Come raccogliere ed utilizzare i dati sperimentali

Daniele Moro

Facoltà di Scienze agrarie, alimentari e ambientali

La preparazione della tesi di Laurea Magistrale

- ma questa ‘statistica’ a che cosa serve?

- non vedo l’ora di cominciare a lavorare per la tesi….

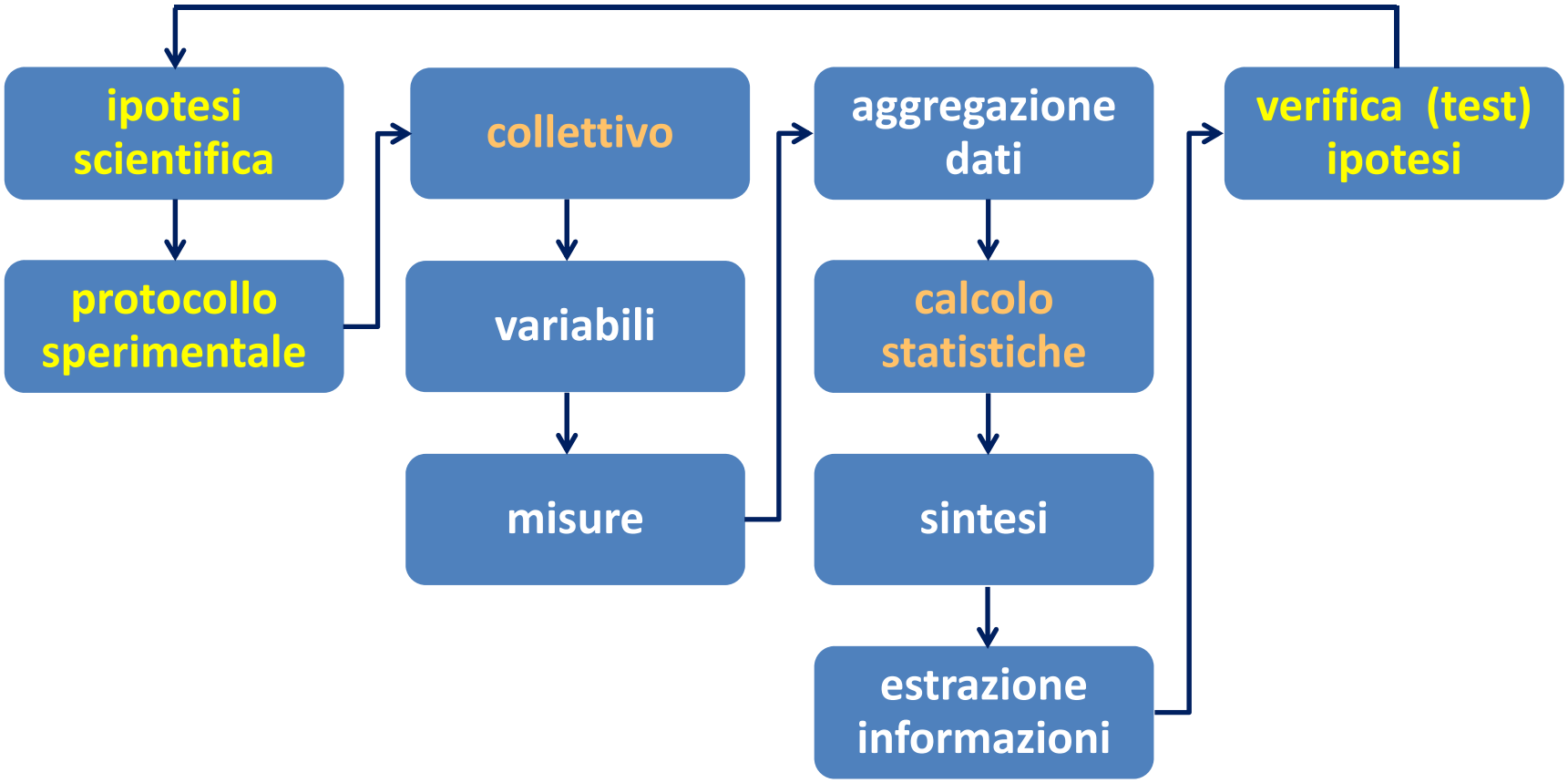
  e dimenticarmi la statistica!!

