

Fundamentos de Diseño de Muestreo



Curso de Campo en Técnicas de Prospección de Poblaciones de Vertebrados Terrestres (PEDECIBA)

Ariel Farías, febrero 2023



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Objetivos de la clase



1. *Definir Diseño de Muestreo (o experimental) y reconocer los requisitos básicos y factores que inciden en la toma de decisiones al momento de planificar un muestro o experimento.*
2. *Conocer los principios conceptuales del Muestreo.*
3. *Conocer los principales tipos de diseño de muestreo y experimental, incluyendo sus ventajas, desventajas y requisitos.*

- *Comprender* el sistema de interés.
- *Predecir* el estado futuro, o bajo determinadas condiciones, del sistema de interés
- *Tomar decisiones informadas* para el manejo del sistema de interés.



Esquema de manejo adaptativo según la aproximación de Estándares Abiertos



➔ Pasos que requieren conocimiento técnico sobre el sistema de interés y las técnicas de monitoreo

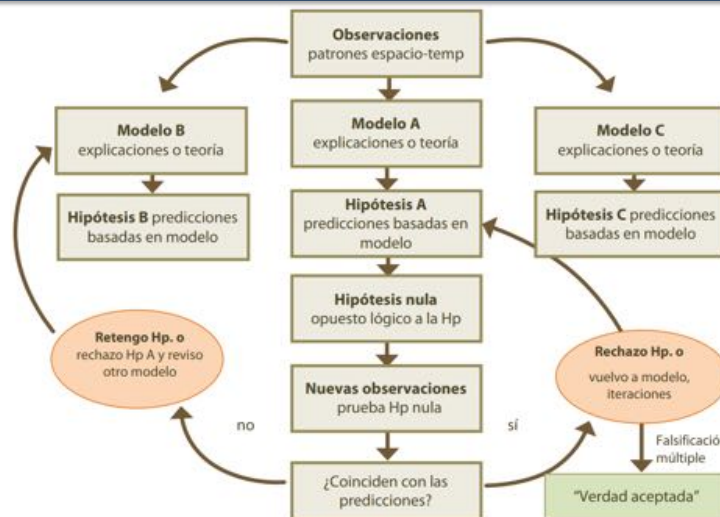


Figura en:
Arim & Meerhoff 2019, Cap. 20, Experimentación con animales no tradicionales. CHEA

Figura 1. Modelo Hipótesis-Deductivo, basado en el método deductivo de Isaac Newton y la falsificación de las hipótesis incorrectas, propuesta por Karl Popper en el siglo XX. Modificado de Gotelli & Ellison (2004) y Underwood (1997).

- "La especulación teórica y la colecta de datos deben ser actividades conectadas, lo que sucede a través de procesos iterativos de ajuste." (Box, 1976)
- "Un diseño bien pensado es clave para la aplicación de estadística con sentido, pruebas de hipótesis y obtención de resultados útiles, realizando el esfuerzo adecuado y con el menor daño posible." (Jongman et al. 1995)
- "Establecer hipótesis, articular sus predicciones, diseñar y ejecutar experimentos o muestreos válidos, y coleccionar, organizar y resumir los datos, son pasos previos al uso de los tests estadísticos." (Gotelli & Ellison, 2004)

Censo: Se toman datos de **toda la población objetivo**, por lo que la variable de interés se conoce con exactitud (excepto por error de medición).

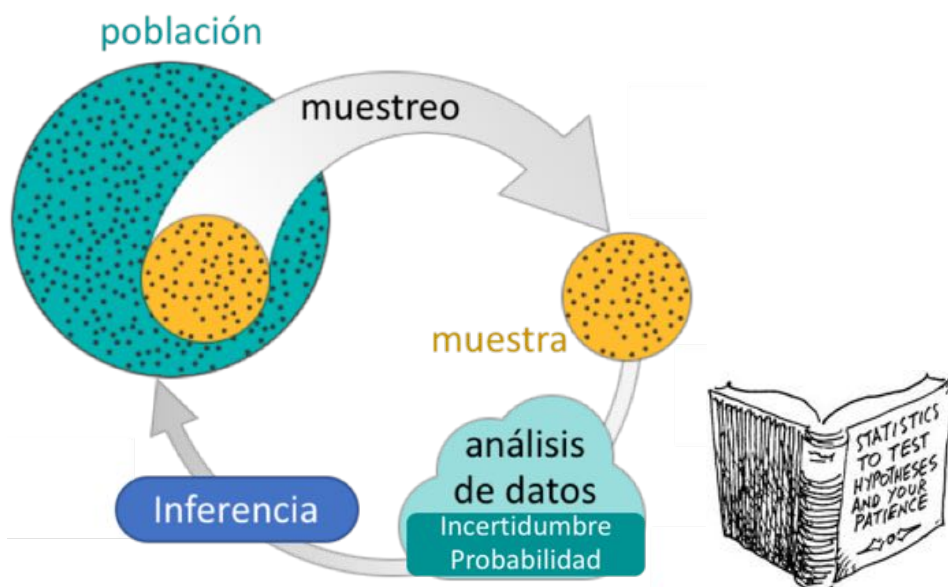
- Raramente es posible obtener información de toda la población de interés.



Muestreo: Se examinan **subconjuntos representativos (muestras)** de la población objetivo, y la variable poblacional de interés se **estima (infiere estadísticamente)**.

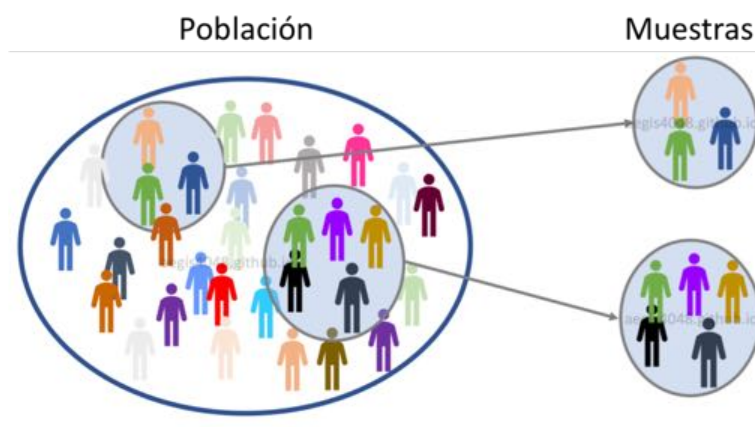


Inferencia Estadística: Hacer enunciados o afirmaciones acerca de una *población* basados en los resultados obtenidos en *muestras* de dicha población [definición coloquial].



