



Video tutorials to support the

Best Practice Guide for Multiple Drivers Marine Research

Diseño experimental para estudios con forzantes multiples

- Tutorial:** El video tutorial de [diseño experimental](#) se puede encontrar en el canal de YouTube [MEDDLE for Multiple Drivers Research](#).
- Ponente:** [Jon Havenhand](#), University of Gotemburgo, Suecia
- Video:** [Christina McGraw](#), University of Otago, Nueva Zelanda
- Transcripciones:** Rebecca Zitoun, University of Otago, Nueva Zelanda
Jorge Navarro, Universidad Austral de Chile, Chile (Spanish)
- Recursos:** Los recursos completos para la *Guía de Mejores Prácticas para la Investigación Marina de Forzantes Múltiples* están disponibles en el sitio web de [MEDDLE](#).
-

0:00 - Introducción

Probablemente ya lo sepas, pero una de las cosas más importantes que tenemos que hacer cuando estamos empezando a diseñar un experimento es averiguar '*¿qué vamos a incluir en nuestro experimento?*' Así que necesitamos una lista sobre todos los forzantes que podrían influir en lo que nos interesa. Y en caso de que no lo hayas visto ya hay un excelente [video](#) como parte de esta serie de Philip Boyd que aborda '*cómo se genera esa lista de inventario y cómo se comienza a descifrar en lo que estas interesado?*'. Así que recomiendo que lo veas si es que aún no lo has visto.

Pero supongamos que ya lo he hecho y que estoy interesado en los impactos de pCO_2 que va a aumentar con el cambio climático. Estoy interesado en los efectos del oxígeno, que probablemente va a bajar en la zona donde trabajo, en Escandinavia. Y, estoy interesado en los efectos del “freshening”, porque es probable que la salinidad también disminuya. Así que tengo mis tres factores. Tengo ambiente y futuro pCO_2 , tengo oxígeno ambiental y futuro, y tengo salinidad ambiental y futura. Así que tengo un diseño de 2 por 2 por 2, que es 2^3 , eso es 8 combinaciones de tratamiento. Es el ANOVA tradicional, totalmente factorial - Puedo hacer eso.

Pero realmente, sé que hay muchas cosas interesantes que van a estar sucediendo entre el pCO₂ de hoy y el pCO₂ del futuro. Sé que la respuesta al oxígeno probablemente no va a ser lineal, y no estoy muy seguro acerca de la respuesta a la salinidad. Así que podría querer incluir más que sólo 2 niveles de cada uno de estos. Y digamos por el bien del argumento que estoy realmente interesado en pCO₂. Así que voy a decir que voy a elegir 5 niveles. Podría elegir pre-industrial, ambiente, y luego un valor para 2100 tal vez, y tal vez uno intermedio, y uno para el futuro lejano, así que tengo 5 niveles diferentes de pCO₂.

Entonces tengo 5 niveles de eso. Realmente, si voy a mirar la norma de respuesta, si quiero obtener una curva decente de cómo es la respuesta a diferentes niveles de oxígeno o diferentes niveles de hipoxia en realidad, porque el oxígeno está bajando, entonces voy a necesitar al menos 3 puntos. Así que vamos a decir que vamos a tener 5 de esos también, y sólo por completar, vamos a tener 5 salinidades. ¿Por qué no?! Entonces tenemos 5 por 5 por 5.

Así que de repente mi 2³ diseño experimental se ha movido a 5³ combinaciones de tratamiento experimental, que es 125! Y aquí hay 125 combinaciones de tratamiento todas pegadas, 5 por 5 por 5. Hay 125 botellas aquí, pensé que podría simplemente, con las variables de respuesta con las que estoy trabajando, podría ser capaz de medir todo lo que necesito medir en el tiempo disponible utilizando este diseño, pero ni siquiera se replica. Sólo tengo una de cada combinación de tratamiento aquí, así que cómo voy a replicar esto.



3:01 min – Opción 1: Replicar a tiempo

Una opción es simplemente tomar este diseño y hacerlo sin replicar esta semana. Ahora, mi experimento me va a llevar unos 3 días – 4 días más para la instalación y desmontaje. Probablemente puedo hacer un experimento en una semana. Así que puedo ejecutarlo, esta semana.

