeos](#) tutoriais preparado por feito por Philip Boyd que fala sobre “como gerar um inventário de fatores e como você pode começar a selecionar aquelas forçantes mais interessantes”. Então, eu recomendo que primeiro você assista a esse vídeo, caso ainda não o tenha feito.

Mas vamos assumir que eu já tenha assistido ao vídeo, e que eu esteja interessado nos impactos da pressão do CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>), que aumentará com as mudanças climáticas. Eu também estou interessado nos efeitos do oxigênio, que irá provavelmente diminuir na região onde eu trabalho, na Escandinávia. E, eu também estou interessado nos efeitos de uma maior contribuição dos aportes continentais, que fará, provavelmente, com que a salinidade ali diminua. Portanto, eu três forçantes me interessam. Tenho os valores atuais e valores futuros esperados da pCO<sub>2</sub>, e a mesma situação para o oxigênio e a salinidade, e seus valores atuais e esperados para o futuro. Assim, esse meu experimento tem um desenho 2 por 2 por 2,

portanto  $2^3$ , que resulta em 8 combinações de tratamentos. Esta é a tradicional ANOVA fatorial completa, e eu posso fazer isso.

Porém, realisticamente, eu sei que devem acontecer coisas bem interessantes entre os dois valores atuais e futuros de  $p\text{CO}_2$  escolhidos. Eu antecipo que a resposta para o oxigênio não deva ser linear, e realisticamente, não tenho muita certeza sobre a resposta da salinidade. Assim, posso querer incluir mais que apenas 2 níveis em cada um destes. E vamos supor que eu esteja realmente interessado na  $p\text{CO}_2$ , e assim, digamos que eu queira explorar 5 ao invés de 2 níveis apenas. Posso selecionar um valor pré-industrial, o valor atual, o valor esperado para 2100, e quem sabe, um valor entre os dois últimos e um outro valor esperados mais no futuro.

Então agora eu tenho 5 níveis diferentes de  $p\text{CO}_2$ . Realisticamente, se eu for tentar observar uma resposta normal, e se eu quero obter um curva decente das respostas obtidas a partir das diferentes concentrações de oxigênio, ou diferentes graus de hipóxia na verdade, uma vez que o oxigênio irá decrescer, então eu preciso de pelo menos 3 pontos. Vamos então dizer que teremos 5 desses e também, e por gostarmos de fazer experimentos completos, nós teremos igualmente 5 salinidades. Porque não ?!?. Assim, agora temos 5 por 5 por 5.

De repente, meu desenho experimental passou de  $2^3$  para  $5^3$  combinações de tratamentos, que é 125! E aqui está uma combinação de 125 tratamentos todas empilhadas, 5 por 5 por 5. Aqui existem 125 frascos, e agora eu fiquei pensando, com as variáveis respostas que estou



trabalhando, eu posso ser capaz de medir tudo o que eu preciso medir no tempo disponível usando este desenho, porém ele ainda não seria replicado. Eu tenho apenas uma combinação de tratamentos individual aqui, e como eu vou fazer para replica isso.

### **3:01 min – Opção 1: Replicar no tempo**

Uma opção é fazer esse desenho essa semana e não replica-lo. Vejamos, meu experimento vai me tomar cerca de 3 a 4 dias mais algum tempo para montá-lo e desmontá-lo. Então, eu posso provavelmente fazer esse experimento em uma semana. Posso executa-lo essa semana.

Agora, um ponto importante para fazermos neste ponto é que nós montamos esse desenho para parecer que aqui estaria um tratamento aumentando, aqui estaria o outro tratamento aumentando, e aqui estaria o outro tratamento aumentando. As cores estão coordenadas para que você possa ver esse gradiente facilmente de uma forma clara, e esse é o ponto que queremos fazer.

Eu nunca faria um experimento desta maneira. Esses frascos aqui estão todos mais próximos a janela, esses aqui todos mais próximos ao corredor ali, esses aqui todos na sombra, esses aqui na luz, e esses aqui estão mais próximos de mim, e sabe-se lá o que pode acontecer com eles. Você também não faria dessa forma, certo? Você iria dispor os frascos de forma aleatória, correto? Não faça desta forma, é apenas uma maneira de ilustrar.

