

Análisis de la normalidad de los parámetros de curvas de degradabilidad ruminal *in situ*.

Normality test of parameters of *in situ* ruminal degradability curves.

Autores: Dr. C. Osmany Jay-Herrera¹, Dr. C. Delfín Gutiérrez-González²

Organismo: Universidad Guantánamo, Cuba¹. Instituto de Ciencia Animal, Mayabeque, Cuba²

E-mail: ojay@ica.co.cu

Resumen.

A partir de un experimento realizado en el Instituto de Ciencia Animal, se analizó la distribución de probabilidad de los parámetros de regresión no lineal del modelo de Orskov, aplicado a curvas de degradabilidad ruminal *in situ*, según diseño completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos. Se aplicó el remuestreo bootstrap y se generaron 450 conjuntos de datos por tratamiento. Los parámetros fueron analizados empleando los estadísticos de Shapiro Wilks y Kruskal-Wallis, y los gráficos Q-Q con la curva normal. Se observó incumplimiento de la hipótesis de normalidad en todas las pruebas realizadas. El parámetro asintótico tuvo la distribución más cercana a la normal. Los resultados indican que la transformación podría conducir a la normalidad, pero añadiría sesgo en los resultados. Se concluyó que no puede emplearse el análisis de varianza a los parámetros de regresión de este tipo de experimentos por no cumplir con el supuesto de normalidad.

Palabras clave: regresión no lineal; bootstrapp; degradabilidad ruminal

Abstract.

Starting from a carried out experiment at the Animal Science Institute, normal distribution of nonlinear regression parameter was analyzed using Orskov Model applied to *in situ* ruminal degradability curves. Data was from a complete randomized experiment with four treatments. The sample of parameters was obtained using bootstrap and 450 groups of parameters per treatment was obtained and tested with Shapiro-Wilks and Kruskal-Wallis tests and the Q-Q graphics. Hypothesis of normality was rejected for each treatment through all the tests. The distribution of the asymptotic parameter was the most near to normality. Results of graphical analysis show that transformation of parameter could lead to normality but it is possible to add a bias in the further analysis of the data. It is concluded that the parameters of the curves of non linear regression for this type of experiments cannot be used in analysis of variance by not fulfilling the supposition of normality.

Keywords: non linear regression; bootstrap; ruminal degradability

Introducción.

En las condiciones actuales, el país no cuenta con un suministro estable de alimentos de alta calidad para el ganado, además el pasto que se produce es fibroso y de muy bajo contenido proteico. Por esta razón los investigadores deben buscar continuamente alternativas que permitan el mejor aprovechamiento de estos alimentos. En este sentido, la evaluación de los alimentos en la nutrición de los rumiantes constituye un pilar fundamental en las investigaciones en producción animal.

Dentro de las técnicas empleadas para la evaluación de alimentos, el estudio de la degradabilidad de alimentos *in situ*, con el empleo de bolsas de poliéster colocadas en el rumen de animales canulados es una de las que mejores resultados ha brindado a lo largo de los últimos años (E.R Orskov, 2000). Esta técnica permite evaluar la dinámica de la degradabilidad ruminal mediante el estudio de la fracción del alimento que desaparece de la bolsa en el tiempo.

Varios han sido los modelos que se han propuesto para describir las curvas de degradabilidad ruminal *in situ*, siendo el modelo de Orskov el de mayor aplicación en este tipo de investigaciones (Lopez, France, Dhanoa, Mould, & Dijkstra, 1999; E.R Orskov & McDonald, 1979).

Una de las ventajas del modelo de Orskov es que permite la interpretación biológica del proceso a través de sus parámetros, ya que es un modelo mecanicista. Estos parámetros han tratado de emplearse desde el inicio de la aplicación de esta técnica, en los diseños experimentales. Múltiples han sido las investigaciones en la que se ha intentado realizar la comparación de parámetros de curvas de degradabilidad ruminal obtenidas en experimentos donde se han aplicado diferentes tratamientos al alimento que se evalúa.

Dentro de los métodos más difundidos para realizar esas comparaciones se encuentran el análisis de varianza y los contrastes ortogonales. Sin embargo hasta el momento no se ha encontrado en la bibliografía trabajos que verifiquen los supuestos que se han de tener en cuenta para realizar estas pruebas.

