

UMA PROPOSTA DE ANÁLISE EM ENSAIOS DE DEGRADABILIDADE RUMINAL *IN SITU* UTILIZANDO MODELOS NÃO LINEARES MISTOS

Simone Daniela Sartorio¹, César Gonçalves de Lima²,
Euclides Braga Malheiros³, José Valmir Feitosa⁴,

Resumo: Modelos não lineares são amplamente utilizados em estudos que buscam estimar os parâmetros da cinética de degradação ruminal, através de métodos clássicos de análise univariada. Como esse tipo de ensaios envolve medidas repetidas, propomos o uso de modelos não lineares mistos que permitem que a função de regressão não linear dependa de efeitos fixos e aleatórios, o que pode resolver os problemas de correlação entre as medidas repetidas e heterogeneidade de variâncias das respostas. Neste trabalho, utilizou-se o modelo não linear de Orskov e McDonald (1979) para explicar a cinética de degradação ruminal *in situ* do feno de capim-Tifton, em novilhos alimentados com rações compostas por três diferentes combinações de volumoso:concentrado, tendo como volumoso dois fenos de capim-Tifton 85 de diferentes qualidades. O modelo final incluiu efeitos aleatórios nos parâmetros b e c e mostrou que os tratamentos com 70 ou 50% de volumoso apresentaram a mesma cinética de degradação, que por sua vez, diferiram do tratamento com 30 de volumoso. A qualidade do capim não influenciou a resposta. Para os tratamentos considerados neste estudo, apenas duas curvas foram necessárias para descrever o comportamento da degradabilidade da matéria seca ao longo do tempo. A menor proporção de concentrado proporcionou uma DE maior do capim-Tifton com 10% de proteína bruta, em relação às outras proporções consideradas. Já a DP de ambos os tratamentos apresentaram os mesmos valores, que foram condizentes aos obtidos na literatura.

Palavras-chave: Capim Tifton 85, Ensaio *in situ*, Variabilidade, Efeito aleatório.

1 Introdução

A principal fonte de proteína na nutrição de ruminantes é a proteína de origem microbiana, sintetizada no processo fermentativo de degradação ruminal. O conhecimento do processo de degradação dos alimentos pelos microrganismos do rúmen é importante em estudos de avaliação de alimentos para ruminantes. Os modelos não lineares são amplamente utilizados em estudos que buscam estimar os parâmetros da cinética de degradação ruminal *in situ* e para isso os métodos clássicos de análise univariada são bastante utilizados. Contudo, como esses estudos envolvem dados longitudinais, que são obtidos de modo sistemático na mesma unidade experimental, espera-se que exista correlação não nula entre as sucessivas medidas e heterogeneidade das variâncias nas diversas ocasiões. Uma abordagem para análise de dados longitudinais que apresentam essas características envolve os modelos não lineares mistos, que ainda são pouco empregados na descrição de ensaios de degradabilidade ruminal [3].

¹DMC/ICE-Universidade Federal de Itajubá, sisartorio@yahoo.com.br

²ZAB/FZEA-Universidade de São Paulo

³FCAV-Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

⁴Campus do Cariri - Universidade Federal do Ceará

2 Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a aplicabilidade dos modelos mistos não lineares na estimação de parâmetros da cinética de degradação ruminal *in situ* do feno de capim-Tifton 85 com 10% de proteína bruta, em novilhos alimentados com rações compostas por diferentes combinações de volumoso: concentrado.

3 Metodologia

Os dados foram obtidos experimentalmente na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Campus de Jaboticabal, no período de maio de 2001 a dezembro de 2002, por [1]. Foram usados neste estudo os dados relativos à degradabilidade da matéria seca (MS) do feno de capim-Tifton 85 com 10% de proteína bruta, quando os animais eram alimentados por rações experimentais compostas por diferentes combinações de volumoso:concentrado (70:30, 50:50 e 30:70%), tendo como volumosos os fenos de capim-Tifton 85 de diferentes qualidades (4% e 10% de proteína bruta) e como concentrado, casca de soja, milho moído e farelo de girasol. Os seis tratamentos foram identificados como: 70TIF4 (T1), 70TIF10 (T2), 50TIF4 (T3), 50TIF10 (T4), 30TIF4 (T5) e 30TIF10 (T6).

