

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

LEONARDO SIQUEIRA GLÓRIA

**Estimação de parâmetros não-lineares no R e no SAS: aplicações para cinética
digestiva e crescimento em ruminantes**

CAMPOS DOS GOYTACAZES

FEVEREIRO DE 2014

LEONARDO SIQUEIRA GLÓRIA

**Estimação de parâmetros não-lineares no R e no SAS: aplicações para cinética
digestiva e crescimento em ruminantes**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na Área de Concentração Nutrição e Produção Animal.

ORIENTADOR Prof. D.Sc. Ricardo Augusto Mendonça Vieira

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
FEVEREIRO DE 2014**

LEONARDO SIQUEIRA GLÓRIA

Estimação de parâmetros não-lineares no R e no SAS: aplicações para cinética digestiva e crescimento em ruminantes

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal na Área de Concentração Nutrição e Produção Animal.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Douglas Sampaio Henrique (D.Sc., Zootecnia) - UTFPR

Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues (Ph.D., Dairy Science) - UFV

Prof. Fabyano Fonseca e Silva (D.Sc., Estatística) – UFV

(Co-Orientador)

Prof. José Tarcísio Lima Thiebaut (D.Sc., Produção Animal) - UENF

(Co-Orientador)

Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira (D.Sc., Zootecnia) - UENF

(Orientador)

AGRADECIMENTOS

À UENF e a todos os meus professores que nesses anos me passaram o melhor de seu conhecimento. Agradecimento especial ao meu orientador Prof. Ricardo Augusto Mendonça Vieira que, com todo seu “jeito” e paciência, sempre me ofereceu as melhores oportunidades e o melhor de seu conhecimento, amadurecendo meu intelecto. Foi e sempre será uma grande satisfação conviver com ele e aprender ao seu lado.

À minha família, minha coluna de sustentação, que mesmo nas horas de sufoco estive ao meu lado, dando apoio e força para seguir em frente.

Aos meus avós, Lia e Antônio, pelos seus conselhos e ensinamentos com toda sua experiência de vida.

Aos meus pais e irmãos por todos esses anos em que me proporcionaram o melhor e pelo voto de confiança que sempre depositaram em mim.

A minha namorada Jessica Peixoto Cordeiro pelo companheirismo e pela sua paciência durante esses dois anos.

Ao casal José Tarcísio e Margot Thiebaut pela convivência, alegria e seus ensinamentos.

Ao Prof. Marcelo Teixeira Rodrigues e ao Prof. Fabyano Fonseca e Silva pelas oportunidades e pelo voto de confiança.

Ao casal Norberto e Tatiana, que me adotou como filho e, mesmo à distância, esteve sempre me aconselhando nesta jornada.

A Luis Felipe, um grande amigo de muitos anos com quem tenho a felicidade de conviver até hoje, alguém sempre disposto a ajudar, não importando quão seja o problema. Apesar de, muitas vezes me oferecer carona e me esquecer na UENF.

Por último e não menos importante, a todos os meus amigos, em especial a Matheus e Nardele meu muito obrigado pelos momentos de conversa fiada.

A todos que estiveram presentes em minha vida durante estes anos de formação, meu eterno agradecimento.

“Se A é o sucesso, então A é igual a X mais Y mais Z. O trabalho é X; Y é o lazer; e Z é manter a boca fechada.”

Albert Einstein

“Eu talvez não tenha muitos amigos, mas os que eu tenho são os melhores que alguém poderia ter.”

Vinícius de Moraes

BIOGRAFIA

Leonardo Siqueira Glória, filho de Valéria Pinto Siqueira Glória e Manoel Luís Vieira Glória, nasceu em 15 de setembro de 1987, na Cidade de Campos dos Goytacazes, RJ.

Em março de 2007, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, na Cidade de Campos dos Goytacazes – RJ.

Foi bolsista de iniciação científica na mesma instituição de março de 2008 até fevereiro 2012.

Em março de 2012 ingressou no mestrado no programa de pós-graduação em Ciência Animal na mesma universidade e, em fevereiro de 2014, submeteu-se à defesa de dissertação, quando recebeu o título de Mestre em Ciência Animal.

RESUMO

GLÓRIA, Leonardo, Siqueira, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Fevereiro de 2014; Estimação de parâmetros não-lineares no R e no SAS: aplicações para cinética digestiva e crescimento em ruminantes. Professor Orientador: Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

Crescimento e cinética digestiva em ruminantes são referências de fenômenos não lineares em zootecnia e são interpretados com modelos não-lineares. Foram utilizados os programas estatísticos R e SAS, e foram comparados na estimação dos parâmetros não lineares com os algoritmos de mínimos quadrados e de máxima verossimilhança. Foram utilizadas as funções nls2 e nlme do R, e os procedimentos NLIN, NLMIXED e a macro %NLINMIX do SAS. A qualidade do ajuste dos modelos foi avaliada pelo critério de verossimilhança. O NLIN e nls2 produziram as mesmas estimativas dos parâmetros não-lineares. Entretanto o intervalo de confiança obtido com a função nls2 foi dentro do intervalo produzido com o PROC NLIN. A degradação da fibra e a cinética de passagem foram preditas com pequenas diferenças numéricas em suas estimativas termos de escala e dispersão. Os algoritmos diferiram em termos do valor da função de verossimilhança sempre que foram ajustados os modelos com variâncias e correlações heterogêneas. Para variâncias e correlações homogêneas, os valores da função de verossimilhança foram idênticos. O número das possíveis combinações de parâmetros ajustados também diferiu entre o nlme e o %NLINMIX. Felizmente, a conclusão obtida pelo ajuste dos modelos de crescimento com o R e o SAS é a mesma. Contudo, o único procedimento que permite a predição de qualquer função dos parâmetros não-lineares é o NLMIXED do SAS. A predição destas funções dos parâmetros é crucial para quantificação das performances dos animais, seu consumo é essencial para planejamento dos sistemas de produção animal.

Palavras-chave: modelos não lineares mistos, modelos não lineares cinética digestiva, R-project, Sistema de análises estatística.

ABSTRACT

GLÓRIA, Leonardo, Siqueira, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; February de 2014; Nonlinear parameter estimation in R and SAS: applications to digestion kinetics and growth phenomena in ruminants. Advisor: Ricardo Augusto Mendonça Vieira.

Growth and digestion kinetics in ruminants were used as reference problems of nonlinear phenomena in animal science to be interpreted with nonlinear models. The statistical packages R and SAS were compared in terms of nonlinear parameter estimation with nonlinear least squares algorithm and maximum likelihood. Programs used were functions nls2 and nlme of R, and procedures NLIN, %NLINMIX macro, and NLMIXED of SAS. The quality of fit of the models to the kinetics and growth data were evaluated by means of likelihood criteria. The NLIN and nls2 yielded nonlinear parameter estimates almost equal in terms of scale; nevertheless, the interval estimates obtained with nls2 were within those estimated with PROC NLIN. The degradation of fiber and passage kinetics were predicted with very small numerical differences both in terms of scale and dispersion estimates. The algorithms differed in terms of the value of the likelihood function whenever heterogeneous variances and correlations were fitted with likelihood probability; for homogeneous variances, the likelihood function was identical. The number of possible combinations of parameters fitted also differed between nlme and %NLINMIX macro. Fortunately, the conclusions reached by fitting growth models with R and SAS were the same. Nonetheless, the only function that allows the prediction of any function of the nonlinear parameters is the NLMIXED of SAS. The prediction of those parameter functions are crucial in the quantification of animal performance and consumption of raw materials, essential to the planning of animal science systems.

Keywords: Nonlinear mixed models, Nonlinear models, Digestion kinetics, Growth models, R-project, Statistical Analysis System.

Sumário

1.	Introdução	10
2.	Revisão de literatura.....	11
2.1	Modelos lineares mistos (MLM)	11
2.2	Modelos mistos com medidas repetidas no tempo	12
2.3	Modelos de Regressão Não-Linear.....	14
2.3.1	Estimação dos parâmetros dos modelos não-lineares.....	15
2.3.1.1	Método dos mínimos quadrados ordinários	15
2.3.1.2	Processos iterativos e método dos mínimos quadrados	17
2.4	Modelos não lineares mistos.....	17
2.4.1	Método da máxima verossimilhança	20
2.5	Avaliadores da qualidade de ajuste	20
2.5.1	Coeficiente de determinação ajustado (R_{aj2}).....	21
2.4.2	Critério de informação de Akaike (AIC)	21
2.4.3	Critério de informação de Akaike corrigido – AICc.....	21
2.4.4	Critério de informação bayesiano (BIC)	22
2.5	Introdução ao R.....	22
2.6	Introdução ao SAS	23
3.	Referências bibliográficas	23
	CAPÍTULO 1	26
	APÊNDICE(S)	56

1. Introdução

Nos últimos 50 anos tem-se observado um grande interesse por modelos lineares mistos em Zootecnia, devido à possível existência de correlações entre as observações realizadas no mesmo indivíduo, como observado nos dados experimentais da área de Nutrição, e entre indivíduos aparentados, como se nota nos dados provenientes da área de Melhoramento Genético. A grande vantagem desses modelos é possibilitar a correção da variação intra-indivíduo em medidas tomadas, por exemplo, em períodos ou pontos diferentes na mesma unidade experimental, tornando assim essa teoria essencial para a análise de experimentos (Pinheiro 1994).

Outra classe de modelos muito utilizada em Zootecnia é a de modelos não-lineares, a qual envolve de forma geral uma gama enorme de funções matemáticas que são ajustadas a dados experimentais com o objetivo de descrever trajetórias de curvas de produção, como, por exemplo, curvas de crescimento, de lactação e de produção de ovos, bem como a cinética de degradação e passagem dos alimentos *in vivo* e *in vitro* geralmente avaliada em experimentos da área de nutrição.

Embora essas duas classes de modelos sejam de grande relevância para a análise de dados zootécnicos, a combinação das mesmas proporciona uma classe ainda mais poderosa, a dos modelos não-lineares mistos, a qual possibilita descrever trajetórias de interesse por meio de modelos não-lineares e, simultaneamente, efetuar correções da variação intra-indivíduo por meio da adoção de estruturas de covariância específicas.

O uso de *softwares* estatísticos para a análise de dados é de grande importância no que se refere à análise e à interpretação de resultados. Embora *softwares* estatísticos consagrados como o SAS venham sendo amplamente utilizados para a análise de dados experimentais zootécnicos, atualmente há um grande incentivo ao uso dos chamados *softwares* livres (gratuitos), dentre os quais se destaca o R (R Core Team, 2013) por apresentar grande versatilidade na análise de dados nas mais variáveis áreas da ciência. O grande diferencial desse *software* em relação a outros *softwares* estatísticos livres é que o mesmo apresenta código fonte aberto, possibilitando a modificação e também a criação de novos pacotes que possuem procedimentos desenvolvidos por seus usuários.

Diante do exposto, objetiva-se verificar a equivalência entre o programa SAS e o R na análise de dados obtidos em delineamentos experimentais zootécnicos contemplando modelos não lineares e não-lineares mistos.

2. Revisão de literatura

2.1 Modelos lineares mistos (MLM)

Muitos modelos estatísticos podem ser expressos como modelos lineares que incorporaram tanto efeitos fixos, que são parâmetros associados à população, ou a certos níveis controláveis de fatores experimentais, quanto efeitos aleatórios, que estão associados às unidades experimentais tomadas aleatoriamente a partir de uma população. Os níveis dos efeitos aleatórios podem ser considerados as próprias unidades experimentais, conforme a sua hierarquia (Littell et al., 2006; McCulloch & Searle, 2001). Um modelo contendo efeitos fixos e efeitos aleatórios é chamado de modelo misto. Esses modelos são utilizados principalmente para descrever as relações entre a variável resposta e covariáveis que agrupam dados longitudinais, em medidas repetidas e delineamentos com efeitos de blocos (Pinheiro & Bates 2000).

Efeitos fixos são constantes desconhecidas a serem estimadas a partir dos dados observados. Efeitos aleatórios governam a estrutura de variâncias e covariâncias da variável resposta. Efeitos aleatórios ocorrem em dois tipos de circunstâncias (Crawley, 2007):

- Estudos de observação com estrutura hierárquica;
- Experimentos projetados com diferentes escalas espaciais e temporais.

A abordagem hierárquica permite a inclusão da informação dos efeitos ambientais sistemáticos, das relações de parentesco entre animais e das correlações com outras características na estimação de parâmetros genéticos e não genéticos de variáveis subjacentes (parâmetros de modelos matemáticos -lineares ou não lineares- ou funções derivadas destes, que possuem interpretação biológica) inerentes a processos produtivos longitudinais, como a curva de produção de leite e a curva de crescimento (Varona et al., 1997).

Efeitos fixos podem ser associados a covariáveis contínuas, tais como peso, produção de leite, altura, ou *status* socioeconômico, que levam em valores de um intervalo contínuo, ou com fatores tais como gênero, sexo, ordem de parto ou grupo de tratamento, que são categóricos. Estimativa desses parâmetros em MLM é

geralmente de interesse intrínseco, porque indicam as relações das covariáveis com a variável contínua resultante (West, Welch e Gallechki, 2007).

Quando os níveis de um fator podem ser considerados como tendo sido amostrados a partir de um espaço de amostra, de tal modo que cada nível específico não é de interesse intrínseco (por exemplo, salas de aula ou clínicas que são escolhidas ao acaso, a partir de uma população maior de sala de aula ou de clínicas), os efeitos associados com os níveis desses fatores podem ser modelados como efeitos aleatórios de um modelo misto.

Nos modelos lineares mistos, efeitos fixos são usados para modelar a média de “y” enquanto os efeitos aleatórios governam a estrutura de variância-covariância de “y”. Uma vez que os dois tipos de efeitos (fixo e aleatório) são diferentes e, por isso, devem ser tratados de forma diferente ao analisarmos os dados, faz-se necessário identificar qual elemento será considerado como fator de efeito fixo e qual será fator de efeito aleatório (McCulloch & Searle, 2001).

Efeitos aleatórios surgem quando temos mais do que uma observação em uma unidade experimental (ou grupos de semelhantes unidades experimentais). Porque esperamos que as unidades variem de forma independente, teremos então observações correlacionadas dentro de uma unidade. Talvez o exemplo mais comum seja ter várias medições em um único indivíduo, uma vez que elas tendem a ocorrer ao longo do tempo, ao que chamamos medidas repetidas ou estudos de dados longitudinais. Porque temos observações dentro das unidades, e as unidades podem ser eles próprios em grupos, os cientistas sociais tendem a se referir a essa análise como de vários níveis (Goldstein, 1995).

