

Sistema de ayuda a la toma de decisiones tácticas en protección fitosanitaria de plantaciones de naranjo. II.-Establecimiento del diseño muestral para estimar la incidencia de diaspinos (Homoptera, Diaspididae) en parcela

J. R. BOYERO, F. PASCUAL, N. RODRÍGUEZ, R. MORENO

El estudio se realizó en cuatro plantaciones de naranjo de diferentes variedades, dos de Navelate, una de Navel Lane Late y otra de Valencia Late. Se utilizó la técnica de muestreo bietápica. La unidad secundaria de muestreo (US) ya se había determinado en un trabajo anterior y en éste abordamos la composición de la unidad primaria (UP) y la estructura de la muestra (n° de UP y n° de US/UP). Los resultados que se presentan corresponden a *Aonidiella aurantii* (Maskell) y brote penúltimo. El primer paso fue el ajuste de las distribuciones de frecuencia de incidencia del primer muestreo a las distribuciones binomial y beta-binomial. Este ajuste confirmó que se podían utilizar las varianzas deducidas de la binomial en las estimaciones. Los resultados mostraron que en las dos plantaciones de Navelina la UP debería constar de 4 árboles y en las otras dos de 2. En doce muestreos se constató que el n° de US/UP se mantuvo bastante homogéneo, mientras que el de UP fue más variable. También se validaron dos planes secuenciales de muestreo con los que estimar la incidencia con un nivel fijo de precisión. Los resultados conseguidos con ellos fueron satisfactorios.

J. R. BOYERO, N. RODRÍGUEZ, R. MORENO: C.I.F.A. de Málaga. Cortijo de la Cruz s/n, 29140 Churriana – Málaga.

F. PASCUAL: Dpto. de Biología Animal y Ecología. Facultad de Ciencias. 18071 Granada.

Palabras clave: *Aonidiella aurantii*, Cítricos, protección integrada, diaspinos, muestreo.

INTRODUCCIÓN

La estimación correcta y fiable de cualquier variable, con la que se pretenda cuantificar algún fenómeno, es fundamental. En entomología aplicada se ha avanzado sobremanera en el conocimiento y aplicación de diversos diseños muestrales para estimar densidades de poblaciones (SOUTHWOOD, 1978; PEDIGO y BUNTIN, 1994). En cambio, los métodos para valorar la Incidencia (**Inc**), definida como la proporción, o número, de

órganos con presencia, se han desarrollado menos, y habitualmente se han basado en la suposición de que las distribuciones de frecuencia de los datos se ajustaban a la distribución binomial. Esto es cierto en el caso de una aleatoriedad total de los órganos con presencia, pero, a medida que la heterogeneidad del ataque aumenta, la bondad del ajuste a la distribución binomial disminuye (JONES, 1994).

Para conocer cuáles son los avances metodológicos en la estimación de la **Inc**, hay

que recurrir obligatoriamente a la fitoepidemiología cuantitativa, que es la disciplina que actualmente está fijando las bases científicas en este campo (HUGHES y MADDEN, 1993; MADDEN, 1994; HUGHES *et al.*, 1996; MADDEN y HUGHES, 1999a y b). En epidemiología han sido básicos los estudios referidos a la valoración de la propagación de enfermedades en plantaciones extensivas. En estos casos la unidad de análisis es la planta, y por ello no se ha prestado especial atención al estudio de la **Inc** de órganos. No obstante, los métodos propugnados abren puertas muy interesantes para su aplicación en estos últimos estudios citados.

Con relación a la estimación de la **Inc** de plantas enfermas, la epidemiología ha optado por el muestreo de conglomerados. Esta técnica de muestreo consiste en reticular la parcela de tal modo que cada celda de la retícula contenga el mismo número de plantas. En este tipo de muestreo se eligen al azar celdas (unidades de muestreo) y se contabilizan en ellas el número de plantas enfermas, para finalmente expresar la **Inc** en cada celda por la proporción de las afectadas que contiene o por su frecuencia (HUGHES *et al.*, 1996; MADDEN y HUGHES, 1999b).

Por desgracia, la estimación de la **Inc** de órganos con esta técnica sería de imposible aplicación, ya que normalmente cada retícula contendría infinidad de órganos. Existe muy poca información sobre cuáles son las posibles técnicas alternativas para encarar estas situaciones, y en las ocasiones en que se han abordado muestreos de estas características, se ha tendido a la utilización de técnicas polietápicas (DUTHIE *et al.*, 1991; MORENO, 1997). La bietápica ha sido precisamente la solución que se eligió en el estudio que se está realizando actualmente en diáspinos, y en el que con anterioridad ya se determinaron dos posibles unidades secundarias (US) de muestreo, con las que se optimizó el tamaño de la muestra para una precisión determinada (CV=0,15) (BOYERO *et al.*, 2000).

Como ya se indicó al comienzo, la hipótesis de partida, de que la distribución de frecuencia de los datos se ajusta a una bino-

mial, puede que no sea válida, lo que indicaría una agregatividad en la **Inc**. Para refrenar la bondad de ajuste bastaría con efectuar un test χ^2 . Para evitar los efectos de las posibles desviaciones de la binomial, la investigación epidemiológica ha demostrado que el empleo de la distribución compuesta beta-binomial (JOHNSON y KOTZ, 1971) es una de las soluciones al problema planteado. Esta distribución se define por:

$$\text{Pr ob } (X=x) = \binom{n}{x} \frac{\Gamma(\alpha+\beta)\Gamma(\alpha+x)\Gamma(\beta+n-x)}{\Gamma(\alpha)\Gamma(\beta)\Gamma(\alpha+\beta+n)}$$

en la que $\Gamma(\cdot)$ es la función gamma, x toma valores de 0 a n , y α y β son parámetros. En el caso del muestreo por conglomerados n sería el número de plantas en cada celda. Para estimar los dos parámetros que intervienen en esta distribución es preferible efectuar los cambios, $p=\alpha(\alpha+\beta)^{-1}$ y $\theta=(\alpha+\beta)^{-1}$, siendo p la **Inc** y θ un parámetro, que se puede considerar como un índice de agregatividad de la colonización. Su rango de variación es de $-1/n$ a ∞ , lo que cubre desde distribuciones uniformes ($\theta = -1/n$), hasta la binomial negativa (n grande, p pequeño), pasando por la binomial ($\theta = 0$). La varianza de X en la beta-binomial es:

$$V = [np(1-p)] [(1+\theta n)/(1+\theta)]$$

De esta expresión se deduce que cuando $\theta \geq 0$ la varianza de la beta-binomial será superior a la de la binomial (HUGHES y MADDEN, 1993; MADDEN y HUGHES, 1999b). Por consiguiente, si se usa de forma rutinaria la binomial, a medida que la agregación aumenta más se subestimaré la varianza real.

En estos momentos, los estudios para la aplicación de la distribución beta-binomial se ciñen en exclusiva al muestreo por conglomerados ya citado; mientras que su adaptación al muestreo bietápico aún no se ha realizado. Por este motivo, no será posible emplear esta distribución a los datos que se han obtenido en este trabajo. No por ello deja de ser útil, en nuestro caso, esta información generada en epidemiología, ya que obligará en lo sucesivo a comprobar si los

datos se ajustan a una binomial. En caso de que así no fuera, se debería ser consciente de que el valor de la precisión (CV) de las estimaciones efectuadas con la binomial sería inferior al real.