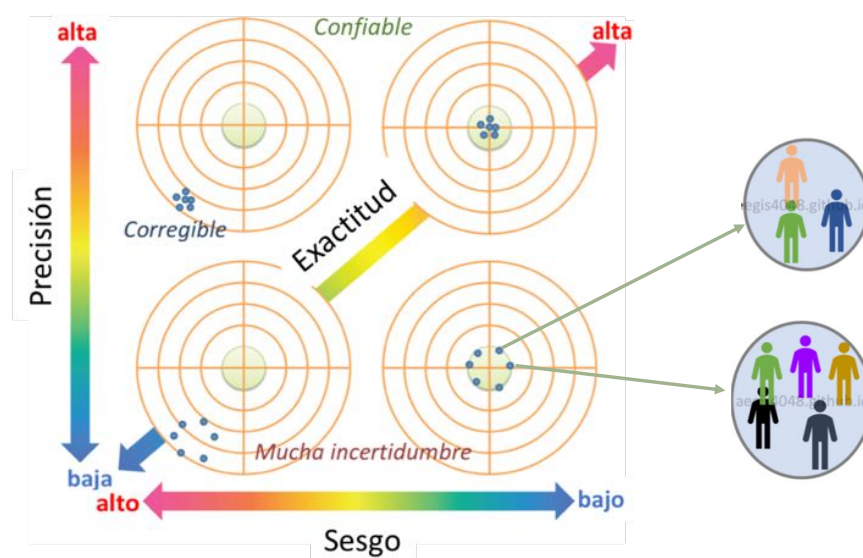
- **Parámetros:** propiedades que describen una *población*.
- **Estadígrafos (estimadores):** propiedades que describen una *muestra*.

Trabajar con muestras conlleva un *error de muestreo* asociado a su composición, por los que los estimadores de la variable de interés diferirán en algún grado del valor real y desconocido en la población objetivo (incertidumbre).

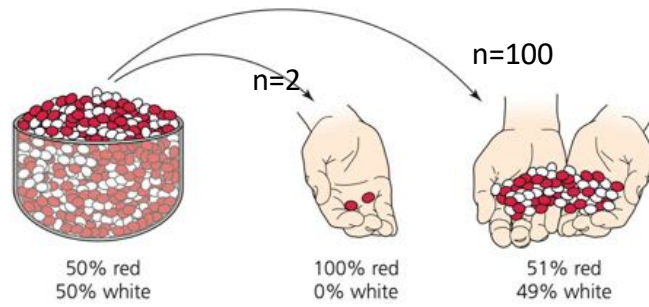


La calidad y alcance de la información obtenida dependerá de la *representatividad* de la muestra y la *confiabilidad* de los estimadores obtenidos.

- *Precisión*: tendencia de un estimador a mostrar **valores similares en distintas muestras**.
- *Sesgo*: tendencia de un estimador a **constantemente sobrestimar o subestimar** el parámetro.
- *Exactitud*: Un estimador es exacto cuando es **preciso e insesgado**.
- *Robustez*: La exactitud no depende de las condiciones de estudio.
- *Confiabilidad*: Un estimador es confiable cuando es **exacto** (o al menos **preciso**) y **robusto**.



La precisión incrementa con el tamaño de muestra (i.e. número de unidades de muestreo o experimentales).



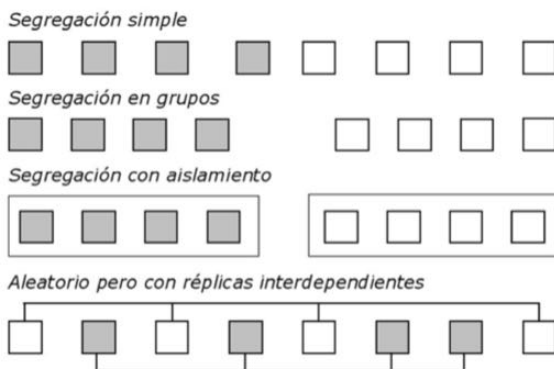
Unidad de muestreo o experimental: mínima unidad 'independiente' sobre la cual se realiza(n) la(s) observación(es) o medición(es) de interés.



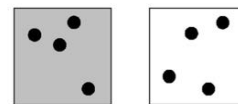
Replicación: repetición "independiente" del mismo experimento o medición sobre dos o más unidades experimentales (o de muestreo).

- (1) Permite *cuantificar incertidumbre* en estimación (error estándar, intervalos de confianza).
- (2) Aumenta la *precisión* en la estimación de *parámetros* y reduce simultáneamente errores tipo I y II.
- (3) Determina si los resultados son *reproducibles* y la *robustez* de la inferencia.
- (4) Provee un seguro frente a *resultados anómalos*.

Pseudoreplicación: considerar como unidades experimentales independientes submuestras de una misma unidad experimental.



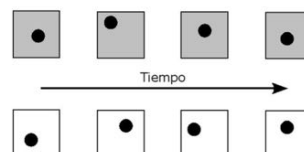
a) Pseudoreplicación simple



b) Pseudoreplicación de sacrificio

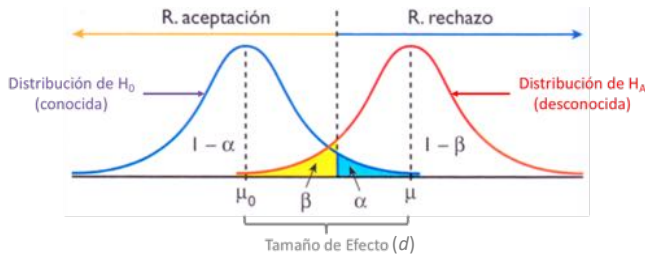


c) Pseudoreplicación temporal

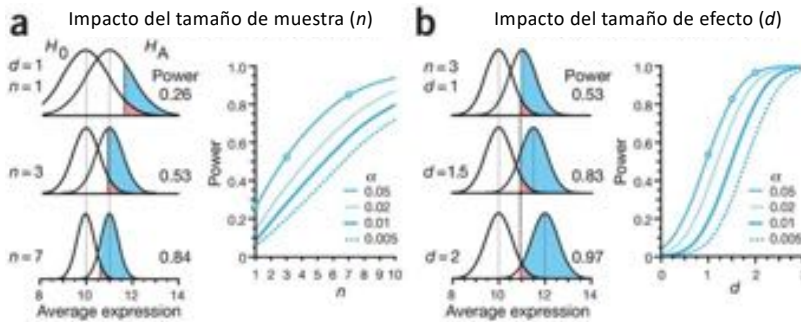
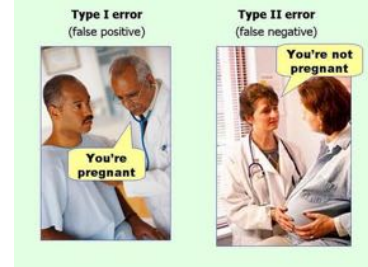