A degradabilidade foi determinada pela técnica *in situ*. Foram utilizados seis novilhos mestiços canulados no rúmen e os tempos de incubação foram de 3, 6, 12, 24, 48, 60, 72, 84, 96 e 120 horas, com duas repetições para cada tempo de incubação. Adotou-se o sistema de colocação dos sacos de náilon nos diferentes tempos de incubação e retirada simultânea de todos os sacos. O experimento foi originalmente delineado em parcelas subdivididas, tendo nas parcelas um quadrado latino (6×6) com seis animais fistulados, 6 períodos e 6 tratamentos, e nas subparcelas, os tempos de incubação ruminal.

Adotou-se o modelo de Orskov e McDonald (1979) para explicar o comportamento da degradabilidade da matéria seca em função dos tempos de incubação e o modelo misto (não linear) proposto por [4], para explicar o comportamento médio das respostas dos diferentes tratamentos, a presença de heterogeneidade de variâncias e de correlação entre as medidas repetidas no mesmo animal ao longo do tempo. Segundo [6], os modelos não lineares de efeitos mistos são uma extensão dos modelos lineares de efeitos mistos, permitindo que a função de regressão não linear dependa de efeitos fixos e aleatórios.

De acordo com [4], assume-se que $y_i = f(X_i, \beta, Z_i, b_i) + \varepsilon_i$, em que y_i representa um vetor ($n_i \times 1$) de respostas da i -ésima unidade experimental; f é uma função não linear; X_i é uma matriz ($n_i \times p$) de especificação dos efeitos fixos (conhecida), no caso, o tempo (t); β é vetor ($p \times 1$) de parâmetros de efeitos fixos; Z_i é uma matriz ($n_i \times q$) de especificação (conhecida) dos efeitos aleatórios; b_i é um vetor ($q \times 1$) de efeitos aleatórios, tal que $b_i \sim N(0, D_i)$ e ε_i é um vetor ($n_i \times 1$) de erros aleatórios em que $\varepsilon_i \sim N(0, R_i)$; sendo $Var(y_i) = Z_i D Z_i^T + R_i$. No presente estudo, a função não linear de [5] para representar a digestibilidade avaliada no instante t_{ij} , no i -ésimo animal, que recebeu o k -ésimo tratamento no j -ésimo período, para $i, j, k = 1, 2, \dots, 6$, é expressa por:

$$f(t_{i,j}, \beta) = \beta_{1k} + \beta_{2k} \{1 - \exp[-\beta_{3k} t_{ij}]\}, \quad (1)$$

em que β_{1k} representa a fração rapidamente solúvel das parcelas que receberam o tratamento k ; β_{2k} é a fração que pode ser degradada se houver tempo das parcelas que receberam o tratamento k e β_{3k} é a taxa de degradação da fração β_{2k} das parcelas que receberam o tratamento k .

O gráfico de intervalos de 95% de confiança para os parâmetros do modelo (1) fornece uma boa ideia sobre a variabilidade das estimativas entre os indivíduos, podendo sugerir em quais parâmetros é conveniente associar um efeito aleatório [6]. Os autores sugerem avaliar, para cada um dos parâmetros, a possível sobreposição dos intervalos: a não sobreposição sugere a inclusão de um efeito aleatório ao respectivo parâmetro. Os componentes de variância foram estimados pelo método da máxima verossimilhança. Na seleção da parte aleatória do modelo utilizou-se o teste da razão de verossimilhanças (TRV) para modelos encaixados e os critérios de

informação de Akaike (AIC) e Bayesiano (BIC) quando os modelos não foram encaixados. Neste caso, o modelo que apresentar o menor valor dessas estatísticas (AIC ou BIC) é considerado o mais adequado [6]. Dentre as estruturas de covariância disponíveis para D, procurou-se uma estrutura parcimoniosa que explique bem o comportamento das variâncias e covariâncias dos dados. A significância dos efeitos fixos foi testada utilizando-se a estatística de Wald. Para o modelo final, foram estimadas curvas médias distintas para cada tratamento e a comparação entre tratamentos fez-se necessária como em [7].

Do modelo (1) derivam outros parâmetros importantes, como a degradabilidade potencial, definida como $DP = \beta_1 + \beta_2$, e a degradabilidade efetiva calculada por $DP = \beta_1 + (\beta_2\beta_3)/(\beta_3 + c)$, em que $c = 5\%$ é a taxa de passagem das partículas no rúmen, caracterizada para animais com médio consumo. Todas as análises foram realizadas utilizando o pacote nlme do software R versão 2.13.

4 Resultados e discussões

Os perfis individuais e os intervalos de 95% de confiança para os parâmetros do modelo de [5], considerando como indivíduos as combinações dos níveis dos fatores animal e período. Por meio destes, sugeriu-se que efeito aleatório seja necessário em todos os parâmetros: 1, 2 e 3 (ou a, b, e c, respectivamente, na notação original). Sete modelos com efeitos aleatórios foram propostos para o início da análise. Variando as estruturas da matriz positiva definida D e considerando as combinações dos efeitos aleatórios, 28 modelos foram obtidos. Dentre eles, os modelos com estrutura pdsymm foram os melhores (Tabela 1).

