

**PROTEÇÃO DE PLANTAS****Diseño de Planes de Muestreo con Niveles Fijos de Precisión del Pulgón Manchado de la Alfalfa, *Therioaphis trifolii* Monell (Homoptera: Aphididae) en Alfalfa (*Medicago sativa* L.)**JAVIER E. GYENGE<sup>1</sup>, EDUARDO V. TRUMPER<sup>2</sup> Y JULIO D. EDELSTEIN<sup>2</sup><sup>1</sup>EAA Alto Valle (INTA), C.C. 782 (8332) General Roca, Rio Negro, Argentina.<sup>2</sup>EAA Manfredi (INTA), Ruta Nac. N° 9, km 636, Manfredi, Córdoba, Argentina.

---

An. Soc. Entomol. Brasil 28(4): 729-737 (1999)

Sequential Sampling Plans with Fixed Precision Levels for Spotted Alfalfa Aphid, *Therioaphis trifolii* Monell (Homoptera: Aphididae) in Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

**ABSTRACT** - The objective of this paper was to design sequential sampling plans for the spotted alfalfa aphid (*Therioaphis trifolii* Monell) with fixed precision level, for density estimation and decision making. The study of spatial pattern based on Taylor's Power Law and Iwao's regression, showed different degrees of clumping of *T. trifolii* populations in alfalfa crops, depending on the developmental stage of aphids. The sequential sampling plan for decision making was calculated using two economic thresholds based on the height of the crop. The sequential sampling models developed by Kuno and by Green, were used to calculate stop lines. Green's model is recommended because Taylor's Power Law's regression yielded higher determination coefficients than Iwao's method.

**KEY WORDS:** Insecta, spatial pattern, Integrated Pest Management.

**RESUMEN** - El objetivo de este trabajo fue construir planes secuenciales de muestreo para el pulgón manchado de la alfalfa, *Therioaphis trifolii* Monell (Homoptera: Aphididae), con niveles fijos de precisión para estimar su densidad en función de toma de decisiones. El estudio de la disposición espacial basado en la Ley de Potencia de Taylor y regresión de Iwao, indicó que esta especie se distribuye de manera agregada en el cultivo de alfalfa, aunque con diferentes grados de agregación según el estado de desarrollo de los áfidos. Para el cálculo del plan secuencial de muestreo se usaron dos umbrales económicos según la altura del cultivo. Para el cálculo de las líneas críticas se utilizaron los modelos secuenciales de muestreo desarrollados por Kuno y por Green. Se recomienda el modelo de Green debido a que la Ley de Potencia de Taylor mostró los mayores coeficientes de determinación.

**PALABRAS CLAVES:** Insecta, disposición espacial, muestreo secuencial, Manejo Integrado de Plagas.

---

El pulgón manchado de la alfalfa, *Therioaphis trifolii* Monell (Homoptera: Aphididae) constituye una de las especies de áfidos plagas de la alfalfa de mayor importancia en Argentina (Delfino 1990/91). Es posible que las toxinas inyectadas por estos pulgones al alimentarse provoquen la muerte de plantas susceptibles (Dickson et al. 1955). Además, los áfidos excretan melazas como deyecciones que favorecen el desarrollo de hongos saprófitos, reduciendo la calidad del forraje indirectamente.

El Manejo Integrado de Plagas (MIP) se basa, entre otros aspectos, en el desarrollo de planes de muestreos eficientes y la determinación de umbrales de daño económico (UDE). En Argentina, frecuentemente se recomienda la aplicación de insecticidas para controlar el pulgón manchado cuando la población alcanza densidades de sólo 3 a 5 áfidos en el estado de plántula y entre 20 y 30 insectos por tallo, durante estados de desarrollo posteriores del cultivo. Sin embargo, las actuales recomendaciones sobre procedimientos de muestreo para toma de decisiones de control de pulgones de alfalfa no están sustentadas por un conocimiento adecuado de la variabilidad espacial de sus poblaciones en los cultivos. Tanto en el marco de la investigación sobre ecología de insectos como en MIP, es práctico mantener el tamaño de muestra (número de unidades muestrales) tan bajo como sea posible, dentro de ciertos márgenes de error en las estimaciones de densidad poblacional. Este problema puede resolverse incorporando la variabilidad espacial de la población en modelos que permiten calcular el número mínimo de muestras a coleccionar (Southwood 1978).