Una correcta replicación requiere *asignación aleatoria* y *entremezcla* de unidades de muestreo (o experimentales) para evitar *pseudoreplicación* (Hurlbert 1984).

La capacidad de detectar los patrones o diferencias de interés (i.e. **poder estadístico**) aumenta con el **tamaño de efecto** (una característica del sistema de estudio que queremos cuantificar y sobre la cual **no tenemos control**) y con la **precisión** de nuestras estimaciones, la cual se incrementa a su vez con el **tamaño de muestra** (una característica del diseño de muestreo, sobre la cual **sí tenemos cierto grado de control**).



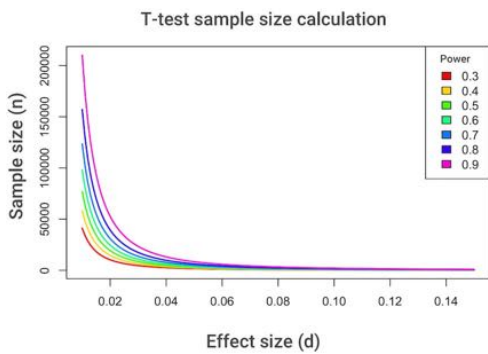
		Estado de la Naturaleza	
		H ₀ verdadera	H ₀ falsa
Decisión	Acepto H ₀	Acierto 1 - α Nivel de confianza	Error Tipo II β
	Rechazo H ₀	Error Tipo I α Nivel de significación	Acierto 1 - β Potencia de prueba



Krzywinski, M., Altman, N. Power and sample size. *Nat Methods* 10, 1139–1140 (2013).

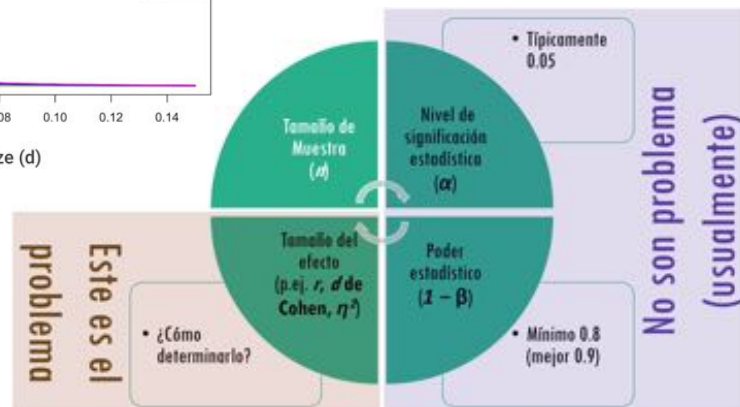


Análisis de Poder: estimación del **tamaño de muestra necesario** para alcanzar una probabilidad (especificada a priori) de detectar una determinada diferencia o patrón en el sistema de estudio



Se puede determinar:

- ❖ Analíticamente (diseños sencillos) pwr, SuperPower
- ❖ Mediante simulaciones



J. D. Leongómez (2020). Statistical Power Analysis and Sample Size Calculation in R: Practical Guide. Zenodo.

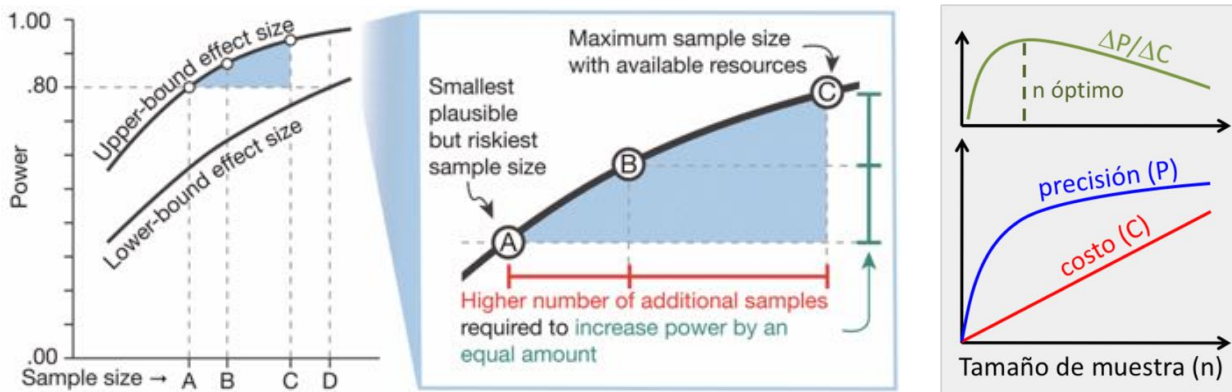
Alternativamente, se usan **reglas arbitrarias** ("reglas de pulgar"; e.g. *Regla de 10*: 10 datos [o g.l.] por parámetro a estimar), basadas en experiencia empírica previa, pero con limitaciones.



Para garantizar **precisión y representatividad** es necesario **tamaño de muestra muy grande** y **unidades de muestreo seleccionadas al azar**.

Pero **cada unidad de muestreo tiene un costo** (tiempo, dinero, capital humano, etc.), por lo que dicho diseño ideal puede no ser asequible.

➤ Existe un **compromiso entre costo y precisión**



La **ganancia** en poder (y precisión) **no es función lineal del tamaño de muestra**: i.e. se necesita agregar cada vez un mayor número de unidades de muestreo para obtener un incremento similar en desempeño.