Ahora, un factor importante para todo esto, lo configuramos para que todo parezca que aquí hay un tratamiento que está aumentando, aquí hay otro tratamiento que está

aumentando y aquí hay otro tratamiento que está aumentando. Todos los colores coinciden, se puede ver muy bonito y claro, ese es el punto.

Nunca haría el experimento de esta manera. Estas botellas están todas más cerca de la ventana, estas están todas más cerca del pasillo, estas están a la sombra, estas están en la luz, estas están debajo de mi axila – dios sabe lo que está pasando allí. No lo harías de esta manera, ¿verdad? Aleatorizarías todo esto. Así que no lo hagas de esta manera, pero es ilustrativo.

Así que puedo hacerlo esta semana, obtener mis datos, y luego lo hago de nuevo la próxima semana, para obtener algunos datos más. Lo haré de nuevo la semana siguiente, para obtener algunos datos más. Una replicación en el tiempo va a introducir una mayor variabilidad en el experimento. Pero realmente, eso está bien, porque esa variabilidad sólo va junto con el error de muestreo y el ruido normal, y contribuye al término del error en nuestro análisis posterior. La ventaja de replicar en el tiempo es que puede replicarlo, dentro de la razón, tantas veces como desee. Casi puedes seguir hasta que tengas suficiente poder estadístico para detectar los efectos que quieres detectar.

4:27 min – Opción 2: Vectores principales

Así que si no vamos a replicar en el tiempo, pero queremos encontrar alguna otra manera de ejecutar nuestro experimento para reducir estas 125 combinaciones de tratamiento a algo más manejable, entonces podemos replicar dentro de un tiempo dentro del experimento. ¿Cómo lo hacemos?! Una opción obvia es decir: *'bien realista, estoy interesado en lo que sucede en esta botella aquí? ¿O en esa combinación de tratamiento que está justo allí? O es lo que realmente me interesa, ¿qué sucede en este vector primario aquí, y este vector primario aquí, y este vector primario allí?'* Esos son los 3 factores principales, este es nuestro pCO₂, nuestro oxígeno, y nuestra salinidad, y tal vez la combinación de esos 3, la diagonal que va a través de la mitad de este cubo que comienza aquí abajo y termina aquí. Porque eso me va a decir los efectos individuales de la salinidad, los efectos individuales del oxígeno, los efectos individuales de pCO₂, y los efectos combinados de esos 3. No me dirá las interacciones de 2 vías, pero realmente podría no estar interesado en eso. Entonces, ¿cómo podría ser eso?! Bueno, con la ayuda de mi varita mágica (5:40 min)...

Así que ahora tenemos los 3 vectores primarios, el pCO₂, el oxígeno, y la salinidad, por lo que podemos averiguar lo que cada uno de ellos está haciendo de forma independiente. Pero sólo tenemos la interacción de 3 vías entre aquellos, que es nuestra proyección hacia el futuro de los efectos combinados de pCO₂, oxígeno, y salinidad, progresivamente en el futuro. Así que este diseño nos da un escenario en el futuro, y un poco de comprensión mecanicista básica, pero todavía nos faltan las interacciones de 2 vías entre estas variables. Así que nos falta un poco de comprensión mecanicista de este diseño.



6:30 min - Opción 3: Escenarios

Si ese último diseño era demasiado grande, entonces podemos preguntarnos: *'si vamos a reducir esto, y no queremos saber qué hay en cada una de estas diferentes combinaciones de tratamientos, ¿qué es lo que realmente queremos saber?'*. Y eso es realmente una cuestión de: *'¿queremos todo este diseño o sólo queremos saber lo que es probable que suceda por ejemplo en escenarios en el futuro?'*. Donde esto es hoy, esta es nuestra condición ambiental, así que este es el pCO₂ de hoy, el oxígeno de hoy, la salinidad de hoy, y este es un mundo marino futuro, acidificado, hipóxico y de menor salinidad. De manera realista, lo que queremos saber no son ni siquiera estos vectores principales y la diagonal, es sólo la diagonal. Es el escenario. Sí, confundimos la hipoxia, y la salinidad, y pCO₂, pero si todo lo que queremos es averiguar lo que va a pasar en el futuro océano y estamos bastante seguros de que eso es lo que ese futuro océano va a parecer, entonces eso es todo lo que necesitamos, ¿verdad?! Y podemos replicarlo fácilmente, porque son 1,2,3,4,5 combinaciones de tratamiento diferentes. Así que, con la ayuda de mi varita mágica de nuevo (7:40 min)...