il mio relatore mi ha proposto questo argomento di tesi

- il *Solanum nigrum* è un'infestante del pomodoro
- vi sono due erbicidi (*Metribuzin* e *Rimsulfuron*), ma poco efficaci
- lo studio del meccanismo di azione dei due erbicidi gli fa pensare che una miscela dei due potrebbe dare un effetto sinergico e dunque essere più efficace
- devo 'confermare' questa ipotesi

e adesso?

lo schema logico della metodologia sperimentale



Fonte: A. Onofri

- osservazione della realtà
- raccolta di informazioni (indagine bibliografica)
- formulazione di un'ipotesi
- pianificazione ed esecuzione di un *esperimento* scientifico *riproducibile*
- *analisi dei dati raccolti*: misurazione e interpretazione del dato sperimentale

cos'è un *esperimento*?

processo investigativo con il quale, sulla base di un protocollo adeguato, si realizzano determinate circostanze che consentono di avere le informazioni necessarie per la verifica empirica

un esperimento viene organizzato a priori dal ricercatore: le modalità di organizzazione dell'esperimento costituiscono il *disegno sperimentale*

in genere le circostanze vengono realizzate dal ricercatore, imponendo condizioni (*trattamenti*) differenti su soggetti/individui selezionati, il più uniformi possibili in partenza

i trattamenti spesso sono confrontati con un trattamento di riferimento o *controllo* (nessun trattamento, placebo, pratica usuale)

esempio

- lo studio del meccanismo di azione dei due erbicidi fa pensare che una miscela dei due potrebbe dare un effetto sinergico e dunque essere più efficace (*ipotesi scientifica*)
- pianificare un esperimento (*disegno sperimentale*)
- completamente randomizzato (attribuzione casuale dei trattamenti)

  trattamenti (Me, Ri, Me+Ri-MR) più un controllo non trattato (NT)

Fonte: A. Onofri

esistono regole nel disegno sperimentale

la *randomizzazione?*

quante storie, e che sarà mai……

che cosa potrà mai cambiare……

un esercizio di simulazione

consideriamo tre trattamenti, *uguali* tra loro, A-B-C, con repliche realizzate su tre differenti substrati, uno dei quali (substrato 1) *incida in maniera significativa* sul risultato dell'esperimento (valori della variabile risposta)

A	B	C
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		
1		

esperimento non randomizzato

A	B	C
1		
1		1
1		1
1		
1	1	
		1
1	1	1
	1	1
	1	

esperimento randomizzato

usiamo la procedura ANOVA ad 1 VIA

$$H_0: \quad \mu_A = \mu_B = \mu_C$$

NB: l'ipotesi nulla è vera (dunque sarebbe *bene che il test ANOVA non la rifiutasse*, altrimenti commetterei un errore del I tipo)

vengono simulati 40 esperimenti

la procedura ANOVA ad 1 VIA viene applicata sui 40 esperimenti simulati (usando sia lo schema della randomizzazione che quello della non randomizzazione)

usiamo la procedura ANOVA ad 1 VIA

i risultati

	α	# errori I tipo
esperimento non randomizzato	0.01	20
	0.05	31
	0.10	33
esperimento randomizzato	0.01	0
	0.05	1
	0.10	2

NB: se sapessimo che abbiamo terreni diversi (blocchi) dovremmo applicare un esperimento a blocchi randomizzati e una ANOVA a 2 VIE

Me	Ri	M+R	NT
NT	NT	Me	M+R
Ri	Me	M+R	NT
M+R	Ri	Me	Ri

attribuzione casuale dei trattamenti alle parcelle

come misuriamo l'effetto dei trattamenti?

dopo un certo periodo dal trattamento, su ogni parcella si preleva la vegetazione infestante, per unità di superficie, si secca la biomassa, e si pesa (g/m^2) ⟶ i DATI ottenuti dall'esperimento

attenzione: le '*confounding variables*':

controllare tutti gli altri possibili fattori di incidenza

una volta ottenuto il risultato dell'esperimento, cioè i dati?

