

La estadística no paramétrica para el análisis e interpretación de estudios de plagas: alternativas al análisis de varianza

Bielinski M. Santos¹
James P. Gilreath¹
Ramón Arbona²
Ángel R. Pimentel²

RESUMEN. El uso del análisis de varianza (ANAVA) clásico en datos con distribución no normal, tales como los obtenidos de poblaciones de hongos, malezas y nematodos, así como variables cualitativas, como índices de severidad, se ha generalizado en la literatura de manejo de plagas agrícolas. Sin embargo, dicha metodología no es la más apropiada para el análisis e interpretación de datos que no cumplen los supuestos distribucionales del ANAVA. El objetivo de este trabajo fue presentar algunas metodologías no paramétricas, tales como las pruebas de chi-cuadrado (χ^2) y de Friedman, como alternativas al recorrido ANAVA. Se incluyen estudios de casos específicos, así como ejemplos de programas y salidas de análisis estadístico.

Palabras clave: análisis estadístico, biometría, chi-cuadrado, diseño experimental, Friedman.

ABSTRACT. Analysis and interpretation of pest studies with non-parametric statistics: alternatives to the analysis of variance. The usage of analysis of variance (ANOVA) on non-parametric data, such as disease, weed, and nematode populations, and on qualitative variables, such as severity indexes, is generalized in the pest management literature. However, ANOVA is not the most appropriate method to analyze data that do not meet the basic assumptions for the parametric analysis. Therefore, the objective was to revisit some non-parametric methodologies, such as χ^2 and the Friedman's test as alternatives to the ANOVA. Specific case studies and statistical software programs and outputs are included.

Key words: contingency tables, experimental design, Friedman, statistics.

Introducción

El manejo estadístico de datos en estudios de plagas agrícolas en condiciones controladas es uno de los mayores desafíos que enfrentan los investigadores de protección vegetal en el momento de diseñar experimentos, analizar datos y presentar conclusiones. El método de análisis más comúnmente utilizado es el análisis de varianza (ANAVA), que permite probar

la hipótesis nula (H_0) que establece igualdad de respuesta entre todos los tratamientos considerados en el análisis. La prueba estadística utilizada provee una probabilidad estimada, valor p , el cual es el resultado de la comparación de un valor F calculado con relación a un valor F obtenido a partir de la respectiva curva de distribución de probabilidades, dados unos grados de libertad provenientes del tamaño de muestra

¹ Gulf Coast Research and Education Center, University of Florida, Bradenton, Florida, EUA. bmsantos@yahoo.com

² Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Santo Domingo, República Dominicana.

seleccionado. Una vez realizada la prueba de hipótesis para cada variable en estudio, se procede a establecer conclusiones, y si aquella es rechazada se realizan comparaciones de medias o contrastes para determinar los tratamientos que difieren entre sí. Sin embargo, frecuentemente el ANAVA es aplicado sin considerar los supuestos estadísticos que lo sostienen, lo que conduce a conclusiones erróneas sobre las variables consideradas o reduce la potencia del análisis.

Para la aplicación correcta del ANAVA clásico, se requiere el cumplimiento de cuatro supuestos estadísticos que sustentan la validez de las conclusiones de esta prueba: a) errores experimentales normalmente distribuidos; b) homogeneidad de varianzas; c) errores experimentales independientes, y d) un modelo aditivo (Triola 1992, Ott et al. 2000). Desgraciadamente, los experimentos que involucran el comportamiento de poblaciones de plagas, tales como hongos, nemátodos y malezas, normalmente no cumplen con uno o varios de los supuestos para el uso del ANAVA. Más aún, debido al relativo desconocimiento sobre la existencia de otras metodologías para examinar datos, se pueden encontrar publicaciones en las cuales se presentan conclusiones a partir del uso de ANAVA que hubieran sido diferentes si se hubiese utilizado otro método de análisis. Por lo tanto, el presente trabajo pretende ilustrar y comparar análisis de datos experimentales en estudios con plagas, a través del uso de métodos estadísticos alternativos que permitan mejorar su conducción, análisis e interpretación.