Esto implica la existencia de una **función de costo-beneficio** con al menos un **óptimo**.



Fundamentos de Muestreo: requisitos básicos de un buen diseño



Involucra:

1. **Aleatoriedad**: selección de unidades de muestreo o asignación de tratamientos al azar.
2. **Independencia**: el valor de la variable de interés para una unidad de muestreo no depende del valor tomado por otras unidades.
3. **Replicación suficiente** (según poder estadístico deseado y variabilidad de los datos).
4. **Controles válidos** (estudios experimentales o monitoreo para la toma de decisiones).

Representatividad de la Muestra



¿Cómo evitar esto?

Implica decisiones sobre:

- Tamaño de muestra óptimo y asequible
- Disposición de unidades de muestreo (o experimentales) en tiempo y espacio
- En estudios manipulativos: **Diseño y asignación de tratamientos** entre unidades experimentales

Requiere:

- **Conocimiento** sobre los **factores que generan heterogeneidad** y su magnitud probable (i.e. **antecedentes, muestreo piloto**).
- **Prever** impacto (al menos esperado) de la **dinámica intrínseca** del sistema bajo estudio (i.e. **marco teórico**).
- **Definir** si es de interés **cuantificar el patrón** de heterogeneidad o **sólo controlarlo** (i.e. **hipótesis y objetivos**).

Errores serios en el diseño del estudio o la toma de datos difícilmente pueden repararse *a posteriori* (i.e. no existe "magia estadística").

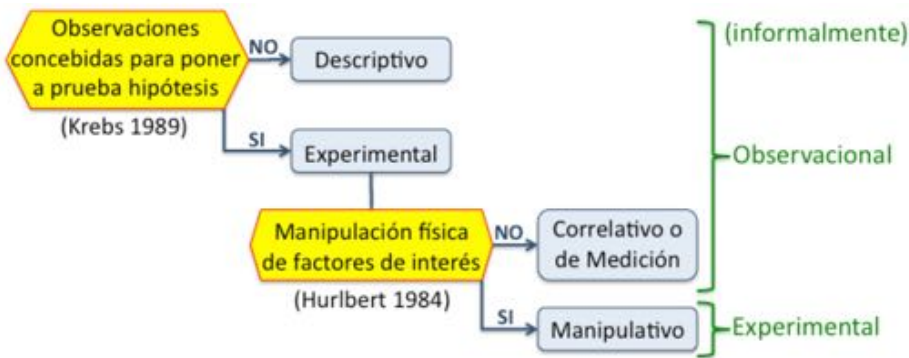


Multiplicidad de factores a tener en cuenta durante el diseño de muestreo (o experimental)



Tipos de Diseño: aproximaciones experimentales y no experimentales

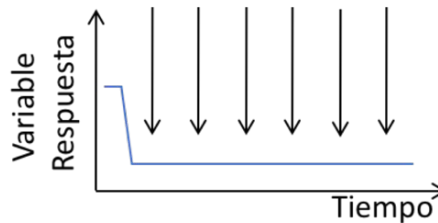
El método científico involucra *experimentación* (*sensu lato*) para poner a prueba la capacidad de una hipótesis de explicar el fenómeno de interés.



- Los **experimentos manipulativos** son los únicos capaces de determinar en forma confiable **relaciones causa efecto**.
- Pero son **menos realistas y generalizables**, y lógicamente **más costosos**.

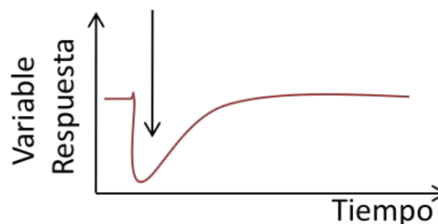
Experimentos de presión:

- La intervención ocurre repetidamente, o se mantiene en forma continua (e.g. exclusión) durante el período de estudio.
- **Ventaja:** útil para evaluar resistencia, y efectos sostenidos.
- **Desventaja:** muestreo continuado con alto costo logístico.



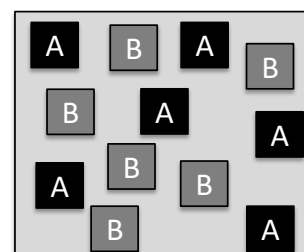
Experimentos de pulso:

- La intervención ocurre sólo una vez, tras lo cual el sistema puede se recupere ‘normalmente’.
- **Ventaja:** útil para medir resiliencia y para evaluar procesos dinámicos (e.g. sucesión, dependencia de condiciones iniciales, etc.); menor costo logístico.
- **Desventaja:** puede no evaluar efectos sostenidos, o que se expresan con un retardo.



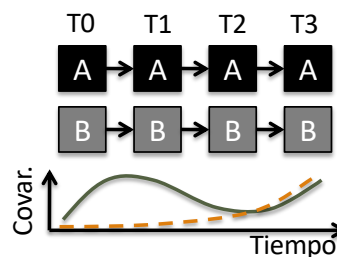
Experimentos de fotografía (“snapshot”):

- Cada unidad experimental (o de muestreo) es cuantificada una única vez.
- Cada tratamiento se replica en el espacio.
- **Ventaja:** independencia de réplicas.
- **Desventaja:** no se conoce la evolución temporal del sistema, y dificultad de aplicar a grandes escalas espaciales.



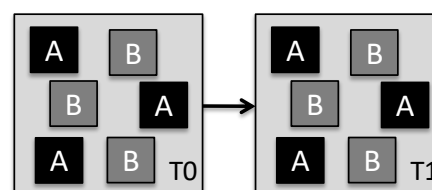
Experimentos de trayectoria:

- Cada unidad experimental (o de muestreo) se visita varias veces en el tiempo.
- Cada tratamiento se (pseu) replica en el tiempo (i.e. población seguida en el tiempo).
- **Ventaja:** análisis dinámico de la respuesta, y abordaje de sistemas difíciles de replicar espacialmente.
- **Desventaja:** dependencia temporal de las muestras.



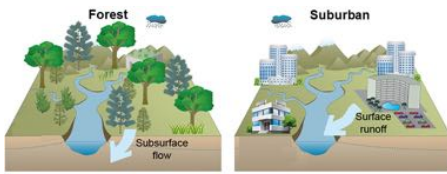
Diseño de medidas repetidas (aproximación mixta):

- Varias réplicas de cada tratamiento se siguen en el tiempo.
- **Ventajas y desventajas** intermedias a los anteriores.