Como ya es conocido, los tres pilares básicos que sustentan el diseño muestral son la unidad de muestreo, la técnica de muestreo y el tamaño de la muestra. De estas tres facetas, en nuestro estudio faltaban por definir la composición de la unidad primaria (UP) y la estructura de la muestra (nº de UP y nº de US/UP), con lo que quedaría ultimado el diseño muestral que se utilizaría en lo sucesivo.

Con relación al primer objetivo citado, composición de la UP, se determinó cuál sería el número óptimo de unidades básicas (árboles) que deberían conformar la UP. El muestreo por conglomerados (MORENO, 1994) o el bietápico, que será el aplicado en este estudio, realizan esta estimación.

En cuanto a la segunda finalidad, estructura de la muestra, será conveniente recordar que con el muestreo de fitoparásitos se intenta cubrir dos objetivos amplios, que abarcan prácticamente todas las situaciones (NYROP y BINNS, 1991). El primero de estos objetivos pretende obtener estimaciones con una precisión previamente fijada y ése es el motivo de que se le conozca con el nombre de "objetivo estimación". Con el segundo se intenta conocer si el valor estimado es inferior o superior a uno determinado y recibe el nombre de "objetivo clasificación", ya que en definitiva lo que se desea es incluir a la población en una de las dos regiones que separa el valor crítico. Este último objetivo se enmarca principalmente dentro de la optimización del manejo de plagas y enfermedades. Cada uno de estos objetivos posee sus métodos propios, que por lo general no son coincidentes, para fijar el tamaño de la muestra.

La determinación de este tamaño ha sido precisamente el cuello de botella en los estudios que estaban incluidos dentro del llamado "objetivo estimación". Es comprensible esta situación ya que el tamaño dependerá de la variabilidad de los datos, y ésta se conocerá una vez se haya realizado el mues-

treo, y no antes. Para superar esta dificultad intrínseca del diseño muestral, en entomología aplicada se ha avanzado en el desarrollo de planes secuenciales de muestreo, con los que se obtiene la estimación con un nivel de precisión previamente fijado. La ventaja del método es que la precisión se conocerá a medida que se toma una nueva muestra, por lo que el muestreo finalizará en el momento en que se alcanza el nivel de precisión deseado, sin necesidad de haber fijado previamente el tamaño de la muestra.

La escuela de Kyoto fue la pionera en la elaboración de estos planes secuenciales (KUNO, 1969 y 1976), que están basados en la relación lineal que existe entre el parámetro conocido como <<mean crowding>>, o índice de agregatividad de Lloyd (LLOYD, 1967) y la media de la población. Este método y otro similar, pero basado en este caso en la ley de Taylor, se han aplicado en la elaboración de planes secuenciales para *Saissetia oleae* (Olivier) sobre cítricos (MORENO y GARIJO, 1980).

En epidemiología, empleando los mismos principios que sustentan los métodos anteriores, se ha elaborado un plan secuencial de muestreo para estimar la *Inc* de plantas enfermas (MADDEN y HUGHES, 1999b). Este método parte de la ley potencial binaria, que afirma que la varianza muestral observada (v) es una función potencial de la varianza teórica (v_r), obtenida directamente de la distribución binomial. Su expresión logarítmica sería, en consecuencia, de la forma: $\text{Log}(v) = \text{Log}(A) + b\text{Log}(v_r)$, en la que A y b son parámetros estimados con anterioridad. Si se sustituye v_r por su valor, la anterior ecuación se convertirá en: $\text{Log}(v) = \text{Log}(A) + b\text{Log}[p(1-p)/n]$, siendo p la proporción de plantas enfermas. Por lo tanto, la famosa ley potencial de Taylor sería un caso particular de esta ley. Si los datos están de acuerdo con una distribución beta-binomial, el plan secuencial de muestreo se elaboraría con facilidad con la ayuda de la última expresión.

Por otra parte, R. Moreno ha elaborado otros dos planes secuenciales de muestreo (pendientes de publicación), basados en las

representaciones gráficas de las expresiones que permiten efectuar la estimación de la precisión. Uno de ellos se presenta como una carta de intersección y el otro como una familia de curvas. Con los datos obtenidos en este estudio se comprobará si estos dos planes son válidos para su aplicación al caso concreto de estos diaspinos.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se utilizaron cuatro parcelas de cítricos, dos en Alhaurín de la Torre (Málaga) (**Al**) y otras dos en el C.I.F.A. de Churriana (Málaga) (**Ch**). Las dos primeras están plantadas con Navelate, mientras que una de las de **Ch** lo está con Navel Lane Late y la otra con Valencia Late. En lo sucesivo, para diferenciar a las dos parcelas de **Al**, a una se la denominará P14 y a la otra P15.

Con el fin de facilitar los posteriores muestreos, en cada una de las parcelas de **Ch** se eligieron 116 árboles de los 136 que contiene cada una de ellas, mientras que en la P14 de **Al** la elección recayó en 92 árboles de los 160 que posee y en la P15 en sólo 80 de un total de 160.

Cuando en un misma fecha se deban simultanear las observaciones sobre varias plagas y enfermedades con un mismo hábitat, lo lógico y prudente es realizar un único muestreo en el que se incluyan todas las especies, y no tantos muestreos como especies haya. Para ello es imprescindible elegir un fitoparásito que se considere clave para los intereses productivos de la plantación. La precisión de la estimación del parámetro demográfico de esa especie prioritaria será, por consiguiente, la que prime sobre las precisiones de las estimaciones de los parámetros del resto de las especies. En consecuencia, se tendrá que establecer previamente una jerarquía, en la que una especie será la predominante y el resto tendrá que quedar subordinado a ella.

En este estudio se consideró que, debido al importante perjuicio económico ocasionado en la provincia de Málaga, la especie

clave era *Aonidiella aurantii* (Maskell) y que, por consiguiente, *Lepidosaphes beckii* (Newman) y *Parlatoria pergandii* Comstock deberían quedar supeditadas a ella. Como en principio se tendrían que comprobar dos **US** de muestreo, se optó porque el brote en penúltima posición sería la **US** clave, ya que según se puso de manifiesto en el anterior trabajo (BOYERO *et al.*, 2000) este brote fue, en principio, el candidato con más posibilidades para **US**.

Caracterización de las distribuciones:

Para determinar la composición de la **UP** se observaron 20 árboles en cada una de las parcelas de **Ch**, en los que se eligieron 4 **US** de penúltima posición por árbol. En **Al** fueron 24 los árboles, con el mismo número de **US** elegidas que en **Ch**. Estas muestras sirvieron de base para realizar la comprobación del ajuste a la binomial y a la beta-binomial. Para estimar la bondad de ajuste a la primera de las distribuciones se aplicó el test de χ^2 a los valores observados y estimados. Para el ajuste a la segunda se utilizó un programa proporcionado por la Facultad de Psicología de la Universidad de Bonn (Alemania). Este programa emplea el método de máxima verosimilitud para estimar los dos parámetros de la beta-binomial. Se presentarán los resultados obtenidos para *A. aurantii* y para el brote de penúltima posición.

Composición de la UP: Esta determinación se efectuó en dos etapas. En la primera se comprobó si los diferentes grupos de árboles utilizados como posibles **UP** eran más precisos en el muestreo que el árbol aislado (unidad básica). Para averiguarlo se utilizó un muestreo bietápico, en lugar del muestreo de conglomerados, preconizado para este fin (MORENO, 1994). Este último no es aplicable en este caso, ya que es imposible observar la totalidad de las **US** que contiene cada árbol. El análisis se realizó con un programa informático elaborado por R. Moreno.