Existen dos tipos de planes secuenciales de muestreo cuyos objetivos difieren; los planes secuenciales de decisión y planes secuenciales de conteo. Los primeros, de aplicación en MIP, se utilizan para comprobar si la densidad de la población plaga supera o no un cierto nivel crítico. Los planes secuenciales de conteo se utilizan generalmente para la estimación de la

densidad poblacional en el marco de la investigación científica. El objetivo del presente trabajo es diseñar planes de muestreo para toma de decisiones en el manejo de la plaga, así como para estimar las densidades poblacionales de *T. trifolii* con niveles fijos de precisión.

## Materiales y Métodos

**Muestreo.** Los datos fueron colectados en campos de la Estación Experimental Agropecuaria Manfredi (INTA) (Córdoba, Argentina) durante el año 1995. Se utilizaron cultivos de las variedades Costera SP INTA y Monarca SP INTA, calificadas como susceptible y altamente resistente al ataque de áfidos, respectivamente (Spada 1994), tres parcelas de cada una. El muestreo consistió en la extracción semanal de 50 tallos de alfalfa por parcela, seleccionados según una grilla de números aleatorios. Para evitar la pérdida de pulgones se colocó debajo de cada tallo una bolsa plástica al momento del corte del tallo. Se registró el número de adultos alados y ápteros, ninfas grandes (cuarto y tercer estadio) y ninfas pequeñas (segundo y primer estadio) en cada tallo. Las parcelas se mantuvieron sin presión de pastoreo.

**Análisis de Datos. Disposición Espacial.** El estudio de la disposición espacial de cada estado de desarrollo de los áfidos, se basó en dos métodos que relacionan la varianza ( $s^2$ ) con la media ( $m$ ). Una de ellas fue la Ley de Potencia de Taylor (Taylor 1984), que describe adecuadamente la relación varianza-media en una amplia variedad de especies animales:

$$S^2 = am^b \quad (1)$$

La transformación logarítmica de la Ec. (1) produce la versión linealizada:

$$\log s^2 = \log a + b \log m \quad (2)$$

donde  $\log a$  es la ordenada al origen, y  $b$  es la pendiente de la recta que representa una medida del grado de agregación de la población en estudio. Según  $b$  sea mayor, igual o menor a 1, la disposición espacial se caracteriza como agregada, aleatoria o

uniforme. El valor de *b* depende de la interacción entre especies, el comportamiento y el ambiente (Taylor 1984).

En el modelo de regresión de Iwao (1977) se establece la relación lineal entre *m\** (índice de agrupamiento medio de Lloyd) y *m* (media) de cada fecha y parcela según la siguiente expresión:

$$m^* = \alpha + \beta m \quad (3)$$

Lloyd (1967) define al índice de agrupamiento medio correspondiente a un lote en particular y una fecha de muestreo como:

$$m^* = m + [(s^2/m) - 1] \quad (4)$$

Los parámetros  $\alpha$  y  $\beta$  representan el índice de contagio o agrupamiento básico y el coeficiente de agrupamiento dependiente de la densidad, respectivamente (Taylor 1984, Kusmayadi *et al.* 1990, Kuno 1991).

**Planes de Muestreo.** Todas las ecuaciones se desarrollaron para un nivel de precisión (*Do* = error estándar (E.E.)/*m*; Ward *et al.* 1985) de 0,1 y 0,25. El primer nivel es el indicado para estudios de dinámica poblacional y el mayor para la toma de decisión en el marco de la filosofía del MIP (Southwood 1978).

**Número Mínimo de Muestras.** El número mínimo de muestras dependiente de la densidad poblacional se obtiene según la expresión:

$$n = [a * (m^{b-2})] / (Do^2) \quad (5)$$

En la Ec.5, *a* y *b* son los parámetros de la regresión de la Ley de Potencia de Taylor, *m* es la media muestral y *Do* el nivel de precisión ya definido. Dicho enfoque no se ve limitado por la restricción que algún índice de agregación deba ser constante (Taylor 1984, Ward *et al.* 1985).