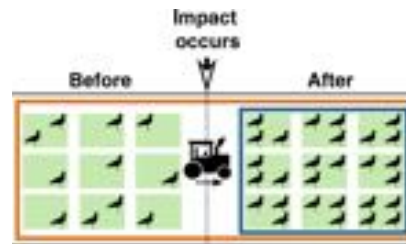


Es comun la imposibilidad de replicar adecuadamente en sistemas naturales.

Muestreos en una única oportunidad, con y sin impacto (fotografía o "snapshot")



No Impactado vs. Impactado
(Contrafáctico)



Pre-Impacto y Post-Impacto

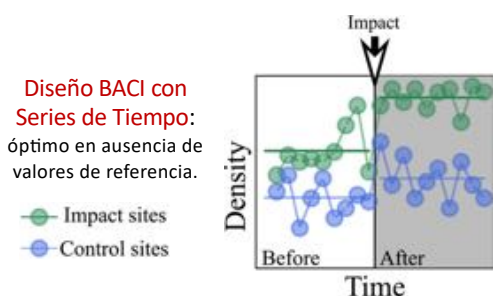
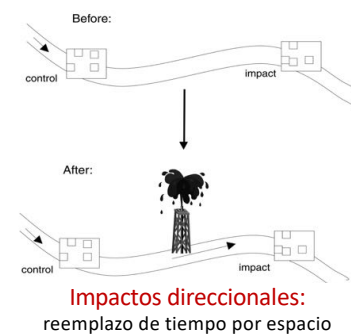
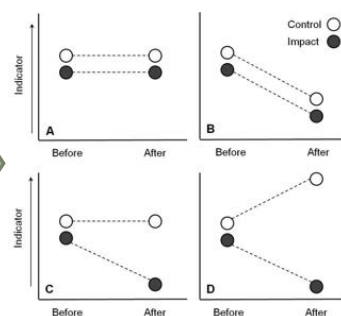
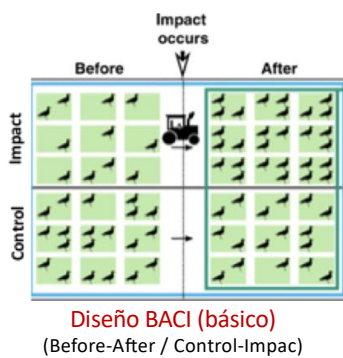
Relevancia del seguimiento de la dinámica temporal pre y post impacto



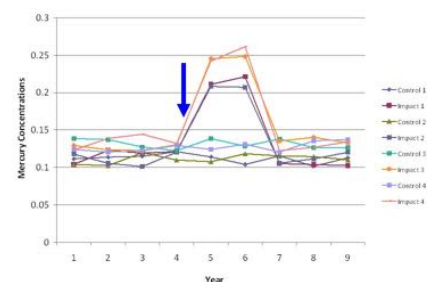
Tipos de Diseño: BACI

Experimentos BACI ("before-after-control-intervention"):

- Sitio(s) con y sin impacto, con réplicas temporales antes y después; lo relevante es la interacción Factor x Tiempo.
- **Ventaja:** desambigua efectos espaciales/temporales no asociados al impacto en sistemas difíciles de replicar.
- **Desventaja:** inferencia restringida al sitio impactado (no generalizable); requiere ausencia de efectos confundidores.

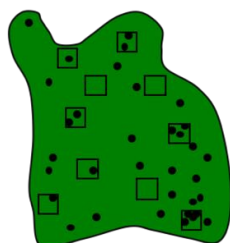


Series de Tiempo Replicadas: diseño Ideal, desambigua efectos contingentes.

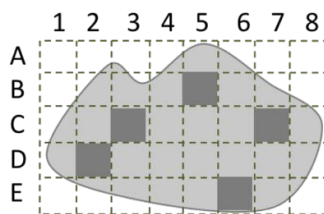


Diseño Completamente Aleatorio: muestreo NO sesgado, en el cual **cada unidad de muestreo potencial** en la población **tiene IGUAL probabilidad** de ser incorporada en la muestra.

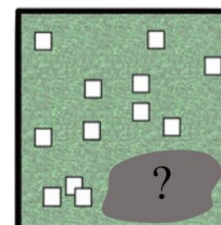
- Dado un **tamaño de muestra adecuado**, el muestreo aleatorio **garantiza independencia de las muestras y buena representación** de todo el espacio de muestreo.
- Si existen **restricciones logísticas** sobre el número de muestras, **porciones relevantes** de la población **pueden no ser consideradas**; importante en ambientes heterogéneos.
- Puede ser **muy difícil de aplicar en campo**, particularmente si la extensión del estudio es muy grande, o existen áreas inaccesibles.



Cuadrantes aleatorios



Cuadrantes aleatorios en grilla regular

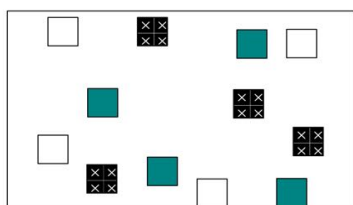


Problema: Cobertura incompleta

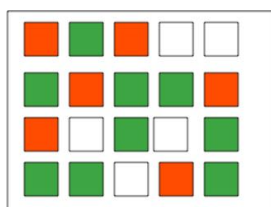
Representan **situaciones de muestreo ideal**, pero un **bajo número de réplicas** puede generar **muestras no representativas** (baja cobertura, sesgo, falta de entremezcla) o correlaciones espúreas, o su correcta ejecución podría verse dificultada por **restricciones logísticas, económicas, técnicas o éticas**.

Diseño Factorial Completamente Aleatorio: Las unidades de muestreo son asignadas al azar a **dos o más tratamientos** cuyos efectos son de interés conocer.