	1	2	3	4
NT	24.62	30.94	24.02	27.51
Me	15.20	4.38	10.32	6.80
MR	6.14	1.95	7.27	5.15
Ri	10.50	20.70	20.74	15.50

organizzazione e descrizione dei dati

quale analisi statistiche effettuare e come presentare i risultati

l'analisi statistica deve essere funzionale agli obiettivi della ricerca e presentata in modo chiaro e sintetico

quali strumenti posso usare per l'organizzazione

dei dati e l'analisi descrittiva e grafica

- **Excel** (foglio elettronico)
- **SPSS** (Statistical Package for Social Science)
- **R** (the R Project for Statistical Computing)
- **SAS** (Statistical Analysis System)
- **Stata**
- ……

che cosa possiamo quindi fare con un software statistico?

- pulizia dei dati: controllare errori di inserimento dei dati, presenza di dati mancanti, ricerca di *outlier* mediante l'analisi delle frequenze, …
- trasformazione dei dati: ottenere nuove variabili effettuando operazioni o trasformazioni sulle variabili pre-esistenti
- rappresentazione dei dati: costruire grafici o tabelle
- calcolo delle statistiche descrittive: calcolare le statistiche descrittive quali: media, varianza, deviazione standard, mediana, moda...
- verifica delle assunzioni: se i dati si distribuiscano normalmente, se le distribuzioni siano simmetriche, se esista omoschedasticità , …
- verifica delle ipotesi di lavoro