En segundo lugar, si los grupos de árboles mostraran su superioridad ante la unidad básica, se determinaría a continuación cuál se-

ría el grupo más preciso. La elección recaería en aquél con el que fuera necesario observar un menor número de US para alcanzar una determinada precisión ($CV=0,15$). La estimación se efectuó con otro programa elaborado también por R. Moreno.

El conglomerado de mayor tamaño elegido constó de 4 árboles, cada uno de ellos ocupando el vértice de un cuadrado. Esta elección permitió que también se pudieran valorar los grupos de 2 y 3 árboles, que quedan comprendidos dentro del grupo de 4. Es fácil comprobar que cada unidad mayor contendrá 4 grupos diferentes de 3 árboles formando triángulo rectángulo y 6 de 2 árboles.

Para facilitar el muestreo, las unidades de cada tipo se fijaron previamente dentro de la parcela siguiendo un criterio único. Así, si la unidad es de 3, se obligaría a que los catetos del triángulo siempre tengan, por ejemplo, la

orientación N-S y E-O, o si es de 2 la E-O. Además, en el plano de cada parcela, para evitar dudas, se representaron las unidades del tipo elegido que contiene. A cada una de ellas se le adjudicó un código para su posterior localización.

De acuerdo con estas consideraciones se realizaron en cada parcela, especie y US, un análisis para el conglomerado de 4 árboles; cuatro para el de 3, correspondientes a las cuatro orientaciones posibles de esta unidad dentro de la de 4 y, por similar motivo, seis para el de 2. Por tanto, en total se realizaron 11 análisis por parcela, especie y US. Los resultados que se ofrecen son los obtenidos también con *A. aurantii* y brote de penúltima posición.

En Ch el muestreo bietápico se realizó el 26/1/01 y se observaron, en cada una de las dos parcelas, 5 grupos de 4 árboles y 16 US

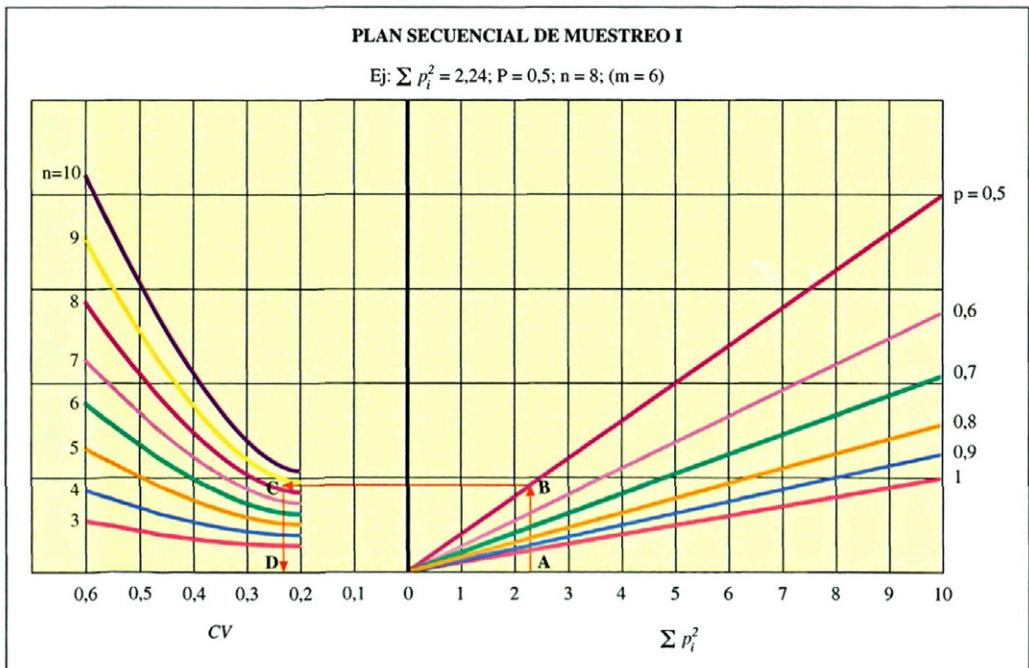


Fig. 1.—La carta está realizada para $m = US/UP = 6$. En el gráfico de la derecha, aparece en abscisas la suma de los cuadrados de las Inc de las i UP elegidas ($\sum p_i^2$) y en ordenadas la incidencia (p) de la parcela. En el de la izquierda, en abscisas se representa CV y en ordenadas el número (n) de UP elegidas. En el ej. se puede observar que la trayectoria a seguir es A-B-C-D, siendo este último punto el que nos indica el valor de CV . Si éste es superior al previamente establecido como límite, se tendrían que tomar más muestras hasta que el CV fuera inferior o igual a ese valor límite.

en cada grupo. En **AI** la fecha fue el 29/3/01 y se observó un grupo más que en el anterior, 6 en total, y el mismo número de **US** por grupo.

Estructura de la muestra: Posteriormente al muestreo destinado a definir la composición de la muestra se realizaron otros, de forma periódica, en cada una de las parcelas. Del análisis de los datos del primero de ellos se obtuvo información sobre la estructura más adecuada que debería haber tenido este muestreo, estructura que constituyó un primer paso para determinar la que tendría el siguiente. De esta misma forma se actuó con el resto de los muestreos efectuados.

Para establecer definitivamente la estructura, aparte de lo que dictaminasen los análisis, se fijaron dos condiciones básicas de recomendado cumplimiento. La primera de ellas establecía que el número total de **US** elegidas en la parcela nunca fuera inferior a 35, y la segunda que el número de **US/UP** fuera igual o superior a 5. Con ello se pretendió facilitar el trabajo en campo y que la precisión de las estimaciones fuera suficientemente aceptable.

Planes secuenciales: Los datos utilizados para validar los dos planes proceden de los 10 muestreos realizados hasta el 26/7/01 en cada una de las dos parcelas de **Ch** y de los 7 que se realizaron en cada una de las dos de **AI** hasta la misma fecha anterior. En consecuencia, para *A. aurantii*, que como ya se indicó fue la especie elegida como clave, se contó con 34 observaciones, tanto para brote último como penúltimo.

Antes de elaborar planes secuenciales para muestreos bietápicos, es imprescindible, en primer lugar, decidir si se prefiere actuar manteniendo fijo el número de **UP** y variable el de **US/UP**, o bien conservando fijo este último y variable el de **UP**. Es evidente que la segunda opción es preferible a la primera, y por tanto en este estudio se optó por ella.