Assim, posso fazer este experimento durante essa semana, obter dados, e repeti-lo na semana seguinte, obtendo mais dados. E posso fazer mais um na semana subsequente, e obter ainda mais dados. Note que replicar no tempo adiciona variabilidade. Mas realisticamente, isso talvez não tenha problema algum, já que a variabilidade estará associada a erros de amostragem e a ruídos do procedimento geral, contribuindo para o erro que deverá ser considerado nas análises subsequentes. A vantagem de replicar no tempo é que você pode replicar, dentro de um limite razoável, quantas vezes quiser. Você pode continuar com os experimentos até ter o poder estatístico suficiente para detectar os efeitos que deseja detectar.

#### **4:27 min – Opção 2: Vetores principais**

Se você não irá replica no tempo, então nós temos de encontrar uma outra forma de realizar nossos experimentos e reduzir as 125 combinações de tratamento para algo mais manejável, e isso, poderemos replicar durante o tempo de um experimento. E, como fazemos isso?! Uma opção óbvia seria dizer: *‘bem, na verdade, eu estou realmente interessado no que acontece nesse frasco aqui? Ou nesta combinação de tratamento bem aqui? Ou o que realmente me interessa é o que acontece neste vetor primário aqui, e em esse vetor primário aqui, e neste outro vetor primário?’*. Quer dizer, os 3 fatores principais, quer dizer, nossa pCO<sub>2</sub>, nosso oxigênio, e nossa salinidade, e talvez a combinação dos 3, na diagonal que corta o meio deste cubo começando aqui em baixo e terminando aqui em cima. Porque isso irá me dizer sobre os efeitos individuais da salinidade, os efeitos individuais do oxigênio, os efeitos individuais das pCO<sub>2</sub>, e os efeitos combinados dos 3. O experimento não vai me dizer nada sobre interações de duas vias, mas eu talvez não esteja realmente interessado nelas. Então, como isso iria parecer?! Com a ajuda da minha varinha (5:40 min)...

Então, agora temos os 3 vetores primários, a  $p\text{CO}_2$ , o oxigênio, e a salinidade, e podemos avaliar o que cada um deles está fazendo independentemente. Mas nós temos apenas as interações em 3 vias entre eles, que é a nossa projeção no futuro dos efeitos combinados da  $p\text{CO}_2$ , oxigênio, e salinidade, progressivamente no futuro. Desta forma, esse desenho nos oferece um cenário do futuro, e também algum conhecimento mecanicista, mas estamos perdendo as interações de duas vias entre as variáveis. Assim, estamos deixando de compreender alguns dos mecanismos com este desenho.



### **6:30 min - Opção 3: Cenários**

Se esse ultimo desenho amostral ainda parece muito grande, então podemos nos perguntar: *‘se iremos reduzir isso, e nós não queremos saber o que acontece em cada uma dessas combinações de tratamento diferentes, então o que realmente queremos saber?’*. E isso é realmente uma questão de: *‘nós queremos esse desenho complete ou o que queremos saber é o que provavelmente acontecerá, por exemplo, em cenários futuros?’*. Onde isso está hoje, esta é a nossa condição do ambiente atual, então essa é a nossa  $p\text{CO}_2$  de hoje, oxigênio atual, salinidade atual, e esse aqui é um mundo futuro, acidificado, anóxico, e menos salino. Assim, na verdade, o que queremos saber não está nesses vetores principais, e sim na diagonal que os cruza. É o cenário. Sim, hipóxia, salinidade e  $p\text{CO}_2$  foram concatenados mas se tudo que queremos descobrir no final é o que irá acontecer no futuro, e se estamos seguros que os oceanos futuros serão assim, então isso é tudo que precisamos, certo?! E podemos replicar esse desenho muito facilmente, porque isso é 1,2,3,4,5 combinações de tratamento diferentes. Assim, com a ajuda de minha varinha mágica de novo (7:40 min)...

O que agora restou para nós foi a diagonal cortando as 3-dimensões da matriz com todas as combinações de experimentos. Então, temos o menor valor para a  $p\text{CO}_2$ , o próximo valor mais alto, o terceiro mais alto, o quarto mais alto, e assim por diante, mas estes se confundem com valores esperados de oxigênio e salinidade para cada nível. O que temos aqui é um cenário. Como existem apenas 5 combinações de tratamentos, podemos facilmente replicar o experimento e ter uma boa ideia que como essas forçantes covariantes irão influenciar nossa resposta no futuro. Mas com este desenho não aprenderemos nada sobre como cada uma das forçantes operam individualmente.