2.2 Modelos mistos com medidas repetidas no tempo

Uma aplicação comum de modelos mistos é a análise de covariância de dados de curva de crescimento com efeitos aleatórios, resultante de diferentes medidas de alguma característica ao longo do tempo (Pinheiro & Bates 2000). Este agrupamento dos dados é chamado de medida repetida. O termo refere-se a conjuntos de dados com medições múltiplas de uma variável resposta na mesma unidade experimental (Littell et al., 2006). Estudos de medidas repetidas são projetados para registrar as medições ou observações de uma unidade, por exemplo, um indivíduo ou local, a um número de pontos temporais, a fim de avaliar o seguimento de tendência, ou a mudança ao longo do tempo (Peters & Mengersen 2008).

Na análise dos dados de medidas repetidas, são definidos como os dados recolhidos em cada indivíduo em duas ou mais ocasiões. Os métodos de análise destes dados foram tipicamente desenvolvidos para a situação em que o número de ocasiões é pequeno comparado com o número de sujeitos. Experimentos com dados longitudinais são largamente utilizados por, pelo menos, três razões: (1) para aumentar a sensibilidade do teste; (2) para estudar as alterações ao longo do tempo, e (3) para utilizar eficientemente sujeitos, uma vez que são incluídos no estudo (McCulloch & Searle, 2001).

Essa abordagem para a análise de medições repetidas pode tratar a falta de dados e também permite que os usuários modelem a estrutura de covariância dos dados. Assim, esse procedimento permite selecionar a estrutura de covariância mais adequada antes de testar as habituais hipóteses de medidas repetidas. A primeira dessas vantagens não é uma questão pertinente para os experimentos controlados, pois os dados nesses contextos são raramente perdidos ao longo das observações. A segunda consideração, no entanto, poderia ser mais relevante para os pesquisadores, pois a modelagem da estrutura de covariância correta dos dados deve resultar em melhores testes dos parâmetros dos efeitos fixos (Keselman et al., 2001).

Em projetos com delineamento de blocos casualizados, os tratamentos são randomizados para unidades dentro de um bloco. Isso faz com que todas as observações dentro de um determinado bloco sejam igualmente correlacionadas. Mas, em experimentos de medidas repetidas, duas medições efetuadas em pontos de tempo adjacentes são tipicamente mais correlacionadas do que duas medidas tomadas vários períodos separados. Modelar uma estrutura de covariância apropriada é essencial para que a inferência seja válida sob a forma de testes de hipóteses e intervalos de confiança que serão feitos sobre os tratamentos (Littell et al., 2006).

Um exemplo são os dados de crescimento da curva, como peso mensurado de bovinos, suínos, entre outros animais, durante sua vida produtiva. Outro exemplo é o de dados de curvas de lactação de cabras no decorrer do período de lactação. Medidas repetidas também pode se referir a múltiplas medições ao longo do espaço, tais como espessuras das vértebras dos animais. De um modo geral, os dados são medidos repetidamente ao longo do tempo ou espaço (Littell et al., 2006). Nesses estudos, as variáveis respostas podem ser contínuas (peso, ganho de peso, consumo, conversão alimentar etc.) ou discretas (contagem de algum evento, presença ou ausência de algum sintoma etc.). As unidades experimentais como indivíduos,

plantas, animais, canteiros etc. podem estar classificadas em diferentes grupos, segundo um ou mais fatores (ou tratamentos) como sexo, tipo de ração consumida, densidade de plantio, espaçamento entre linhas de plantio etc (BARBOSA ,2009).

2.3 Modelos de Regressão Não-Linear

Por definição, um modelo de regressão é não-linear se pelo menos um dos seus parâmetros aparecem de forma não-linear. É uma forma de análise observacional em que os dados são modelados por uma função que é uma combinação não-linear de parâmetros do modelo e depende de uma ou mais variáveis independentes. Os dados são ajustados geralmente pelo Método dos mínimos quadrados ou por algum método de aproximações sucessivas. O modelo de regressão não-linear pode ser descrito da seguinte forma:

$$y_i = f(x_i, \theta^0) + \varepsilon_i, i = 1, \dots, n \quad \text{Eq.1}$$

Na qual:

y_i representa a observação da variável dependente;

$f(x_i, \theta^0)$ é a função esperança ou função resposta conhecida;

x_i representa a observação da variável independente;

$\theta^0 = [\theta_1^0, \theta_2^0, \dots, \theta_p^0]'$ é um vetor de parâmetros p dimensional desconhecido; e

ε_i representa o efeito do erro aleatório não observável suposto, com média zero e variância desconhecida σ^2 .

Considerando um conjunto de dados consistindo de n pares $(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)$. (O número de parâmetros em que ocorre em f deve ser menor do que o número de observações. Isto é, $p < n$, é a situação ideal em que tanto os valores preditos x_1, \dots, x_n e os valores de y_1, \dots, y_n são observados sem erro. Na realidade, haverá erros de medição que distorcem a imagem tal que nenhum dos pares $(x_1, y_1), \dots, (x_n, y_n)$ será ajustado exatamente, supondo que o valor x_i é utilizado para prever o valor de y_i de acordo com a Eq 5, com adição dos erros de medição (Ritz & Streibig, 2008).

Deve-se ter algum conhecimento prévio sobre que tipo de função f deve ser utilizada (pelo menos aproximadamente). Assim, os métodos de regressão não linear são adequados para a análise de dados para as quais existe uma relação empírica ou estabelecida teoricamente funcional entre a resposta e o predito.

Cada medição será distorcida por algum erro relacionado com o processo de medição. A observação y_i será diferente da média esperada $E(y_i | x_i)$ por certa quantidade, que iremos designar ε_i . Assim, de acordo com Seber & Wild (2003), a especificação completa do modelo da relação entre a resposta e o predito é dada pelo modelo de regressão não linear:

$$y_i = E(y_i|x_i) + \varepsilon_i = f(x_i, \beta) + \varepsilon_i, \quad \text{Eq.2}$$

O termo ε_i é o erro para a i -ésima observação, isto é, a distorção em resposta a y_i distante do valor esperado $f(x_i, \beta)$ causada por várias fontes desconhecidas de variação. O erro ε_i varia de medição para medição. Tipicamente, os erros são assumidos como normalmente distribuídos com média zero e desvio padrão σ desconhecido.

Os modelos estatísticos que descrevem a degradação ruminal por técnicas com enfoque metabólico são classificados como modelos de regressão não-linear e apresentam algumas peculiaridades quanto ao procedimento de ajuste. Souza (1998) cita que, de forma semelhante aos modelos lineares, o processo de estimação de um parâmetro, em um modelo não-linear, pode ser obtido pela minimização da soma de quadrados dos erros, obtendo-se o sistema de equações normais não-linear, o qual não apresenta uma solução explícita para a estimativa do parâmetro, que é obtida por processos iterativos.

2.3.1 Estimação dos parâmetros dos modelos não-lineares

Para ajustar os modelos de regressão não-linear será utilizado o método dos quadrados mínimos ordinários cujas soluções foram obtidas por meio do processo iterativo de Gauss-Newton.

2.3.1.1 Método dos mínimos quadrados ordinários

Considerando o modelo, tem-se:

$$y_i = f(x_i, \theta^0) + \varepsilon_i, \quad i = 1, 2, \dots, n,$$

em que:

$$y_i = \begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix}, f(x_i, \theta^0) = \begin{bmatrix} f(x_i, \theta_1^0) \\ f(x_i, \theta_2^0) \\ \vdots \\ f(x_i, \theta_n^0) \end{bmatrix} \text{ e } \varepsilon_i = \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \vdots \\ \varepsilon_3 \end{bmatrix}$$

A soma dos quadrados dos erros aleatórios (SQE) deverá ser minimizada por θ , portanto a função de mínimos quadrados pode ser representada matricialmente por:

$$SQE(\theta) = [y_i - f(\theta)]'[y_i - f(\theta)]$$

Segundo Souza (1998), em modelos não-lineares não se pode fazer afirmações gerais sobre as propriedades dos estimadores de quadrados mínimos, tais como não tendenciosidade e variância mínima, exceto para grandes amostras, os chamados resultados assintóticos. Para uma melhor compreensão do processo de obtenção destes estimadores, utilizou-se a seguinte notação de diferenciação matricial:

$$f(\theta) = \begin{bmatrix} f_1(\theta) \\ f_2(\theta) \\ \vdots \\ f_n(\theta) \end{bmatrix} \text{ e } F(\theta) = \partial f(\theta) / \partial \theta' = \begin{bmatrix} \partial f_1(\theta) / \partial \theta_1 & \partial f_1(\theta) / \partial \theta_2 & \cdots & \partial f_1(\theta) / \partial \theta_p \\ \partial f_2(\theta) / \partial \theta_1 & \partial f_2(\theta) / \partial \theta_2 & \cdots & \partial f_2(\theta) / \partial \theta_p \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \partial f_n(\theta) / \partial \theta_1 & \partial f_n(\theta) / \partial \theta_2 & \cdots & \partial f_n(\theta) / \partial \theta_p \end{bmatrix}$$

em que:

$f(\theta)$ é uma função vetor coluna $n \times 1$ de um argumento p dimensional θ , e $F(\theta)$ é a matriz Jacobiana de $f(\theta)$. Dessa forma, o estimador de mínimos quadrados, $\hat{\theta}$, satisfaz a equação $\frac{\partial SQE(\theta)}{\partial \theta} \Big|_{\theta=\hat{\theta}} = 0$, a qual representa a minimização de interesse.

Sendo, $\frac{\partial SQE(\theta)}{\partial \theta'} = \frac{\partial}{\partial \theta'} [y_i - f(\theta)]'[y_i - f(\theta)] = -2[y_i - f(\theta)]F(\theta)$, tem-se $F'(\hat{\theta})[y_i - f(\hat{\theta})] = 0$ e: Portanto, o sistema de equações normais (SEN) é dado por:

$$\begin{bmatrix} \partial f_1(\theta) / \partial \theta_1 & \partial f_1(\theta) / \partial \theta_2 & \cdots & \partial f_1(\theta) / \partial \theta_p \\ \partial f_2(\theta) / \partial \theta_1 & \partial f_2(\theta) / \partial \theta_2 & \cdots & \partial f_2(\theta) / \partial \theta_p \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \partial f_n(\theta) / \partial \theta_1 & \partial f_n(\theta) / \partial \theta_2 & \cdots & \partial f_n(\theta) / \partial \theta_p \end{bmatrix} \cdot \left(\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} - \begin{bmatrix} f_1(\theta) \\ f_2(\theta) \\ \vdots \\ f_n(\theta) \end{bmatrix} \right) = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{bmatrix}$$

2.3.1.2. Processos iterativos e método dos mínimos quadrados

Para o SEN não-linear acima não existe uma solução explícita, sendo assim a solução para o sistema deve ser obtida por meio de processos iterativos. Um dos métodos iterativos é a linearização da função não-linear, chamado Método de Gauss-Newton, o qual se resume ao seguinte procedimento.

Seja o modelo não-linear $y_i = f(x_i, \theta^0) + \varepsilon_i$, e $\hat{\theta}_0$ um valor tal que $F'(\hat{\theta})[y_i - f(\hat{\theta})] \approx 0$. Aproximando $f(\hat{\theta})$ pelo ponto $\hat{\theta}_0$ por uma TSA (*Taylor Series Expansion*) de 1ª ordem, tem-se:

$$f(\hat{\theta}) \approx f(\hat{\theta}_0) + F(\hat{\theta})(\hat{\theta} - \hat{\theta}_0) \quad \text{Eq.3}$$

$$F'(\hat{\theta})[y_i - f(\hat{\theta})] = \phi \quad \text{Eq.4}$$

Aplicando (2) em (3): $F'(\hat{\theta})[y_i - f(\hat{\theta})] = \phi - F(\hat{\theta})(\hat{\theta} - \hat{\theta}_0) \approx \phi$, e multiplicando à esquerda, ambos os lados da igualdade, por $[F'(\hat{\theta})]^{-1}$, obtém-se:

$$y_i - f(\hat{\theta}_0) - F(\hat{\theta}_0)\hat{\theta} + F(\hat{\theta}_0)\hat{\theta}_0 \approx \phi.$$

Logo, $F(\hat{\theta}_0)\hat{\theta} \approx F(\hat{\theta}_0)\hat{\theta}_0 + [y_i - f(\hat{\theta}_0)]$. Multiplicando novamente à esquerda, ambos os lados da igualdade, por $[F(\hat{\theta})]^{-1}$, verifica-se que: $\hat{\theta} \approx \hat{\theta}_0 + [F(\hat{\theta})]^{-1}y_i - f(\hat{\theta}_0)$.

Fazendo $\hat{\theta} = \hat{\theta}_{k+1}$ e $\hat{\theta}_0 = \hat{\theta}_k$, tem-se para a k-ésima iteração, a expressão (10), a qual representa o processo iterativo conhecido como Gauss-Newton:

$$\hat{\theta}_{k+1} = \hat{\theta}_k + [F(\hat{\theta})]^{-1}y_i - f(\hat{\theta}_k) \quad \text{Eq.5}$$

Este processo iterativo prossegue até que algum critério adotado para convergência seja atingido.

2.4 Modelos não lineares mistos

Os modelos não lineares mistos são aqueles em que alguns ou todos os efeitos aleatórios e fixos podem ocorrer de forma não linear, em função do modelo. Eles podem ser considerados como uma extensão de modelos de regressão não linear para dados independentes e como modelos em que a esperança condicional da resposta dada aos efeitos aleatórios é permitida para ser uma função não linear dos coeficientes (Bates e Watts, 1988).

Por exemplo, suponhamos que os dados experimentais estão na forma de medições repetidas sobre a resposta e as variáveis explanatórias de vários assuntos, e que deseja ajustar um modelo que representa, simultaneamente, a estrutura média global não linear, bem como a variabilidade entre e dentro dos sujeitos. Esta situação exige um modelo não-linear misto.

Modelos não-lineares são aqueles que os parâmetros possuem uma interpretação física natural. Geralmente incorporam características teóricas dos dados, tais como assíntotas e monotonicidade. Um modelo não linear geralmente usa menos parâmetros do que um modelo linear concorrente, dando uma descrição mais parcimoniosa dos dados. Modelos não lineares também fornecem previsões mais confiáveis para a variável de resposta fora do intervalo observado dos dados (Pinheiro & Bates, 2000). Uma função de probabilidade aproximada precisa ser usada para a estimativa dos parâmetros, que conduz a algoritmos de estimação computacionalmente mais intensos e com os resultados de inferência menos confiável.