Estudios de casos de pruebas no paramétricas

Existe una amplia diversidad de pruebas no paramétricas, las cuales pueden ser utilizadas dependiendo de los objetivos y el conjunto de hipótesis planteadas en un estudio específico para establecer conclusiones sobre el comportamiento de las variables en estudio. Estas pruebas ofrecen algunas ventajas con respecto a sus contrapartes paramétricas, destacándose la rapidez del análisis y la facilidad de interpretación del mismo (Berenson y Levine 1992).

Prueba de χ^2

Una de las pruebas no paramétricas más conocidas es la que usa la distribución de χ^2 , la cual permite: a) hacer comparaciones directas de dos poblaciones o muestras, donde no se conoce la distribución; b) examinar las igualdades de proporciones de más de dos categorías en una población, y c) determinar la bondad de ajuste de frecuencias observadas en relación con frecuencias

esperadas de ocurrencia de un evento (Ott et al. 2002). Una derivación importante del uso de χ^2 son las llamadas “tablas de contingencia”, que permiten probar la hipótesis nula de independencia de ocurrencia de eventos (Berenson y Levine 1992). A continuación se presenta un ejemplo de este último uso aplicado a la investigación agrícola (Ejemplo 1).

Ejemplo 1

Se estudió la resistencia al tizón tardío (*Phytophthora infestans*) de tres cultivares de papa (*Solanum tuberosum*). Se desea saber si los cultivares responden igual a la presión de la enfermedad o si existe diferencia entre ellos. Para ello, se seleccionan al azar 100 plantas de cada cultivar a los 60 días de la siembra y se tabulan las observaciones (frecuencias absolutas) de incidencia de la enfermedad (Santos y Rodríguez 2002, datos sin publicar).

Cuadro 1. Frecuencias observadas de plantas con síntomas de ataque de tizón tardío o sin ellos en tres cultivares de papa

Cultivar	Síntomas de tizón tardío	
	Con	Sin
Floresta	12	88
IDIAFRIT	8	92
Granola	21	79
$\chi^2 = 7,51; p = 0,0233$		

En dicho estudio la hipótesis nula, H_0 , establece que no existe diferencia en la incidencia de la enfermedad en los tres cultivares. En otras palabras, *la aparición del tizón tardío es independiente del cultivar utilizado*. Para probar dicha H_0 se calculó el valor de χ^2 basado en las desviaciones de las frecuencias observadas de cada valor con respecto a su valor esperado según su fila (C : cultivares) y su columna (S : síntomas). Este estadístico se distribuye como χ^2 con $(C - 1)(S - 1)$ grados de libertad (gl) (Ott et al. 2000). Por ejemplo, la frecuencia esperada de plantas de ‘Granola’ con síntomas es $(12 + 8 + 21)[(100)/300] = 13,67$, lo que quiere decir que se debería haber esperado aproximadamente 14 plantas de ‘Granola’ infectadas si la hipótesis de independencia es verdadera. Este valor se calcula para cada casilla y su sumatoria permite obtener un valor χ^2 observado, que se compara con el χ^2 tabular. Considerando un $\alpha = 0,05$, el valor p derivado del χ^2 calculado ($p = 0,0233$) indica que se debe rechazar la H_0 , por lo que *la aparición del tizón tardío depende del cultivar utilizado*, en las condiciones del estudio en cuestión. Todo esto sin la

necesidad de recurrir a un ANAVA para determinar si hay diferencias entre los materiales probados.

La discusión anterior sirve para demostrar cómo con el uso de metodologías simples de análisis estadístico y menos restrictivas que el ANAVA, se puede arribar rápidamente a conclusiones similares respecto a las hipótesis de interés. Sin embargo, algunas limitaciones aplican a esta metodología. Entre éstas, el análisis no nos permite determinar directamente los niveles de diferencias en la resistencia de los cultivos. Para ello, se puede recurrir a otros tipos de análisis, como el descrito más abajo.

