

Informe del análisis estadístico

TFG: Objetivo 1

Alberto Coll Fernández

17/01/2024

Introducción y estructura de los datos

Todo el análisis estadístico lo he realizado utilizando R 4.2.2 y RStudio 2023.12.0. Para esta primera parte de los datos de mi TFG, he comparado las ortiguillas procedentes del medio natural con aquellas ortiguillas que permanecieron en cultivo sin ser manipuladas para estimular su reproducción asexual, y que fueron muestreadas al final del experimento (sin cortar, supuestamente maduras sexualmente). Para este análisis además he tenido en cuenta la variable playa de origen, que en algunas ocasiones ha arrojado diferencias significativas.

La pregunta principal del análisis es comprobar cómo responden las anémonas a su mantenimiento en cultivo, y si hay diferencias entre esta respuesta para las distintas playas. Para ello, se midieron distintas enzimas involucradas en sistemas antioxidantes del animal (**SOD**, **CAT**, **GPx**, **GR**, **GST**, **DTD** y **G6PDH**), además de su capacidad antioxidante total (**TEAC**), su concentración de **proteína**, y su concentración de malondialdehído (**MDA**). Estas variables se midieron por duplicado, tanto en los tentáculos del animal como en su tronco o pie, por lo que en total hacen 20 variables de interés. Sin embargo, los datos relativos a la variable GPx tanto en pie como en tentáculo eran insuficientes para ejecutar el análisis, por lo que fueron excluidos.

Metodología y elección del modelo

Para examinar esta pregunta de investigación, he comprobado que las variables respuesta siguen una distribución aproximadamente normal, y he transformado logarítmicamente las variables que no cumplían este requisito.

Una vez hecho esto, he utilizado un anova de dos vías para comparar las medias entre los dos grupos y playas, teniendo en cuenta la interacción entre ambos factores dentro del modelo. Debido a que el tamaño de muestra era desigual entre los grupos salvaje y cultivado, he utilizado un anova con suma de cuadrados tipo III. Cuando he encontrado diferencias significativas asociadas a la variable playa, he utilizado el test de Tukey como test post-hoc para evaluar dichas diferencias. En la variable **MDA** medida en pie, se dio el caso de que el contraste ANOVA detectó diferencias significativas entre playas, pero el test de Tukey no, por lo que opté por usar el test LSD de Fisher (Least Significance Difference), que es algo menos conservador a la hora de detectar diferencias.

Una vez ajustados los modelos estadísticos, evalué las asunciones de normalidad de los residuos y homocedasticidad mediante aplicación del test de Shapiro-Wilks y test de Levene, respectivamente. Las variables que requirieron una transformación logarítmica fueron la **GR** y **GST**.

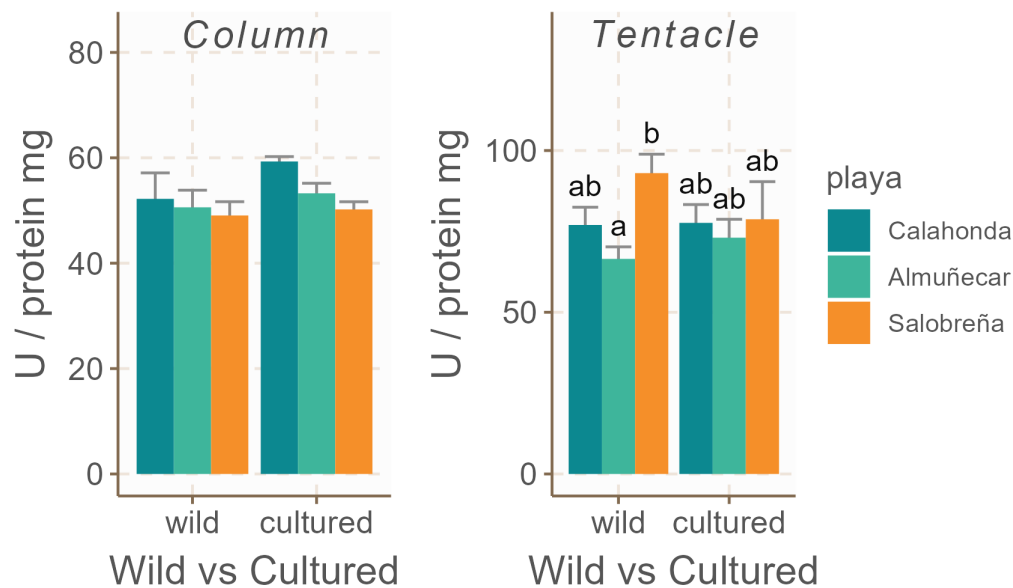
Finalmente, he expuesto los resultados del análisis en gráficas de barras. Las diferencias significativas entre grupos de cultivo las he anotado como una barra con el nivel de significación estadística, mientras que las

diferencias significativas entre playas y efectos de interacción las he anotado con notación de letras obtenidas por test de Tukey o Fisher, siempre comparando todos los individuos conjuntamente para cada tejido.