Los tres supuestos fundamentales para aplicar tanto el análisis de varianza como los contrastes ortogonales son:

1. Independencia de los valores.
2. Normalidad de las variables
3. Homogeneidad de las varianzas

En el presente trabajo se pretende probar el cumplimiento del segundo supuesto a partir de un experimento realizado en el Instituto de Ciencia Animal y aplicando para la obtención de las variables la técnica de remuestreo por bootstrap.

Desarrollo.

Metodología

Recolección de los datos originales:

Los datos originales provinieron de un experimento desarrollado en el área de metabolismo caprino del Departamento de Manejo y Alimentación de Rumiantes, perteneciente al Instituto de Ciencia Animal (ICA), ubicado en el municipio San José de las Lajas, provincia Mayabeque, Cuba (Gutiérrez, 2011).

Se utilizaron cuatro cabras canuladas en la región dorsal del rumen, de forma permanente. Se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos: una dieta control consistente en una mezcla de heno fibroso de baja calidad nutritiva y una leguminosa arbórea y tres niveles de inclusión del aditivo microbiano VITAFERT (Elías & Herrera, 2008) en las concentraciones 4.5ml kg/PV, 6.0 ml kg/PV y 8.5 ml Kg/PV.

Los alimentos fueron introducidos en bolsas de nylon y colocados en el rumen de acuerdo al método descrito en Orskov (1979). Las bolsas fueron retiradas a las 2, 4, 8, 12, 24, 48 y 72 horas, en estas se determinó la degradación de la materia seca por el método descrito en Pedraza (2001).

Generación de las muestras bootstrap y regresión:

A partir del experimento original se generaron 500 nuevos conjuntos de datos para cada tratamiento, empleando el método de bootstrap para cada uno de los tratamientos por separado.

El número de pares de valores de cada muestra generada fue de aproximadamente el 70 % con respecto a los valores originales obtenidos en el laboratorio.

La degradabilidad ruminal, para los datos originales y para las muestras bootstrap se determinó de acuerdo al modelo de Orskov y Mc Donald (1979):

$$y = a + b[1 - \exp(-c \cdot t)]$$

Donde:

a: representa la fracción soluble del alimento, que se libera de inmediato al colocar las bolsas en el rumen,

b: representa la parte degradable de la fracción no soluble, y

c: es la tasa de degradación fraccional.

Para el ajuste de los datos se empleó el método de ajuste de regresión no lineal de Levenberg-Marquardt. Se tomaron como criterios de bondad de ajuste el coeficiente de determinación y el error estándar de estimación de los parámetros.

De las muestras contenidas por bootstrap se desecharon aquellas que contuvieron valores atípicos y se realizó luego una nueva selección de los valores para quedar con un total de 450 grupos de parámetros por tratamiento.

Cada conjunto de parámetros obtenido fue analizado empleando los estadísticos de Shapiro Wilks y Kruskal-Wallis por tratamientos.

Se analizaron además los gráficos de comparación de los cuantiles observados con los de la distribución normal y el ajuste de la curva normal a los histogramas.

Resultados y discusión

Ajuste de los datos originales al modelo

La figura 1 muestra las curvas ajustadas al modelo de Orskov y los criterios de bondad de ajuste de estos puntos a ese modelo. Se puede apreciar que este es un modelo con un buen ajuste a los datos y a la vez permite obtener parámetros con significado biológico.

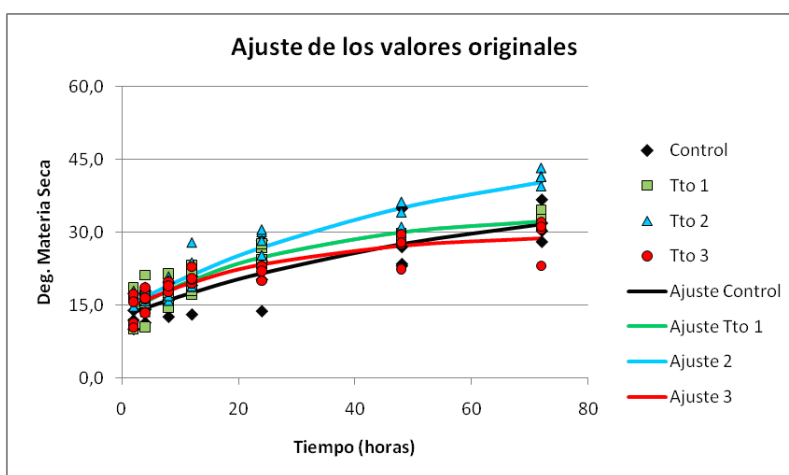


Figura 1. Ajuste de los datos originales al modelo de Orskov y Mc Donald.