1. analisi descrittiva

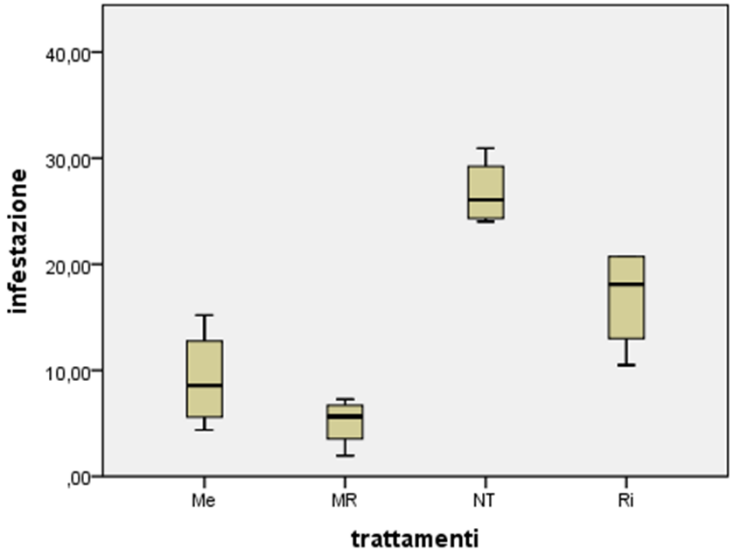


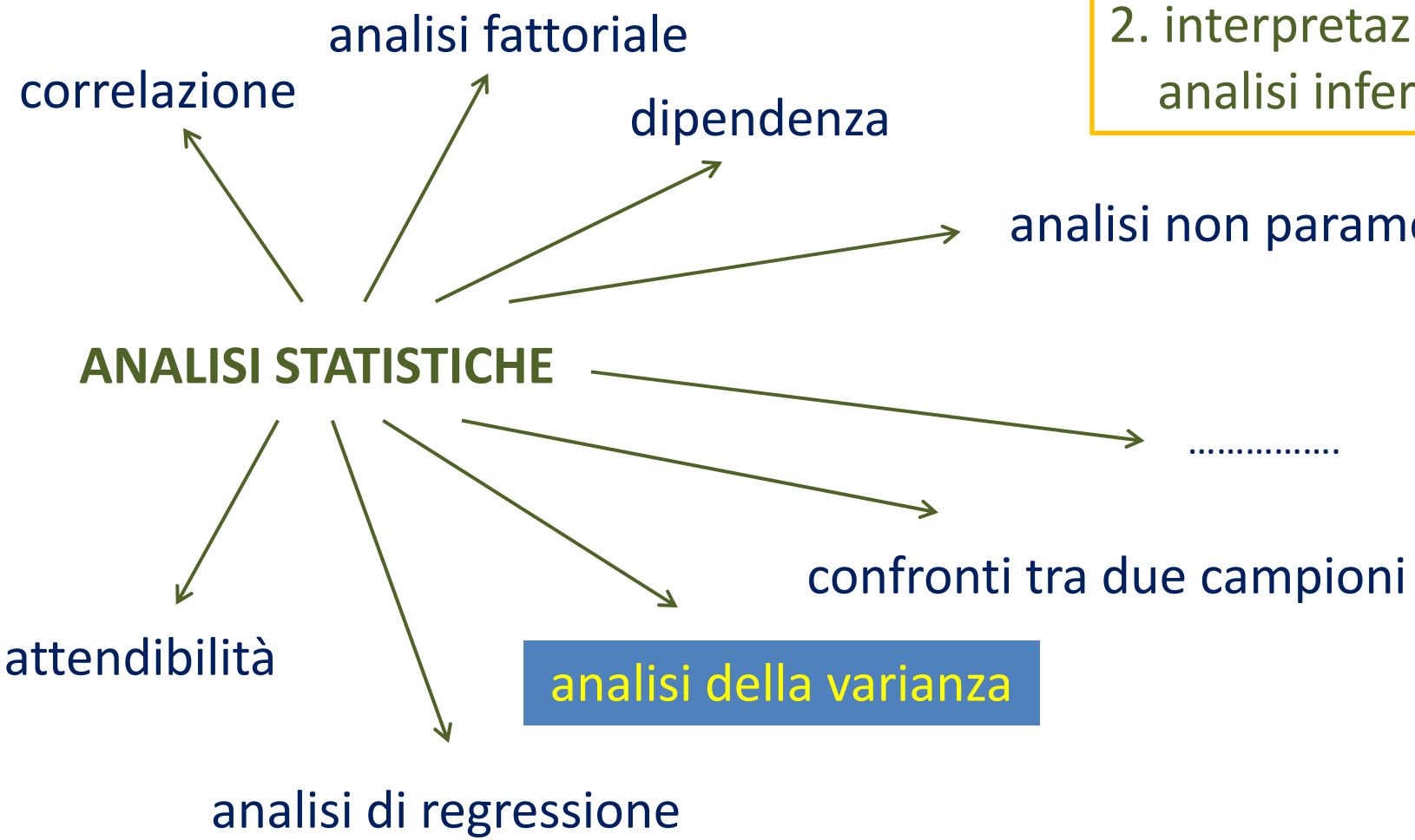
grafico 'a scatole' – box-plot (SPSS)

	n	Media	Deviazione standard
NT	4	**26.77**	**3.17**
Me	4	**9.18**	**4.70**
MR	4	**5.13**	**2.29**
Ri	4	**16.86**	**4.90**
Totale	16	**14.48**	9.21

statistiche descrittive (Excel)

sembra che i trattamenti siano diversi

2. interpretazione e analisi inferenziale



una breve parentesi

la scelta dell'analisi statistica corretta

ad esempio
è stato realizzato un intervento per la pulizia delle acque di un fiume; per valutarne l'efficacia si sono prese sei località sul fiume e misurata la domanda biologica di ossigeno in tre occasioni: prima dell'intervento, dopo un mese dall'intervento, dopo un anno dall'intervento

	1	2	3	4	5	6
prima	17.4	15.7	12.9	9.8	13.4	19.6
1 mese	13.6	10.1	10.3	9.2	11.1	20.4
1 anno	13.2	9.8	9.7	9.0	10.7	19.6

ci viene suggerito di usare un test non-parametrico

test di Kruskal-Wallis (1 VIA)

test di Friedman (2 VIE) **(ok)**

una breve parentesi

la scelta dell'analisi statistica corretta

ranghi per F_R							
	1	2	3	4	5	6	somme
prima	3	3	3	3	3	1.5	16.5
1 mese	2	2	2	2	2	3	13.0
1 anno	1	1	1	1	1	1.5	6.5

ranghi pr KW							
	1	2	3	4	5	6	somme
prima	4	5	10	16	13	2.5	50.5
1 mese	6	8	11	17	14	1	57.0
1 anno	7	9	12	18	15	2.5	63.5