He decidido, por el momento, no mostrar las observaciones individuales sobre la grafica de barras, pero lo puedo hacer fácilmente. Este tipo de aspectos de diseño, junto con los colores de cada grupo experimental, grosor y aspecto de los ejes y otros elementos de la gráfica, los puedo cambiar fácilmente de cara al borrador final. Cuando los necesites, sólo dime cómo los quieres y en qué tamaño o dimensiones y te puedo exportar los archivos directamente.

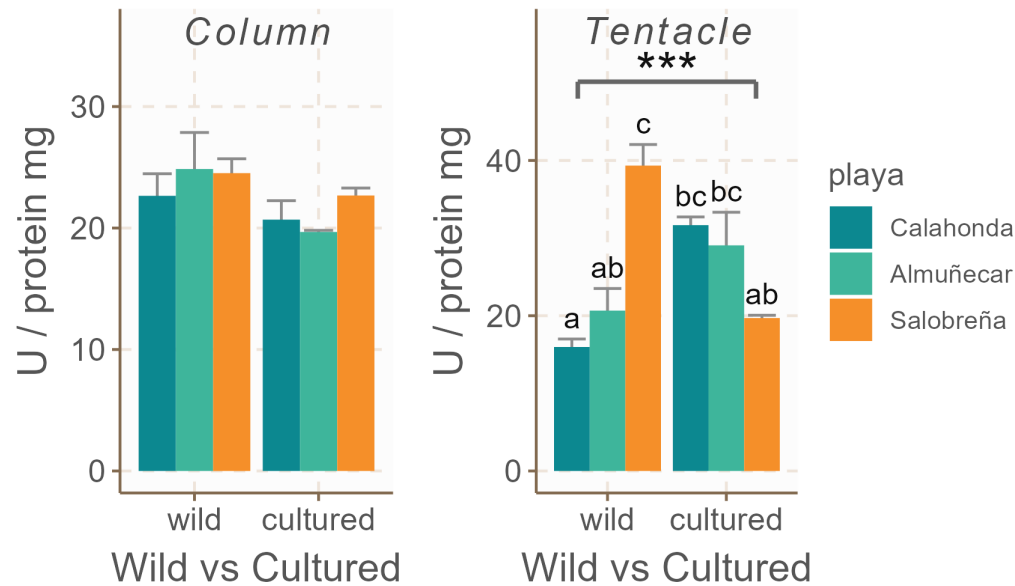
Resultados

Superóxido dismutasa (SOD)



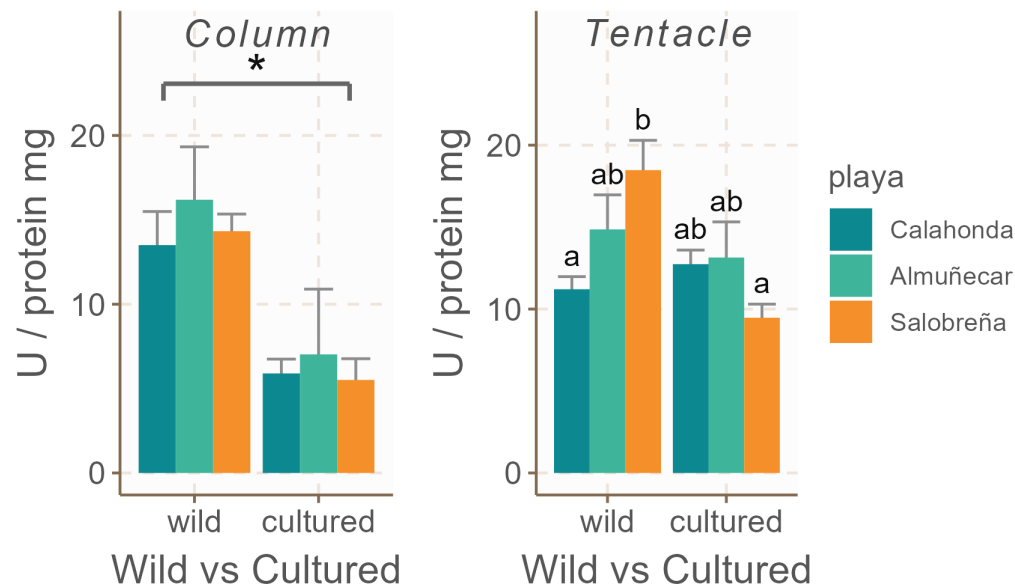
La **SOD** en el pie del animal no presenta diferencias algunas ni asociadas al cultivo ni al punto de origen del animal. En el tentaculo si que encontramos diferencias asociadas al punto de origen ($p = 0.01133$), aunque no al hecho de haber estado en cultivo. Podemos ver como las anemonas de Salobreña tienen valores de actividad SOD mayores que las de Almuñécar. Este perfil es idéntico en los animales salvajes y cultivados, lo que denota que no hay interacción ninguna entre las variables.