**Planes Secuenciales.** Los planes de muestreo secuencial se calcularon utilizando tres fórmulas. Green (1970) desarrolló un plan secuencial dependiente de los parámetros de la Ley de Potencia de Taylor. La línea crítica (*Tn*) se calcula mediante la siguiente ecuación:  $Tn = (a n^{1-b} / Do^2)^{1/(2-b)}$  (6) Kuno (1969), desarrolló una ecuación para obtener las líneas críticas, a partir de los

parámetros de la regresión de Iwao:

$$Tn = (\alpha + 1) / [Do^2 - (\beta - 1) / n] \quad (7)$$

En la Ec. 7 *n* es el número de muestras,  $\alpha$  y  $\beta$  son los parámetros de la regresión de Iwao (1977).

Los planes secuenciales calculados para toma de decisiones se calcularon siguiendo a Scorza *et al.* (1996), de acuerdo a la expresión:

$$Tn = UDE n \pm t (n S_{UDE}^2)^{1/2} \quad (8)$$

En esta última ecuación *Tn* es el número acumulado de áfidos, *n* es el número de tallos examinados, UDE es el umbral de daño económico, *t* es el valor en tabla de Student para infinitos grados de libertad y un determinado valor de  $\alpha$ , y  $S_{UDE}^2$  es la varianza correspondiente al nivel de control. El UDE fue establecido en 30 áfidos por tallo cuando la planta supera los 30 cm de altura, y 20 áfidos por tallo cuando la misma es inferior a 30 cm.

## Resultados y Discusión

**Datos de Campo.** Las densidades medias ( $\pm$ E.E.), registradas en la variedad Costera durante toda la campaña fueron de 0,63 ( $\pm$ 0,05) adultos alados; 1,67 ( $\pm$ 0,09) adultos ápteros; 3,34 ( $\pm$ 0,20) ninfas grandes y 10,46 ( $\pm$ 0,65) ninfas pequeñas. En las parcelas con la variedad Monarca, las densidades fueron menores (test *t*; *P* < 0,001), observándose un promedio por tallo de 0,17 ( $\pm$ 0,02) adultos alados; 0,23 ( $\pm$ 0,02) adultos ápteros; 0,48 ( $\pm$ 0,04) ninfas grandes y 1,30 ( $\pm$ 0,12) ninfas pequeñas.

Las máximas densidades se observaron en los muestreos realizados durante el mes de Junio. La Tabla 1 muestra el rango de capturas promedio por tallo para cada estado de desarrollo (promedio mínimo y máximo en una toma de muestra).

**Disposición Espacial.** En las Figuras 1 y 2 se presentan las regresiones que relacionan la varianza con la media agrupando todas las categorías. El análisis espacial indica que el pulgón manchado se distribuye en forma agregada, ya que las pendientes de las Ec. 2 y 3 (*b* y  $\beta$ ) de todas las clases etarias son

Tabla 1. Parámetros estimados ( $\pm$ EE) de las regresiones de Taylor e Iwao, para las poblaciones de *T. trifolii* en alfalfa.

