

Bioestadística en Cultivos Perennes

RICARDO MARTINEZ B.¹

Resumen. Por definición, los cultivos perennes viven más tiempo y crecen más que los cultivos anuales; por lo tanto, en los experimentos con ellos se tropieza con problemas especiales. Los experimentos con frecuencia duran varios años, así que las plantas están sujetas a riesgos por más largo tiempo, aumentando la posibilidad de accidentes y así generar datos desbalanceados. La naturaleza tiene más oportunidades de eventos inconvenientes como inundaciones o caídas de plantas por el viento. Un trabajador descuidado tiene más chance de dañar una planta con un tractor o de aplicar un tratamiento en la parcela equivocada. El diseño experimental, por lo tanto, debe poder tolerar el hecho inevitable de los datos faltantes.

Los objetivos experimentales pueden cambiar con el tiempo, requiriendo modificaciones en el plan original. Además, al concluir un experimento se puede tener interés en llevar a cabo un nuevo ensayo sobre las mismas plantas. Por lo tanto, es conveniente contar con diseños experimentales que sean flexibles. Diseños experimentales sencillos llenan, por lo general, los requisitos de los perennes; los diseños complejos son inflexibles y se presentan problemas computacionales y de interpretación cuando hay datos faltantes.

En los experimentos con perennes grandes probablemente se usarán parcelas con una sola planta o con pocas plantas. Proporcionalmente, la variabilidad de parcela a parcela se deberá menos a la variación debido a efectos ambientales y más a la variación de planta a planta comparado con los cultivos anuales.

El intento de reducir la varianza del error experimental con solo aumentar el número de replicaciones dentro de un diseño estándar puede no ser satisfactorio. Se ha encontrado que el análisis de covarianza es muy efectivo para reducir la varianza del error, esa efectividad va desde 25 hasta 50%.

Los datos muy seguramente incluirán varias observaciones recolectadas en varios períodos de tiempo sobre las mismas plantas. El análisis estadístico debe tener en cuenta esto y por lo tanto se sugieren algunos métodos de trabajo.

BIostatistics in Perennial Crops

Abstract. Perennial crops live longer than annual crops, and since they are likely to be larger, experiments with them face special problems. The experiments often taken several years, so the plants are at risk longer, increasing the likelihood of mishap and thus unbalanced data, so greater caution is needed in making plants about them. The experimental design must be able to tolerate the inevitable missing data. Whatever design is used, it must be thoroughly practicable, for it is no use producing a scheme on paper that will give endless trouble in the field.

Experimental objectives may change over time, requiring modification of the original study plan. It is better simple experimental design than complex ones, these are inflexible and are seriously undermined by missing data in both computation and interpretation.

Since perennials are in general larger than annuals are of greater interest as individuals, and will probably use single-plant or several plant plots, and environmental variation in rarely of sole importance. With perennials

¹ Profesor Asociado. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Agronomía, A.A. 14490, Bogotá, D.E.

the experimenter should not assume de error variation as positional, i.e environmental, some of it may well derive from the plants themselves.

Attempting to reduce error variance by merely increasing replication within a standar design may not be satisfactory. The analysis of covariance has proven to be very effective alternative in many cases, after reducing de error variance by 25-50%.

The data will probably include several observations collected over time on the same plant. The statistical analysis must take this into account, and several possible methods are suggested.

INTRODUCCION

Dos características que diferencian a los cultivos perennes de los anuales es que viven más tiempo y tienden a ser más grandes. Resulta, entonces, que todo lo que tiene que decirse respecto a la experimentación con perennes depende de esas dos observaciones triviales y de sus consecuencias.

El hecho que los cultivos anuales vivan más tiene muchas implicaciones que se deben encarnar en los diseños de experimentos y en los análisis posteriores. Primero, hay más tiempo para que toda suerte de accidentes y calamidades puedan ocurrir, lo cual significa que pueden presentarse desbalances en los datos. Segundo, los objetivos experimentales pueden cambiar con el tiempo; realmente, puede ocurrir que el experimento dure más que el experimentador y con el nuevo personal nuevos intereses se pueden presentar. Tercero, podemos desear ver la posibilidad de usar las mismas plantas para otro experimento una vez que el presente termine. Y cuarto, es muy posible que tengamos datos provenientes de diferentes semestres o años de las mismas plantas.

El que los perennes sean más grandes que los anuales también trae importantes implicaciones. Será común tener parcelas con una sola planta a con varias plantas; datos provenientes de plantas individuales (comparado con los provenientes de muchas de ellas en una parcela) será de mucho interés y con los perennes la variabilidad proveniente de planta a planta será una importante fuente de

variabilidad.

En el presente artículo se siguen muchas de las ideas expuestas por Swallow (1981) y Pearce (1976).