F_R	8.583
H	0.494

chiquad	5.991

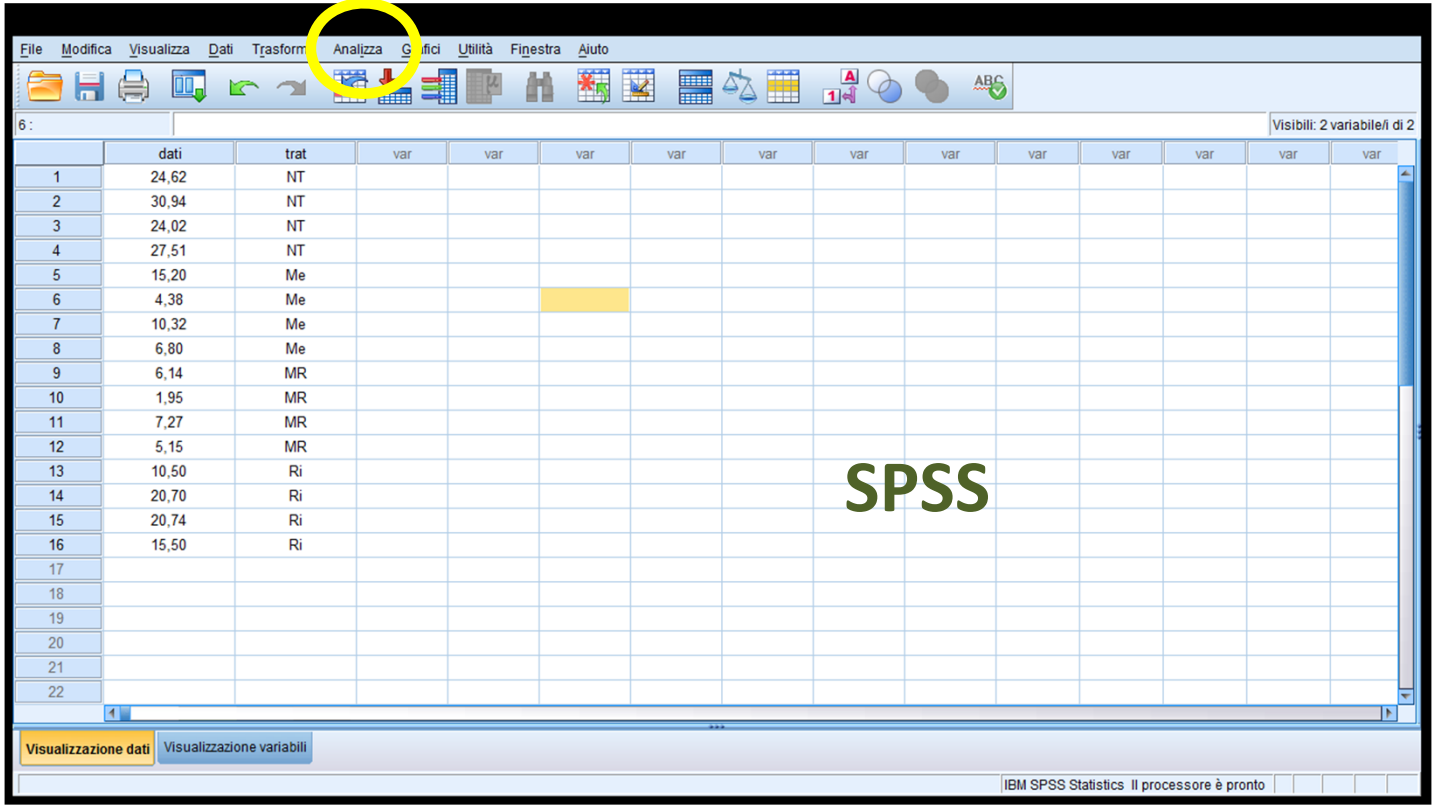
intervento efficace

intervento non efficace

quali strumenti usare per l'analisi statistica dei dati?

- **Excel** (foglio elettronico)
- **SPSS** (Statistical Package for Social Science)
- **R** (the R Project for Statistical Computing)
- **SAS** (Statistical Analysis System)
- **Stata**
- ……

i software lavorano per noi ma siamo sempre noi a scegliere la strada!