	n	Taylor			Iwao			Rango de captura
		a	b	R <sup>2</sup>	$\alpha$	$\beta$	R <sup>2</sup>	
Adulto alado	46	0,1754 ( $\pm$ 0,0279)	1,149 ( $\pm$ 0,035)	0,9607	0,0444 ( $\pm$ 0,0738)	1,5123 ( $\pm$ 0,0994)	84,02	0 - 2,12
Adulto áptero	51	0,318 ( $\pm$ 0,0264)	1,264 ( $\pm$ 0,0371)	0,9595	0,3104 ( $\pm$ 0,1073)	1,536 ( $\pm$ 0,0527)	94,55	0 - 7,48
Ninfas grandes	54	0,456 ( $\pm$ 0,0324)	1,326 ( $\pm$ 0,0481)	0,9358	0,7977 ( $\pm$ 0,299)	1,7902 ( $\pm$ 0,0684)	92,95	0 - 16,08
Ninfas pequeñas	54	0,6207 ( $\pm$ 0,0282)	1,4506 ( $\pm$ 0,0355)	0,9698	2,3235 ( $\pm$ 0,8213)	1,7892 ( $\pm$ 0,0576)	94,89	0 - 58,3
Total	54	0,5635 ( $\pm$ 0,0339)	1,5141 ( $\pm$ 0,0417)	0,9620	2,8488 ( $\pm$ 1,1185)	1,6999 ( $\pm$ 0,053)	95,19	0 - 82,18
Gutierrez <i>et al.</i> (1980)	37				3,467 ( $\pm$ 0,961)	1,72 ( $\pm$ 0,085)		
Scorza <i>et al.</i> (1996)	38	1,1082 ( $\pm$ 0,1282)	1,576 ( $\pm$ 0,1851)	0,8910	9,2914 ( $\pm$ 9,4573)	6,9722 ( $\pm$ 3,08)	38,6	

mayores a 1 ( $P < 0,001$ ) (Iwao 1977, Taylor 1984). Los valores de los parámetros son similares a los estimados por Gutierrez *et al.*

(1980) en California (EE.UU.) (Tabla 1). Scorza *et al.* (1996) también observaron que esta especie se distribuye en forma agregada.

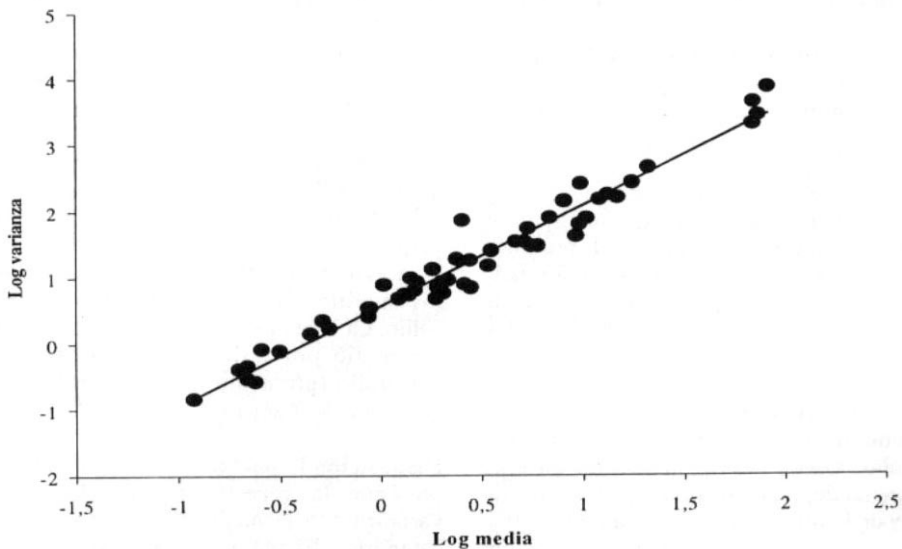


Figura 1. Relación entre el logaritmo de la varianza y el logaritmo de la densidad media de *T. trifolii* por tallo de alfalfa.