#### **8:33 min - Opção 4: Fatores concatenados**

Uma outra forma de reduzir o tamanho do desenho deste experimento, e assim facilitar a sua replicação, é nos perguntar mais uma vez ‘*o que é que nós realmente queremos saber?*’. Agora, se você se recorda do começo deste vídeo, quando eu disse que eu realmente estava interessado nos efeitos da  $p\text{CO}_2$ , e por esta razão eu gostaria de ter 5 níveis distintos de  $p\text{CO}_2$  para ter respostas com uma boa resolução. E aí eu me empolguei e adicionei 5 níveis de oxigênio e 5 níveis de salinidade, e ficamos com esse problemão aqui.

Mas se o que eu realmente estou interessado é o efeito das mudanças da  $p\text{CO}_2$ , eu posso assim manter os cinco níveis de  $p\text{CO}_2$  e apenas colapsar as 2 variáveis, salinidade e oxigênio ou hipóxia, como uma única variável. Deixemo-las covariar. Poderiam haver mais forçantes aqui, mas eu tenho apenas essas 2 a mais. Assim, e iremos gerar um desses desenhos compactos como são chamados, o que outras pessoas têm usado - Philip Boyd e colaboradores publicaram sobre isso ([Nature Climate Change volume 6, pages 207–213 \(2016\)](#)) e você pode encontrar essa referencia no nosso website -, como seria que um desses desenhos colapsados se pareceriam aqui se transformássemos esse desenho aqui em um desses. Então, novamente com a ajuda de minha varinha mágica (9:43 min)...

Certo, se o que queremos é reduzir isso ainda mais, podemos nos perguntar a mesma questão básica uma outra vez ‘*qual é a principal forçante que nos interessa aqui?*’. E neste caso, é a  $p\text{CO}_2$ , no seu sentido vertical. Assim, teremos de combinar as outras 2 forçantes neste caso. Nós temos oxigênio nessa direção e salinidade nessa outra direção. Então vamos

usar todos os 5 valores de  $p\text{CO}_2$  nas concentrações atuais de oxigênio e nos valores atuais de salinidade, e também todos os mesmos valores  $p\text{CO}_2$  para os valores futuros de oxigênio e de salinidade. E vou eliminar todo o resto. Então temos agora todos os 5 valores para a  $p\text{CO}_2$  em valores atuais de oxigênio e salinidade, e todos os 5 valores da  $p\text{CO}_2$  e os valores futuros de oxigênio e salinidade e perdemos todo o resto do desenho. Retivemos a resolução referente aos valores de  $p\text{CO}_2$ , e eliminamos todo o resto relacionado a covariância entre o oxigênio e a salinidade. Mas se você quiser simplificar isso ainda mais, particularmente se você precisar de um número maior de réplicas, 10 combinações de tratamentos podem ainda ser muitas amostras para lidar. Nós podemos cortar este numero eliminando os 3 valores intermediários de  $p\text{CO}_2$ 's, então teríamos valores atuais da  $p\text{CO}_2$  futuros da  $p\text{CO}_2$ , atual e futuro em cada um, e oxigênio e salinidade atual, e oxigênio e salinidade futuros. Assim, vamos fazer isso (11:19 min)...

E agora temos aquele desenho compacto descrito em [Boyd et al.](#) Temos oxigênio e salinidades atuais em níveis atuais e futuros de  $p\text{CO}_2$  e future  $p\text{CO}_2$ , e oxigênio e salinidades futuras em níveis atuais e futuros  $p\text{CO}_2$ . O exemplo dado por [Boyd et al.](#) compactou um número maior de forçantes que apenas oxigênio e salinidade, mas o desenho é essencialmente o mesmo. Nós temos 4 combinações de tratamentos e podemos replica-los muitas vezes assim.