ANAVA no paramétrico de dos vías o prueba de Friedman

Esta es la alternativa no paramétrica al ANAVA más recurrida cuando se trata de datos obtenidos a partir de un diseño de bloques completos al azar. En ella se contrasta la hipótesis de igualdad de medias entre los tratamientos ($H_0: \mu_1 = \dots = \mu_n$), utilizando observaciones tales como el estadístico de orden. Estos estadísticos son seleccionados porque suelen ser menos sensibles a la presencia de variaciones entre las repeticiones de un mismo tratamiento y, por lo tanto, son menos afectados por los cambios en la variabilidad interna del experimento. En el caso de las medianas, la hipótesis por comprobar análoga al ANAVA es $H_0: m_1 = \dots = m_n$, donde m representa la mediana del tratamiento en cuestión. Se deben satisfacer algunas condiciones para poder aplicar la prueba de Friedman a datos experimentales: a) los tratamientos deben ser independientes entre sí, y b) los valores deben seleccionarse aleatoriamente (Berenson y Levine 1992).

Existen innumerables situaciones en las cuales la prueba de Friedman puede ser de utilidad. A lo largo de los años, se ha vuelto costumbre analizar variables recogidas en el campo directamente con ANAVA, sin determinar primero si estas cumplen con los supuestos que le dan validez al análisis. Algunas de esas prácticas comunes son las relacionadas con el examen de valores para abundancia de malezas o para índices de severidad de enfermedades. En el primer caso, las poblaciones de malezas rara vez cumplen con el supuesto de normalidad, debido a la forma en que colonizan un terreno. Por esta razón, el ANAVA clásico no sería la prueba con mayor potencia para detectar las diferencias de medias que tiendan a rechazar la H_0 planteada. En el segundo caso se trata de variables claramente categóricas, como son los índices de severidad, razón por la cual es claro pensar en el incumplimiento de los supuestos distribucionales. En el Ejemplo 2 se compara el uso de métodos paramétricos y no paramétricos.

Ejemplo 2

Se conduce un estudio en un campo con fresas (*Fragaria x ananassa*) para determinar la eficacia de seis herbicidas en el control de malezas gramíneas. El número de gramíneas por parcela y el número de frutos fueron registrados dentro de cada tratamiento, y se utilizó un ANAVA para probar la hipótesis de igualdad entre medias de tratamiento. Las medias de los tratamientos fueron separadas utilizando la prueba de diferencia mínima significativa (DMS) de Fisher al 5% de significancia (Gilreath et al. 2003).

Cuadro 2. Influencia de herbicidas postemergentes sobre las densidades de malezas gramíneas y el número de frutos de fresa

ANAVA		Prueba de Friedman		ANAVA	
Herbicidas	Número de gramíneas	Herbicidas	Número de gramíneas	Herbicidas	Número de frutos
	Medias		Medias ordenadas		Medias ordenadas
1	90,7 a*	1	40 a	4	776,7 a
6	39,5 b	6	17 b	3	763,5 a
5	30,3 b	5	16 b	5	689,0 b
2	28,5 b	2	14 b	6	661,8 b
4	10,5 b	4	4 c	2	651,6 b
3	5,10 b	3	3 c	1	545,5 c

*Valores seguidos por la misma letra no difieren al 5% de significancia según DMS.

Programa SAS	
Comandos	Explicación
<code>data tizon;</code>	Comando que identifica los datos por examinar.
<code>input zona \$ sintomas \$ numero; cards;</code>	Comando que indica el orden en que se van a presentar los datos.
<code>bradenton con 140 bradenton sin 860 immokalee con 240 immokalee sin 760 gainesville con 100 gainesville sin 900</code>	Datos presentados en el siguiente orden: zona, incidencia, numero de plantas afectadas.
<code>proc freq; table zona*sintomas/chisq; weight numero; run;</code>	Comandos para el estudio de frecuencias y tablas de contingencia (3 x 2), analizados con chi-cuadrado.
Salida SAS	
<pre> The FREQ Procedure Table of zona by sintomas Frequency, Percent , Row Pct , Col Pct ,con ,sin , Total Bradenton , 140 , 860 , 1000 , 4.67 , 28.67 , 33.33 , 140.00 , 860.00 , , 29.17 , 34.13 , Gainesville 100 , 900 , 1000 , 3.33 , 30.00 , 33.33 , 100.00 , 900.00 , , 20.83 , 35.71 , Immokalee 240 , 760 , 1000 , 8.00 , 25.33 , 33.33 , 240.00 , 760.00 , , 50.00 , 30.16 , Total 480 2520 3000 16.00 84.00 100.00 </pre>	Salida que presenta la tabla de contingencia 3 x 2 requerida en el programa.
<pre> Statistics for Table of zona by sintomas Statistic DF Value Prob Chi-Square 2 7.7381 0.0209 Likelihood Ratio Chi-Square 0.0226 Mantel-Haenszel Chi-Square 1 3.7078 0.0542 Phi Coefficient 0.1606 Contingency Coefficient 0.1586 Cramer's V 0.1606 Sample Size = 3000 </pre>	Salida que presenta valores de chi-cuadrado para la prueba de hipótesis.