En la Fig. 1 se muestra el primer plan que se comprobó. Consiste en una carta de intersección y su modo de empleo se explica en

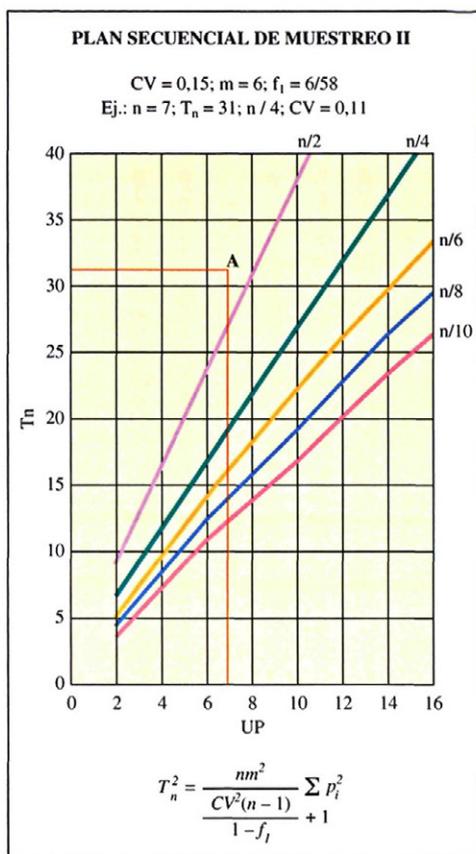


Fig. 2.—En este gráfico aparece una familia de curvas, definida por la expresión que se encuentra situada en la parte inferior de la figura. En esta expresión, T_n es el total acumulado de **US** con presencia, n el número de **UP** elegidas, m el de **US** que se eligen en cada **UP**, f_1 la fracción de muestreo de **UP** y p_i la **Inc** media de la i **UP**. Las curvas se han representado para valores de $\sum p_i^2$ expresados como fracciones de n . En el encabezamiento se muestran los valores para los cuales se ha realizado la familia de curvas, y también los datos de un ej. extraído de uno de los muestreos, en el que CV = 0,11. Para comprobar si en el muestreo se ha alcanzado CV = 0,15, el punto representativo A tiene que situarse a la izquierda de la curva correspondiente ($n/4$), o sobre ella. En el ej. queda claro que el punto A se sitúa en la zona de CV < 0,15, y con ello se daría por concluido el muestreo.

el pie de la citada figura. La carta en este caso se ha representado sólo para valores de incidencia comprendidos entre 0,5 y 1, pero como es lógico se podría elaborar una carta a medida para cada caso en particular.

Cuando se utiliza una carta de este tipo, o cualquier otro gráfico, directamente en campo, se producirán de forma inevitable errores de percepción que influirán en el resultado final, en este caso en el de la valoración del CV. Por tanto, será fundamental comprobar en qué medida estos errores provocan desvíos con relación al valor estimado del CV en cada uno de los muestreos realizados. Esta comprobación se realizó analizando las diferencias entre este CV y el que se obtuvo con la carta de intersección, prestando especial atención a que el plan secuencial no subestime el CV y a que no aparezcan tendencias en las diferencias en función del incremento del CV estimado. Para analizar estos aspectos, se estimó un modelo de regresión lineal simple, que relacionó CV estimado y su respectiva diferencia con el valor obtenido de la carta. Si el intervalo de confianza, tanto de la pendiente de la recta como de la intersección con el eje de ordenadas incluye el valor cero, sería prueba evidente de la aleatoriedad de esas diferencias y de que el CV no es subestimado.

El segundo plan propuesto, que aparece en la Fig. 2 y cuyo uso se explica en el pie, es la representación de una familia de curvas, y al igual que en el plan anterior se puede dibujar una para cada situación particular. En este caso no se obtiene el valor del CV, sino que la posición del punto correspondiente sobre el plano nos indicará si ya se ha alcanzado el CV deseado. Por este motivo la comprobación del plan consistirá únicamente en representar todos los puntos disponibles y observar si éstos y sus correspondientes estimaciones concuerdan según la norma anterior.

RESULTADOS

Como ya se indicó en el apartado anterior, los resultados que se exponen corresponden a *A. aurantii*.

Caracterización de las distribuciones:

En la Fig. 3 se han representado las tablas de frecuencia que agrupan para cada parcela los

valores observados y los ajustados con binomial y beta-binomial. Según se observa en la figura, únicamente la P14 no se ajustó a las distribuciones. La bimodalidad que presentó esta parcela fue la causa de la falta de ajuste. Esta bimodalidad quizás fuera debida a un tamaño de muestra no muy elevado. En el resto de las parcelas el ajuste fue aceptable tanto a una como a otra distribución, con una mejor aceptación de la binomial por las parcelas de Ch, y de la beta-binomial por la P15.

Composición de la UP: En la primera etapa de este proceso, comparación de conglomerados y unidad básica (árbol), se obtuvieron los resultados que aparecen en la Fig. 4. En cada uno de los 4 gráficos de que consta la citada figura, se han representado dos grupos compactos de casos, correspondientes a los 11 análisis efectuados. En el de la izquierda los casos favorables al conglomerado (CNG) y en el de la derecha a la unidad básica (UB). El eje de ordenadas hace referencia al número de UP, CNG o UB, que sería necesario tomar para alcanzar un $CV=0,15$.

Desde el punto de vista de casos favorables a una u otra UP, hubo dos parcelas, Navel L. L. y P14, en las que la unidad CNG fue más ventajosa que la UB (7 a favor en la primera parcela y 10 en la segunda); mientras que la de Valencia L. se decantó por la UB (8 a favor) y en la P15 existió una práctica igualdad entre ambas unidades (5 para CNG y 6 para UB). Hay que hacer la advertencia de que estos resultados se basaron sólo en los valores de la inter- e intra-varianza que presentaron los datos, sin que se incluyera el coste de localización de las UP. Este coste lógicamente estará en relación directa con el número de UP elegidas. De acuerdo con este criterio, la opción CNG, según muestran los resultados, sería la más factible y efectiva. En resumen, como no hay parcela en la que exista una clara superioridad de casos favorables a la UB, y en cambio el número de CNG es en su mayoría inferior al de UB, finalmente se eligió el CNG como UP.