Entretanto, existem mais semelhanças do que diferenças entre modelos lineares mistos e modelos não lineares mistos. Ambos os modelos são usados com os dados agrupados e têm a mesma finalidade: descrever uma variável resposta em função de covariáveis, tendo em conta a correlação entre as observações no mesmo grupo. Os efeitos aleatórios são usados para representar, dentro do grupo, dependência em ambos os modelos, e as suposições sobre os efeitos aleatórios e os erros dentro do grupo são idênticos nos dois modelos (Pinheiro & Bates, 2000)

A aplicação mais comum dos modelos não lineares mistos é para medidas repetidas de dados em particular, os dados longitudinais. Proposto por Lindstrom e Bates (1990) pode ser considerado como um modelo hierárquico, sendo este modelado como:

$$y_{ij} = f(\phi_{ij}, v_{ij}) + \epsilon_{ij}, i = 1, \dots, M, j = 1, \dots, n_i,$$

no qual M é o número de grupos, n_i é o número de observações sobre o grupo i , f é um modo geral, a função de valores reais, diferenciável de um grupo específico de parâmetros vetor ϕ_{ij} e uma covariável vetor v_{ij} , e ϵ_{ij} é uma distribuição normal dentro do grupo-termo de erro. O vetor ϕ_{ij} , que modelado como:

$$\phi_{ij} = A_{ij}\beta + B_{ij}b_i, \quad b_i \sim N(0, \psi),$$

Sendo β um vetor p -dimensional de efeitos fixos e b_i é um vetor efeitos aleatório com dimensão q associado com o grupo i (não variando com j) com variância-covariância matriz ψ . As matrizes A_{ij} e B_{ij} dependem do grupo e possivelmente sobre os valores de algumas covariáveis na j -ésima observação. Este modelo é uma generalização descrita por Lindstrom e Bates (1990), em que A_{ij} e B_{ij} podem depender de j . Assume-se que as observações correspondentes a diferentes grupos são independentes e dentro do grupo dos erros ϵ_{ij} que são independentemente distribuídos como $N(0, \sigma^2)$ e independente de b_i .

$$y_i = \begin{pmatrix} y_{i1} \\ \vdots \\ y_{ini} \end{pmatrix}; \phi_i = \begin{pmatrix} \phi_{i1} \\ \vdots \\ \phi_{ini} \end{pmatrix}; \epsilon_i = \begin{pmatrix} \epsilon_{i1} \\ \vdots \\ \epsilon_{ini} \end{pmatrix}; f_i(\phi_i, v_i) = \begin{bmatrix} f_{i1}(\phi_{i1}, v_{i1}) \\ \vdots \\ f_{ini}(\phi_{ini}, v_{ini}) \end{bmatrix}$$

$$v_i = \begin{pmatrix} v_{i1} \\ \vdots \\ v_{ini} \end{pmatrix}; A_i = \begin{pmatrix} A_{i1} \\ \vdots \\ A_{ini} \end{pmatrix}; B_i = \begin{pmatrix} B_{i1} \\ \vdots \\ B_{ini} \end{pmatrix}$$

Esses modelos apresentam-se como uma ferramenta flexível para análise de dados agrupados por meio da modelagem da correlação entre observações dentro de um mesmo grupo, fato este que é frequentemente observado em estudo de curvas de crescimento, lactação ou produção de ovos em animais.

O estudo de curvas de crescimento é ainda mais atraente, pois os modelos não-lineares são flexíveis o bastante para serem utilizados com dados de peso e de idade, pelo fato de envolverem características inerentes aos dados de pesagens, tais como: a) as pesagens podem ser irregulares no tempo, isto é, o intervalo entre duas medidas consecutivas quaisquer não é necessariamente equidistante; b) possuem estrutura incompleta; c) as avaliações adjacentes são mais estreitamente correlacionadas do que as demais; e d) a resposta dos indivíduos em função do tempo tem variância crescente.

Uma forma prática e eficiente de se analisar o crescimento do animal é por meio do estudo de suas curvas de crescimento, as quais descrevem uma relação funcional entre peso e idade (SILVA et al., 2001). Geralmente, tal relação é representada por modelos de regressão não-lineares, os quais, em sua maioria, apresentam os

seguintes parâmetros (SILVA et al., 2004): peso assintótico, que representa o peso médio à maturidade, ou peso adulto; taxa de maturidade, que representa a taxa de crescimento, de forma que, quanto mais alto for o seu valor, maior a taxa de crescimento (BROWN et al, 1976); ponto de inflexão, que se refere ao momento em que o animal muda de uma fase de crescimento acelerada para uma fase de crescimento inibitória; por último, a constante integração, a qual não apresenta uma interpretação biológica direta.

2.4.1 Método da máxima verossimilhança

Este método foi introduzido por Fisher em 1922 e seu objetivo é buscar valores dos parâmetros que maximizem a função de verossimilhança. É um método numericamente intensivo, seus estimadores possuem propriedades assintóticas ótimas; contudo, para sua utilização, é necessário conhecer a distribuição conjunta de ε_i (Eq.2)

Para os N indivíduos, a função verossimilhança assume a forma:

$$L(\beta, \xi, D) = \prod_{i=1}^N f_i(y_i|b_i, x_i, \beta, \xi) f(b_i|D) db_i, \quad \text{Eq.6}$$

no qual $f_i(y_i|b_i, x_i, \beta, \xi)$ é a densidade de y_i condicional a b_i e $f(b_i|D)$ a densidade de b_i .

A maximização de Eq.6 envolve o cálculo de N integrais no espaço q dimensional do vetor dos efeitos aleatórios, b_i . A não linearidade de f_i significa, em geral, que esse cálculo não tem uma solução analítica, pelo que tem de se recorrer a técnicas de cálculo numérico.

Os algoritmos para maximizar $L(\beta, \xi, D)$ requerem métodos de cálculo de integrais que podem ser computacionalmente intensivos e, portanto, existem várias limitações. De forma a tornar a otimização da função de verossimilhança de um problema “tratável”, foram propostos vários métodos (Davidian & Giltinan, 1995; Pinheiro e Bates, 2000)

2.5. Avaliadores da qualidade de ajuste

2.5.1 Coeficiente de determinação ajustado (R_{aj}^2)

É usado para comparar a qualidade do ajuste de modelos com diferentes números de parâmetros (p). Sua fórmula é dada por:

$$R_{aj}^2 = R^2 - \left(\frac{p-1}{n-p}\right)(1 - R^2),$$

Eq.7

em que:

$$R^2 = 1 - \frac{SQR}{SQT},$$

$$SQR = \sum_{i=1}^n (Y_i - \hat{Y}_i)^2$$

é a soma de quadrados do resíduo,

$$\hat{Y}_i = f(x_i, \hat{\theta}),$$

$SQT = \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2$ é a soma de quadrados total,

n é o número de observações utilizadas para ajustar a curva e p é o número de parâmetros na função, incluindo o intercepto.

2.4.2 Critério de informação de Akaike (AIC)

Permite utilizar o princípio da parcimônia na escolha do melhor modelo, ou seja, de acordo com este critério nem sempre o modelo mais parametrizado é melhor (BURNHAM e ANDERSON, 2004). Menores valores de AIC refletem um melhor ajuste (AKAIKE, 1974). Sua expressão é dada por:

$$AIC = -2 \log L(\hat{\theta}) + 2(p),$$

Eq.8

em que: p é o número de parâmetros e $\log\text{like}$ o valor do logaritmo da função de verossimilhança considerando as estimativas dos parâmetros.

2.4.3 Critério de informação de Akaike corrigido – AICc

Bozdogan (1987), propôs a seguinte correção para o AIC:

$$AICc = -2 \log L(\hat{\theta}) + 2(p) + 2 \frac{p(p+1)}{n-p-1}, \quad \text{Eq.9}$$

na qual n representa o número de observações, $\log L(\hat{\theta})$ é o logaritmo da verossimilhança (MV ou MVR) e p representa o número total de parâmetros de efeito fixo e aleatório estimado no modelo

2.4.4 Critério de informação bayesiano (BIC)

Assim como o AIC, também leva em conta o grau de parametrização do modelo, e da mesma forma, quanto menor for o valor de BIC (SCHWARZ, 1978), melhor será o ajuste do modelo. Sua expressão é dada por:

$$BIC = -2 \log L(\hat{\theta}) + p \log(n) \quad \text{Eq.10}$$

em que: n é o número de observações utilizadas para ajustar a curva.

Critérios AIC, AICc e BIC possuem como vantagem a possibilidade de realizar comparações de múltiplas hipóteses e não apenas rejeição e não-rejeição e uma hipótese nula.

2.5 Introdução ao R

O R pode ser considerado como uma implementação da linguagem de S, que foi desenvolvido nos Laboratórios Bell por Rick Becker, Chambers e John Wilks Allan, e também forma a base dos sistemas S-Plus (Chambers, 1998). R começou a ser desenvolvido por Robert Gentleman e Ross Ihaka do Departamento de Estatística da Universidade de Auckland, na Nova Zelândia, mais conhecidos por "R & R", apelido do qual originou-se o nome R do programa. O objetivo inicial de "R & R", em 1991, era produzir um software para as suas aulas de laboratório baseado na já revolucionária linguagem S, utilizada pelo software comercial S-Plus criado por Jonh M. Chambers da AT&T, que, atualmente, vem contribuindo para o aperfeiçoamento e ampliação das análises estatísticas do R. Todos os cientistas, incluindo, em particular, aqueles que trabalham em países em desenvolvimento, têm agora acesso a ferramentas para análise estatística dos dados, sem custos adicionais (Everitt e Hothorn, 2010).

Assim o R tornou-se uma importante ferramenta na análise e manipulação de dados, modelagem linear e não linear, análise de séries temporais, análise de sobrevivência, simulação e estatística espacial, e elaboração de diversos tipos de gráficos, além de outras funções.

2.6 Introdução ao SAS

Em 1966 havia a necessidade de um programa de estatística computadorizada para analisar grandes quantidades de dados coletados pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (United States Department of Agriculture – USDA). O desenvolvimento do software foi extremamente importante para os membros da University Statisticians Southern Experiment Stations, um consórcio de oito Land Grant-universidades que receberam a maior parte de seu financiamento de pesquisa do USDA.

O SAS teve seu início no meio acadêmico, em 1976, durante um projeto de doutorado de Jim Goodnight (CEO do SAS) e três de seus colegas da Universidade da Carolina do Norte, Estados Unidos. Encontra-se hoje inserido, não apenas na Agricultura, mas nas mais diversas áreas de negócios e pesquisas - de empresas farmacêuticas e bancos para entidades acadêmicas e governamentais. Seu desenvolvimento atingiu novos patamares na indústria por permitir ser executado em todas as plataformas (<http://www.sas.com/company/about/history.html>).

O SAS é um sistema integrado de aplicações para a análise de dados que consiste de: Recuperação de dados, Gerenciamento de arquivos, Análise estatística, Acesso a Banco de Dados, Geração de gráficos, Geração de relatórios. Trabalha com quatro ações básicas sobre o dado: Acessar, Manipular, Analisar e Apresentar. Pode ser instalado em diversos ambientes operacionais disponíveis no mercado, sendo os programas e arquivos portáteis para qualquer um desses ambientes (<http://www.sas.com/company/about/history.html>).

3. Referências bibliográficas

Akaike H. A new look at the statistical model identification. IEEE Transactions on Automatic Control, AC-19. 1974:716–723.

Barbosa, M. . Uma abordagem para análise de dados com medidas repetidas utilizando modelos lineares mistos. 2009. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agronômica) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

Bates, D. M.; Watts, D. G. Nonlinear regression analysis and its applications. New York: John Wiley, 1988. 365p.

Bozdogan, H. Model selection and Akaike's information criterion (AIC): the general theory and its analytical extensions. *Psychometrika*, v.52, n.3, p.345-370, 1987.

Brody, S. *Bioenergetics and Growth*. Rheinhold Publishing, New York. 1945.

Brown, J.E.; Fitzhugh Jr., H.A.; Cartwright, T.C. A comparison of nonlinear models for describing weight-age relationships in cattle. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.42, n.4, p.810-818, Apr. 1976.

Burnham, K.P.; Anderson, D.R. Multimodel Inference: Understanding AIC and BIC in Model Selection. *Sociological methods & research*, v.33, n.2, p.261-304, Nov. 2004.

Chambers, John M. (1998). *Programming with Data*. Springer, New York.

Crawley, M. J. (2007). *The R Book*. John Wiley and Sons, illustrated, reprint edition, 2007.

Davidian, M., & Giltinan, D. M. (1995). *Nonlinear models for repeated measurement data* (p. 359). London: Chapman & Hall.

Everitt, B., & Hothorn, T. (2006). *A Handbook of statistical analyses using R*. Boca Raton, FL: Chapman & Hall/CRC.

Goldstein, H. (1995). *Multilevel statistical models* (2 ed.). London: Edward Arnold; New York: Halstead Press.

Keselman, H. J., Algina, J. and Kowalchuk, R. K. (2001), *The analysis of repeated measures designs: A review*. *British Journal of Mathematical and Statistical Psychology*, 54: doi: 10.1348/000711001159357.

Lindstrom, M. J. and Bates, D. M. (1990). Nonlinear mixed effects models for repeated measures data, *Biometrics* 46: 673–687.

Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D. and Schabenberger, O. (2006), *SAS for Mixed Models*, 2nd ed., SAS Institute Inc, Cary NC.

McCulloch, C. E., and S. R. Searle. 2001. *Generalized, Linear, and Mixed Models*. John Wiley & Sons, New York.

Peters J.L., Mengersen K.L. (2008) Meta-analysis of repeated measures study designs. *J. Eval Clin Pract* 14:941–950.

Pinheiro, J. e Bates, D. (2000). *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Statistics and Computing Series, Springer-Verlag, New York.

Pinheiro, J.C. *Topics in mixed effects models*. 1994. 210 p. Thesis (PhD) - University of Wisconsin, Madison 1994.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Ritz, C., & Streibig, J. C. (2008). Nonlinear regression with R. New York: Springer.

Schwarz, G. (1978) Estimating the dimension of a model. Ann. Statist., 6, 461-464.

Seber, G. A. F. & Wild, C. J. (2003). Nonlinear Regression. New York: Wiley, 792 pp.

Silva, F.F.; Aquino, L.H.; Oliveira, A.I.G. Influência de fatores genéticos e ambientais sobre as estimativas dos parâmetros das funções de crescimento em gado Nelore. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.25, n.5, p.1195-1205, set./out. 2001.

Silva, N.A.M. da; Aquino, L.H. de; Silva, F.F; Oliveira, A.I.G. de. Curvas de crescimento e influência de fatores não-genéticos sobre as taxas de crescimento de bovinos da raça Nelore. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.28, n.3, p.647-654, maio./jun. 2004.

Souza, G. S. Introdução aos modelos de regressão linear e não-linear. Brasília: Embrapa-SPI/Embrapa-SEA, 1998. 489p.

Varona, L., Moreno, C., García-Cortés, L. A. e Altarriba, J. (1997). Multiple trait genetic analysis of underlying biological variables of production functions. Livest. Prod.Sci., 47: 201-209.

West, B. T., Welch, K. B., & Gallechki, A. T. (2007). Linear mixed models. A practical guide using statistical software. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC.