Así que lo que nos queda aquí es la diagonal tri-dimensional a través de la matriz. Así que tenemos el valor más bajo de $p\text{CO}_2$, el siguiente valor más alto, el tercero más alto, el cuarto más alto y así sucesivamente, pero estos están confundidos con los mismos valores equivalentes de oxígeno y salinidad. Así que tenemos un escenario. Sólo hay 5 combinaciones de tratamientos, podemos replicar fácilmente esto y tener una idea muy buena de cómo estos forzantes co-covariando van a influir en nuestra respuesta en el futuro. Pero no sabemos nada de este diseño sobre cómo cada uno de esos forzantes opera de forma independiente.



8:33 min - Opción 4: Factorial colapsado

Otra forma en que podamos reducir el tamaño de este diseño y así permitir la replicación es volver atrás, y de nuevo hacernos la pregunta '*¿qué es lo que realmente queremos saber?*'. Ahora, si recuerdas al principio dije que estaba realmente interesado en los efectos de $p\text{CO}_2$, y es por eso que quería 5 niveles diferentes de $p\text{CO}_2$ para obtener una buena resolución en $p\text{CO}_2$. Y luego me dejé llevar y me fui por 5 niveles de oxígeno y 5 niveles de salinidad y terminamos con este problema que podemos ver ante nosotros.

Pero si lo que realmente me interesa es el efecto de $p\text{CO}_2$, entonces tal vez podría mantener mis 5 niveles de $p\text{CO}_2$ y luego simplemente colapsar las otras 2 variables, salinidad y oxígeno o hipoxia, en una variable. Déjalos co-variar. Podría haber más forzantes allí también, pero acabo de conseguir esos 2 extra en esto. Así que si vamos a generar uno de esos diseños colapsados como se llaman, que otras personas han utilizado - Philip Boyd y colaboradores han publicado sobre esto ([Nature Climate Change volumen 6, páginas 207–213 \(2016\)](#)) y se puede encontrar la referencia en el sitio web -, cómo se vería uno de esos diseños colapsados si vamos a convertir esto en un diseño colapsado. Así que, con la ayuda de mi varita mágica una vez más (9:43 min)...

Bien, si queremos reducir esto aún más, una vez mas podemos hacernos la pregunta '*¿cuál es el principal forzante que nos interesa?*'. Y en este caso es $p\text{CO}_2$. Así que vamos a colapsar los otros 2 forzantes. Tenemos oxígeno en esta dirección y salinidad en esta dirección. Así que vamos a utilizar los 5 valores de $p\text{CO}_2$ a condiciones de oxígeno y

salinidad ambiental, y los 5 valores de pCO₂ a condiciones futuras de oxígeno y salinidad. Y me voy a deshacer de todo lo demás. Así que vamos a usar los 5 valores de pCO₂ en oxígeno ambiente y salinidad, y los 5 valores de pCO₂ en el futuro oxígeno y salinidad, y hemos perdido todo lo demás del diseño. Aquí tenemos 10 combinaciones de tratamientos. Hemos mantenido nuestra resolución en términos de pCO₂, y perdimos todo lo demás que tiene que ver con la covarianza entre el oxígeno y la salinidad. Pero si desea simplificar esto aún más, especialmente si necesita más replicación, 10 combinaciones de tratamientos es bastante. Podemos reducir esto a 4 mediante la eliminación de estos medios 3 pCO₂'s, para que tengamos ambiente pCO₂ y futuro pCO₂, ambiente y futuro en cada uno de, oxígeno ambiental y salinidad, y futuro oxígeno y salinidad. Así que vamos a seguir adelante y hacer eso (11:19 min)...

Y ahora tenemos ese diseño colapsado que [Boyd et al.](#) usaron. Tenemos oxígeno ambiental y salinidad en condiciones de pCO₂ ambiental y futuro pCO₂, y futuro oxígeno y salinidad en pCO₂ ambiental y futuro pCO₂. [Boyd et al.](#) colapsó más forzantes juntos que sólo oxígeno y salinidad, pero el diseño es esencialmente el mismo. Tenemos 4 combinaciones de tratamiento y podemos hacer mucha replicación con esto.