Tabela 1: Modelos de Orskov e McDonald (1979) sem e com efeitos aleatórios (e.a.); juntamente com as estatísticas AIC e BIC e o logaritmo da verossimilhança ($\log(ver)$)

Mod	Expressão	e.a.	n. p.	AIC	BIC	$\log(ver)$
M0	$y(t) = \beta_{1k} + \beta_{2k}\{1 - \exp(-\beta_{3k}t)\} + \epsilon$	-	19	1900,364	1974,094	*
M1	$y(t) = (\beta_{1k} + b_1) + \beta_{2k}\{1 - \exp(-\beta_{3k}t)\} + \epsilon$	β_1	20	1668,059	1745,332	-814,0296
M2	$y(t) = \beta_{1k} + (\beta_2 + b_2)\{1 - \exp(-\beta_{3k}t)\} + \epsilon$	β_2	20	1664,485	1741,758	-812,2425
M3	$y(t) = \beta_{1k} + \beta_{2k}\{1 - \exp[-(\beta_{3k} + b_3)t]\} + \epsilon$	β_3	20	1655,460	1732,733	-807,7301
M4	$y(t) = (\beta_{1k} + b_1) + (\beta_{2k} + b_2)\{1 - \exp(-\beta_{3k}t)\} + \epsilon$	β_1 e β_2	22	1665,943	1750,942	-810,9713
M5	$y(t) = (\beta_{1k} + b_1) + \beta_{2k}\{1 - \exp[-(\beta_{3k} + b_3)t]\} + \epsilon$	β_1 e β_3	22	1659,632	1744,632	-807,8160
M6	$y(t) = \beta_{1k} + (\beta_{2k} + b_2)\{1 - \exp[-(\beta_{3k} + b_3)t]\} + \epsilon$	β_2 e β_3	22	1646,455	1731,454	-801,2273
M7	$y(t) = (\beta_{1k} + b_1) + (\beta_{2k} + b_2)\{1 - \exp[-(\beta_{3k} + b_3)t]\} + \epsilon$	β_1, β_2 e β_3	24	**	**	**

* Estimação por MQO;

** : o processo iterativo não convergiu;

n.p.: número de parâmetros do modelo

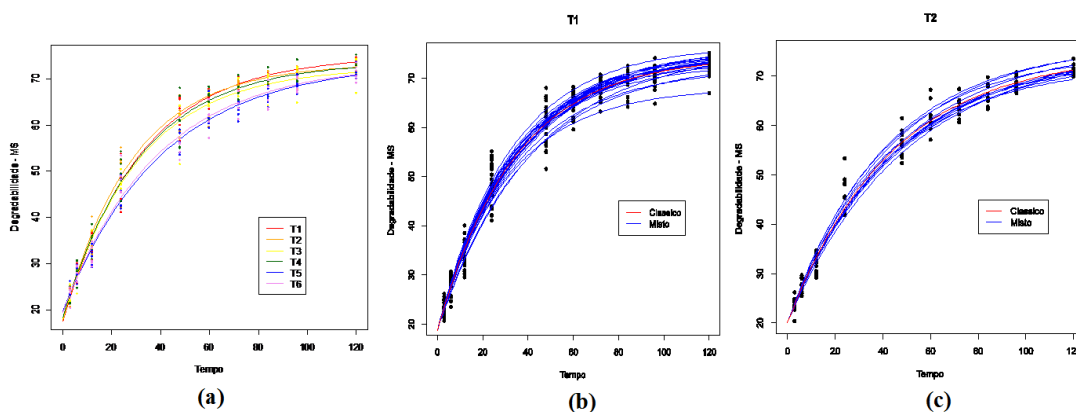


Figura 1: Valores observados e ajuste do modelo: (a) M6, considerando uma curva média para cada combinação Vo:Co e TIF; (b) (III)_ARH, considerando a parte fixa (clássica) e a parte aleatória (misto) para a curva denominada T1 (referente aos níveis 70:30 e 50:50 - 4 e 10%); e (c) (III)_ARH, considerando a parte fixa (clássica) e a parte aleatória (misto) para a curva chamada de T2 (referente aos níveis 30:70 - 4 e 10%).