Catalasa (CAT)



De nuevo, no aparecen diferencias en la actividad catalasa en el pie. En el tentáculo, aparecen diferencias asociadas al cultivo ($p = 0.0006121$), al punto de origen ($p = 3.268e-06$) y un efecto significativo de la interacción ($p = 2.778e-05$). Se aprecia claramente como los animales de Salobreña siguen una tendencia diferente según sean salvajes o no.

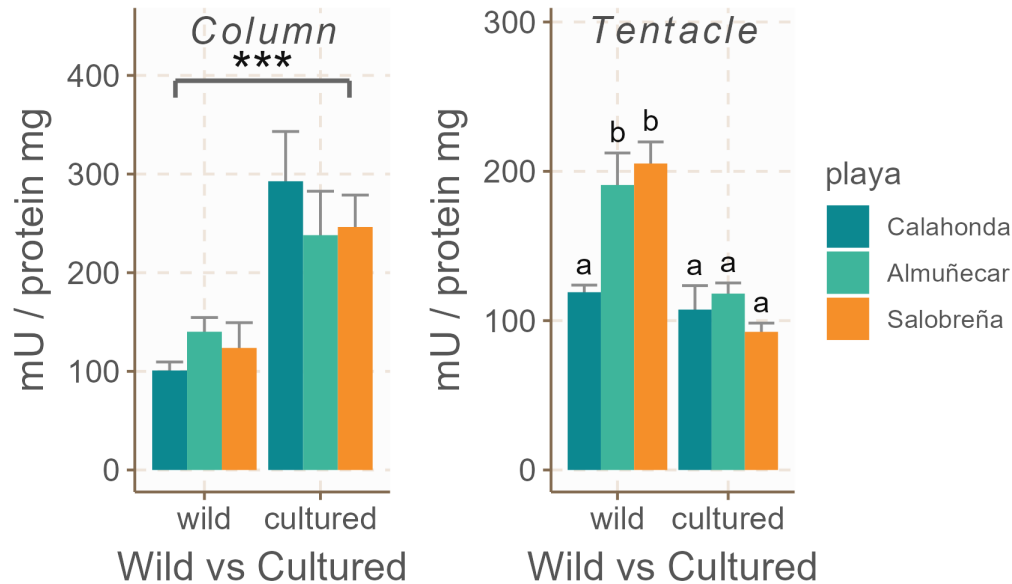
Glutación reductasa (GR)



En el pie, aparece una clara y significativa diferencia asociada al cultivo ($p = 0.01609$), de modo que las anémonas cultivadas ven reducida su actividad enzimática. En tentáculo, hubo un efecto de la playa ($p = 0.009426$), y un efecto de interacción entre ambas variables ($p = 0.00902$). De nuevo las anémonas de