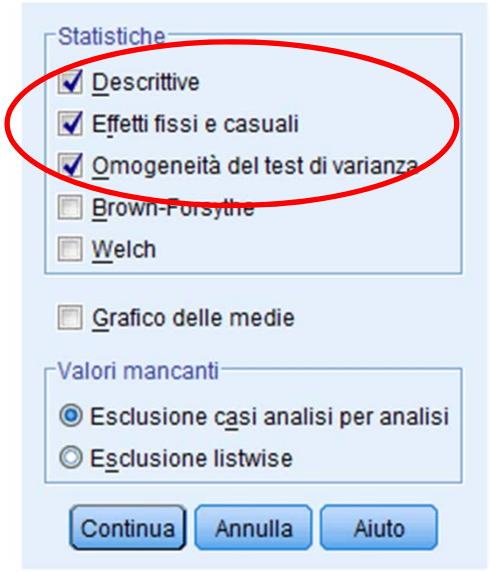


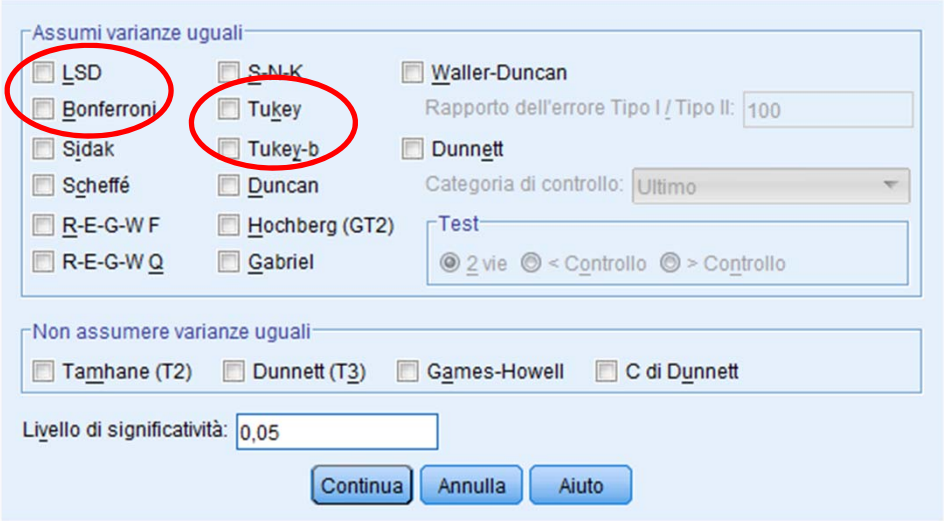
ogni software ha il suo ‘linguaggio’

importante: la possibilità di trasferire dati da un pacchetto all’altro

3. 'validazione' dell'ipotesi di lavoro e presentazione dei risultati

- scegliere la procedura
- verificare le assunzioni
- valutare le opzioni





Descrittivi

dati

		n	Media	Deviazione std.	Errore std.	Intervallo di confidenza 95% per la media		Minimo	Massimo	Varianza tra componenti
						Limite inferiore	Limite superiore			
1 -NT		4	**26.773**	3.169	1.584	21.730	31.815	24.020	30.940	
2- Me		4	**9.175**	4.699	2.350	1.698	16.652	4.380	15.200	
3 - MR		4	**5.128**	2.289	1.144	1.486	8.769	1.950	7.270	
4 - Ri		4	**16.860**	4.902	2.451	9.059	24.661	10.500	20.740	
Totale		16	**14.484**	9.215	2.304	9.573	19.394	1.950	30.940	
Modello	**Effetti fissi**			3.918	0.979	12.350	16.618			
	Effetti casuali				4.764	-0.678	29.646			86.957

Test di omogeneità delle varianze (H_0)

dati

Statistica di Levene	df1	df2	Sig.
1.356	3	12	**.303**

ANOVA univariata

	Somma dei quadrati	gdl	Media dei quadrati	**F**	**p-value**
Fra gruppi	1089.529	3	363.176	**23.663**	**.000**
Entro gruppi	184.177	12	15.348		
Totale	1273.706	15			

- esiste una differenza tra i trattamenti

…ma…abbiamo risposto alla ‘domanda di ricerca’?