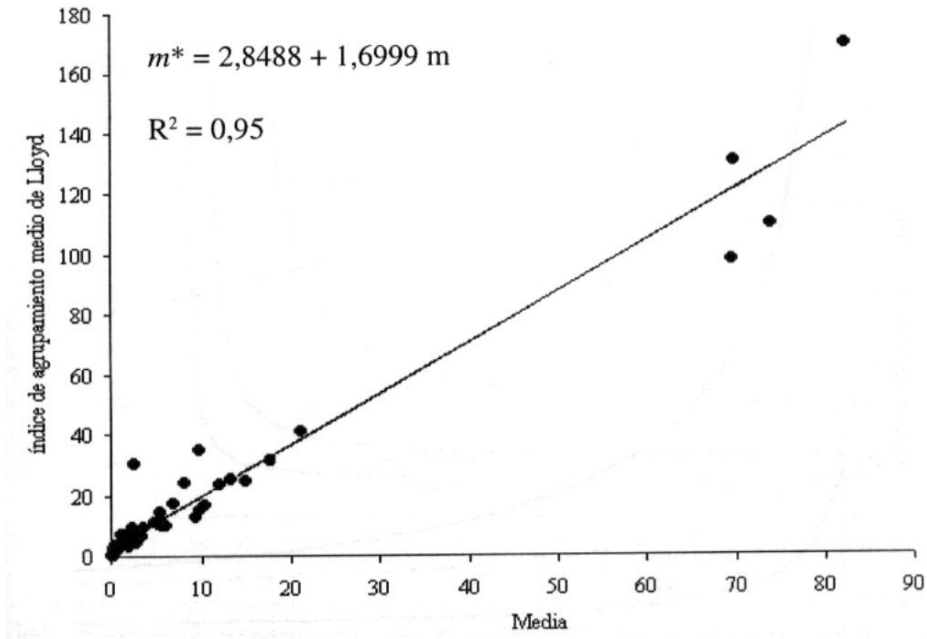


Figura 2. Relación entre el índice de agrupamiento medio de Lloyd y la media de *T. trifolii* por tallo de alfalfa.

La unidad básica de agregación calculada para adultos alados fue de un individuo. Esto deriva del análisis del valor de  $\alpha$  (Ec. 3; Tabla 1), ya que este parámetro no resultó significativamente diferente de cero (test t;  $P < 0,05$ ) (Iwao 1977; Taylor 1984). El valor de  $\alpha$  estimado para los otros estados fue significativamente superior a cero, indicando que los grupos tienen densidades promedio de más de un individuo. Esta observación podría estar relacionada con la mayor capacidad de dispersión de los pulgones alados. Por otra parte, Garat *et al.* (1999) también observaron mayor densidad media en grupos de ninfas de delfácidos (Homoptera) que en adultos macrópteros.

La disposición espacial de *T. trifolii* no varía según la variedad de alfalfa. Los valores de los parámetros de ambas regresiones presentados en este artículo y por Gutierrez

*et al.* (1980) difieren de aquellos calculados por Scorza *et al.* (1996), aunque este último obtuvo un bajo índice de regresión ( $R^2$ ).

**Número Mínimo de Muestras.** El número mínimo de muestras varía directamente con la precisión y con el grado de agregación de los individuos. Dichas relaciones se reflejan en la Figura 3, en donde la pendiente correspondiente al total de individuos ( $b=1,514$ ) es mayor que en la recta de adultos alados ( $b=1,149$ ). Por ejemplo, un promedio de 7 individuos por tallo exigiría la recolección de 70 y 20 muestras para el total de individuos y adultos alados, respectivamente.

**Planes de Muestreo Secuenciales.** Para el diseño de planes de muestreo se relacionan las cantidades acumuladas de individuos ( $T_n$ )