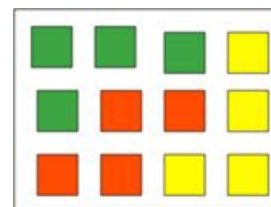
- Dado un **tamaño de muestra adecuado**, **garantiza independencia de las unidades de muestreo, buena representación** (cobertura) de todo el espacio de muestreo y correcta **entremezcla** de tratamientos.
- Si existen **restricciones logísticas** sobre el número de muestras, la **entremezcla** de los tratamientos puede ser **insuficiente**, y **porciones relevantes** de la población **pueden no ser consideradas** (si la disposición de las unidades es aleatoria); importante en ambientes heterogéneos.
- Puede ser **muy difícil de aplicar en campo**, particularmente si la extensión del estudio es muy grande, o existen áreas inaccesibles.



disposición y asignación aleatorias



disposición uniforme y asignación aleatoria

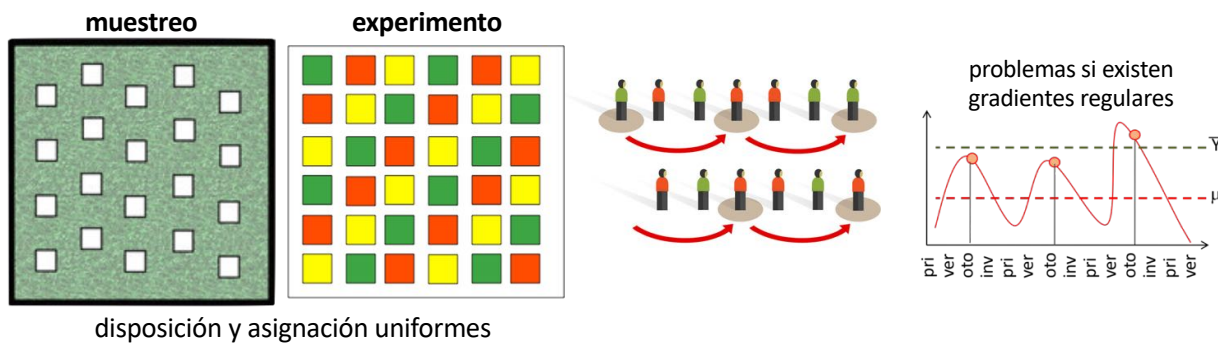


Problema: entremezcla insuficiente

Representa **situación experimental ideal**, pero un **bajo número de réplicas** puede generar **muestras no representativas** (baja cobertura, sesgo, falta de entremezcla) o correlaciones espúreas con los tratamientos, o su correcta ejecución podría verse dificultada por **restricciones logísticas, económicas, técnicas o éticas**.

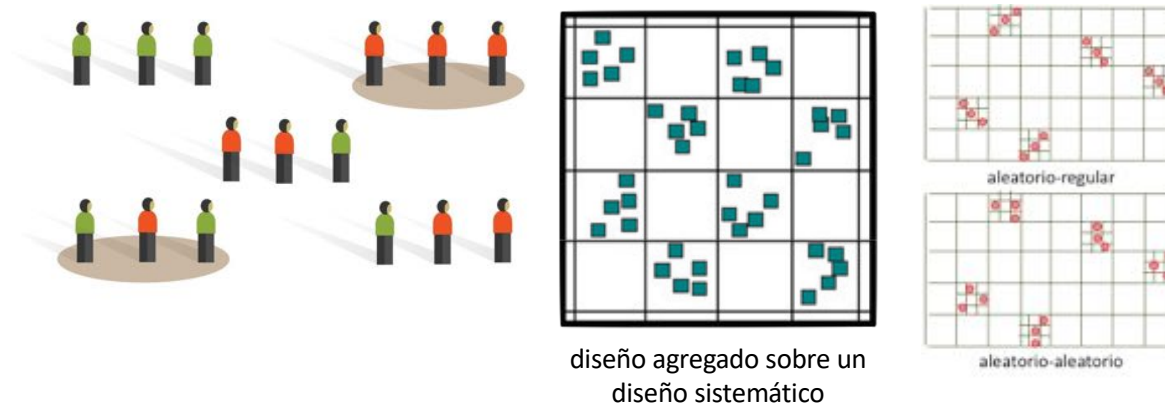
Diseño Sistemático (o Regular): muestreo en el cual las unidades de muestreo presentan una **separación** (espacial o temporal) **regular** entre sí.

- Garantiza una **buena cobertura** de todo el espacio de muestreo.
- Puede ser **parcialmente probabilístico** al determinar aleatoriamente el punto de inicio y dirección del muestreo.
- Permite **cuantificar gradientes** en forma precisa, y **evaluar autocorrelación** y **estructura endógena**.
- Puede generar dependencia entre las muestras debido a **patrones regulares o cíclicos subyacentes**.
- Puede ser **difícil de aplicar en campo**, particularmente si existen áreas, períodos o unidades de muestreo inaccesibles.



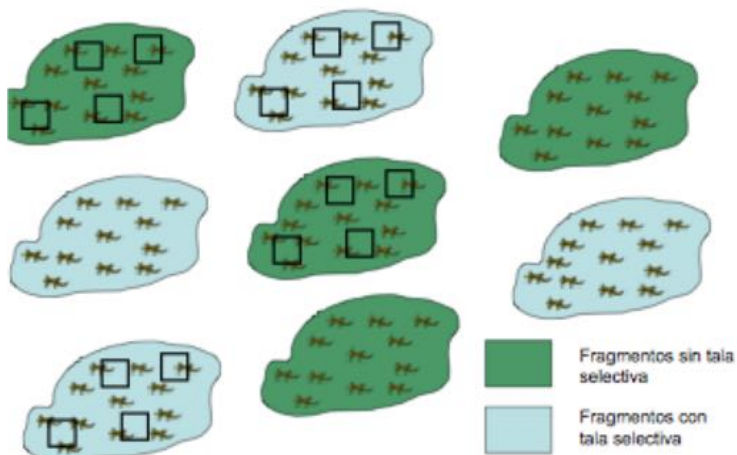
Diseño Agregado: muestreo en el cual se definen **grupos de unidades relacionadas** (e.g. espacialmente cercanas, familiares, etc.) dentro de la población y **se seleccionan aleatoriamente unidades de muestreo dentro de estas**.

- Garantiza una **buena cobertura de todo el espacio de muestreo**.
- Permite optimizar recursos al dirigir el muestreo a porciones particulares de la población.
- Generar **dependencia entre las muestras** y sesgos por **factores correlacionados** a los agrupamientos.