Para la elección final del CNG más apropiado, se procedió a estimar con cuál de

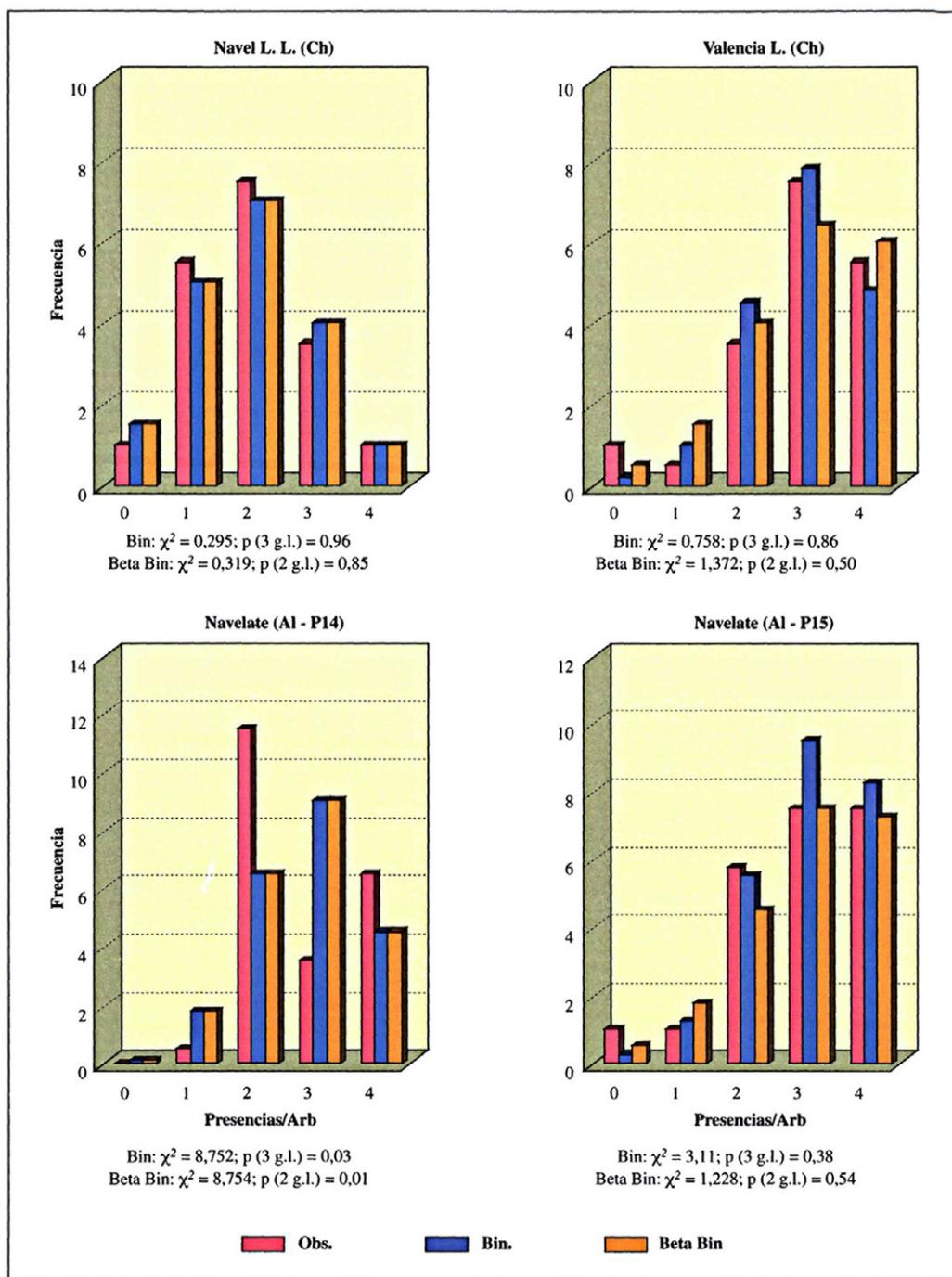


Fig. 3.—Ajuste a las distribuciones binomial y beta-binomial de las distribuciones de frecuencia de *A. aurantii* en penúltimo brote. En la parte inferior de cada gráfico se muestran los valores de χ^2 y $P(\chi^2 > \chi^2_p)$, correspondientes a cada uno de los ajustes.

ellos sería menor el tamaño final de la muestra de **US**. Los resultados aparecen en la Fig.5. Según los mismos, en las dos parcelas de **Al** no existió duda y la elección recayó en el grupo de 4 árboles. En las parcelas de **Ch** se produjo una duda razonable entre los grupos de 2 y 4 árboles. Ésta se dirimió al tener en cuenta que, si se elegía el de 4, se reduci-

ría considerablemente el número de **UP**, a 29 en total. En estos casos es siempre preferible el conglomerado más pequeño, así con ello se evitaría el muestreo de poblaciones finitas de **UP**, como sucedería en este caso.

Estructura de la muestra: Ya que en todas las parcelas sucedieron hechos similares,

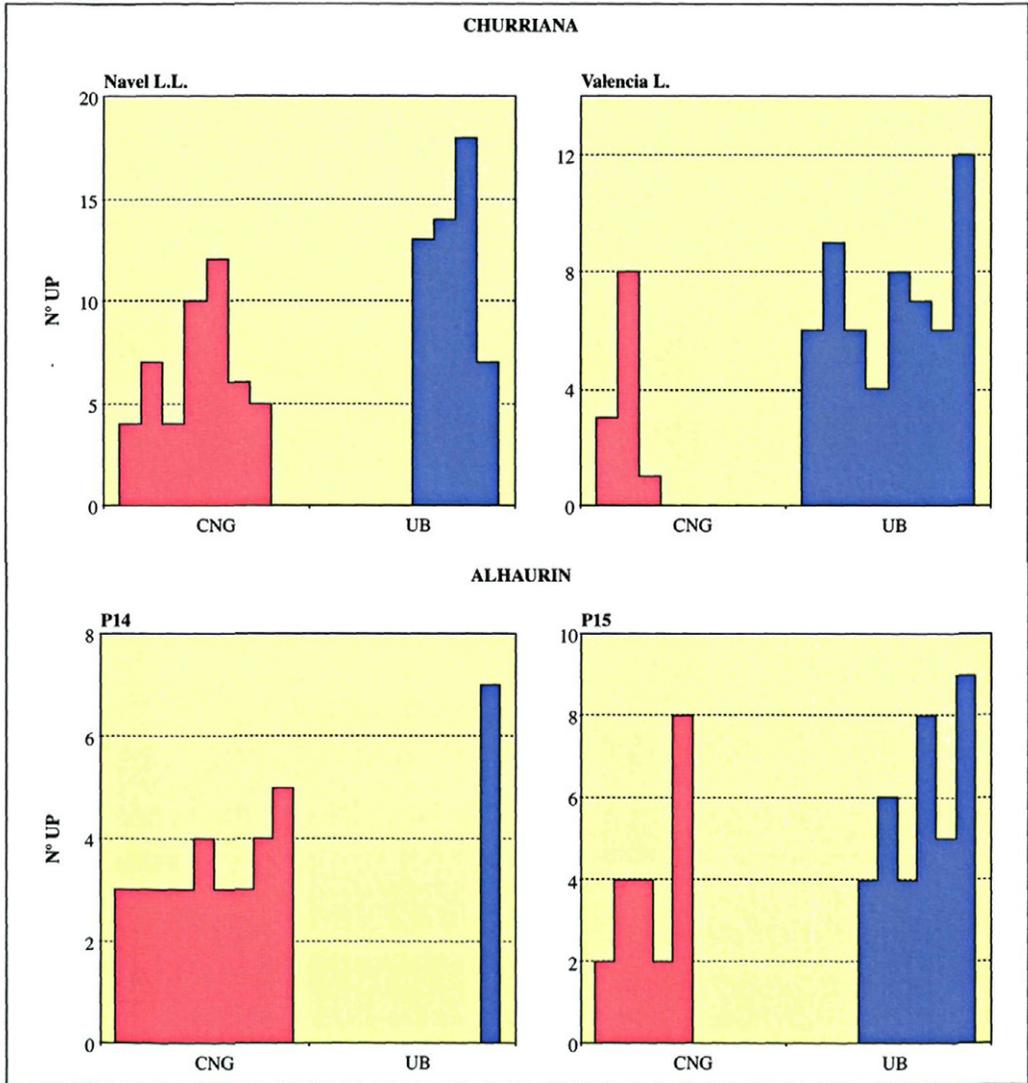


Fig. 4.—Comparación de conglomerados (CNG) de 2, 3 y 4 árboles con la unidad básica (UB) árbol. Los datos corresponden a *A. aurantii* y penúltimo brote.

sólo se mostrará uno de los casos, correspondiente a la parcela con Navel L. L. de Ch. En el Cuadro 1 quedan patentes el tamaño de la muestra de US/UP y de UP que se eligió (Obs) y el que se habría tenido que observar para conseguir un $CV=0,15$ (Est). Salvo en las fechas donde el muestreo aleatorio simple hubiera sido el más apropiado (6/5, 21/5, 26/7 y 3/9), en el resto se puso de manifiesto que los valores de las Est de las

US/UP se mantuvieron a niveles bajos (entre 1,17 y 5,66), excepto para el 19/6 con 10,82. Esta casi absoluta homogeneidad contrastó con la variabilidad mostrada por las UP, cuyo número estimado varió entre los 3,49 y los 16,16.