- la combinazione MR è migliore delle altre?

sembra che MR sia migliore di Ri (e NT),

ma non di Me

Confronti multipli

HSD di Tukey

(I) tratt		Differenza fra medie (I-J)	Errore std.	p-value	Intervallo di	
					Limite inferiore	Limite superiore
1 - NT	2	17.598	2.770	0.000	9.373	25.822
	3	21.645	2.770	0.000	13.421	29.869
	4	9.913	2.770	0.017	1.688	18.137
2 - Me	1	-17.598	2.770	0.000	-25.822	-9.373
	3	4.048	2.770	0.488	-4.177	12.272
	4	-7.685	2.770	0.070	-15.909	0.539
3 - MR	1	-21.645	2.770	**0.000**	-29.869	-13.421
	2	-4.048	2.770	**0.488**	-12.272	4.177
	4	-11.733	2.770	**0.006**	-19.957	-3.508
4 - Ri	1	-9.913	2.770	0.017	-18.137	-1.688
	2	7.685	2.770	0.070	-0.539	15.909
	3	11.733	2.770	0.006	3.508	19.957

*. La differenza media è significativa al livello 0.05

sembra che MR sia migliore di Ri (e NT), ma non di Me

non possiamo dire che la combinazione sinergica *Metribuzin* e *Rimsulfuron* produca effetti migliori del solo *Metribuzin*

HSD di Tukey[a]

tratt	N	Sottoinsieme per alfa = 0.05		
		1	2	3
3 - MR	4	5.128		
2 - Me	4	9.175	9.175	
4 - Ri	4		16.860	
1 - NT	4			26.773
Sig.		0.488	0.070	1.000

attenzione

i risultati delle procedure inferenziali della statistica sono di carattere probabilistico

…. e dipendono anche dalle condizioni dell'esperimento

…. cercare di essere sempre 'critici' sulla validità e sul significato dei propri risultati

…. e sul perché

…quali sono i limiti della nostra analisi? che cosa avremmo potuto fare di meglio?

pensarci in anticipo

ad esempio:
tenendo le *stesse differenze tra le medie* dei campioni ma effettuando un esperimento con dodici replicazioni……

HSD di Tukey

tratt	N	Sottoinsieme per alfa = 0.05			
		1	2	3	4
3 - MR	12	**5.128**			
2 - Me	12		9.175		
4 - Ri	12			16.860	
1 - NT	12				26.773
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

l'effetto sinergico risulterebbe significativo!

4. presentazione dei risultati e discussione della tesi

descrivere il disegno sperimentale e le modalità di conduzione dell'esperimento

presentare in maniera sintetica i dati sperimentali

descrivere e motivare qualsiasi trasformazione o pulizia dei dati

non 'piegare' i dati ai propri desideri

descrivere le metodologie statistiche usate nell'analisi e il significato dei test condotti

presentare i risultati e la loro interpretazione

non forzare l'interpretazione dei risultati

riportare la parte essenziale della propria analisi statistica in sede di discussione finale di tesi

ANOVA univariata

	Somma dei quadrati	df	Media dei quadrati	F	Sig.
Fra gruppi	1089.529	3	363.176	**23.663**	**.000**
Entro gruppi	184.177	12	15.348		
Totale	1273.706	15			

Confronti multipli

HSD di Tukey

(I) tratt		Differenza fra medie (I-J)	Errore std.	Sig.	Intervallo di	
					Limite inferiore	Limite superiore
1 - NT	2	17.598	2.770	0.000	9.373	25.822
	3	21.645	2.770	0.000	13.421	29.869
	4	9.913	2.770	0.017	1.688	18.137
2 - Me	1	-17.598	2.770	0.000	-25.822	-9.373
	3	4.048	2.770	0.488	-4.177	12.272
	4	-7.685	2.770	0.070	-15.909	0.539
3 - MR	1	-21.645	2.770	**0.000**	-29.869	-13.421
	2	-4.048	2.770	**0.488**	-12.272	4.177
	4	-11.733	2.770	**0.006**	-19.957	-3.508
4 - Ri	1	-9.913	2.770	0.017	-18.137	-1.688
	2	7.685	2.770	0.070	-0.539	15.909
	3	11.733	2.770	0.006	3.508	19.957

*. La differenza media è significativa al livello 0.05