CAPÍTULO 1

O capítulo a seguir corresponde a um artigo integrante desta dissertação submetido como manuscrito ao periódico "Agricultural Systems" (ISSN: 0308-521X) e, como tal, sua redação e edição foram preparadas segundo às normas deste periódico, normas essas constantes na página do mesmo na rede mundial de computadores conforme o endereço a seguir:

<http://www.elsevier.com/journals/agricultural-systems/0308-521X/guide-for-authors>

Data de acesso: 15/01/2014

Nonlinear parameter estimation in R and SAS: applications to digestion kinetics and growth phenomena in ruminants

Leonardo Siqueira Glória¹, Ricardo Augusto Mendonça Vieira^{2,#}, Fabyano Fonseca e Silva³, Luis Orlando Tedeschi⁴

¹Graduate Program in Animal Science, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego 2000, Campos dos Goytacazes, CEP 28013-602, RJ, Brazil

²Laboratório de Zootecnia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes, RJ, CEP 28013-602, Brazil.

³Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, CEP 36570-000, MG, Brazil.

⁴Department of Animal Science, Texas A&M University, College Station, TX 77843-2471, USA.

#Corresponding author: Ricardo Augusto Mendonça Vieira; Affiliation: Laboratório de Zootecnia (LZO), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF); Address: UENF/CCTA/LZO, Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil, CEP 28013-602. E-mail: ramvieira@uenf.br; telephone: 55-022-2748-6397; Fax: 55-022-2739-7194.

Abstract. Growth and digestion kinetics in ruminants were used as reference problems of nonlinear phenomena in animal science to be interpreted with nonlinear models. The statistical packages R and SAS were compared in terms of nonlinear parameter estimation with nonlinear least squares algorithm and maximum likelihood. Programs used were functions `nls2` and `nlme` of R, and procedures `NLIN`, `%NLINMIX` macro, and `NLMIXED` of SAS. The quality of fit of the models to the kinetics and growth data were evaluated by means of likelihood criteria. The `NLIN` and `nls2` yielded nonlinear parameter estimates almost equal in terms of scale; nevertheless, the interval estimates obtained with `nls2` were within those estimated with `PROC NLIN`. The degradation of fiber and passage kinetics were predicted with very small numerical differences both in terms of scale and dispersion estimates. The algorithms differed in terms of the value of the likelihood function whenever heterogeneous variances and correlations were fitted with likelihood probability; for homogeneous variances, the likelihood function was identical. The number of possible combinations of parameters fitted also differed between `nlme` and `%NLINMIX` macro. Fortunately, the conclusions reached by fitting growth models with R and SAS were the same. Nonetheless, the only function that allows the prediction of any function of the nonlinear parameters is the `NLMIXED` of SAS. The prediction of those parameter functions are crucial in the quantification of animal performance and consumption of raw materials, essential to the planning of animal science systems. We hope that these limitations will be overcome in the near future.

Keywords. Nonlinear mixed models, Nonlinear models, Digestion kinetics, Growth models, R-project, Statistical Analysis System.

1. Introduction

One can depict from the basic writings of Bertrand Russell that Logic and pure Mathematics are a priori non-empirical accumulated knowledge that elides from the sensory experience (Russell, 2009). The same cannot be said about Applied Mathematics, Statistics, and Computational science because these and other “exact” sciences that we have been using for quantitating many biological phenomena (including those of interest in animal science) are paradoxically linked to the idea of “approximation”. In addition, the proper domestication of the measurement error is necessary for progressively strengthening hypotheses into broader generalizations. Scientists embraced this quest for at least 300 years. Statisticians, in particular, have been dealing with variance estimation problems since the 1800’s, with major advancements in the mixed model estimation by Maximum Likelihood occurring only in the late 1960’s (Searle et al., 1992). But as computer hardware and software improved, so was the computational methods based on better algorithms that allow us modelling variations that was very hard to do before, despite the fact that many statisticians were well aware about these problems in the past and have advised researchers about the problems of variance estimation and control of the experimental error. An example is the quandary created when repeated measures are taken on the same experimental unit over time (Gill, 1981). Many experiments in animal science are based on measurements taken repeatedly in space or time that urge proper quantification for an adequate estimation of variability and co-variability (Littell et al., 1998; Littell et al., 2006). Digestion kinetics studies and growth measures in ruminants are examples of experiments in which several repeated measures yield time trends that can be interpreted with mixed models methodology, but the problem needed further developments until animal scientists become capable of establishing broaden inferences (Littell et al., 1998; Strathe et al., 2010; Zanton and Heinrichs, 2009).

Many achievements in animal science, as well as in other knowledge fields, came first than the development of personal computers. At the risk of excluding many great names in animal science, the mathematical formulations and the factual quantitative description of several nonlinear phenomena, including growth and ruminal kinetics, are easily found in the textbooks of Brody (1945) and Hungate (1966), and influential papers such as Blaxter et al. (1956). The process of nonlinear parameter estimation in those works was confined to treat time profiles generated from measuring digestion and flow of particles and growth trends by approximations with logarithmic transformations and yet, by doing so, they contain great strides and generalizations currently valid. Nonetheless, the achievements of computer science in both hardware and software are opening a large avenue for the new generation of animal scientists so that they can be perform novel approaches to traditional problems and enlarge inferences and generate new facts. An example is the recently revisited relationship between heat production and body mass by Hui and Jackson (2007), who used weighted least squares to estimate nonlinear parameters that scales the metabolic rate of animals including those of economic interest.

The two problems studied here, namely digestion kinetics and growth phenomena, were addressed by the perfected algorithms used to estimate nonlinear parameters by considering time profiles as fixed results (e.g., digestion and passage kinetics) or as random samples from a larger population (e.g., growth). These two problems offer the possibility of estimating nonlinear parameters by ordinary nonlinear least squares so that estimates can be applied to make inferences on mechanistic models used to predict nutritive value of ruminant feeds (Fox et al., 2004; Tedeschi et al., 2010; Tylutki et al., 2008), and to predict growth (Littell et al., 2006; Vonesh, 2012) for selecting animals, quantifying animal needs, performance, and for providing relevant information to the

planning of the production system (Tedeschi et al., 2011). Two of the most popular software that can be used to accomplish this task is the Statistical Analysis System (SAS System, Inc., Cary, NC, USA) and the R-project (Team, 2013). Nonetheless, although some researchers have reported the programmed routines for fitting the problems that were addressed here, a more complete description of the performances of both tools given equal operational conditions has not been published yet, so that animal scientists can be completely aware of each program pros and cons. Therefore, our goal was to compare R and SAS procedures for fitting nonlinear models to interpret growth of body mass and digestion kinetics of fiber in ruminants.

2. Materials and methods

Fiber degradation profiles obtained from in situ (rumen) studies, marker excretion profiles obtained from fecal samples taken directly in the rectum of ruminants during digestion trials, and growth profiles of Santa Ines male and female lambs form the three respective datasets used in the present study.

2.1. Interpretation of degradation profiles

Vieira et al. (2012) studied long-term in situ degradation profiles of the neutral detergent fiber (NDF) of selected plant forages, and three profiles used by those authors were taken for comparison of the statistical fits of the nonlinear models. The chosen profiles contained 19, 18, and 18 time points, and the three profiles started at time zero and ended at 240, 192, and 144 h, respectively. The profiles resembled a sigmoid decreasing pattern that reaches asymptotically an indigestible fraction or residue. The model used to mimic these profiles was conceptually deduced by Vieira et al. (2008a), as follows:

$$R_t = A(\delta^{N_a} \exp(-k_a t) + \exp(-\lambda_a t) \sum_{i=0}^{N_a-1} ((1 - \delta^{N_a-i})(\lambda_a t)^i / i!)) + U + e_t \quad \text{Eq. (1)}$$

This model belongs to a class of mechanistic models with stochastic elements usually named as GNG1 degradation models (Ellis et al., 2005; Ellis et al., 1994; Vieira et al., 2008a). The variable R_t (dimensionless) is the residual NDF at time t (h). Parameters A (dimensionless) is the NDF fraction available for digestion, λ_a (1/h) is the fractional rate of preparation of the substrate A to be degraded, k_d (1/h) is the fractional degradation rate, U (dimensionless) is the unavailable or indigestible fraction of NDF, and N_a is a positive integer that represents the order of time-dependency of the dynamic lag process. The constant $\delta = \lambda_a/(\lambda_a - k_d)$ simplifies the expression, and e_t are unknown independently and identically distributed normal errors, i.e., $e_t \sim \text{Niid}(0, \sigma^2)$.

2.2. Interpretation of particle passage kinetics

We used two fecal excretion profiles of Chromium (Cr) and one profile of Lanthanum (La) as particulate markers obtained from unpublished digestion trials performed in our laboratory as examples for fitting procedures. The GNG1 series of stochastic statistical models (Matis, 1972; Matis et al., 1989) were used to interpret fecal excretion patterns of the concentration of the particulate markers in the feces of cattle (Cr, one profile) and sheep (one Cr and one La profiles), as follows:

$$C_t = e_t, 0 \leq t < \tau \quad \text{Eq. (2)}$$

$$C_t = C_0 k (\delta^N \exp(-kt^*) - \exp(-\lambda t^*) \sum_{i=1}^N (\delta^i (\lambda t^*)^{N-i} / (N-i)!)) + e_t, t \geq \tau \quad \text{Eq. (3)}$$

To simplify the expression, $\delta = \lambda/(\lambda - k)$ and $t^* = t - \tau$. Variable C_t is the concentration (mg/kg) of the particulate marker in the fecal dry matter at a given time t (h). Parameter C_0 represents the marker concentration in the first compartment or raft. The kinetic parameters λ (1/h) and k (1/h) are the fractional rate of transference of particles from the raft to the second compartment or pool of escapable fluid-diluted particles and the fractional passage rate of particles eligible to escape the pool of fluid-diluted particles though the reticulo-omasal orifice, respectively. The parameter τ represents the discrete

time-delay (h) for a given particle that passed the reticulo-omasal orifice emerge in feces. Parameter N is a positive integer that represents the order of time dependency for the transference of a particle from the raft pool to the pool of escapable particles, and e_t is the usual error term (Vieira et al., 2008b).

2.3. Interpretation of growth data with repeated measures

Longitudinal profiles containing 6,779 records on body mass of 168 male and 242 female lambs of the Santa Inês breed (a hair sheep breed from Brazil) characterize the dataset about growth. Categorical variables recorded were sex, litter size, and year. The recorded age of the animals ranged from birth to 450–510 days of age. The Richards's model (Richards, 1959) or Eq. (4) is general enough to mimic growth profiles of several species, which is useful for describing quantitatively the growth of farm animals (France et al., 1996). Therefore, Eq. (4) was the natural choice to represent the general pattern of the growth of the Santa Inês lambs.

$$Y_t = Y_0 \times Y_f / (Y_0^m + (Y_f^m - Y_0^m) \exp(-\mu t))^{1/m} \quad \text{Eq. (4)}$$

The parameters Y_0 and Y_f in Eq. (4) are the intercept and the asymptotic estimates of the masses (kg) at birth and maturity, respectively. The parameter μ (1/days) in Eq. (4) represents the fractional rate of growth, and the parameter m is a size-scaling dimensionless parameter that scales growth to metabolic processes. Another model that mimics growth is the Generalized Michaelis-Menten model (López et al., 2000) described by Eq. (5).

$$Y_t = (Y_0 K^m + Y_f t^m) / (K^m + t^m) \quad \text{Eq. (5)}$$

Parameters Y_0 and Y_f in Eq. (5) have the same biological meaning of Eq. (4); nonetheless, parameter K represent the age (days) at which half of the adult size is achieved, and m is a scale, dimensionless parameter. By assuming Eq. (4) or (5) as possible nonlinear

relationships between growth and time, the complete specification of the models is given by

$$Y_{ijlq} = f(\Theta_{ijl}, t_{ijlqn}) + e_{ijlqn}. \quad \text{Eq. (6)}$$

In this model, $Y_{ijlq} = Y_t = f(\Theta_{ijl}, t_{ijlqn})$ is the expected mean value of growth for a given time t , and $\Theta' = [\theta_1 \ \theta_2 \ \theta_3 \ \theta_4]$ is the transpose vector of the fixed parameters of the growth function under study, i.e., Eq. (4) or Eq. (5). The effect of lamb ($u_{q(ijl)}$) was considered random and the body mass of the q -th lamb was recorded at the n -th time, so that there were $q = 1, \dots, r_q$ lambs for each $i \times j \times l$ combination, and $n = 1, \dots, r_n$ time points taken as repeated measures for each one of the q -th lambs within each $i \times j \times l$ combination. The fixed effects of the model are sex, litter size, and year of birth. In matrix terms, this model can be specified as follows:

$$\Theta_{ijl} = \begin{bmatrix} \theta_{1111} \\ \theta_{2111} \\ \theta_{3111} \\ \theta_{4111} \\ \vdots \\ \theta_{4222} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} w_1\alpha_{11} + w_2\alpha_{12} + v_1\beta_{11} + v_2\beta_{12} + x_1\tau_{11} + x_2\tau_{12} \\ w_1\alpha_{21} + w_2\alpha_{22} + v_1\beta_{21} + v_2\beta_{22} + x_1\tau_{21} + x_2\tau_{22} \\ w_1\alpha_{31} + w_2\alpha_{32} + v_1\beta_{31} + v_2\beta_{32} + x_1\tau_{31} + x_2\tau_{32} \\ w_1\alpha_{41} + w_2\alpha_{42} + v_1\beta_{41} + v_2\beta_{42} + x_1\tau_{41} + x_2\tau_{42} \\ \vdots \\ w_1\alpha_{41} + w_2\alpha_{42} + v_1\beta_{41} + v_2\beta_{42} + x_1\tau_{41} + x_2\tau_{42} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} u_{11(ijl)} \\ u_{21(ijl)} \\ u_{31(ijl)} \\ u_{41(ijl)} \\ \vdots \\ u_{4r_q(222)} \end{bmatrix} \quad \text{Eq. (7)}$$

To the four parameters of Eq. (4) or Eq. (5), i.e., $p = 4$ as the number of parameters, are attributed the fixed effects of sex (α_{pi}), litter size (β_{pj}), and year of birth (τ_{pl}), and the random effect of each parameter ($u_{11(ijl)}, \dots, u_{4r_q(ijl)}$) $\forall p = 1, \dots, 4, i = 1, 2, j = 1, 2$, and $l = 1, 2$. To the indicator variables w_i, v_j , and x_l are attributed the values zero or one to produce the desired level for each factor that affects the parameters depending on each $i \times j \times l$ combination. For instance, a male lamb ($i = 2$) from an offspring of twins ($j = 2$) in 2010 ($l = 2$), has its fractional specific growth rate of Eq. (4) equal to the following linear combination: $\mu_{222q} = 0\alpha_{31} + 1\alpha_{32} + 0\beta_{31} + 1\beta_{32} + 0\tau_{31} + 1\tau_{32} + u_{3r_q(222)}$; for a female lamb ($i = 1$) from a single birth ($j = 1$) in 2010 ($l = 2$), the asymptotic growth

parameter is assumed to be affected as follows: $Y_{f_{112q}} = 1\alpha_{21} + 0\alpha_{22} + 1\beta_{21} + 0\beta_{22} + 0\tau_{21} + 0\tau_{22} + u_{2r_q(112)}$, and so on. In that case, the possible total number of fixed parameters estimated for this dataset was $p \times i \times j \times l = 4 \times 2 \times 2 \times 2 = 32$. The number of random parameters will depend on the necessity of ascribing one or more fixed parameters with random components, which ultimately determine the number of variance and covariance parameters to be estimated.