La bondad de ajuste del modelo de Orskov para las curvas de degradabilidad ruminal ha sido reconocida ampliamente en la bibliografía consultada (Bach, Stern, Merchen, & Drackley, (1998); Pedraza, (2001); Thornley & France, (2007).

En la tabla de las estimaciones de los parámetros del modelo aplicado a los datos originales se aprecia que el parámetro a mantuvo un comportamiento estable entre los cuatro tratamientos, mientras el más inestable es el parámetro c, el cual está relacionado con la tasa de degradación del alimento.

Tabla 1. Resultado del ajuste del modelo de Orskov a los datos originales.

Tratamiento	Parámetro	Estimación	Error típico	R ²
0	a	12,701	1,549	0.762
	b	27,431	12,407	
	c*100	1,620	1,353	
1	a	12,839	1,286	0.865
	b	21,172	2,114	
	c*100	3,501	1,112	
2	a	14,237	1,273	0.903.

	b	35,644	7,898	
	c*100	1,823	0,805	
3	a	13,629	1,233	0.815
	b	16,167	1,787	
	c*100	3,816	1,305	

Se obtuvieron valores del coeficiente de determinación mayores que 0,75 en todos los tratamientos. Expertos en este tipo de regresión indican que para este tipo de experimentos un valor de R² superior a 0,75 representa buen ajuste de los datos al modelo pues son experimentos que no se realizan a nivel de laboratorio, sino en condiciones como el interior del rumen donde existen un gran número de factores que podrían incrementar el error de la estimación y por tanto disminuir el valor de la varianza explicada por la regresión (Montgomery, Peck & Vining, (2005); Reuter, Jopp, Breckling, Lange, & Weigmann, (2011). Por tanto, se corrobora la efectividad del empleo de este modelo para la descripción del proceso de degradabilidad ruminal.

Una vez determinada la bondad de ajuste del modelo de Orskov para este tipo de datos se procedió a la modelación de las curvas simuladas y la obtención de los parámetros simulados.

La tabla 2 muestra los valores de las medias, el error estándar de la estimación, y los estadísticos de Kruskal-Wallis y Kolmogorov-Smirnov de los cuatro conjuntos de parámetros simulados.

Tabla 2. Estadísticos descriptivos y pruebas de normalidad de los parámetros simulados.

Parámetro	Tto	Media	Error estándar	Kolmogorov-Smirnov Estadístico	Sig.	Shapiro-Wilk Estadístico	Sig.
a	0	12,514	0,039	0,040	0,077	0,992	0,013
	1	12,735	0,056	0,024	.200(*)	0,994	0,105
	2	14,121	0,043	0,028	.200(*)	0,993	0,027
	3	13,547	0,050	0,037	0,156	0,994	0,052
b	0	30,741	0,545	0,177	0,000	0,806	0,000
	1	21,463	0,060	0,071	0,000	0,941	0,000
	2	37,496	0,403	0,177	0,000	0,785	0,000
	3	17,083	0,132	0,152	0,000	0,843	0,000
c*100 ^a	0	18,579	0,456	0,073	0,000	0,947	0,000
	1	35,861	0,377	0,035	.200(*)	0,993	0,024
	2	19,261	0,320	0,064	0,000	0,970	0,000
	3	39,469	0,722	0,071	0,000	0,960	0,000

Se apreció una alta correspondencia entre los valores estimados por el método de regresión no lineal y las estimaciones bootstrap. Sin embargo es significativa la disminución del error estándar de la estimación en este último método. Godfrey y Manly señalan como primera ventaja del método bootstrap la disminución del valor de este error, a costa de un aumento en tiempo de cómputo por necesitarse un número relativamente grande de muestras bootstrap para que la disminución de error sea significativa (Godfrey, 2009; Manly, 2001).

En cuanto a los valores de las pruebas de normalidad, se emplearon las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, en ambas pruebas se parte de la hipótesis nula de la