DISEÑOS EXPERIMENTALES PARA CONTROLAR VARIACION AMBIENTAL

Un hecho importante en los diseños de experimentos es el tratar de reducir la varianza del error experimental mediante la partición de variabilidad ajena a la natural, esto es, teniendo en cuenta la variación diferente a la debida a los tratamientos. Al hacer esto se espera incrementar el poder de las pruebas de significancia, afinando la habilidad para reconocer diferencias de tratamientos donde exista, y mejorando los estimativos de las medias de tratamientos y de las diferencias entre medias de tratamientos, reduciendo los errores estándar y acortando los intervalos de confianza.

Tradicionalmente, al llevar a cabo diseños de experimentos, se trata de controlar la variabilidad ambiental mediante el uso de cierto tipo de bloqueo en el diseño experimental. Estos diseños también se pueden usar con cultivos perennes, pero muy seguramente van a ser menos efectivos que con los cultivos anuales; con los perennes, las parcelas sólo contienen una o muy pocas plantas, así que la variación de parcela a parcela se debe menos al ambiente y más a la variación debida a la proveniente de planta a planta. Sin embargo, se espera que los efectos debidos a las diferencias ambientales crezcan con el tiempo, así que el valor del bloqueo en experimentos con perennes se espera que sea mayor en experimentos de largo tiempo.

Al seleccionar un diseño experimental, se debe preferir un diseño que sea manejable cuando se cuenta con pérdidas anticipadas y con un cierto nivel de desbalance de los datos, y que ofrezca cierto grado de flexibilidad cuando se cambian los objetivos o se desea continuar con las mismas plantas en experimentos subsecuentes. Así que, se prefieren diseños tan simples como sea posible. Diseños complejos como los confundidos o de bloques incompletos requieren de un punto de vista utópico de los diseños de experimentos, de manera que usar un diseño

complejo es buscarse problemas. En la reducción de la varianza del error es bueno darse cuenta que no vale la pena arriesgarse anticipadamente a tener datos faltantes. Los datos no balanceados pueden convertir un diseño simple en uno complejo y un diseño complejo en una pesadilla, y los problemas podrán ser de interpretación y de computación. Además, y dado que muchas de la variación en perennes provino de las mismas plantas, y no del ambiente, entonces las ganancias en precisión serán probablemente menores de lo que pueda imaginarse. Además, los diseños complejos ofrecen poca flexibilidad para modificaciones o conversiones. Lo siguiente corresponde a unos breves comentarios sobre los diseños más simples que poseen algún potencial para experimentos de campo con perennes.

Diseño completamente aleatorizado. Este diseño vale la pena considerarlo para experimentos pequeños y cuando se puede considerar que tanto el material experimental como las condiciones ambientales presentan un buen grado de homogeneidad. Los datos no balanceados no presentan ningún problema.

Diseños de Bloques Completos Aleatorizados. Este es el diseño más comúnmente usado tanto en perennes como en anuales. En este diseño, bloques y tratamientos son ortogonales, y aún se tienen bloques completos aleatorizados no importa si se pierde o se descarta un bloque completo o un tratamiento completo, tal como puede ocurrir si un bloque se inunda o un tratamiento fracasa. La pérdida de unidades experimentales se puede manejar fácilmente.

Es frecuente superimponer nuevos tratamientos sobre los viejos tratamientos los cuales fueron distribuidos de acuerdo con un diseño de bloques completos aleatorizados, siempre y cuando que el diseño original se mantenga intacto. Los detalles de cómo pueda hacerse esto depende del número de bloques y del número de los viejos y los nuevos tratamientos. Los viejos tratamientos debieron aleatorizarse dentro de cada bloque, los nuevos tratamientos se superimponen sobre los viejos tratamientos con las restricciones de un cuadrado latino, esto es, cada nuevo tratamiento se asigna una vez a cada viejo

tratamiento. Las fuentes de variación y los grandes de libertad se presentan como un Cuadrado Latino estándar, donde los viejos tratamientos y los bloques corresponden a filas y a columnas respectivamente. El uso del residual como error supone que las interacciones no existen.

Diseño Cuadrado Latino. A menudo se dice que el Cuadrado Latino es de uso limitado debido a que el número de filas, columnas, y tratamientos deben ser iguales, y que los cuadrados latinos pequeños proporcionan pocos grados de libertad para el error, mientras que los grandes dan más replicaciones que las deseadas y que producen muchas filas y columnas para controlar los efectos ambientales. En los cuadrados latinos los datos faltantes no producen demasiado problema. En este diseño también se pueden superimponer nuevos tratamientos sobre los viejos, siempre y cuando el número de los viejos y nuevos sea igual, y que las interacciones sean prácticamente cero. El procedimiento de distribución es muy semejante a lo hecho en bloques completos aleatorizados. Ahora, cada nuevo tratamiento debe aparecer una vez en cada fila, una vez en cada columna, y una vez en cada viejo tratamiento. El diseño resultante es un Cuadrado Greco-Latino.