### **11:46 min - Sumário**

Agora que você tem algumas opções de como nós podemos lidar com replicar um desenho completo contendo 5 níveis  $p\text{CO}_2$ , 5 níveis de oxigênio e 5 níveis de salinidade, ou qualquer outras forçantes que você possa estar interessado. Você pode ser capaz de replicar no tempo, ou não conseguir repetir o experimento em diferentes tempos. Mas, na verdade, antes de decidir qual desenho ou estratégia para replicação é a melhor, você precisa se perguntar muitas vezes '*Para que eu preciso saber isso? O que é que eu realmente preciso compreender?*'.

Se eu estou interessado na mecânica de como a  $p\text{CO}_2$ , e oxigênio, e a salinidade, influenciam a variável resposta do meu sistema, a eu realmente quero compreender todas as

nuanças que existem ali, então talvez esse desenho completo com 125 combinações de tratamentos, é o que eu preciso fazer. E aí, eu terei de replicar no tempo, ou arrumar um financiamento maior, ou convencer alguns colegas a vir e me ajudar a rodar 3 experimentos completos ao mesmo tempo. Não sei, ou qualquer outra solução que você tenha. Você deverá, dependendo do seu Sistema, ser capaz de replicar isso no espaço e no mesmo tempo, é bem improvável, porque você terá de ser capaz de medir a variável resposta em todos esses frascos.

Assim, esta é uma das opções, que será na verdade, a única opção provavelmente, se o que você realmente precisar saber absolutamente tudo sobre as diferentes combinações aqui dentro. Mas existem outras opções também. Nós vimos, por exemplo, os vetores principais, que apenas observam os efeitos das principais forçantes do sistema. Os 3 eixos principais neste cubo, e a diagonal que passa entre eles, os combinando. Então isso irá nos dizer alguma informação mecanicista. Irá nos dizer o que cada um destas 3 forçantes, pCO<sub>2</sub>, oxigênio e salinidade, estão fazendo em nosso sistema, e o que a combinação dos mesmos no futuro irá fazer. Então isso irá nos dizer algo no meio do caminho entre a opção mecanicista e a outra opção que apenas olha para a diagonal, desde a base nas condições atuais até o futuro.

Nós também olhamos a pouco para o vetor diagonal 3-D. Isto é simplesmente olhar para o cenário futuro. Então isso é colocar nosso oxigênio, nossa pCO<sub>2</sub>, e a nossa salinidade juntos. Eles estão covariando nos valores que são projetados para o futuro, e nós não sabemos quais deles está sendo mais importante guiando as alterações no futuro de nossa variável resposta. Mas isso pode não ser tão interessante, se o que nós precisamos fazer é informar tomadores de decisão. Se tudo o que queremos dizer é *‘isso é como o oceano futuro irá influenciar as taxas de respiração ou qualquer outra resposta?’*, então podemos fazer isso com um desenho como este. Ele tem suas desvantagens, já que não saberemos nada mais que estaria acontecendo. Mas temos apenas 5 combinações de tratamentos aqui, então Podemos replica-lo muito bem e obter muito poder estatístico.

E por fim existem desenhos que são um pouco mais complexos como o desenho compacto que apresentamos para vocês, quando você foca na forçante que mais lhe interessa, pCO<sub>2</sub>, e você compacta as outras 2. E apenas tem um desenho de 2 vias, onde o segundo fator é na verdade um fator combinado, no nosso caso, salinidade e oxigênio, mas poderiam haver mais forçantes no conjunto se necessário. Você embaralha essas forçantes extra, então não sabe o papel de cada uma separado., mas se você está mesmo interessado nos efeitos, como no nosso caso, da pCO<sub>2</sub>, então este desenho vai lhe dizer o que você precisa saber.

## 14:47 – *Vantagens e Desvantagens*

Por fim, vantagens e desvantagens. Cada um desses desenhos diferentes terá distintas opções de análises de dados, e diferentes exigências relacionadas a quantas replicações são necessárias, que indicarão o quão fácil será obter as informações desejadas. Em cada um deles igualmente haverá implicações do que não poderá ser descoberto, então você precisa pensar igualmente sobre o que o desenho não pode lhe dizer. Eu não irei lidar com estes assuntos, mas Peter Dillingham preparou um [vídeo](#) excelente sobre como você avança ao próximo passo que é como irá analisar cada um desses diferentes tipos de desenhos. Eu recomendo que você assista a ele.