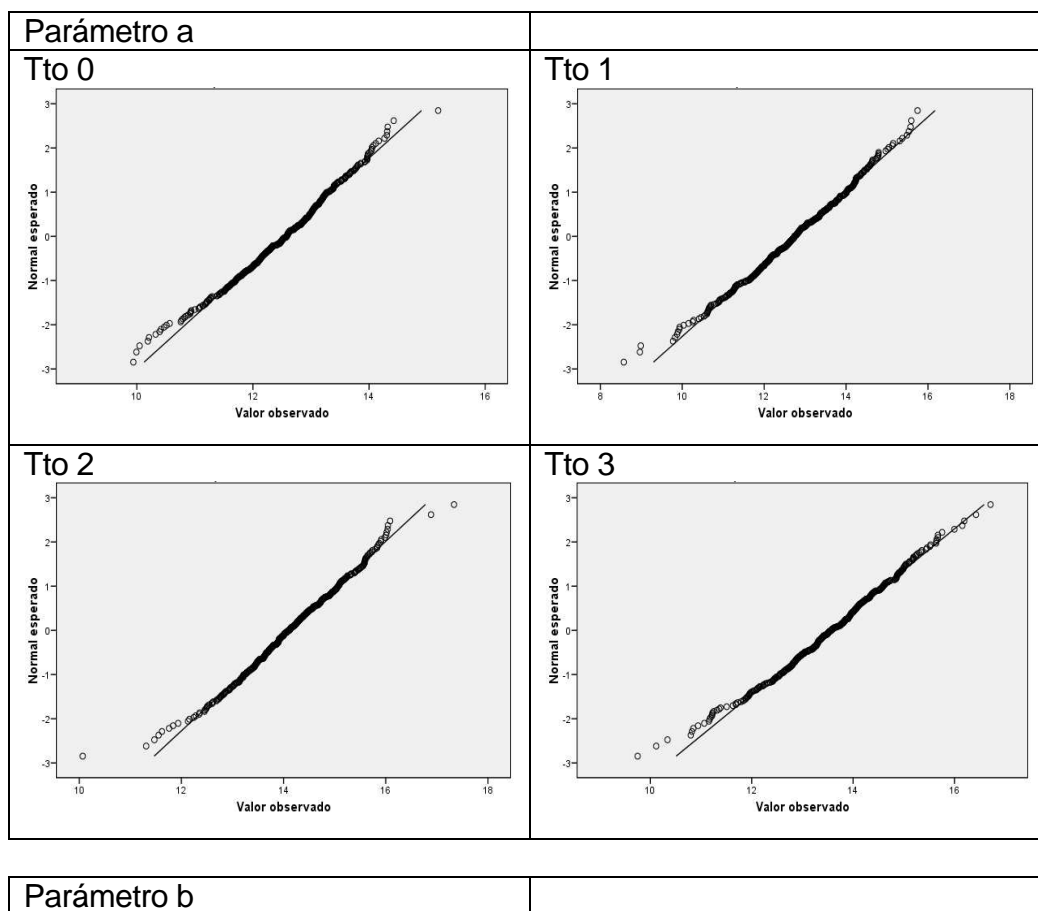
normalidad de las poblaciones. Pardo (2000) ha reportado la mayor sensibilidad de la prueba de Kolmogorov-Smirnov cuando las muestras son relativamente grandes, esto se apreció en el presente trabajo al comparar los niveles de significación de ambas pruebas (Gutiérrez, 2011).