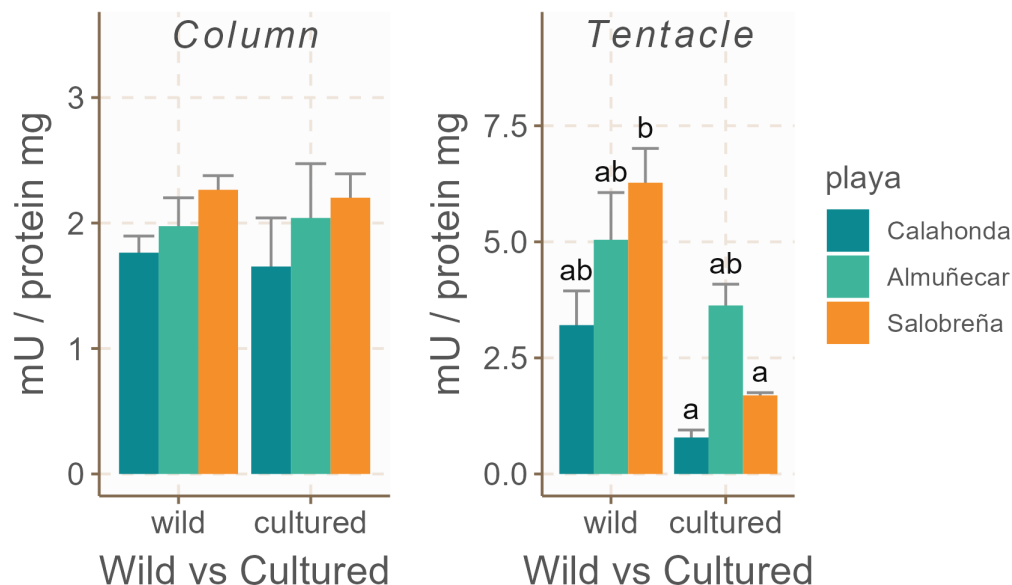
Salobreña parecen ser las responsables de este efecto de interacción. En este caso no hay diferencias globales entre salvajes y cultivadas

Glutación S-transferasa (GST)



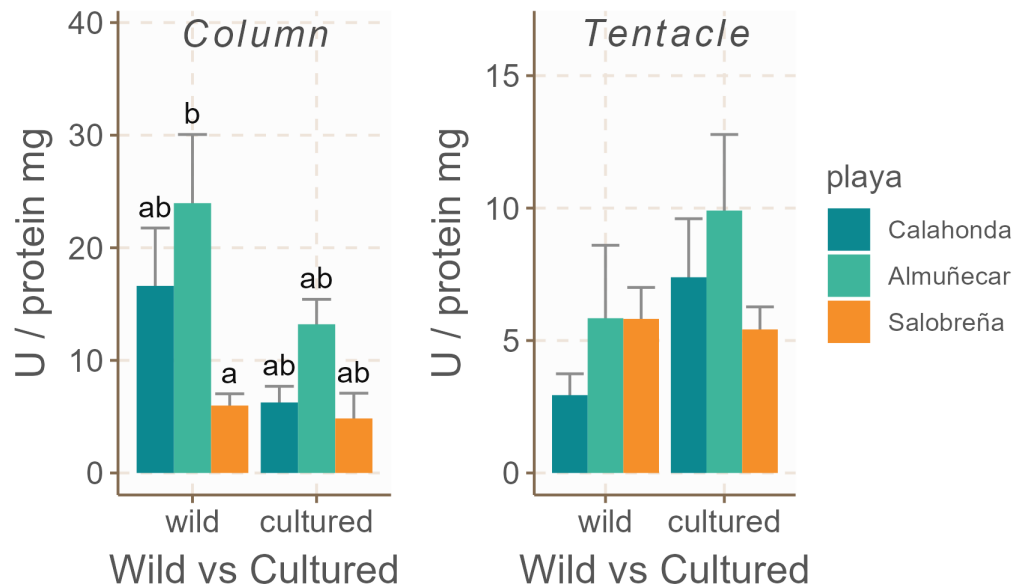
En el caso de esta enzima, en el pie se detecta un efecto muy significativo del cultivo ($p = 9.803e-05$) sobre su actividad: los individuos salvajes tienen menor actividad que los cultivados. En tentáculo se detectan diferencias entre playas ($p = 0.0001915$) y un efecto significativo de interacción ($p = 0.0044718$), muy posiblemente debido a que Calahonda tiene valores sensiblemente más bajos al resto de playas entre los individuos salvajes.