2.4. Fitting procedures

The nonlinear models used to describe the kinetics of digestion and passage were fitted by means of the NLIN procedure of SAS (v.9, release 9.3, SAS/STAT 12.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), by using the function nls2 in the package of the same name (Grothendieck, 2013) or, whenever necessary, by the function nlsLM of the minpack.lm package (Elzhov et al., 2013) of the software R (R Development Core Team, 2013). The Gauss-Newton algorithm based on the Taylor-series linearization was the primary choice for fitting the nonlinear models with R, but whenever convergence problems were detected due to non-positive definite matrices and high correlation among parameters, the Levenberg-Marquardt algorithm was chosen (function nlsLM of R). The Newton algorithm was the preferred choice in the NLIN procedure of SAS for fitting compartmental models of digestion; however, the Marquardt algorithm was chosen to solve the same problems referred to previously (Vieira et al., 2012). The NLIN procedure and the nls2 programs were chosen to allow the comparison of both algorithms based on a grid search on the initial parameter estimates. When necessary, the initial estimates used for fitting the nonlinear models in minpack.lm were based on educated guesses. The choice of the best GNG1 version for both models of digestion and passage was performed according to likelihood criteria as described by Vieira et al. (2012).

The growth models were fitted by using the %NLINMIX macro of SAS and the nlme package of R with nlme function (Pineiro and Bates, 2000). The quality of fit of the growth models were evaluated by computing the same likelihood criteria used for the previous nonlinear models.

2.4.1. Fitting the nonlinear models by ordinary nonlinear least squares (ONLS)

The following programs were used to fit the GNG1 models used to describe digestion and passage kinetics with NLIN procedure of SAS:

(1) model for digestion kinetics,

```
data digest;          /* This line names the data file */
input t y;           /* Inputs are time (t) and response variable (y) headings
*/
N=1;                 /* order of time dependency as an additional given input
*/
datalines;          /* This line indicates dataset */
...datalines...     /* a matrix with column number equal to input variables */
;

proc nlin data=digest best=3 method=newton; /* call for procedure nlin */
parms              /* name parameters and initial values by grid search */
l=.12 to 2.88 by .12 /* l represents  $\lambda_a$  */
k=.01 to .1 by .01  /* k represents  $k_a$  */
U=.1 to 1 by .1
A=.1 to 1 by .1;
bounds U>0, A>0, l>k>0; /* Defining feasible bounds for parameters */
d=1/(1-k);

f=0;
if N>0 then do i=0 to N-1;
f=f+(1-d**(N-i))*((1*t)**i)/fact(i);
end;
```

These lines define the sum in Eq. (1)

```

model y=A*((d**N)*exp(-k*t)+exp(-l*t)*f)+U;
output out=v student=sr predicted=yhat sse=sse;
run;          /* end of routine */;

```

and (2) model for passage kinetics,

```

data passage;
input time marker;
y=marker;
N=1;          /* order of time dependency as a given input */
datalines;
...datalines...
;
proc nlin data=passage best=3 method=newton;
parms
tt=8 to 20 by 2      /* tt represents  $\tau$  */
l=.12 to 2 by .05   /* l represents  $\lambda$  */
k=.02 to .10 by .02 /* k represents  $k$  */
C0=500 to 10000 by 500;
bounds tt>0, l>k>0, C0>0;
d=1/(l-k);
t=time-tt;
f=0;
if n>0 then do i=1 to n;
f=f+((d**i)*(l*t)**(n-i))/fact(n-i);
end;
if t<=0 then model y=0;
else model y=c0*k*((d**N)*exp(-k*t)-exp(-l*t)*f);
output out=v predicted=yhat student=sr sse=sse;
run;          /* end of routine */.

```

These lines defines the sum in Eq. (3)

Equation (2) and (3) form a segmented model and in order to make the marker concentration inferable to the entire time range, it is necessary to introduce the

“if...then...else...” command in SAS; otherwise, the optimization procedure seeks for a minimum sum of squares of errors (*SSE*) that yields biased parameter estimates (Mertens and Loften, 1980; Vieira et al., 2008a).

To fit the same series of GNG1 models one can build up a text file containing as column headings the same inputs for SAS, i.e., *t* and *y* for independent (predictor) and dependent (predictand) variables for both the digestion and passage files. Therefore, we used the following programs in R:

(3) model for digestion kinetics,

```
dataset = read.table("C:\\documents\\R dataset\\digestion.txt", h = T)
require(nls2)          # calls for nonlinear least squares with grid
search #
N=1                   # order of time dependency as a given input #
nam=c()
f="((1-(1/(1-k))**(N-0))*(1*t)**0)/factorial(0)"
if (N<2){ff=f
}else{ff=f
for(i in 0:N-1){nam[i]=paste("+","((1-(1/(1-k))**(N-
",i,")*(1*t)**",i,")/factorial(",i,")"),sep=""}}
for(i in 1:N-1)}
ft=(paste("y~",paste("A*((1/(1-k))**N)*exp(-k*t)+exp(-
1*t)*(",ff[1],")+U"))
st1= expand.grid(l = seq(0.12, 2.88, by =0.12),k = seq(0.01, .1, by =0.01),
U=seq(0.1, 1, by =0.1),A = seq(0.1, 1, by =0.1))
model=nls2(ft,data=dados,start=st1)      #end of routine#;
```

Algebraic Sum in
Eq. (1)

and (4) model for passage kinetics,

```
dataset = read.table("C:\\documents\\R dataset\\passage.txt", h = T)
require(nls2)
N=1                   # order of time dependency as a given input #
```

```

nam=c ()
ff=c ()
f=c ()
f= "(((1/(1-k))**1)*(1*(times-tt))**(N-1))/factorial(N-1)"
if (N<2){ff=f
}else{ff=f
for(i in 2:N){nam[i]=paste("+", "(((1/(1-k))**", i,
")*(1*(times-tt))**(N-", i, ")))/factorial(N-", i, ")", sep="")}
for(i in 2:N)
ft=paste("y~", paste("c0*k* ((1/(1-k))**N)*exp(-k*(times-tt))-exp(-
1*(times-tt))*(", ff[1], "))* (time-tt>0)")
st1= expand.grid(tt = seq(8, 20, by =2), l = seq(0.12, 2, by =0.05),
k=seq(0.02, 0.10, by =0.02), c0 = seq(500, 10000, by =500))
model=nls2(ft, data=dados, start=st1) # end of routine #.

```

} Algebraic Sum in Eq. (3)

In R, one can separately create a text file containing data in an ordered structure identical to SAS. In our case, `digestion.txt` or `passage.txt`, and the path by which the text files containing data are located. The summations in Eqns. (1) and (3) in R are expanded as input texts that enter the program in an algebraic form. The segmented model is fitted in R by introducing the constraint $(time-tt>0)$ multiplied by the equation in the specified function (`ft`) as shown in the preceding program lines.

2.4.2. Fitting the growth functions as nonlinear mixed effects models

There are many program sentences published in the literature in which are provided the ways to fit Eqns. (6) and (7) that constitute the generalized form of a nonlinear mixed effects model (Littell et al., 2006; Strathe et al., 2010; Vonesh, 2012). Nonetheless, due to the large number of parameters fitted, we presented the programs for R and SAS in the Appendix. Equations (4) and (5) were fitted with maximum likelihood (ML) as the estimation method. Nonetheless, because of the larger number of fixed parameters to be fitted, we obtained nonlinear least squares estimates with the `nls2`

function that were used as starting values for nlme and %NLINMIX. The variance-covariance matrices tested for random factors were the variance components (VC) in SAS, or equivalently pdDiag in R, and the unrestricted structure (UN) in SAS, or equivalently pdSymm in R. However, to accommodate variation associated to measures of growth across the time continuum we used the continuous autoregressive process (CAR(1)) of R and equivalently the spatial power law (SP(POW)) of SAS. However, we adopted as a basic model by omitting the “correlation” in the nlme function of R and “type=VC” sentence in the repeated statement of SAS to check the assumption of independence of errors within individuals.

We evaluated some hypotheses regarding the quality of fit of the models by means likelihood criteria (Burnham and Anderson, 2004). First, we tried to fit the complete specification of the model with “type=UN” in the random statement of SAS and “random=pdSymm” in the nlme function of R by ascribing random effects to all fixed parameters of Eqns. (4)–(5). To accommodate variance-covariance in repeated measures we set “correlation=corCAR1” in nlme and “type=SP(POW) (t)” in the repeated statement of SAS, and to account for heteroscedasticity the power of the mean variance function that accounts for the scaling effect of the mean was used, i.e.,

$$\sigma_t^2 = \sigma^2(Y_t)^{2\psi}. \quad \text{Eq. (8)}$$

The σ_t^2 of Eq. (8) is the variance associated to mass (kg^2) at a given age of the animals, t ; σ is the residual standard deviation (kg), Y_t is the expected mean value of the growth profile at a given t ; and ψ is the power scaling of the mean Y_t at a given t . In sequence were estimated fixed and random effects by fitting the variance structures VC in SAS and pdDiag in R. After that, random factors were associated to parameters Y_f and μ of Eq. (4), and to parameters Y_f and K of Eq. (5), and the VC or pdDiag and corCAR1 or SP(POW) accordingly. At last, only one random factor was associated to the asymptotic mass of the

animals with VC or pdDiag and SP(POW) or CAR1 for SAS and R, respectively. The final choice of the best model, i.e., the choice of expected mean (Eq. (4) or Eq. (5)) to substitute for Y_t on Eq. (8), or any other variation of the specification of the model as previously mentioned, was based on likelihood criteria. Each specification of the model was considered as a hypothesis (h) to be evaluated. Contrasts of interest between parameters were also obtained after fitting the best chosen model fitted by either NLINMIX macro (SAS) or function nlme (R).

The different fits based on estimation by ML (growth profiles) and ONLS (kinetic profiles) were compared by the corrected Akaike criterion (Akaike, 1974; Sugiura, 1978), namely $AICc_h$. The choice of the models was substantially improved by computing the extended criteria, namely the Δ_h values, the likelihood probabilities of the h -models or w_h , and the evidence ratios or ER_h (Burnham and Anderson, 2004) computed with reference to the model (or hypothesis) that presented the highest w_h (Vieira et al., 2012).

The least squares means (PROC GLM of SAS) of the mass of the animals at each age were computed to compare both PROC NLMIXED (SAS) and function nlme (R) procedures and to evaluate the impact of accounting for heteroscedasticity and correlation on estimates of the fixed parameters. Point and 95% confidence interval estimates of the parameters and predicted body mass were obtained by considering the triple factorial combinations of the fixed effects of sex (s), litter size (b), and year of birth (yr) of the animals (by using the “groups=~sbyr” in R). One of the PROC NLMIXED outputs is the 95% confidence interval estimates of the predicted values.

3. Results

The SAS and R procedures yielded computationally the same estimates of SSE for all fitted GNG1 models to the digestion and passage profiles studied. There were only a few situations in which convergence was achieved after bounds being violated. This

happened with GNG1 passage model for La because for lower values of N , the estimates of $\lambda \rightarrow k$ and clearly violated the bound $\lambda > k$. The result were the inconsistencies among SSE and likelihood criteria observed between SAS and R though such inconsistencies were unusual and of very small scale (Table 1).

An important measure that algorithms PROC NLIN and function nls2 operate equally likely were the evidence of identical point estimates for parameters of models GNG1 for digestion and passage (Tables 2 and 3). Nonetheless, there were differences between the algorithms regarding the amplitude of the 95% confidence interval estimates for almost all parameters. Generally, function nls2 yielded narrower confidence intervals than PROC NLIN. The only exception was the amplitude of the confidence interval for λ_a of the Sugar Cane and τ of the second profile of Cr obtained by fitting G2G1 to those profiles. The case for τ might had be a case of approximation of decimal places but the close values indicate an exception that nls2 systematically yielded interval estimates within the PROC NLIN estimates for the nonlinear parameters.

The situation is not necessarily the same for predicted point and interval estimates for both C_t and R_t . Although predicted values for the entire time range were almost equal and only small differences were observed because of the number of decimal places adopted, the interval estimates for predictions with function nls2 were slightly lower than PROC NLIN. However, the low numerical differences had no practical effect as one can see after inspecting the plots containing point and interval estimates of the time trends (Figure 1).

The %NLINMIX macro faced convergence problems while fitting Eqns. (4)–(5). We did not successfully fitted more than one random factor associated to Eq. (4), and no more than two random effects associated to Eq. (5). We observed error messages (e.g., “did not go beyond iteration zero”) or lack of convergence even after enlarging the number of

iterations performed (up to 500). Nevertheless, the number of models fitted with fixed parameters, random effects associated, and different variance-covariance structures increased by using function nlme. It is important to emphasize that the criterion for convergence and number of iterations were set equally for both algorithms. However, the function nlme and %NLIMIX macro did performed identically in terms of yielding an equal value of $AICc_h$ for Eqns. (4)–(5) fitted with a single or two random factors and VC structures adopted for both random effects and repeated measures (Tables 4 and 5). Nonetheless, the higher the complexity of the model fitted the greater the observed differences between the values of the log-likelihood functions yielded by both algorithms after convergence.

The feasible fits performed by %NLINMIX macro and function nlme that were equivalent in complex model structures were for Eq. (5) fitted with VC matrix for random effects associated to Y_f and K , a continuous time auto-regressive correlations (CAR1 for nlme or SP(POW) for %NLINMIX) for repeated measures weighted by Eq. (8) resulted in completely different log-likelihood estimates. Fortunately, both algorithms allowed us to reach the same conclusion, i.e., this model unequivocally best mimicked the growth profiles in terms of scale and variability. It is important to note that for %NLINMIX the value of ψ of Eq. (8) must be given in the “weight function” as $\text{weight} = (1/Y_t)^{2\psi}$, and we used the estimated ψ obtained with nlme; in addition, it is important to emphasize that we also counted ψ as an additional parameter to compute the $AICc_h$.