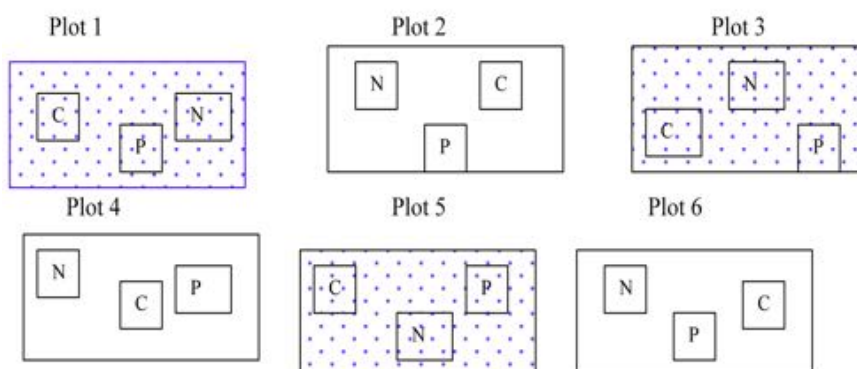
Diseño Anidado: la asignación de unidades de muestreo (o tratamientos) se realiza dentro unidades (naturales o artificiales) mayores, debido a características del sistema de estudio o limitantes logísticas.

- Permite poner a prueba efectos naturalmente jerárquicos (e.g. a distintos niveles de una cuenca, a distintos niveles taxonómicos, etc.).
- Permite obtener información de gran resolución (diferencias entre unidades de observación) cuando existen limitaciones logísticas en el número de réplicas reales.
- El número de réplicas reales es menor al de observaciones, y por lo tanto la incorporación de dos niveles jerárquicos reduce el número de grados de libertad.



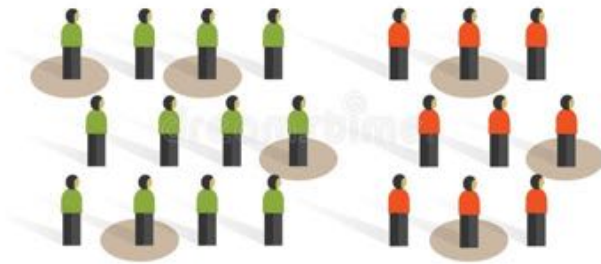
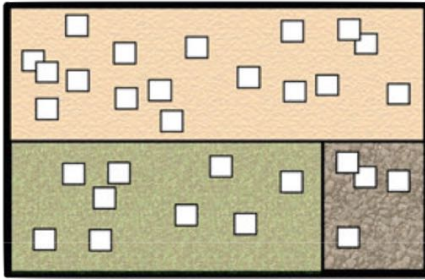
Diseño De Parcela Partida (Split-Plot): los distintos niveles de uno de los tratamientos se asigna dentro de unidades experimentales o de muestreo mayores sobre las que se aplica otro tratamiento.

- Permite ejecutar asignación de tratamientos que por restricciones logísticas no pueden ejecutarse con una misma resolución espacial o temporal.
- Pérdida de grados de libertad al incluir un dos niveles jerárquicos.



Diseño Estratificado: la asignación de unidades de muestreo se realiza dentro de subdivisiones del espacio de muestreo (i.e. estratos) definidos a partir de la heterogeneidad espacial o temporal conocida y relevante.

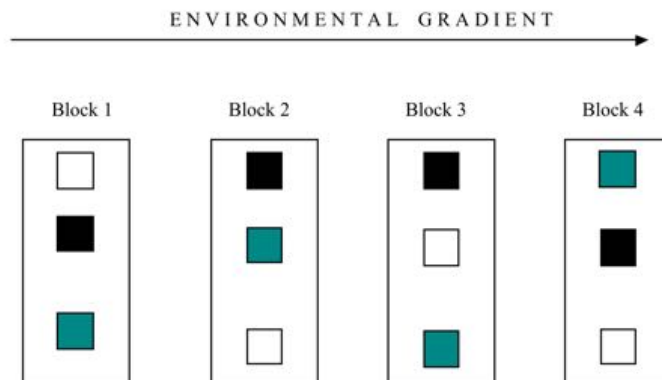
- Aumenta la precisión al eliminar la variabilidad “entre estratos”.
- Mejora la cobertura del muestreo y la eficiencia, y permite buena representación de estratos de minoritarios.
- Útil para dar cuenta de distribución agregada (grupos).
- La definición de los estratos no es trivial y puede requerir un estudio (piloto) previo, y complejizar los análisis en algún grado siendo necesario ponderar los valores obtenidos por la representación de cada estrato en la población.



La asignación de unidades de muestreo puede ser proporcional a la extensión de cada estrato, o seguir una relación entre información ganada (e.g. variabilidad dentro del estrato) y costo (adaptativa).

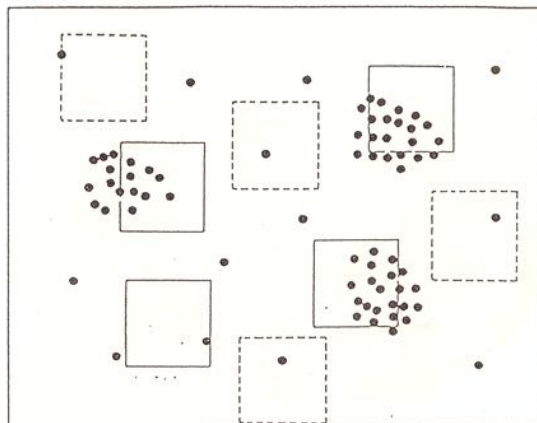
Diseño En Bloques: se establecen bloques de unidades experimentales a lo largo de un gradiente (conocido o potencial), dentro de los cuales la asignación de los tratamientos es aleatoria.

- Aumenta la precisión al eliminar la variabilidad “entre estratos”.
- Elimina el efecto de variables confundidoras.
- reduce el número de grados de libertad (i.e. disminuye el poder de las pruebas estadísticas).



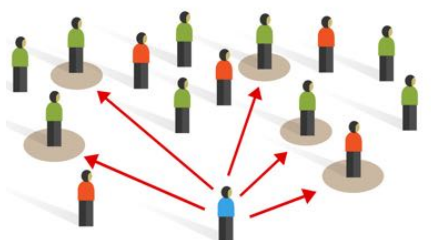
Diseño Adaptativo: la asignación de unidades de muestreo se realiza en función de los datos que se van obteniendo.