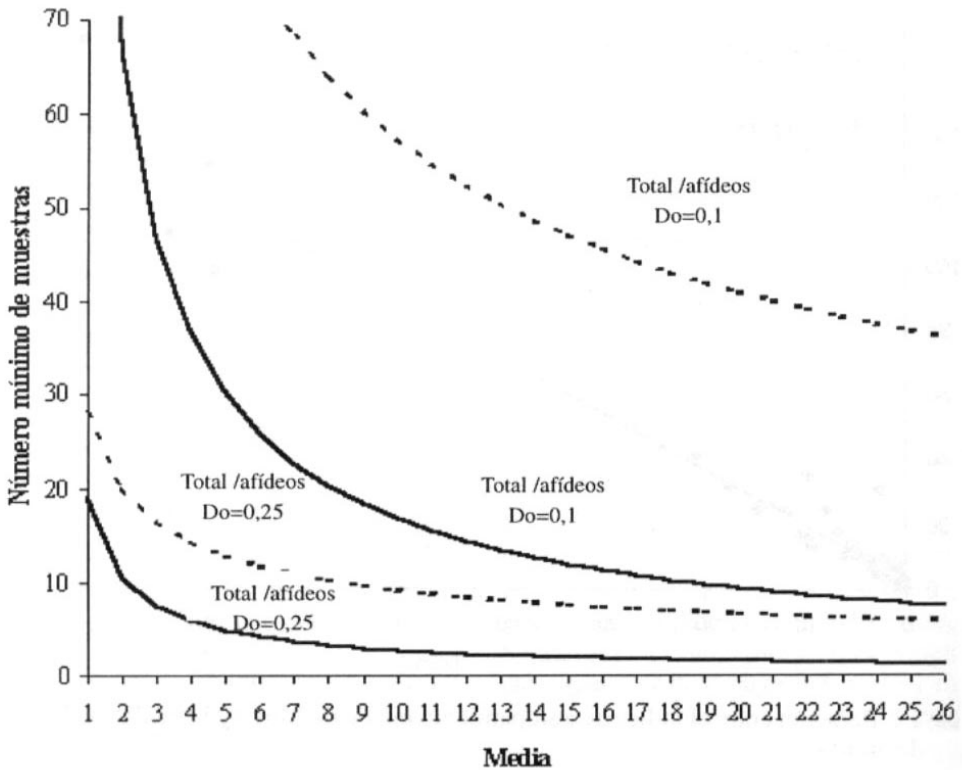


Figura 3. Número mínimo de muestras necesarias para estimar la densidad poblacional con dos niveles de precisión ( $Do = 0,1$  y  $0,25$ ) para el número total de áfidos y de adultos alados por tallo basado en la Ley de Potencia de Taylor.

y su correspondiente cantidad de muestras. Cuando la cantidad de individuos acumulados iguale o supere la línea crítica ( $T_n$ ), se podrá estimar la población con una precisión conocida, como  $T_n/n$ . La Figura 4 muestra que al aumentar la precisión disminuye la cantidad de muestras necesarias.

Es importante destacar las diferencias en la sensibilidad de cada método a los cambios de densidad, en especial a bajas densidades poblacionales, el método de Green requiere menor número de muestras que el método de Kuno, en especial cuando el grado de agregación es alto (Figura 5). Dichas diferencias reflejan distintos valores predichos

en la relación  $s^2/m$  por la Ley de Potencia de Taylor y la regresión de Iwao (Hutchison *et al.* 1988).

El criterio de elección del plan de muestreo que se propone en este trabajo se basa en utilizar el plan secuencial de muestreo basado en aquellas regresiones con mayor  $R^2$ . Utilizando los valores de los parámetros obtenidos según la Ley de Taylor resumidos en la Tabla 1 y la Ec. (6), es posible calcular distintos planes de muestreos.

El plan de muestreo secuencial para toma de decisión presentado en la Tabla 2 fue construido siguiendo la Ec. (8) para un  $\alpha = 0,2$ . Las varianzas obtenidas por la Ley de

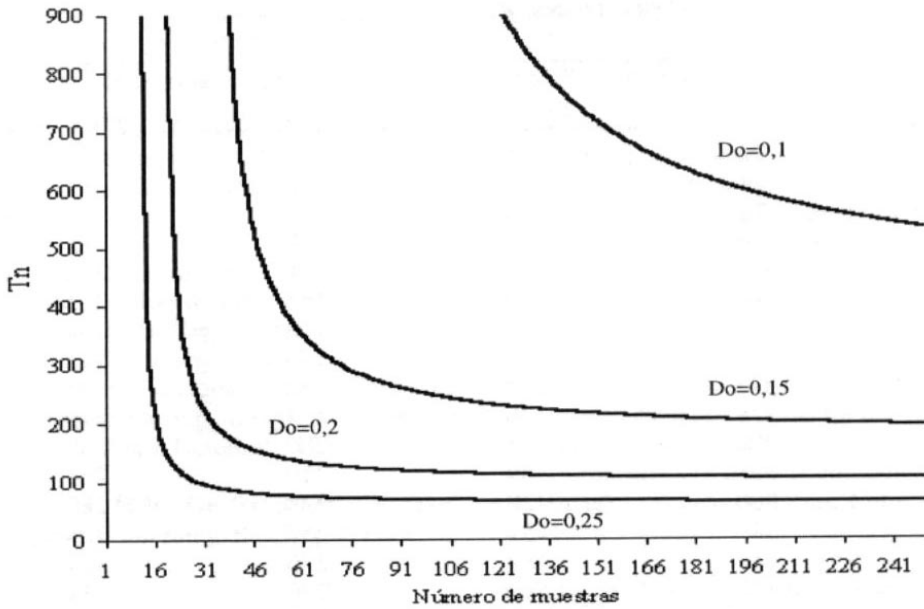


Figura 4. Plan secuencial de muestreo para estimar la densidad poblacional del total de individuos por tallo de alfalfa, según la metodología de Kuno, con cuatro niveles de precisión (Do = 0,1; 0,15; 0,2 y 0,25).