An important result (not shown) was the almost equal point and interval estimates of the parameters yielded by both function nlme and %NLINMIX macro; those estimates were obtained by fitting models with VC structures for both random effects and repeated measures without corrections for scaling effects of mass (VC–VC). The Eq. (5) or the Generalized Michaelis-Menten model was fitted with R and SAS with random effects

associated to Y_f and K , a VC structure related to the random effects, correlation for repeated measures, and the scaling effect of the mean accounted for (Table 6). The residual standard deviation estimate of the population laid 10^{-3} orders of magnitude lower than the asymptotic mass irrespective of sex, litter size, and year of birth, by accounting for variances of the random effects ($\sigma_{u_1}^2, \sigma_{u_2}^2$), correlation between repeated measures across ages with R (ϕ) and SAS ($\sigma^2 \phi^{d_{qn}}$), and heteroscedasticity with aging of the sheep (Eq. (8)). The nlme outputs the point and interval estimate of parameter ϕ , whereas %NLINMIX outputs the point and interval estimate of the product $\sigma^2 \phi^{d_{qn}}$, and the user must be aware about that. Because of the large number of observations in the dataset of Santa Ines lambs, the confidence interval estimates for parameters were narrow, thus conferring an overall good precision to the inferable statistics.

The contrast among K values of males versus females independently of litter size and year of birth revealed that females were precocious than males ($P < 0.001$). In the same way, irrespective of litter size and year of birth males presented greater asymptotic masses (Y_f) than females ($P < 0.001$). The differences in K as the age at which animals reached half of the asymptotic masses are not easily perceived after visual appraisal of the fitted functions to the growth profiles, but differences among asymptotic trends were more pronounced (Figure 2). The Y_f estimates for males were affected by year of birth ($P < 0.001$), which in its turn represented the environmental conditions faced by the animals. Nonetheless, maturity for females born in 2008 did not come first than females born in 2010 ($P = 0.311$). The number of lambs per offspring did affect the asymptotic masses for males born in 2008 ($P < 0.001$) and 2010 ($P = 0.028$), what evidenced different environmental conditions faced by single or twinborn lambs during their growth trajectories.

The observed differences between predicted values obtained by fitting Eq. (5) with function `nlme` and PROC NLMIXED were expected; despite the heteroscedasticity accounted for by the weight function, no random effects were ascribed to fixed parameters and no correlation among repeated measures was accounted for in PROC NLMIXED (Figure 2). The random effects ascribed to Y_f and K , and the correction for the correlation among repeated measures appeared to affected more the predicted growth trend of the males (Panels e, f, g, and h of Figure 2) than the females (Panels a, b, c, and d of Figure 2), irrespective of year of birth and litter size. In the referred panels, one can see particularly at the later stages of growth ($t > 330$ days), that the predicted values with `nlme` (Δ) followed the tendencies of some specific observed least squares means (\circ), whereas the predicted values (solid lines) obtained with PROC NLMIXED sought for an intermediary path, despite the fact that we had used a scaling correction for the variance. Unfortunately, at least to our knowledge, confidence intervals for a predicted value at a given age do not figure as an output of the function `nlme` (R) so that we could not compare confidence intervals for the predicted Y_t .

4. Discussion

The use of a nonlinear model is indicated when the researcher wants to anticipate reality with a reasonable degree of interpretability, parsimony, and by extrapolating results beyond the observed data range (Pinheiro and Bates, 2000). By interpretability, we mean that not only predictions of the predictand but any function of the nonlinear parameters are of interest (Littell et al., 2006). Examples of such interpretative functions are the age at the inflection point that establishes puberty in the case of growth, and the mean retention time of a particle in the gastrointestinal tract and the effective degradability of a specific nutrient in the rumen in digestion kinetic studies (Matis et al., 1989; Strathe et al., 2010; Zanton and Heinrichs, 2009). On its turn, parsimony relates to

the smaller number of parameters that a nonlinear model built to mimic reality contains; it is the result from an integrative quantitative analysis based on underlying principles (and by neglecting many others) of how processes or mechanisms work. As demonstrated by Pinheiro and Bates (2000), one can fit a polynomial model to growth data with spectacular eye-perception-adherence to another nonlinear model trajectory. Nevertheless, isolated, the parameters of such polynomial (also called empirical) models are useless because they are not derived from theoretical principles (Mertens, 2005), and interpretability becomes interdependent with parsimony on this matter. Lately, by extrapolating results one can understand easily that inferences out of the observed data range are less risky with nonlinear models because its projected trajectory functions are the result of the underlying assumptions and proposed mechanisms. As practical examples we list the first-order kinetics that implies an asymptotic consumption of the substrate available, and the proportionality between body mass and quantity of growth machinery that concur for an irreversible and asymptotic growth (France et al., 1996; 1998; Mertens, 2005).

The predictions obtained from the operation of a nonlinear model demands that the deterministic (mechanistic) formulation as an “ideal reality” accommodates the uncertainties derived from the measurement errors. The reductionist approach used to constrain reality into a never attainable set of idealized natural conditions that circumscribes the operation of a model, and the unpredictable disturbances as random factors out of control of the researcher are either features and limitations of nonlinear models needed to be accounted for and well understood by modelers (Bard, 1974; Mertens, 1976). Therefore, the complete model establishment (stochastic formulation) starts by adding an error term that encompasses pseudo-random and true random elements: the former results from both voluntary and involuntary ignorance of the

scientist about reality, and the latter are mutually independent events whose occurrence are characterized by the form and parameters of some probability function (Lucas, 1964). The form of Eqns. (1)–(3) and (6) materialize these characteristics for the sake of a more complete model formulation.

The traditional ONLS relies on the assumption that errors are independent and present a constant distribution. Researchers found justification for this standard approach because the magnitude of measurement errors (e.g., recording masses in the laboratory or animal masses in the field) usually dominates the stochastic structural errors (Hui and Jackson, 2007; Matis and Hartley, 1971; Matis et al., 1989; Ritz and Streibig, 2008). Therefore, whenever independent and identically distributed normal errors are dominated by measurement errors the researcher can use ONLS for estimating nonlinear parameters. The ONLS tool is adequate when the scientist is interested in the behavior of a fixed set of individuals, and allows the researcher to assess the expected mean response for a given value of the predictor in a fixed set of conditions (Pinheiro and Bates, 2000; Ritz and Streibig, 2008). The algorithms used for minimizing the objective *SSE* may differ from one statistical package to another (Ritz and Streibig, 2008), but the observed *SSE* values in the present study were almost equal (Table 1). For point estimates, those differences are not numerically relevant as demonstrated between the SAS and R outputs reported here (Tables 2 and 3). The Gauss-Newton linearization differ from the Newton algorithm with respect to the use of second derivatives and a second order Taylor series expansion in the latter, but the Newton method works well only if the Hessian matrix is positive definite. The Marquardt algorithm was designed to overcome the problem of indefiniteness of the Hessian (Bard, 1974), and it works well in practice (Mertens and Lofton, 1980) and have been used by some researchers to estimate parameters of digestion kinetics (Michalet-Doreau and Ould-Bah, 1992; Moore et al.,

1992). However, we advocate that the good performance of the Newton algorithm should not be neglected; in practice, this algorithm works well to solve the problem of fitting GNG1 models because it generally converges in a smaller number of iterations, results in plausible estimates of the parameters, and is less sensitive to the initial estimates after a grid search. In addition, whenever a solution is unattainable with the Newton algorithm (in SAS), the Marquardt compromise can be used (Vieira et al., 2012) for both SAS and R. Algorithms differ in terms of type, mode of implementation of the same algorithm, parameterization, and still they yield quite approximate point estimates (Ritz and Streibig, 2008). We observed very close point estimates, but reasonable differences for interval estimates of the parameters of Eqns. (1)–(3) were also encountered (Tables 2 and 3). Fortunately, the numerical differences observed for confidence intervals of \hat{C}_t and \hat{R}_t (numerical values not shown) seem to be of no practical importance (see Fig. 1).

Because of the nature of many experiments in which data are recorded as repeated measures over time on the same experimental unit and because variability in time-series records scales with the mean value, the possibility of correlations and heteroscedasticity between and within experimental units exist and have long been recognized by researchers when fitting linear and nonlinear models (Gill, 1981; Matis and Hartley, 1971). Many models were developed to account for a more general structure about variances and covariances of the errors, spatial correlation among experimental units in the field, and continuous heteroscedastic models to accommodate variability over the range of predictor values (Littell et al., 1998; 2006; Matis and Hartley, 1971; Pinheiro and Bates, 2000; Wolfinger, 1996). The growth profiles used in the present study to evaluate predictions based on different programs to fit nonlinear mixed models are more complete than the digestion and passage profiles. The growth profiles we had studied resulted from the collection of several growth records of many individuals over time; they contain

information about fixed factors that may influence the nonlinear parameters, random factors that ultimately alter the estimates of the predictand trajectory because of possible correlations between and within subjects, and exhibited a variability that changed alongside the predictor range. Nevertheless, Zanton and Heinrichs (2009) demonstrated the same attributes for kinetic studies with ruminants by simulating in situ degradation data and by analyzing the resultant profiles with %NLINMIX macro. Strathe et al. (2010) evaluated the quality of fit of nonlinear models to the growth profiles of barrows, boars, and gilts with random factors of litter, and pig nested within litter. They concluded that the GMM model of growth (Lopez et al. 2000) was the best choice among the models compared, and all problems related to correlations within repeated measures on the same experimental units, and heteroscedasticity as the age of the animals increased can be modeled properly and accounted for with function nlme of R and %NLINMIX macro.

In our study, a successful fit of Eq. (4) or the Richards model with all parameters related to a random factor, an unrestricted variance-covariance structure for both random animal factors (between) and repeated (within) measures in the same subjects, and completed with Eq. (8) was not accomplished, no matter the program used (SAS or R). As stated by Pinheiro and Bates (2000), the possibility of fitting these fully parameterized models does not come without a cost. With R we were able to fit up to 28 variations with Eqns. (4)–(5) by accounting for many variance structures; but we only successfully fitted 13 variations of Eqns. (4)–(5) with SAS. Fortunately, after using both programs we arrived to the same conclusion: the most suited model to mimic reality was the GMM model with random factors associated to the asymptotic growth and to the age animals achieve half of the asymptotic growth (see Tables 4 and 5). By this, however, we do not mean that the programs yielded equal estimates. Computationally, algorithms differ in the way they are programmed and different numerical estimates may result (Ritz

and Streibig, 2008). An important difference between the two programs is the accommodation of Eq. (8) in the algorithm (Littell et al., 2006; Pinheiro and Bates, 2000; Vonesh, 2012). We observed equivalence (equal $AICc_h$ values) between function nlme and %NLINMIX macro only when a VC-VC structure was used for both random factors and repeated measures, as well as by assuming homoscedasticity. The %NLINMIX macro of SAS yielded smaller $AICc_h$ values than function nlme, but the comparison among such differences between SAS and R are meaningless and should not be regarded by the researcher to decide which program use. Because algorithms differ also in terms of successful fits of the models, there is no guarantee that the scenario we reported here will reproduce always for any dataset and models; it is possible that for some model one of the programs do not reach convergence and a different conclusion about the best model or models to choose may arise. In the end, the researcher have to decide which model or models are the best choice for representing reality on the grounds provided by the robustness and objectivity of the likelihood criteria as recommended by Burnham and Anderson (2002).

Once the researcher choose the best model or models, valuable inferences can be drawn with the approach for fitting nonlinear mixed effects models (Strathe et al., 2010; Zanton and Heinrichs, 2009). Confidence intervals for parameters and contrasts among parameter estimates are examples that can be requested as outputs; in addition, important interval estimates regarding variances can be reported and, most importantly, after accounting for variability between and within experimental units properly. This procedure results in good precision for the inferences taken from the experiment that would otherwise not be possible to achieve with traditional statistical tools used to interpret animal science experiments (see Table 6). Off course, the large sample size of growth profiles of the Santa Ines sheep studied here favored precision, but the advantage

of such large datasets is the possibility of finding significance for parameters and contrasts among them. The NLMIXED of SAS has the advantage of estimating confidence intervals for functions of the parameters. The age at inflection ($t_{infl.}$) for Eq. (5) can be computed as $t_{infl.} = K((m - 1)/(m + 1))^{1/m}$, expressed as days (López et al., 2000). Once the inflection point is associated to puberty, the age at $t_{infl.}$ is an indicator of precociousness. However, after consulting the references about R (Pinheiro and Bates, 2000) and SAS (Littell et al., 2006; Vonesh, 2012), including the internet until January of 2014, we faced that interval estimates of the predictand and other functions of the parameters that may be of interest to the researcher do not figure in the outputs of function nlme and %NLINMIX macro. Without using an advanced knowledge in statistics, the common user will not grab those estimates. We hope these options are no longer missing in these programs in the near future.

5. Conclusions

The estimation of nonlinear parameters with ordinary nonlinear least squares can be equally performed with function nls2 of R or PROC NLIN of SAS. Both programs yield point and interval estimates without relevant numerical differences and can be used for the interpretation of degradation profiles of nutrients such as fiber and particulate marker excretion profiles by fitting the GNG1 class of compartmental models.

There are nonlinear models built in a way that its parameters are sliced among fixed effects, have random factors associated with many possible variance-covariance structures for random factors, and with variance structures modeled to account for possible correlated and heteroscedastic variances for measures taken over time. Growth profiles are examples of longitudinal data that can be interpreted by such nonlinear models. The packages nlme of R and %NLINMIX macro of SAS are especially designed to meet the requirements for an adequate quantitative description of this type of time

profiles. If both programs converge while fitting the same nonlinear model to growth profiles the value of the likelihood function and the Akaike criterion equate only when the simplest variance structures are either accommodated for random factors and repeated measures. For more complex variance-covariance structures, the programs equal only point estimates of parameters, but almost all interval estimates yielded by R are within interval estimates yielded by SAS if both algorithms achieve convergence for the same model.

Acknowledgements

This research was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Brazil), process numbers 306584/2012-3 and 479593/2010-8, and by Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ (RJ, Brazil), process number E-26/110.231/2011. The first author thanks the fellowship provided by FAPERJ (process number E-26/100.850/2012).

References

- Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* 19, 716-723.
- Bard, Y., 1974. *Nonlinear parameter estimation*. Academic Press, Inc., New York.
- Blaxter, K.L., Graham, N.M., Wainman, F.W., 1956. Some observations on the digestibility of food by sheep, and on related problems. *British Journal of Nutrition* 10, 69-91.
- Brody, S., 1945. *Bioenergetics and growth. With special reference to the efficiency complex in domestic animals*. Reinhold Publishing Co., New York.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R., 2002. *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. Springer-Verlag New York, Inc., New York.
- Burnham, K.P., Anderson, D.R., 2004. Multimodel Inference: Understanding AIC and BIC in Model Selection. *Sociological Methods & Research* 33, 261-304.
- Ellis, W.C., Mahlooji, M., Matis, J.H., 2005. Models for estimating parameters of neutral detergent fiber digestion by ruminal microorganisms. *Journal of Animal Science* 83, 1591-1601.