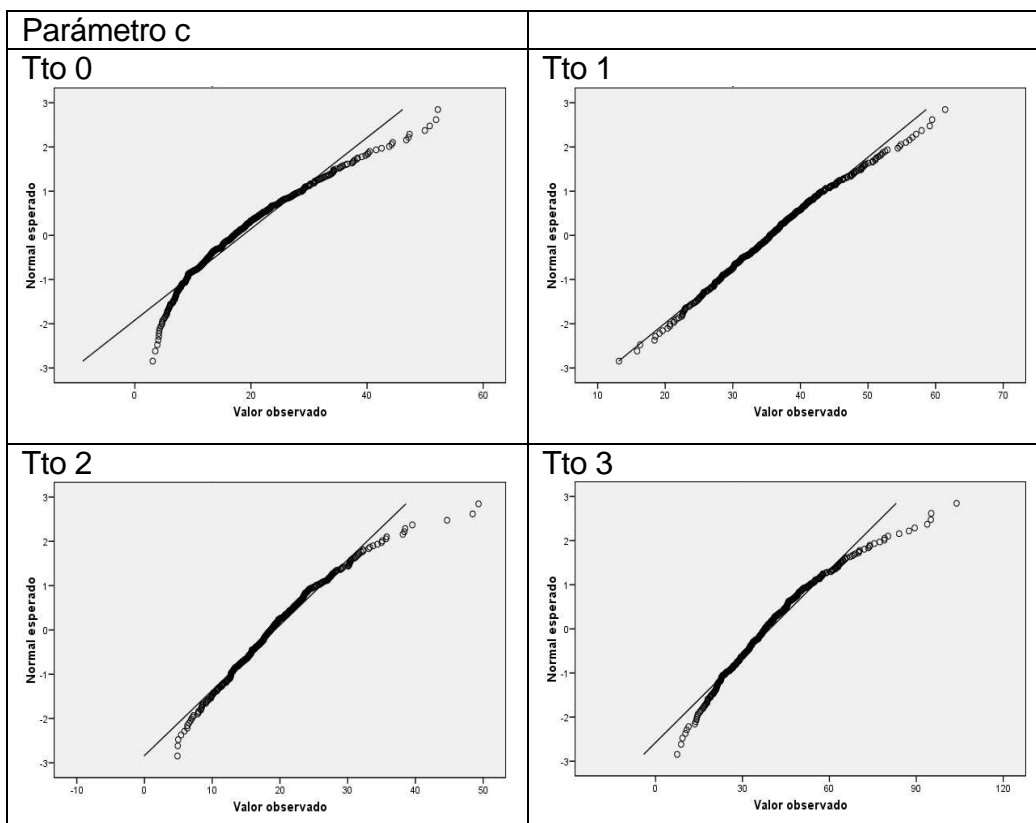
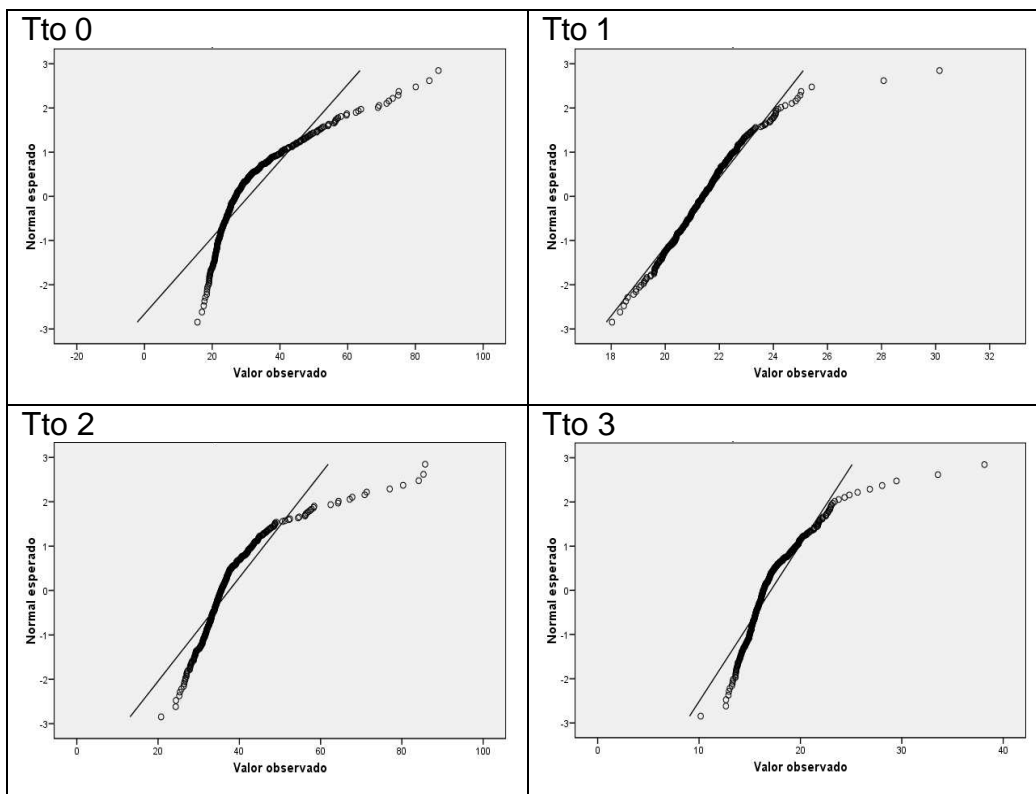
Se observó que solamente no se rechazó la hipótesis de normalidad en dos ocasiones en el parámetro a y en una del parámetro c. En el caso del parámetro b, se rechaza la hipótesis de normalidad para todos los tratamientos.

El tamaño de la muestra bootstrap fue escogido con un tamaño lo suficientemente grande para que aquellas variables cuya población tuviera la distribución cercana a la normal, fuese detectada como normal por los tests de Krusal-Wallis y Kolmogorov-Smirnov. De esta manera se llegó a la primera conclusión que no se tiene evidencia por las pruebas de normalidad de que las poblaciones de los parámetros de regresión del modelo de Orskov se distribuyan de forma normal.