La variabilidad del número total de US estimadas fue consecuencia lógica de la que tuvieron las UP. Solamente en una fecha (6/5) hubiera sido necesario aumentar el ta-

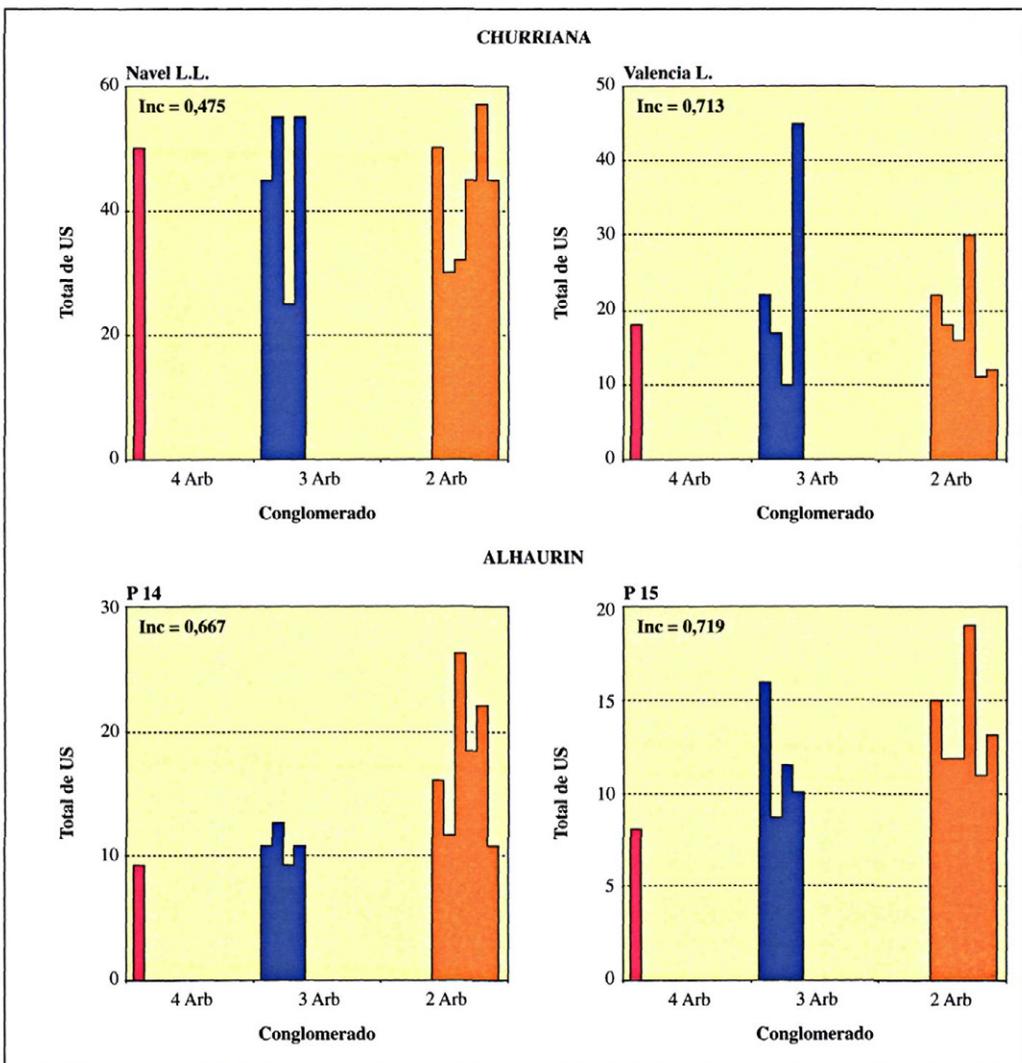


Fig. 5.—Comparación entre los diferentes conglomerados. Los datos corresponden a *A. aurantii* y penúltimo brote.

Cuadro 1.—Estructura de la muestra. *A. aurantii*.

Fecha	US/UP		UP		Total US		Inc	CV
	Obs	Est	Obs	Est	Obs	Est		
19/03/01	6	2,65	10	5,88	60	16	0,667	0,113
03/04/01	6	1,92	7	16,16	42	31	0,452	0,241
19/04/01	6	1,17	7	3,93	42	5	0,857	0,110
06/05/01	6		6		36	81	0,361	0,154
21/05/01	6		6		36	18	0,722	0,081
04/06/01	9	5,66	4	6,18	36	35	0,667	0,124
19/06/01	6	10,82	6	3,49	36	38	0,694	0,114
02/07/01	7	1,67	6	7,43	42	12	0,690	0,155
13/07/01	7	1,36	5	10,39	35	14	0,657	0,187
26/07/01	7		5		35	16	0,743	0,097
03/09/01	7		5		35	4	0,914	0,046
18/09/01	7	1,77	5	4,41	35	8	0,880	0,117

Datos correspondientes a Ch, Navel L.L. y penúltima brotación.

Las celdas vacías de las dos primeras columnas encabezadas por Est corresponden a fechas en las que el muestreo aleatorio simple hubiese sido el más apropiado.

maño total de la muestra (de 36 a 81 US). En dos ocasiones (3/4 y 13/7) se superó el valor 0,15 establecido para el CV, mientras que en el resto de las fechas el CV fue igual o inferior a 0,15.

Planes secuenciales: Una primera impresión visual de la validez de la carta de intersección se puede conseguir con la ayuda del gráfico de la Fig. 6. En él se observa que los valores de los CV reales (CV_r) están bastante ajustados a los obtenidos con el plan secuencial (CV_{ps}), salvo un solo caso (CV_r = 0,124; CV_{ps} = 0,2) en el que la diferencia entre ambos es alta.

Para efectuar un diagnóstico veraz de la efectividad de este plan, se dispuso una regresión lineal de CV_r sobre la diferencia entre ella y CV_{ps} (CV_r-CV_{ps}). Para que el plan alcance la categoría de aplicable, en primer lugar, estas diferencias no deben presentar tendencias, es decir, el intervalo de confianza de la pendiente de la recta debe incluir el valor cero, o lo que es lo mismo, la estimación de la pendiente no ha de ser significativa. En este análisis los resultados referentes a este aspecto mostraron la falta de tendencia, tanto en brote penúltimo (Pendiente = -0,003; p = 0,97) como último (Pendiente = 0,025; p = 0,31).

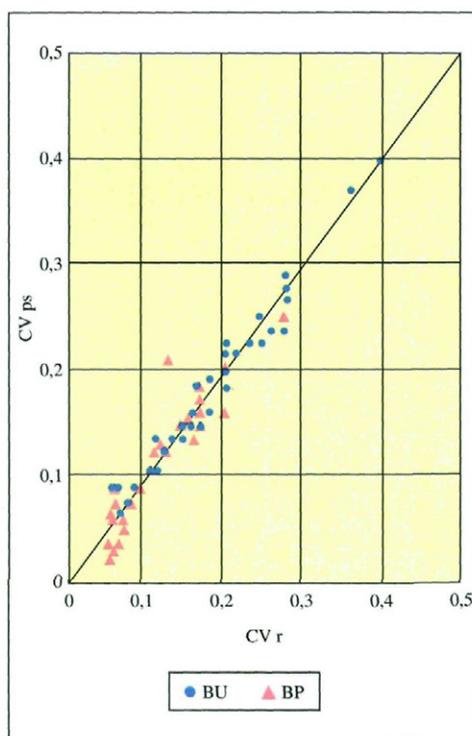


Fig. 6.—Primera fase de la comprobación de la validez del Plan Secuencial de Muestreo I en *A. aurantii*. Se ha trazado la bisectriz del primer cuadrante para que se pueda comprobar visualmente la distribución de puntos a su alrededor. Explicación en el texto. BU: Brote último; BP: Brote penúltimo.