- Ellis, W.C., Matis, J.H., Hill, T.M., Murphy, M.R., 1994. Methodology for estimating digestion and passage kinetics of forages, in: Fahey Jr., G.C. (Ed.), *Forage Quality, Evaluation and Utilization*. ASA Inc., CSSA Inc., SSSA Inc., Madison, pp. 682-756.
- Elzhov, T.V., Mullen, K.M., Spiess, A.-N., Bolker, B., 2013. minpack.lm: R interface to the Levenberg-Marquardt nonlinear least-squares algorithm found in MINPACK, plus support for bounds. R package version 1.1-8.
- Fox, D.G., Tedeschi, L.O., Tylutki, T.P., Russell, J.B., Van Amburgh, M.E., Chase, L.E., Pell, A.N., Overton, T.R., 2004. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology* 112, 29-78.
- France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., 1996. Growth functions and their application in animal science. *Annales de Zootechnie* 45 Suppl., 165-174.
- France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., Baldwin, R.L., 1998. Biomathematical Applications in Ruminant Nutrition. *Journal Franklin Institute* 335, 241-258.
- Gill, J.L., 1981. Evolution of Statistical Design and Analysis of Experiments. *Journal of Dairy Science* 64, 1494-1519.
- Grothendieck, G., 2013. nls2: Non-linear regression with brute force. R package version 0.2.
- Hui, D., Jackson, R.B., 2007. Uncertainty in allometric exponent estimation: a case study in scaling metabolic rate with body mass. *Journal of Theoretical Biology* 249, 168-177.
- Hungate, R.E., 1966. *The rumen and its microbes*. Academic Press Inc., New York.
- Littell, R.C., Henry, P.R., Ammerman, C.B., 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. *Journal of Animal Science* 76, 1216-1231.
- Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberger, O., 2006. *SAS® for Mixed Models, Second Edition* ed. SAS Institute Inc., Cary, USA.
- López, S., France, J., Gerrits, W.J.J., Dhanoa, M.S., Humphries, D.J., Dijkstra, J., 2000. A generalized Michaelis-Menten equation for the analysis of growth. *Journal Animal Science* 78, 1816-1828.
- Lucas, H.L., 1964. Stochastic elements in biological models; their sources and significances, in: Gurland, J. (Ed.), *Stochastic models in medicine and biology*. University of Wisconsin Press, Madison, pp. 355-383.
- Matis, J.H., 1972. Gamma Time-Dependency in Blaxter's Compartmental Model. *Biometrics* 28, 597-602.

- Matis, J.H., Hartley, H.O., 1971. Stochastic compartmental analysis: model and least squares estimation from time series data. *Biometrics* 27, 77-102.
- Matis, J.H., Wehrly, T.E., Ellis, W.C., 1989. Some Generalized Stochastic Compartment Models for Digesta Flow. *Biometrics* 45, 703-720.
- Mertens, D.R., 1976. Principles of modeling and simulation in teaching and research. *Journal of Dairy Science* 60, 1176-1186.
- Mertens, D.R., 2005. Rate and extent of digestion, in: Dijkstra, J., Forbes, J.M., France, J. (Eds.), *Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism*, Second Edition ed. CAB International, Wallingford, pp. 13-48.
- Mertens, D.R., Loften, J.R., 1980. The Effect of Starch on Forage Fiber Digestion Kinetics In Vitro. *Journal Dairy Science* 63, 1437-1446.
- Michalet-Doreau, B., Ould-Bah, M.Y., 1992. Influence of hay making on in situ nitrogen degradability of forages in cows. *Journal of Dairy Science* 75, 782-788.
- Moore, J.A., Pond, K.R., Poore, M.H., Goodwin, T.G., 1992. Influence of Model and Marker on Digesta Kinetic Estimates for Sheep. *Journal Animal Science* 70, 3528-3540.
- Pinheiro, J.C., Bates, D.M., 2000. *Mixed-effects models in S and S-PLUS*. Springer-Verlag Inc., New York.
- Richards, F.J., 1959. A flexible growth function for empirical use. *Journal of Experimental Botany* 10, 290-300.
- R Core Team (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Ritz, C., Streibig, J.C., 2008. *Nonlinear regression with R*. Springer, New York.
- Russell, B.A.W., 2009. *The scientific outlook*. Routledge Classics, Abingdon.
- Searle, S.R., Casella, G., McCulloch, C.E., 1992. *Variance components*. John Wiley & Sons. Inc., New York.
- Strathe, A.B., Danfaer, A., Sorensen, H., Kebreab, E., 2010. A multilevel nonlinear mixed-effects approach to model growth in pigs. *Journal of Animal Science* 88, 638-649.
- Sugiura, N., 1978. Further analysis of the data by Akaike's Information Criterion and the finite corrections. *Communications in Statistics, Theory and Methods* A7, 13-26.
- Tedeschi, L.O., Cannas, A., Fox, D.G., 2010. A nutrition mathematical model to account for dietary supply and requirements of energy and other nutrients for domesticated small ruminants: The development and evaluation of the Small Ruminant Nutrition System. *Small Ruminant Research* 89, 174-184.

- Tedeschi, L.O., Nicholson, C.F., Rich, E., 2011. Using system dynamics modelling approach to develop management tools for animal production with emphasis on small ruminants. *Small Ruminant Research* 98, 102-110.
- Tylutki, T.P., Fox, D.G., Durbal, V.M., Tedeschi, L.O., Russell, J.B., Van Amburgh, M.E., Overton, T.R., Chase, L.E., Pell, A.N., 2008. Cornell Net Carbohydrate and Protein System: A model for precision feeding of dairy cattle. *Animal Feed Science and Technology* 143, 174-202.
- Vieira, R.A.M., Campos, P.R.d.S.S., Silva, J.F.C.d., Tedeschi, L.O., Tamy, W.P., 2012. Heterogeneity of the digestible insoluble fiber of selected forages in situ. *Animal Feed Science and Technology* 171, 154-166.
- Vieira, R.A.M., Tedeschi, L.O., Cannas, A., 2008a. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 1. Estimating parameters of digestion. *Journal of Theoretical Biology* 255, 345-356.
- Vieira, R.A.M., Tedeschi, L.O., Cannas, A., 2008b. A generalized compartmental model to estimate the fibre mass in the ruminoreticulum: 2. Integrating digestion and passage. *Journal of Theoretical Biology* 255, 357-368.
- Vonesh, E.F., 2012. Generalized linear and nonlinear models for correlated data: theory and applications using SAS®. SAS Institute Inc., Cary.
- Wolfinger, R.D., 1996. Heterogeneous variance: covariance structures for repeated measures. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 1, 205-230.
- Zanton, G.I., Heinrichs, A.J., 2009. Evaluation of modeling procedure for fitting in situ feed degradation profiles. *Journal of Animal Science* 87, 2080-2088.

APÊNDICE(S)

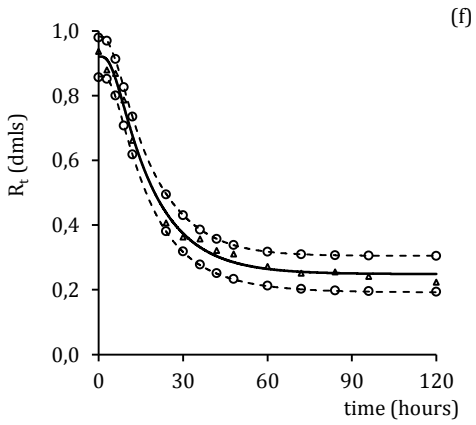
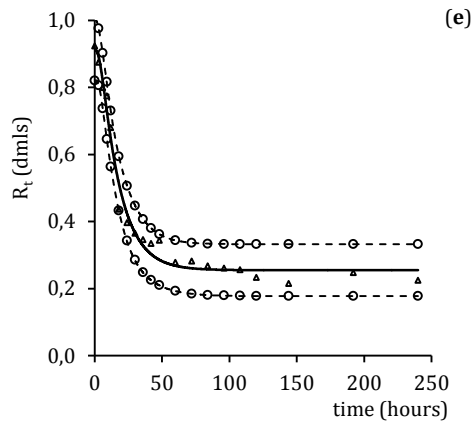
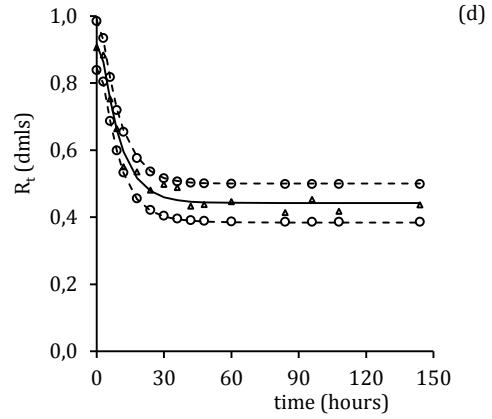
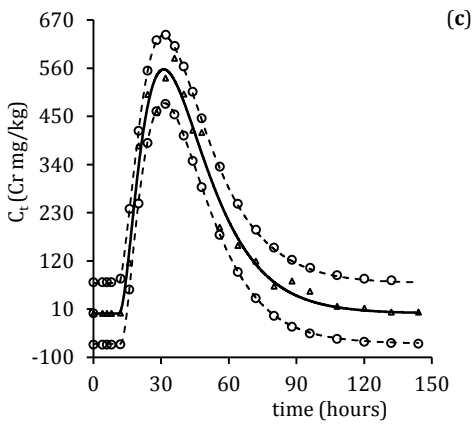
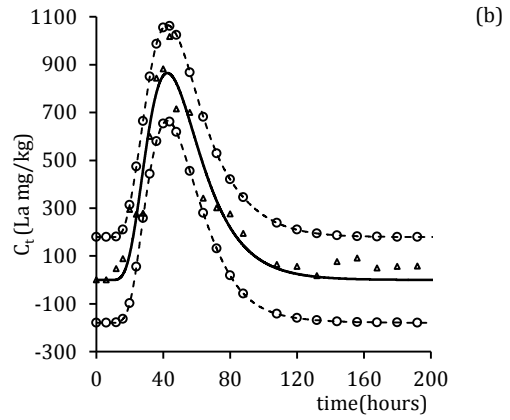
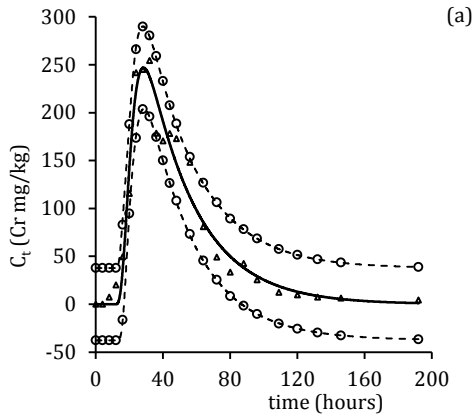


Figure 1. Observed (Δ), predicted (solid lines) and 95% confidence interval (95%CI, dashed lines) estimates for GNG1 models obtained with PROC NLIN of SAS of the passage (panels a, b, and c) and digestion kinetics (panels d, e, and f) profiles. Also presented in all panels are 95%CI estimates obtained with function nls2 (o) from R. Markers Cr (Chromium, panels a and c), and La (Lanthanum, panel b) are expressed in mg/kg of fecal matter. R_t is the dimensionless residue of fiber degradation of Sugar cane (panel d), Elephant grass (panel e), and Mombasa grass (panel f)

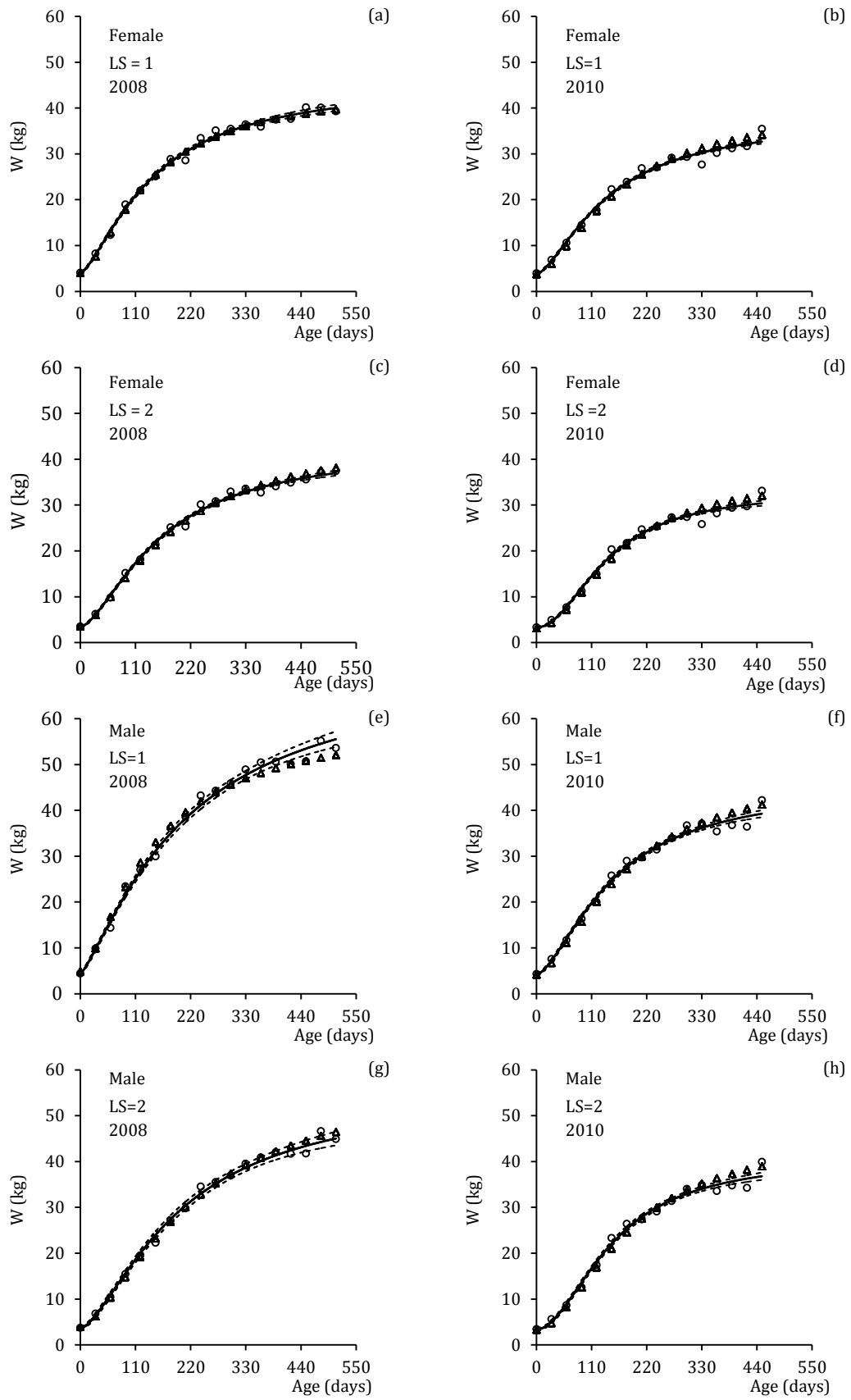


Figure 2. Growth profiles described by the Generalized Michaelis-Menten model containing observed least squares means (o), predicted (solid line) and 95% confidence interval (95%CI, dashed lines) by NLMIXED (SAS), and predicted (Δ) values by nlme (R). On panels are depicted sex, litter size (LS = 1 or 2, i.e. single or twins, respectively), and year of birth of the Santa Inês sheep (2008 or 2010).