- Permite optimizar la asignación de esfuerzo de muestreo cuando la distribución de la variable es muy agregada, los factores causales de dicha distribución no son conocidos, y el número de elementos a contar o medir es muy bajo (e.g. especies raras).
- Métodos de análisis complejos (e.g. anidamiento, autocorrelación)



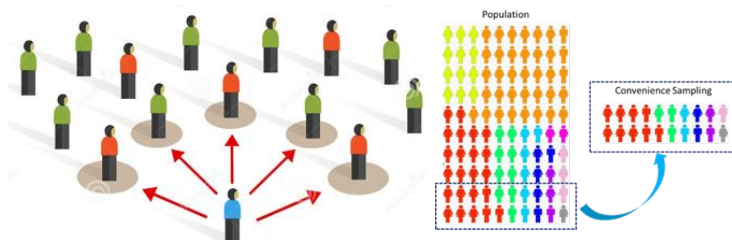
Diseños No Probabilísticos: diseños que no buscan la independencia ni representatividad (estadística) de los datos (e.g. estudios cualitativos).

Muestreo Propositivo



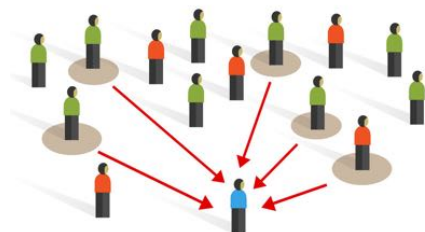
Búsqueda de información específica

Muestreo de Conveniencia



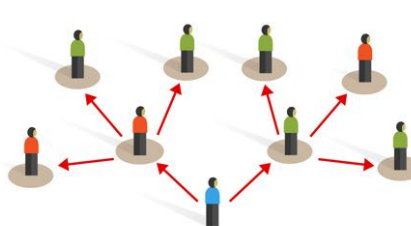
Casos donde hay gran dificultad logística

Muestreo de Respuesta Voluntaria



Depende del interés de los respondientes

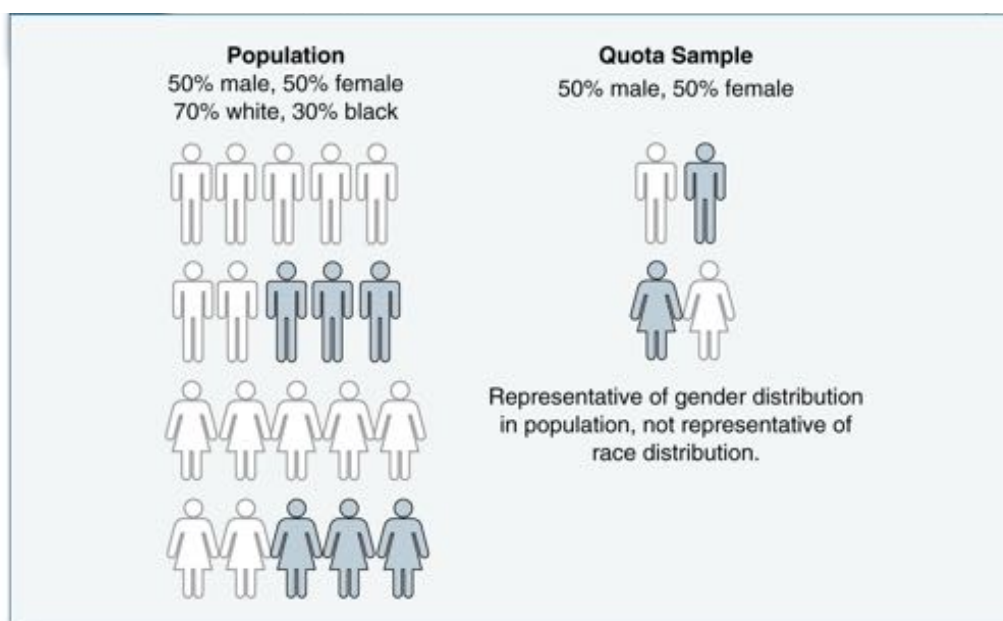
Muestreo de Bola de Nieve



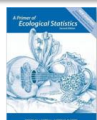
Muestreo guiado por respondientes

Diseños No Probabilísticos: diseños que no buscan la independencia ni representatividad (estadística) de los datos (e.g. estudios cualitativos).

Muestreo por cuotas: busca tener dato de cada estrato, pero no su representatividad.



Bibliografía Recomendada



Gotelli, N.J., & A.M. Ellison (2012). *A Primer of Ecological Statistics*, 2nd ed. Sinauer.

Buena introducción a diseño experimental y de muestreo, y las técnicas estadísticas asociadas a cada tipo de experimento. Lenguaje sencillo, no requiere conocimientos avanzados de estadística. Por lo menos 1ra ed. (2004) disponible en la biblioteca de la PUC.



Sutherland, W.J. (ed.) (2006). *Ecological Census Techniques: A Handbook*, 2nd ed. Cambridge Univ. Press.

Introducción básica sobre muestreo y diseños de muestreo. Lenguaje sencillo, no requiere conocimientos avanzados de estadística. Enfoque más metodológico.



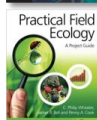
Krebs, C.J. (1999). *Ecological Methodology*, 2nd ed. Addison-Welsey Euc. Pub.

Discusión básica diseños experimental y de muestreo. Referencia clásica.



Quinn, G.P., & M.J. Keough (2002). *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge Univ. Press.

Discusión detallada de diseño experimental (y de muestreo), y técnicas estadísticas relacionadas. Referencia clásica; requiere conocimientos básicos de estadística; nivel técnico avanzado.



Weather, C.P. & P.A. Cook (2011). *Practical Field Ecology*. Wiley-Blackwell.

Descripción detallada de metodologías de campo para distintos tipos de organismos y variables ambientales, y discusión muy básica de técnicas analíticas y formas de presentación de resultados.



Comisión Honoraria de Experimentación Animal (2018). *Experimentación con animales no tradicionales en Uruguay*. (Ed. F. Teixeira de Mello). CHEA.

En español, escrito por autores locales. Tratamiento de aspectos metodológicos asociados a la manipulación de distintos taxa animales, incluyendo técnicas alternativas. Tratamiento profundo de aspectos bioéticos y normativos.