En segundo lugar, los CVps no deben subestimar a los CVr ($CVr-CVps > 0$) y si es posible tampoco superestimarlos ($CVr-CVps < 0$). Esta condición se cumplirá cuando la estimación de la intersección de la recta con el eje de ordenadas no sea significativa. También en este caso se cumplió tanto para penúltimo (Inters. = -0,0002; $p = 0,98$) como para último brote (Inters. = -0,0057; $p = 0,23$), con lo que cabe considerar a este plan como válido para su aplicación en las especies de diaspinos estudiadas.

Otro tanto ocurrió con el segundo plan propuesto, en el que en los 68 casos analizados no existieron discrepancias entre la situación de los puntos en el gráfico y sus respectivos CVr.

DISCUSIÓN

Con el proceso explicado en este artículo, concluye el tema del establecimiento del diseño muestral para estimar la incidencia de diaspinos, a expensas aún de elegir la US que definitivamente se adopte. Esto último tendrá lugar cuando se analicen los datos de las **Inc** de las parcelas correspondientes a la campaña 2001/02.

En un artículo anterior (BOYERO *et al.*, 2000) se hizo una revisión de los avances conseguidos en el desarrollo de programas de muestreo para los diaspinos de cítricos. Los resultados fueron desalentadores, ya que no fue posible encontrar en la literatura un solo estudio científico dedicado a la elaboración de un diseño muestral con el que se pudiera estimar algún parámetro demográfico en las plantaciones. Por consiguiente, es de suponer que este trabajo será uno de los primeros, si no es el primero, que ha abordado el tema del diseño muestral para diaspinos, en nuestro caso particular con la finalidad de estimar la **Inc** de las poblaciones. En otros cultivos perennes, como el olivo, sí se tiene constancia que se hicieron esfuerzos para estimar poblaciones de mosca del olivo empleando también un muestreo bietápico (MONTIEL y MORENO, 1983).

La estimación de esta **Inc** requiere una consideración inicial. Las expresiones con las que se estiman varianza de la población en la muestra y varianza del estimador, tanto si el muestreo es aleatorio simple como si es bietápico, están calculadas suponiendo que las distribuciones de frecuencia de los datos, se ajustan a una binomial. En estos casos de poblaciones animales, donde la agregatividad suele ser la norma, la anterior suposición puede que no sea cierta. Para superar esta circunstancia se puede optar entre dos métodos. Uno de ellos, es el muestreo adaptativo (THOMPSON, 1992) de difícil aplicación en plagas de plantaciones frutales, y que por este motivo no se ha tenido en consideración. El segundo es el que está en pleno desarrollo en epidemiología (HUGHES *et al.*, 1996; MADDEN y HUGHES, 1999b), con la introducción de la distribución compuesta beta-binomial, en lugar de la binomial, y su aplicación en muestreo por conglomerados.

Aunque la adecuación de esta distribución al muestreo bietápico de la **Inc** aún no se ha realizado, es imprescindible, como primer paso, realizar siempre el ajuste a ambas distribuciones, para comprobar posibles desvíos de la binomial. Si esto último sucediera, se sabría de antemano que las varianzas y CV serían subestimados. De los resultados que se obtuvieron (Fig. 3) se deduce que, salvo la P14 que no se ha ajustado debido a su bimodalidad (obtenida quizás por el pequeño tamaño de la muestra), al resto de las parcelas se les podría aplicar sin problemas las expresiones deducidas para la distribución binomial.

La elección de la especie clave, alrededor de la cual tendrá que girar el diseño muestral, es de capital importancia. Como prueba de ello, en la Fig. 7, a título de ejemplo, se han representado, para las parcelas de **Ch** y penúltimo brote, la composición de la **UP** que se habría adoptado para cada especie de diaspino y el total de **US** que se habrían debido elegir para alcanzar un $CV=0,15$.

Como ya se indicó anteriormente, para *A. aurantii* se eligió como **UP** el grupo de dos árboles, en cambio para las otras dos es ob-

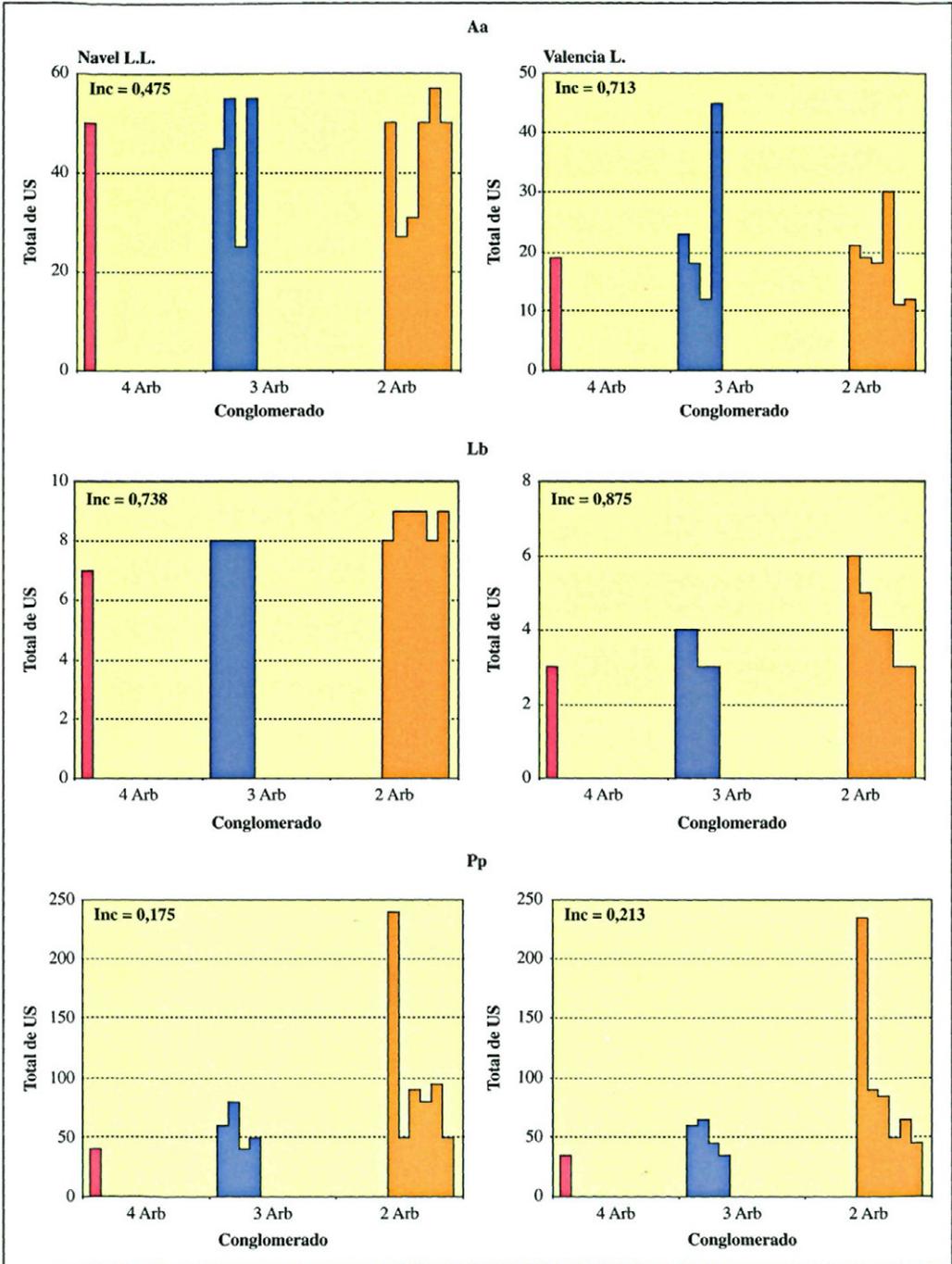


Fig. 7.—Comparación entre las especies de diaspinos de los resultados obtenidos para composición y estructura de la muestra. Los datos corresponden a penúltimo brote.
 Aa: *Aonidiella aurantii*; Lb: *Lepidosaphes beckii*; Pp: *Parlatoria pergandii*.