DT-Diaforasa (DTD)



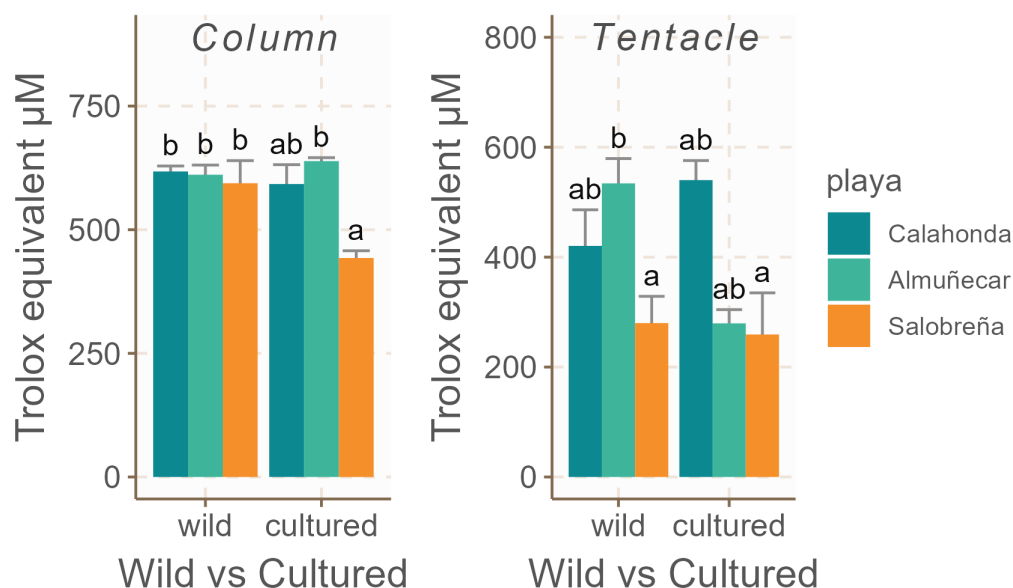
La actividad **DTD** permanece inmutable en pie, mientras que en tentáculo aparecen diferencias globalmente entre playas ($p = 0.0248526$). El efecto del cultivo resultó marginalmente significativo ($p = 0.0892187$), lo que es indicativo de cierta ambigüedad en el resultado de este contraste. Es posible que con un mayor tamaño de muestra o simplemente una muestra diferente, el resultado fuera distinto. Sin embargo, habiendo fijado a priori un nivel de significación de 0.05, no se puede rechazar H_0 .

Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH)



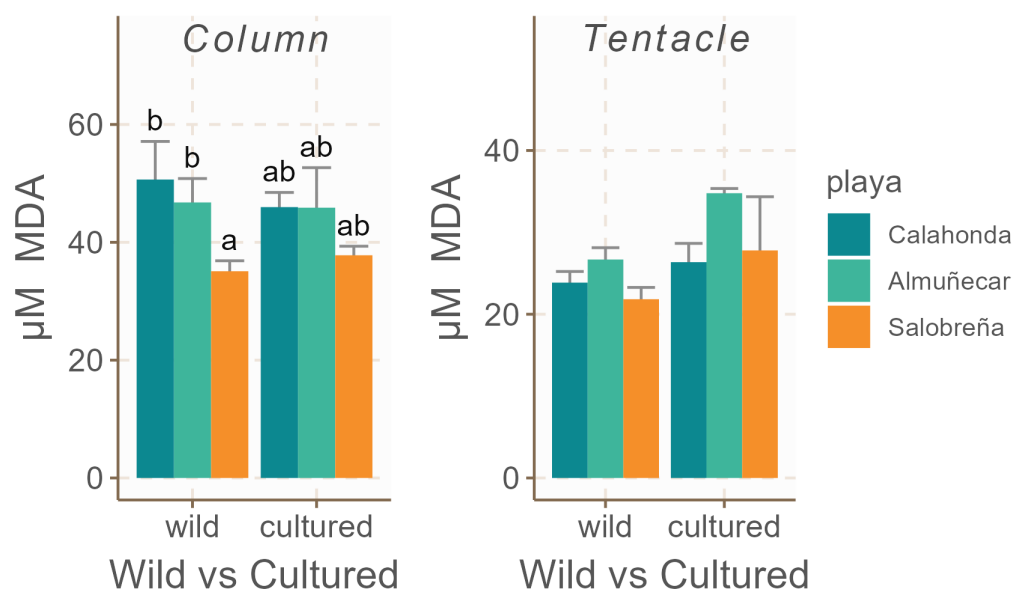
En la **G6PDH** pedia, tenemos un efecto significativo de la playa ($p = 0.014712$), pero no del cultivo ni de la interacción entre ambos. En tentáculo sólo aparece un efecto marginalmente significativo ($p = 0.09127$) del cultivo.