Figura 1. Programa y salida de SAS para análisis de datos sobre incidencia de tizón tardío en tomate (*Lycopersicon esculentum*) en tres zonas de producción de Florida, EUA.

Programa SAS	
Comandos	Explicación
<code>data fresas;</code>	Comando que identifica los datos por examinar.
<code>input herb bloque coq;</code> <code>cards;</code>	Comando que indica el orden en que se van a presentar los datos.
1 1 102 1 2 125 1 3 108 1 4 95 2 1 2 2 2 4 2 3 3 2 4 0 3 1 10 3 2 8 3 3 5 3 4 7	Datos presentados en el siguiente orden: herbicida, bloques, densidad de coquillo.
<code>proc univariate data=fresas normal</code> <code>plot;</code> <code>var coq;</code> <code>run;</code>	Comandos para el estudio de distribuciones y normalidad.
<code>proc sort;</code> <code>by bloque;</code>	Comandos para ordenar los datos en orden ascendente por bloque.
<code>proc rank data=fresas out=ranked;</code> <code>by bloque;</code> <code>var coq;</code> <code>ranks rcoq;</code> <code>run;</code>	Comandos para el estudio de variables ordinales.
<code>proc glm data=ranked;</code> <code>class herb bloque;</code> <code>model rcoq = herb bloque;</code> <code>means herb/lsd;</code> <code>run;</code>	Comandos para el modelo de bloques completos al azar y separación de medias con DMS.
Salida SAS	
<pre>The UNIVARIATE Procedure Variable: coq Tests for Normality Test ---Statistic--- ---p Value--- Shapiro-Wilk W 0.702204 Pr < W 0.0009 Kolmogorov-Smirnov D 0.382268 Pr > D <0.0100 Cramer-von Mises W-Sq 0.331308 Pr > W-Sq <0.0050 Anderson-Darling A-Sq 1.747916 Pr > A-Sq <0.0050</pre>	Salida abreviada que presenta las diferentes pruebas de normalidad de datos. El estadígrafo de Shapiro-Wilk es significativo ($p = 0,009$) al 5% de significancia para la variable coq

Figura 2. Programa y salida de SAS para análisis de datos sobre poblaciones de *Cyperus rotundus* en fresas.

Comandos						Explicación
The GLM Procedure						Salida abreviada que presenta la significancia del modelo y de los herbicidas ($p < 0,001$) al 5% de significancia para la variable rcoq.
Dependent Variable: rcoq Rank for Variable coq						
Sum of						
Source	DF	Squares	Mean Square	F Value	Pr>F	
Model	5	64.0000	12.8000	Infty	<.0001	
Error	18	0.0000	0.0000			
Total	23	64.0000				
R-Square	Coeff Var	Root MSE	rcoq Mean			
1.0000	0	0	3.5000			
Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr>F	
herb	2	64.0000	32.0000	Infty	<.0001	
bloque	3	0.0000	0.0000	.	.	
The GLM Procedure						Salida abreviada que presenta la separación de las medias ordenadas de los tratamientos.
t Tests (LSD) for rcoq						
Alpha						
0.05						
Error Degrees of Freedom						
18						
Error Mean Square						
0						
Critical Value of t						
2.10092						
Least Significant Difference						
0						
t Grouping						
	Mean	N	herb			
A	5.500	8	1			
B	3.500	8	3			
C	1.500	8	2			

Figura 2. (Continuación) Programa y salida de SAS para análisis de datos sobre poblaciones de *Cyperus rotundus* en fresas.