vio que el de 4 hubiera sido el más adecuado. En cuanto al total de US existen variaciones apreciables entre especies. En Navel el mínimo de US para *A. aurantii* sería aproximadamente 30, para *L. beckii* sería 7 y para *P. pergandii* esta cifra oscilaría alrededor de las 50. En Valencia L. se produjo un hecho similar al anterior. Estos dos aspectos son prueba palpable de las diferencias sensibles que se producirían, tanto en la composición de la UP como en la estructura de la muestra, según fuera el diaspino elegido. Una de las consecuencias que se desprende de lo anterior es que la composición de la UP será una característica propia de cada parcela y de cada especie y que, por tanto, será labor ineludible, antes de iniciar los estudios en una parcela, la de establecer esa composición.

Dentro de la estructura, el n° de US/UP se mantuvo en la mayoría de las observaciones dentro de unos valores bajos, inferiores incluso al mínimo de cinco impuesto; en cam-

bio la excesiva variabilidad del n° de UP que se tendría que observar en cada caso, abona el interés por los planes secuenciales de muestreo, dos de los cuales han sido comprobados en este estudio con éxito. Estos planes, que ya tienen un amplio recorrido desde la década de los sesenta, cuando la escuela de Kyoto inició su desarrollo, supusieron una herramienta importante para facilitar los muestreos. En casos como el de este estudio, los planes secuenciales pueden convertirse en un instrumento muy útil de estimación.

AGRADECIMIENTOS

A I.N.I.A. que financia el Proyecto SC00-072, con cargo al cual se han realizado los trabajos. A D. Emilio Villaverde Pereda por su amable colaboración al permitirnos efectuar las observaciones en su finca de Alhaurín de la Torre.

ABSTRACT

BOYERO J. R., F. PASCUAL, N. RODRÍGUEZ, R. MORENO. 2002. Tactical Decision Support System for the protection against orange crop pests. II. Sampling design to estimate the diaspinos incidence (Homoptera, Diaspididae). *Bol. San. Veg. Plagas*, **28**: 623-637.

This study was carried out in four orange orchards, two of Navelate, one of Navel Lane Late and another of Valencia Late varieties. The two-stage sampling was used. The secondary sampling unit (SU) was determined in a previous study. In this one was undertaken both the primary sampling unit (PU) composition and the structure of the sample (PU and SU/PU number). We show results come from *Aonidiella aurantii* (Maskell) and last but one shoot. The fitting of frequency distributions of incidence from the first sampling to binomial and beta-binomial distributions was the initial step. This fitting confirmed that the variances from the binomial was possible to use in the estimations. The results showed that the PU should consist of 4 trees in the two Navelina orchards and of 2 trees in the other two orchards. In twelve samplings it was confirmed that the SU/PU number was homogeneous enough, while the PU number was more variable. Also, two sequential sampling plans to estimate the incidence with a fixed level of precision were validated. The results obtained by these plans were successful.

Key words: *Aonidiella aurantii*, Citrus, IPM, decision support system, Diaspididae, sampling.

REFERENCIAS

BOYERO J. R., ANTÚNEZ E., MORENO R. 2000. Sistema de ayuda a la toma de decisiones tácticas en protección fitosanitaria de plantaciones de naranjo. I.- Esta-

blecimiento para diaspinos de la Unidad de Muestreo en árbol. *Bol. San. Veg. Plagas* **26**: 673-688.

DUTHIE J.A., CAMPBELL C.L., NELSON L.A. 1991. Efi-

- ciency of multistage sampling for estimation of intensity of leaf spot diseases of alfalfa in field experiments. *Phytopathology* **81**: 959-964.
- HUGHES G., MADDEN L.V. 1993. Using the beta-binomial distribution to describe aggregated patterns of disease incidence. *Phytopathology* **83**: 759-763.
- HUGHES G., MADDEN L.V., MUNKVOLD G.P. 1996. Cluster sampling for disease incidence data. *Phytopathology* **86**: 132-137.
- JOHNSON N. L., KOTZ S. 1971. *Discrete distributions*. John Wiley & Sons, New York. 328+xvi pp.
- JONES V. P. 1994. Sequential estimation and classification procedures for binomial counts. En *Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*, Edit. Pedigo y Buntin. CRC Press, Inc.: 176-205.
- KUNO E. 1969. A new method of sequential sampling to obtain the population estimates with a fixed level of precision. *Res. Popul. Ecol.* **11**: 127-136.
- KUNO E. 1976. Multi-stage sampling for population estimation. *Res. Popul. Ecol.* **18**: 39-56.
- LLOYD M. 1967. Mean crowding. *J. Anim. Ecol.*, **36**: 1-30.
- MADDEN L.V. 1994. BBD – Computer software for fitting the beta-binomial distribution to disease incidence data. *Plant Dis.* **78**: 536-540.
- MADDEN L.V., HUGHES G. 1999a. An effective sample size for predicting plant disease incidence in a spatial hierarchy. *Phytopathology* **89**: 770-781.
- MADDEN L.V., HUGHES G. 1999b. Sampling for plant disease incidence. *Phytopathology* **89**: 1088-1103.
- MONTIEL A., MORENO R. 1983. Méthodologie utilisée en Espagne pour la réalisation des études bioécologiques sur les populations naturelles de *Dacus oleae* (Gmel.). Résultats préliminaires obtenus en deux années de travaux. En “*Fruit flies of economic importance*”. Proceedings of the CEC/IOBC International Symposium, R. Cavalloro ed., Athens/Greece/ 16-19 noviembre 1982: 31-37.
- MORENO R., GARIJO C. 1980. Dinámica de poblaciones de *Saissetia oleae* (Olivier) (Hom., Coccidae) sobre cítricos. Comparación de diversos métodos para estimar la densidad de adultos a nivel de árbol. *Bol. Serv. Plagas* **6**: 75-94.
- MORENO R. 1994. Captura de datos. En: «*Sanidad Vegetal en la Horticultura Protegida*». Coord. R. Moreno. Junta de Andalucía. Cons. de Agricultura y Pesca. Cursos Superiores 1/94: 95-106.
- MORENO R. 1997. La protección fitosanitaria en cultivos bajo ambiente protegido. En: «*Anais Foro Internacional de cultivo protegido*”. Botucatu, 17-21 Noviembre, Univ. de Sao Paulo- Brasil: 31-95.
- NYROP J.P, BINNS M. 1991. Quantitative methods for designing and analyzing sampling programs for use in pest management. En: *Handbook of pest management in agriculture*. Vol. 2. D. Pimentel y A.A. Hanson eds. CRC Press, Fl.: 67-132.
- PEDIGO L.P., BUNTIN G.D., eds. 1994.: *Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*. CRC Press, Boca Raton, Fl. 714 pp.
- SOUTHWOOD T.R.E. 1978. *Ecological methods*. Chapman&Hall, London. 524 pp.
- THOMPSON S. T. 1992. *Sampling*. John Wiley & Sons, Inc., NY. 343+ xv.

(Recepción: 21 marzo 2002)

(Aceptación: 29 abril 2002)