Table 1. Sum of squares of errors (*SSE*) and likelihood criteria of GNG1 models fitted to the digestion and passage time profiles of forages and markers by both PROC NLIN (SAS) and function nls2 (R).

Time profile	Model	<i>SSE</i>	Likelihood criteria ^a			
			<i>AICc</i>	Δ	<i>w</i>	<i>ER</i>
Sugar cane						
PROC NLIN	G4G1	0.00712	-107.5	0.3	0.196	1.1
Function nls2	G4G1	0.00712	-107.5	0.3	0.196	1.1
Elephant grass						
PROC NLIN	G2G1	0.01889	-125.0	0.0	0.194	1.0
Function nls2	G2G1	0.01889	-125.0	0.0	0.194	1.0
Mombasa grass						
PROC NLIN	G4G1	0.00560	-101.7	0.2	0.200	1.1
Function nls2	G4G1	0.00560	-101.7	0.2	0.200	1.1
Cr						
PROC NLIN	G4G1	6556.1	148.0	0.7	0.200	1.4
Function nls2	G4G1	6556.1	148.0	0.7	0.200	1.4
La						
PROC NLIN	G4G1	184630.0	251.3	1.9	0.169	2.5
Function nls2	G4G1	184629.7	251.3	1.9	0.187	2.5
Cr						
PROC NLIN	G2G1	21998.7	171.4	0.0	0.370	1.0
Function nls2	G2G1	21998.7	171.4	0.0	0.370	1.0

^a *AICc*, corrected Akaike information criterion; Δ , difference between Akaike information criteria; *w*, likelihood probability; and *ER*, evidence ratio.

Table 2. Point and 95% confidence interval estimates of the parameters of GNG1 digestion model fitted by both PROC NLIN (SAS) and function nls2 (R).

Forage	Model	Parameters of digestion kinetics			
		λ_a^a	k_d^a	U^b	A^b
Sugar cane					
PROC NLIN	G4G1	1.6291 ± 1.2395	0.1199 ± 0.0433	442.4 ± 20.0	469.3 ± 51.5
Function nls2	G4G1	1.6291 ± 1.2532	0.1199 ± 0.0366	442.4 ± 17.3	469.3 ± 49.5
Elephant grass					
PROC NLIN	G2G1	0.4507 ± 0.3452	0.0706 ± 0.0259	254.8 ± 26.6	657.2 ± 61.3
Function nls2	G2G1	0.4507 ± 0.3307	0.0706 ± 0.0217	254.8 ± 23.4	657.2 ± 58.6
Mombasa grass					
PROC NLIN	G4G1	0.7581 ± 0.2861	0.0685 ± 0.0166	248.8 ± 25.3	668.7 ± 44.1
Function nls2	G4G1	0.7581 ± 0.2639	0.0685 ± 0.0139	248.8 ± 21.7	668.7 ± 39.7

^a λ_a and k_d expressed as 1/h.

^b Values were presented as g/kg of neutral detergent fiber.

Table 3. Point and 95% confidence interval estimates of the parameters of GNG1 transit kinetics model fitted by both PROC NLIN (SAS) and function nls2 (R).

Marker	Model	Parameters of transit kinetics			
		τ^a	λ^b	k^b	C_0^c
Cr					
Proc nlin	G4G1	12.0 ± 3.3	0.3989 ± 0.1573	0.0340 ± 0.0075	10473 ± 1185
Function nls2	G4G1	12.0 ± 2.6	0.3989 ± 0.1339	0.0340 ± 0.0073	10473 ± 1146
La					
Proc nlin	G4G1	11.1 ± 6.3	0.1539 ± 0.1004	0.0633 ± 0.0719	37329 ± 5719
Function nls2	G4G1	11.1 ± 6.0	0.1539 ± 0.0951	0.0633 ± 0.0682	37328 ± 5419
Cr					
Proc nlin	G2G1	11.4 ± 1.9	0.1315 ± 0.0582	0.0587 ± 0.0306	22037 ± 2033
Function nls2	G2G1	11.4 ± 1.9	0.1315 ± 0.0546	0.0587 ± 0.0279	22037 ± 1856

^a Parameter τ is expressed in hours (h).

^b λ and k are expressed in 1/h.

^c C_0 is expressed in mg/kg of fecal dry matter.

Table 4. Likelihood measures of the models fitted to the growth profiles with function nlme (R) by considering the effects of sex, litter size, and year of birth of lambs.

Model/ Variance	P.R.E.T. ^a	$AICc_h$	Δ_h	w_h	ER_h	θ_h
Richards/VC-VC ^b	Y_f	32884.3	3345.4	0.000	∞	34
Richards/VC-VC ^b	Y_f, μ	31515.8	1976.8	0.000	∞	35
Richards/VC-VC ^b	Y_f, Y_0, μ, m	31164.6	1625.6	0.000	∞	37
Richards/UN-VC ^c	Y_f, μ	31196.6	1657.7	0.000	∞	36
Richards/UN-VC ^c	Y_f, Y_0	31481.0	1942.0	0.000	∞	36
Richards/UN-VC ^c	Y_f, Y_0, μ	31166.5	1627.6	0.000	∞	39
Richards/VC-CAR1 ^d	Y_f	31002.5	1463.5	0.000	∞	35
Richards/VC-CAR1 ^d	Y_f, μ	30617.4	1078.5	0.000	10^{234}	36
Richards/VC-CAR1 ^d	Y_f, Y_0	31004.5	1465.6	0.000	∞	36
Richards/VC-CAR1 ^d	Y_f, Y_0, μ	30619.4	1079.7	0.000	10^{234}	37
Richards/VC-CAR1 ^d	Y_f, Y_0, μ, m	30621.5	1082.5	0.000	10^{235}	38
Richards/UN-CAR1 ^e	Y_f, Y_0	30928.4	1389.4	0.000	10^{301}	37
Richards/UN-CAR1 ^e	Y_f, μ	30613.0	1074.0	0.000	10^{233}	37
Richards/VC-CAR1/Wt ^f	Y_f	30142.6	603.6	0.000	10^{131}	36
Richards/VC-CAR1/Wt ^f	Y_f, μ	29674.3	135.3	0.000	10^{29}	38
Richards/VC-CAR1/Wt ^f	Y_f, μ, Y_0	29630.6	91.6	0.000	10^{19}	41
GMM/VC-VC ^g	Y_f	32764.5	3225.6	0.000	∞	34
GMM/VC-VC ^g	Y_f, K	31230.0	1691.1	0.000	∞	35
GMM/UN-VC ^h	Y_f, Y_0	32443.1	2904.1	0.000	∞	36
GMM/UN-VC ^h	Y_f, K	31203.2	1664.2	0.000	∞	36
GMM/UN-VC ^h	Y_f, Y_0, K	31142.8	1603.8	0.000	∞	39
GMM/VC-CAR1 ⁱ	Y_f	30854.6	1315.6	0.000	10^{285}	34
GMM/VC-CAR1 ⁱ	Y_f, K	30625.3	1086.4	0.000	10^{235}	35
GMM/UN-CAR1 ^j	Y_f, Y_0	30834.3	1295.3	0.000	10^{281}	37
GMM/UN-CAR1 ^j	Y_f, K	30618.7	1079.7	0.000	10^{234}	37
GMM/VC-CAR1/Wt ^k	Y_f, K	29539.0	0.0	0.810	1	37
GMM/UN-CAR1/Wt ^k	Y_f, K	29541.9	2.9	0.190	4.3	38
GMM/UN-CAR1/Wt ^k	Y_f, Y_0	29851.6	312.6	0.000	10^{67}	38

^aParameters with random-effects (r.e.) terms.

^bRichards model or Eq. (4) with variance components (VC) as the variance structure for both r.e. and repeated measures (r.m.).

^cEq. (4) with unstructured variance-covariance (UN) for r.e. and VC for r.m.

^dEq. (4) with VC for r.e. and continuous time autoregressive correlations (CAR1) for r.m.

^eEq. (4) with UN for r.e. and CAR1 for r.m.

^fEq. (4) with UN for r.e. and CAR1 for r.m. weighted by a power of the mean function (Wt).

^gGeneralized Michaelis-Menten (GMM) model or Eq. (5) with VC for both r.e. and r.m.

^hEq. (5) with UN for random effects and VC for repeated measures.

ⁱEq. (5) with VC for random effects and CAR1 for repeated measures.

^jEq. (5) with UN for random effects and CAR1 for repeated measures.

^kEq. (5) with UN for random effects and CAR1 for repeated measures weighted by Wt.

Table 5. Likelihood measures of the models fitted to the growth profiles with %NLINMIX (SAS) by considering the effects of sex, litter size, and year of birth of lambs.

Model/ Variance	P.R.E.T. ^a	$AICc_h$	Δ_h	w_h	ER_h	θ_h
Richards/VC-VC ^b	Y_f	32884.3	3391.8	0.000	∞	34
Richards/VC- SP(POW) ^c	Y_f	30926.5	1434.0	0.000	∞	35
Richards/VC- SP(POW)/Wt ^d	Y_f	30012.5	520.0	0.000	10^{112}	35
GMM/VC-VC ^e	Y_f, K	31230.0	1737.5	0.000	∞	35
GMM/VC-VC ^e	Y_f	32764.6	3272.0	0.000	∞	34
GMM/UN-VC ^f	Y_f, K	31203.2	1710.7	0.000	∞	36
GMM/UN-VC ^f	Y_f, Y_0	32443.1	2950.6	0.000	∞	36
GMM/VC- SP(POW) ^g	Y_f, K	30610.8	1118.3	0.000	10^{242}	36
GMM/VC-SP(POW) ^g	Y_f	30781.1	1288.6	0.000	10^{279}	35
GMM/UN- SP(POW) ^h	Y_f, K	30602.4	1109.9	0.000	10^{241}	37
GMM/VC- SP(POW)/Wt ⁱ	Y_f, K	29492.5	0.0	0.990	1	37
GMM/UN- SP(POW)/Wt ⁱ	Y_f	29764.7	272.2	0.000	10^{59}	35
GMM/UN- SP(POW)/Wt ⁱ	Y_f, K	29501.7	9.2	1.000	10	38

^aParameters with random effects (r.e.) terms.

^bRichards model or Eq. (4) with variance components (VC) as the variance structure for both r.e. and repeated measures (r.m.).

^cEq. (4) with VC for r.e. and spatial power law (SP(POW)) for r.m.

^dEq. (4) with VC for r.e. and SP(POW) for r.m. weighted by a power of the mean function (Wt).

^eGeneralized Michaelis-Menten (GMM) model or Eq. (5) with VC for both r.e. and r.m.

^fEq. (5) with UN for random effects and VC for repeated measures.

^gEq. (5) with VC for random effects and SP(POW) for repeated measures.

^hEq. (5) with UN for random effects and SP(POW) for repeated measures.

ⁱEq. (5) with UN for random effects and SP(POW) for repeated measures weighted Wt.

Table 6. Interval (95%) estimates for parameters of the Generalized Michaelis-Menten model (Eq. (5)) fitted by nlme (R) and %NLINMIX macro. Fixed effects are sex (female or male), litter size (single or twins), and year of birth (2008 or 2010).

Parameters ^a	Female				Male			
	Litter size (single)		Litter size (twins)		Litter size (single)		Litter size (twins)	
	2008	2010	2008	2010	2008	2010	2008	2010
R ^a								
Y_f (kg)	44.2 ± 1.0	36.3 ± 0.7	41.5 ± 0.8	33.2 ± 0.8	60.5 ± 1.3	43.8 ± 0.9	52.0 ± 1.3	41.0 ± 0.9
Y_0 (kg)	4.1 ± 0.1	3.9 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.3 ± 0.1	4.4 ± 0.1	4.3 ± 0.1	3.8 ± 0.1	3.4 ± 0.1
K (Days)	136.0 ± 6.1	137.5 ± 4.6	156.9 ± 5.4	144.3 ± 5.1	150.0 ± 7	144.9 ± 5.4	189.7 ± 8.2	155.5 ± 5.4
m^c (dmls)	1.55 ± 0.04	1.73 ± 0.04	1.67 ± 0.03	2.10 ± 0.05	1.55 ± 0.04	1.78 ± 0.04	1.71 ± 0.05	2.03 ± 0.05
SAS ^b								
Y_f (kg)	44.4 ± 2.0	36.4 ± 1.5	41.4 ± 1.7	33.2 ± 1.6	61.1 ± 2.6	44.0 ± 1.8	52.3 ± 2.7	41.1 ± 1.8
Y_0 (kg)	4.0 ± 0.3	3.9 ± 0.2	3.5 ± 0.2	3.3 ± 0.2	4.4 ± 0.3	4.2 ± 0.2	3.7 ± 0.3	3.4 ± 0.2
K (Days)	138.0 ± 12.3	137.7 ± 9.2	156.4 ± 10.7	144.6 ± 10.2	152.8 ± 14.1	145.1 ± 10.7	190.3 ± 16.4	155.3 ± 10.8
m^c (dmls)	1.53 ± 0.08	1.72 ± 0.08	1.67 ± 0.07	2.08 ± 0.11	1.53 ± 0.07	1.77 ± 0.08	1.69 ± 0.09	2.02 ± 0.1

^a The variance-covariance parameters estimates were: variance of the random effect associated to Y_f , 95%CI $[\sigma_{u_1}]$: 5.1 ± 0.3 kg²; and variance of the random effect associated to K , 95%CI $[\sigma_{u_2}]$: 31.1 ± 1.7 d⁻²; the correlation between repeated measures, 95%CI $[\phi]$: 0.407 ± 0.020; the residual standard deviation, 95%CI $[\sigma]$: 0.39 ± 0.02 kg; and the power of the mean estimate of 95%CI $[\psi]$: 0.526 ± 0.014.

^b The variance-covariance parameters estimates were: variance of the random effect associated to Y_f , 95%CI $[\sigma_{u_1}^2]$: 26.57±4.95 kg²; and variance of the random effect associated to K , 95%CI $[\sigma_{u_2}^2]$: 947.47±199.08 d⁻²; the correlation between repeated measures, 95%CI $[\sigma^2 \phi^{dq}]$: 0.971±0.003; the residual standard deviation, 95%CI $[\sigma^2]$: 0.16±0.01kg; and the power of the mean value used was 0.526.

^c dmls means dimensionless.