Los tratamientos que recibieron los herbicidas 3 y 4 tuvieron los mayores rendimientos, seguidos por los herbicidas 2, 5 y 6. Sin embargo, los resultados del ANAVA para los conteos de malezas gramíneas no ofrecen mucha información que concuerde con los datos de rendimiento. ¿Cómo se puede explicar que 39,5 gramíneas en promedio sean estadísticamente iguales a 5,1? La respuesta yace en la gran variabilidad inicial que existía en la distribución de las gramíneas en el campo estudiado, que violaba los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, como lo expresan las pruebas de Shapiro-Wilk para normalidad ($p < 0,0001$) y de Bartlett para homogeneidad de varianzas ($p = 0,0023$). Cuando los mismos datos de enmalezamiento fueron sometidos a la prueba de Friedman, los resultados indicaron que los tratamien-

tos con menos malezas gramíneas (tratamientos 3 y 4) fueron los de mayor rendimiento.

Análisis de datos en las pruebas no paramétricas

El análisis de datos con distribución libre puede realizarse con la mayoría de los paquetes estadísticos que contengan rutinas no paramétricas. En los Ejemplos 3 y 4 se presentan programas y sus respectivas salidas para análisis de tablas de contingencia (χ^2) y para la prueba de Friedman. Ambos fueron ejecutados con el programa Statistical Analysis System (SAS Institute 1999).

Ejemplo 3

Se realizaron muestreos de incidencia del tizón tardío del tomate (*Phytophthora infestans*) en tres zonas de producción de Florida (Bradenton, Immokalee y

Gainesville), donde se siembra la misma variedad del cultivo. En cada zona se eligieron 1000 plantas al azar y se determinó la presencia o ausencia de síntomas. Se desea determinar si existe una dependencia entre la presencia de la enfermedad y la zona de siembra.

En este caso, el valor p de χ^2 fue 0,0209, lo que indica que se debe rechazar la hipótesis nula al 5% de significancia. Esto indica que la incidencia de tizón tardío no es independiente de la zona de siembra, por lo tanto la incidencia de la enfermedad depende de la localidad en que se siembre tomate.

Ejemplo 4

En un estudio de campo se probaron tres herbicidas preemergentes para el control de coquillo (*Cyperus rotundus*) en fresas. El estudio se condujo en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. A las seis semanas de la aplicación, se contaron las densidades de la maleza en cada una de las unidades experimentales. Se desea saber cuál herbicida fue más efectivo controlando la maleza.

Los datos analizados conducen al rechazo de la H_0 ($p < 0,001$). Por consiguiente, existen diferencias

en la eficacia de los herbicidas para el control de coquillo. La prueba de separación de medias indica que las mayores densidades de coquillo ocurrieron con el herbicida 1, seguido por el 3 y luego el 2.

Los procedimientos estadísticos no paramétricos descritos buscan ayudar en la planificación, conducción e interpretación de experimentos. En todo caso, se debe tener precaución en cuanto al uso apropiado de éstos y consultar a un especialista en estadística si existen dudas sobre el uso de éstos análisis.

Literatura citada

- Berenson, ML; Levene, DM. 1992. Basic business statistics: Concepts and applications. 5 ed. Estados Unidos, Prentice-Hall. 953 p.
- Gilreath, JP; Santos, BM; Motis, TN. 2003. Herbicide and mulch evaluations for weed management in west central Florida strawberries. Proc. Fla. State Hort. Soc. 116:159-160.
- Ott, L; Longnecker, MT; Ott, RL. 2000. An introduction to statistical methods and data analysis. 5 ed. Estados Unidos, Brooks-Cole Publ. 1184 p.
- SAS Institute. 1999. SAS/STAT user's guide. Software release 8. Estados Unidos, SAS Institute. 668 p.
- Triola, MF. 1992. Elementary statistics. 5 ed. Estados Unidos, Addison-Wesley Publ. 730 p.