Os testes da razão de verossimilhança entre modelos encaixados indicaram que o modelo M6, com efeitos aleatórios em β_2 e β_3 , proporcionou melhor ajuste que o modelo com efeitos fixos (M0) e os demais modelos (Tabela 1). Com este modelo ajustou-se uma curva média para cada tratamento (Figura 1(a)).

Avaliando-se o comportamento das seis curvas médias, pode-se notar que as curvas médias dos tratamentos T5 e T6 são muito semelhantes, assim como as curvas dos demais tratamentos. Logo, considerando a estrutura aleatória do modelo M6, foram ajustadas curvas diferentes para os dois grupos de curvas semelhantes. Assim, tanto pelo TRV quanto pelos valores de AIC e BIC, confirmou-se que apenas duas curvas são necessárias para representar os seis tratamentos. Em seguida, foram testadas algumas estruturas para a matriz de variâncias e covariâncias intraindivíduos, R. Utilizando o procedimento de seleção de modelos, foi selecionada uma estrutura autorregressiva de primeira ordem com heterogeneidade de variâncias (ARH). Os tratamentos com 70 ou 50% de concentrado não apresentaram diferenças entre si, mas foram diferentes dos tratamentos em que a porcentagem de concentrado foi de 30%. Vale notar que o MNLM final explica praticamente toda a variabilidade presente nos dados, o que não ocorre com o modelo clássico (Figuras 1 (b) e 1 (c)).

A menor proporção de concentrado proporcionou uma DE maior do capim-Tifton com 10% de proteína bruta, em relação às outras proporções consideradas. Já a DP de ambos os tratamentos apresentaram praticamente os mesmos valores (Tabela 2), que foram condizentes aos obtidos por [2].

Tabela 2: Estimativas e erro padrão (e.p.) dos parâmetros do M6_2c_ARH e as degradabilidades efetiva e potencial de cada curva

Tratamentos	Parâmetro						DE _{5%}	DP
	β_1	(e.p.)	β_2	(e.p.)	β_3	(e.p.)		
70 e 50 TIF 4 e 10	17,9721	(0,4271)	55,6371	(0,6260)	0,0324	(0,0012)	18,3305	73,6092
30TIF4 e 10	19,6419	(0,6947)	53,7545	(1,1299)	0,0253	(0,0021)	19,912	73,3964

5 Conclusões

O uso do modelo de Orskov e McDonald (1979) com efeitos aleatórios proporcionou o melhor ajuste aos dados de degradabilidade de matéria seca. O pacote `nlme` do software R foi bastante versátil, possibilitando o ajuste de diversos modelos para a parte fixa, diversas estruturas de variâncias e covariâncias e a comparação entre os modelos. O uso de modelos não lineares mistos mostrou-se bastante atraente, uma vez que incorporou a variação entre os indivíduos nos procedimentos de ajuste sem precisar incluir no modelo os fatores associados ao delineamento experimental.

Referências

- [1] FEITOSA, J. V., Avaliação de modelos matemáticos de degradação de fenos de capim Tifton 85 e concentrados em bovinos. *Tese (Doutorado em Zootecnia) - FCAV/UNESP, Jaboticabal*, 2003.
- [2] JOBIM, C.C., FERREIRA, G.A., BUMBIERIS JR., V. H., CALIXTO JR., M., SANTOS, G.T., Cinética de degradação ruminal dos fenos de alfafa e Tifton-85 e da silagem de milho, *Ciências Agrárias*, Londrina, **32(2)**, 747-758, 2011.
- [3] LIMA, C. G., MALHEIROS, E. B., SARTORIO, S. D., FEITOSA, J. V., Modelos mistos não lineares em estudos de degradabilidade *in situ*. In: 57^a RBRAs, realizada na ESALQ/USP, Piracicaba/SP, Brasil, 2012.

- [4] LINDSTROM, M. J., BATES, D. M., Nonlinear mixed effects models for repeated measures data, *Biometrics*, **46**, 673-687, 1990.
- [5] ORSKOV, E. R., MCDONALD, I. M., The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal Agriculture Science*, Cambridge, **92**: 499, 1979.
- [6] PINHEIRO, J. C., BATES, D. M., Mixed-effects models in S and S-Plus. *New-York: Springer-Verlag*, 2000.
- [7] SARTORIO, S. D., ALCARDE, R., LIMA, C. G., PIEDADE, S. M. DE S., DEMÉTRIO, C. G. B., OLIVEIRA, E. C. A. DE, TRIVELIN, P. C. O., Um estudo não linear misto para um experimento de cana-de-açúcar. 2010, In: 55a RBRas e 15a RARG, realizada na UFSC, Florianópolis/SC, Brasil, 2010.