11:46 min - Resumen

Así que ahora tienes algunas opciones sobre cómo podríamos ser capaces de lidiar con la replicación de nuestro gran diseño con 5 niveles de pCO₂, 5 niveles de oxígeno, 5 niveles de salinidad, o con cualquier forzante que puedas estar interesado. Es posible que pueda replicarlo con el tiempo o que no pueda replicarlo a tiempo. Pero realmente, antes de decidir que quieres hacer, tienes que hacerte otra vez la pregunta '*¿Por qué quiero saber? ¿Qué es lo que realmente quiero entender?*'.

Si estoy interesado en la mecánica de cómo pCO₂, el oxígeno y la salinidad influyen en la variable de respuesta en mi sistema, y realmente quiero entender todos los matices, entonces tal vez este diseño, este full diseño de 125 combinaciones de tratamientos, es lo que

tengo que hacer. Y luego voy a tener que replicarlo a tiempo, o tal vez obtener un mejor “grant”, o persuadir a todos mis colegas a venir y ayudarme a ejecutarlo 3 veces y al mismo tiempo - No sé, cualquiera que sea su solución. Usted puede, dependiendo del sistema, ser capaz de replicar esto en el espacio al mismo tiempo, pero es bastante poco probable. Tienes que ser capaz de medir todos estos forzantes.

Así que esa es una opción, y esa es probablemente, la única opción, si realmente quieres saber absolutamente todo sobre las diferentes combinaciones dentro de aquí. Pero también hay otras opciones. Hemos visto, por ejemplo, los principales vectores, que sólo miran los forzantes primarios en el sistema. Los 3 ejes principales en este cubo, y la combinación diagonal de esos. Así que eso nos dará información mecanicista. Nos dirá lo que cada uno de esos 3 forzantes, pCO₂, oxígeno y salinidad, están haciendo en nuestro sistema, y lo que hará la combinación de ellos en el futuro. Así que nos dice algo que es como una casa a medio camino entre la opción mecanicista y la siguiente opción, que es sólo mirar la diagonal, todo el camino desde el ambiente hasta el futuro.

Sólo miré ese vector diagonal 3D. Eso es simplemente mirar un escenario futuro. Así que eso es poner nuestro oxígeno, nuestro pCO₂, y nuestra salinidad juntas. Están co-variando en valores que se proyectan para el futuro, y no sabemos cuál de esos está impulsando la respuesta. Pero eso podría no ser interesante, si lo que queremos hacer es informar a la política pública. Si queremos decir '*entonces, ¿cómo va a influir el futuro océano en la tasa de respiración o lo que sea?* ', entonces podemos hacer eso de un diseño como ese. Tiene desventajas, porque no sabemos todo lo demás que está pasando. Pero sólo tenemos 5 combinaciones de tratamiento allí, así que podemos replicar eso muy bien y obtener mucha potencia estadística.

Y por último hay diseños un poco más complejos como el diseño colapsado que te mostramos, donde tomas el forzante que realmente te interesa, pCO₂, y colapsas los otros 2. Y sólo hacer un diseño de 2 vías, donde el otro factor es en realidad un vector combinado de, en nuestro caso salinidad y oxígeno, pero podría tener otros forzantes también. Una vez más confunde a esos forzantes adicionales, no sabes cuál de esos está trabajando, pero si usted está realmente interesado en los efectos de, en nuestro caso pCO₂, entonces eso probablemente va a decir lo que necesita saber.

14:47 - Pros y contras

Así que pros y contras. Ahora, cada uno de esos diferentes diseños tiene diferentes opciones de análisis, y tiene diferentes implicaciones para la cantidad de replicación que necesita, y lo fácil que es obtener información. Cada uno de ellos también tiene implicancias que no vas a poder averiguar, por lo que también tienes que pensar mucho en lo que los diseños no te van a decir. No voy a lidiar con ninguno de esos, pero Peter Dillingham tiene un excelente [video](#) sobre cómo dar el siguiente paso y mirar el análisis de estos diferentes tipos de diseños. Te recomiendo que veas ese video.