Capacidad antioxidante total (TEAC)



Los niveles de **TEAC** en pie no varían significativamente entre playas, pero aparece interacción con la variable cultivo ($p = 0.02525$), muy probablemente debida a la diferente tendencia de los individuos procedentes de Salobreña. Globalmente, no aparecen tampoco diferencias entre las anémonas cultivadas y salvajes. En tentáculo encontramos una diferencia significativa entre playas ($p = 0.01116$), y un efecto algo significativo de interacción ($p = 0.03849$), aunque en las gráficas no se aprecia mucho. Tampoco hay efecto del cultivo sobre los niveles de **TEAC** en tentáculo.

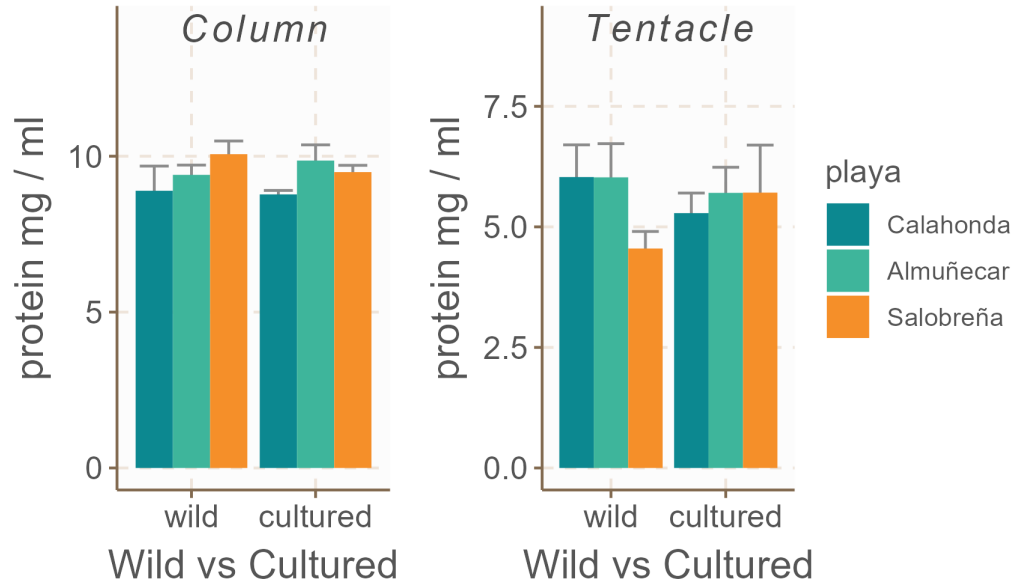
Malondialdéhido (MDA)



Los niveles de **MDA** en pie varían significativamente entre individuos procedentes de distintas playas ($p = 0.03815$), con Salobreña presentando una acusada tendencia a menor concentración de MDA. Esta tendencia

es consistente entre salvajes y cultivadas, es decir, no hay interacción. En cambio, en el tentáculo, no aparecen diferencias asociadas a ninguna de las dos variables ni a su interacción.

Proteína soluble



En el caso de la proteína soluble, no aparece ninguna diferencia significativa asociada al cultivo ni a la playa de origen.

Conclusiones

- En cuanto al efecto del cultivo, las anémonas cultivadas presentaron menores niveles de actividad **GR** (pie) y **GST** (pie) respecto a las salvajes. Hay indicios también de un descenso en la actividad **DTD**, aunque no hay suficiente evidencia estadística de ello con los datos que tenemos. Estos cambios en actividades enzimáticas no se ven acompañados por ninguna alteración significativa en la concentración de **MDA**.
- En cuanto a la playa de origen, fue un factor relevante en todas las enzimas, aunque no en todos los tejidos ni con un sentido de los cambios consistente. El **TEAC** en tentáculo y el **MDA** en pie también presentan diferencias notables entre playas.
- En cuanto a la interacción entre ambas variables, fue un factor relevante en las variables **CAT** (tentáculo), **GR** (tentáculo), **GST** (tentáculo) y **TEAC** (pie y tentáculo). Esto quiere decir que las anémonas de algunas playas respondieron de forma diferente al cultivo para estas variables. Generalmente estas diferencias involucraron a los organismos procedentes de Salobreña (en **CAT**, **GR** y **TEAC** pedio), pero no se cumple en todos los casos.