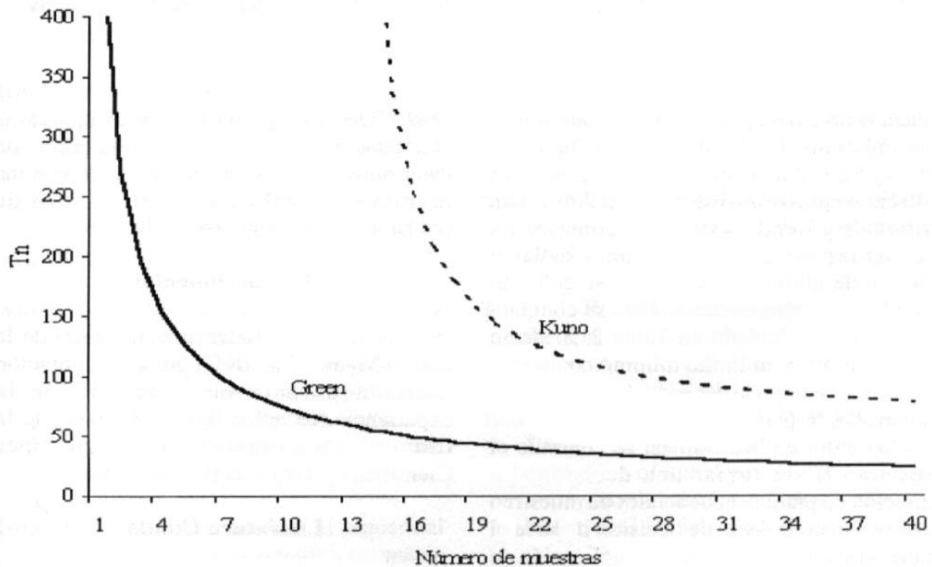


Figura 5. Planes secuenciales de muestreo desarrollados por Green y Kuno basados en la disposición espacial de ninfas pequeñas (Do = 0,25).

Tabla 2. Plan secuencial de muestreo para evaluación de la infestación por *T. trifolii* en alfalfa utilizando la ecuación  $T_n = UDE \cdot n \pm t(n \cdot S_{UDE}^2)^{1/2}$  (Scorza et al. 1996)

Nro.de tallos	Altura de tallos > 30 cm		Altura de tallos < 30 cm	
	Inferior	Superior	Inferior	Superior
1	22	38	14	26
2	48	72	31	49
3	76	104	49	71
4	103	137	68	92
5	131	169	86	114
6	160	200	105	135
7	188	232	124	156
8	217	263	143	177
9	245	295	162	198
10	274	326	181	219
11	302	358	200	240
12	331	389	219	261
13	360	420	238	282
14	389	451	257	303
15	418	482	276	324
16	447	513	296	344
17	476	544	315	365
18	505	575	334	386
19	534	606	353	407
20	563	637	373	42

Potencia de Taylor para el total de individuos, con ambos niveles de UDE ( $S_{UDE}^2$ ), fueron de 97,13 y 52,57 para plantas mayores y menores a 30 cm respectivamente. El procedimiento a utilizar siguiendo este plan consiste en recorrer la parcela en observación y sumar el número de áfidos a medida que se colectan los tallos. El número acumulado se compara con el valor calculado en Tabla 2. Si dicho valor es inferior al límite mínimo o superior al máximo se toma la decisión de no controlar o controlar, respectivamente. Cuando el valor se sitúa entre ambos límites, se continúa el muestreo hasta tomar una decisión. La adopción de planes secuenciales de muestreo para su uso en la toma de decisión implica el manejo racional de la plaga. La aplicación de estos planes reduce el número de muestras requerido para una toma de decisión (Nault

et al. 1996). Esto permite, además, estimar la abundancia de *T. trifolii* con una precisión determinada proveyendo a investigadores una herramienta válida para el estudio de poblaciones de áfidos en alfalfa.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al personal de la E.E.A. Manfredi de INTA por la colaboración prestada durante el desarrollo de la experiencia. El autor JDE es Becario de la Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