Posteriormente se procedió a realizar el análisis con los gráficos de distribución de los cuantiles observados y esperados de la distribución normal. Los gráficos se muestran en la figura 2.

Figura 2. Gráficos Q-Q de cada uno de los parámetros.





En los gráficos de las distribuciones de los cuantiles observados se apreció que el parámetro cuyas observaciones estuvieron más próximas a la distribución normal fue el parámetro a. Este

comportamiento se debe a que este parámetro representa la parte soluble de la fracción degradable, la cual es la primera en desaparecer de la bolsa y tiene muy poca interacción con los mecanismos fisiológicos del rumen. Depende exclusivamente de las características del alimento y no de las características del sistema digestivo del animal.

Para los dos restantes parámetros existen claras desviaciones de la distribución normal, principalmente en el caso del parámetro b, donde los puntos experimentales describen un patrón diferente del de la curva normal. Este mismo fenómeno ocurrió en el parámetro c, pero de manera menos evidente.

Este patrón de desviación de la curva normal de los parámetros podría sugerir que la aplicación de la transformación de las variables puede conducir a la obtención de variables transformadas con una distribución normal, pero este método implicaría una pérdida de precisión en los resultados de cualquier análisis realizado con estos parámetros transformados al inferir que los mismos también corresponden con los parámetros estimados por un método no paramétrico como es el bootstrap.

Por tanto se sugiere para próximas investigaciones la obtención de mejores alternativas para la comparación estadística de los parámetros ajustados de los modelos de degradabilidad ruminal, en especial el modelo de Orskov, pues se ha demostrado en la presente investigación que los mismos no son normales.

Conclusiones.

Los resultados del presente trabajo permiten arribar a las siguientes conclusiones.

1. Los parámetros de regresión no lineal de las curvas de producción de gas no siguen una distribución normal, lo que fue demostrado a través de las dójimas y del análisis gráfico.
2. Una transformación de dichos parámetros podría conducir a obtener un nuevo conjunto de datos normales pero este método implicaría una pérdida de precisión en los resultados que se obtengan.

Bibliografía.

- Bach, A., Stern, M. D., Merchen, N. R., & Drackley, J. K. (1998). Evaluation of selected mathematical approaches to the kinetics of protein degradation in situ. *Journal of Animal Science*, 76, 2885-2893.
- Elías, A., & Herrera, R. (2008). *Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de microorganismos beneficiosos activados (MEBA)*. Mayabeque. Instituto de Ciencia Animal.
- Godfrey, L. (2009). *Bootstrap test for regression models*. New York: Palgrave McMillan.
- Gutiérrez, D. (2011). *Alimentación de cabras con vitafer*. Instituto de Ciencia Animal, La Habana.
- Lopez, S., France, J., Dhanoa, M. S., Mould, F., & Dijkstra, J. (1999). Comparison of mathematical models to describe disappearance curves obtained using the polyester bag technique for incubating feeds in the rumen. *Journal of Animal Science*, 77, 1875-1888
- Manly, B. F. J. (2001). *Randomization, bootstrap, and Monte Carlo methods in biology*. London: Chapman & Hall/CRC.

- Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2005). *Introducción al análisis de regresión lineal* (3 ed.). México: Compañía Editorial Continental.
- Orskov, E. R. (2000). The in situ technique for the estimation of forage degradability in ruminants. In D. I. Givens, E. Owen, R. F. E. Axford & H. M. Omed (Eds.), *Forage evaluation in ruminant nutrition*. Oxon: CABI.
- Orskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 96, 251.
- Pardo, A. (2000). *Estadística con SPSS*. Mexico: Universidad de Guadalajara.
- Pedraza, R. M. (2001). Estimación del valor nutritivo de los alimentos para rumiantes con énfasis en las técnicas in sacco y de producción de gas in vitro. *Producción Animal*, 13(1), 45.
- Reuter, H., Jopp, F., Breckling, B., Lange, C., & Weigmann, G. (2011). How valid are model results? Assumptions, validity range and documentation. In F. Jopp (Ed.), *Modelling complex dynamics systems*. Heidelberg: Springer, 323-341.
- Thornley, J. H. M., & France, J. (2007). *Mathematical models in agriculture* (2a ed.). Oxon: CABI.

Fecha de recibido: 18 ene. 2016
Fecha de aprobado: 15 mar. 2016