### Literatura Citada

Delfino, M.A. 1990/91. Reconocimiento de los áfidos (Homoptera: Aphidoidea)



- encontrados en alfalfares (Medicago sativa L.) de la Argentina. Rev. Fac. Agr. 66/67: 11-21.
- Dickson, R.C., J. E. Laird & G. R. Pesho. 1955.** The spotted alfalfa aphid (Yellow Clover Aphid on alfalfa). Hilgardia 24: 93-118.
- Garat, O., V.E. Trumper, D.E. Gorla & N. Perez Arguindeguy. 1999.** Spatial pattern of the Rio Cuarto corn disease vector, *Delphacodes kuscheli* Fennah (Homoptera: Delphacidae), in oat fields in Argentina and design of sampling plans. J. Appl. Entomol., 123: 121-126.
- Green, R.H. 1970.** On fixed precision level sequential sampling. Res. Popul. Ecol. 12: 249-251.
- Gutierrez, A.P., C. G. Summer & J. Baumgaertner. 1980.** The phenology and distribution of aphids in California alfalfa as modified by ladybird beetle predation (Coleoptera: Coccinellidae). Can. Ent. 112: 489-495.
- Hutchison, W.D., D. B. Hogg, M. A. Poswal, R. C. Berberet & G. W. Cuperus. 1988.** Implications of the stochastic nature of Kuno's and Green's fixed-precision stop lines: sampling plans for the pea aphid (Homoptera: Aphididae) in alfalfa as an example. J. Econ. Entomol. 81: 749-758.
- Iwao, S. 1977.** The m-m statistics as a comprehensive method for analyzing spatial patterns of biological populations and its application to sampling problems, pp.21-46. In M. Morisita (ed), Studies on Methods of Estimating Population Density. Tokio Press, Japan.
- Kuno, E. 1969.** A new method of sequential sampling to obtain population estimates with a fixed level of precision. Res. Popul. Ecol. 11: 127-136.
- Kuno, E. 1991.** Sampling and Analysis of Insect Populations. Annu. Rev. Entomol. 36: 285-304.
- Kusmayadi, A, E., Kuno & H. Sawada. 1990.** The spatial pattern of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae) in west Java, Indonesia. Res. Popul. Ecol. 32: 67-83.
- Lloyd, M. 1967.** Mean Crowding. J. Anim. Ecol. 36: 1-30.
- Nault, B.A. & G.G. Kennedy. 1996.** Sequential sampling plans for use in timing insecticide applications for control of European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae) in potato. J. Econ. Entomol., 89: 1468-1476.
- Scorza, R.P. Jr., L.H. de Aquino & V.H. Paez Bueno. 1996.** Plano de amostragem sequencial para avaliação de *Therioaphis trifolii* (Monell) F. *maculata* (Homoptera: Aphididae) em Albany, Califórnia, EUA. Ciência e Agrotec. Lavras, 20: 346-351.
- Southwood, T.R.E. 1978.** Ecological methods, with particular reference to the study of insect populations. Chapman & Hall, London, 524 p.
- Spada, M. del C. 1994.** Avances en alfalfa ensayos territoriales. E.E.A. Manfredi (INTA), Año 4, Nro. 4, 72 p.
- Taylor, L.R. 1984.** Assessing and interpreting the spatial distributions of insect population. Ann. Rev. Entomol. 29: 321-357.
- Ward, S.A., R. Rabbinge & W.P. Pimentel. 1985.** The use of incidence count for estimation of aphid population. 1. Minimum sample size for required accuracy. Netherland J. Plant Pathol. 91: 93-99.