Diseño de Parcelas Divididas. Estos diseños que por definición involucran una estructura factorial, corrientemente se usan por conveniencia del manejo de ciertos factores que implican el uso de tamaño de parcelas relativamente grandes, como cuando se trabaja con aspersiones de cierto producto. El primer factor se aplica a áreas grandes (parcelas principales), las cuales a su vez se subdividen en áreas más pequeñas (subparcelas) para acomodar los niveles de otro factor. También se usan para casos donde se busca precisión diferente; se sacrifica precisión de un factor de las parcelas principales para ganar precisión del factor que está en las subparcelas así como de la interacción respectiva de los factores.

USO DE COVARIABLES

Como ya se ha dicho, los experimentos con perennes llevan largo tiempo, son de tamaño grande y son costosos. Las mismas

parcelas ocupan mucho espacio, y además se necesitan terreno extra para los bordes, las separaciones, etc. Cuando se comparan variedades o métodos de poda, es suficiente con dejar el espacio adecuado entre plantas para eliminar la competencia y permitir la movilización de los equipos; con aspersiones, infecciones, tratamientos al suelo, es necesario controlar el efecto de bordes para eliminar el efecto que los tratamientos puedan ejercer sobre parcelas vecinas. Se necesita encontrar formas de reducir los errores estándar y mejorar el poder de las pruebas de hipótesis además de sólo aumentar el número de repeticiones del diseño experimental estándar. El análisis de covarianza se puede aplicar y es efectivo; vale la pena el uso de covariables además de, y no en vez de, el diseño experimental tradicional.

Cuando se mide la covariable en las propias plantas experimentales, a la covariable se le conoce como "calibración". La calibración se ha usado con éxito en varios perennes. La calibración compara el comportamiento bajo tratamientos con aquellas que se hubiese obtenido en ausencia de los tratamientos. Funciona mejor en parcelas con una sola planta. Por "cultivo" (o rendimiento) como la variable dependiente de interés, se han usado covariables o calibradores, como: el cultivo en el año o años previos, diámetro o circunferencia del tronco, número de yemas, y tasa visual de las vides; poco se sabe respecto a la utilidad de la calibración para otras variables dependientes diferente al cultivo (o rendimiento). El Cuadro 1 resume alguna literatura sobre el uso de covariables donde la variable dependiente de interés es el rendimiento.

El uso de las covariables o calibración generalmente reduce la varianza del error entre 25 y 50% de acuerdo con Moore y Pearce (1976); Pearce (1949) y Pearce y Brown (1960). La calibración suele ser más efectiva cuando se realiza en plantas ya establecidas que no hayan sido sometidas recientemente a tratamientos. Sin embargo, la calibración puede servir parcialmente para controlar efectos residuales de tratamientos pasados, así como por diferencias genéticas y ambientales. La calibración no se puede usar cuando son relacionados desde el co-

Cuadro 1. Algunas aplicaciones del uso de covariables (calibración) donde el rendimiento es la variable de interés.

Cultivo	Covariables preferidas	Ref.
Manzano	Dos años previos de producción	(5)
Manzano	Circunferencia del tronco	(8)
Manzano	Circunferencia del tronco luego de períodos de buen crecimiento; producción pobre; rendimiento previo luego de períodos de alto rendimiento.	(9)
Manzano	Area de la sección transversal del tronco.	(18)
Manzano	Circunferencia del tronco	(20)
Manzano	Producción previa	(21)
Albaricoque	Circunferencia del tronco	(11)
Cacaotero	Producción previa	(19)
Cacaotero	Dos años previos de producción	(3)
Café	Diámetro del tallo	(1)
Vid	Tasa visual del tallo	(13)
Naranja	Producción previa	
Peral	Producción previa y circunferencia del tronco.	(9)

mienzo (e.g. variedades) o cuando se han iniciado tempranamente (e.g. métodos de injerto o podas). Como regla, se deben evitar aquellas covariables que están relacionadas con los tratamientos.

DATOS RECOLECTADOS EN VARIOS AÑOS SOBRE LAS MISMAS PLANTAS

En los perennes, los datos típicos provienen de un solo experimento realizado durante varios años, y corresponden a medidas repetidas sobre las mismas plantas. Hay varias alternativas posibles para el análisis de los datos. Se puede simplemente sumar para todos los años para cada planta, y entonces

se analiza la respuesta total (producción total, crecimiento total). Si la respuesta total es la variable de interés, entonces este enfoque es el apropiado, pero se sacrifica la posibilidad para detectar la interacción entre tratamientos y los períodos de tiempo.

Por otro lado, puede dividirse el tiempo total del experimento en períodos de tiempo para el análisis, caso en el cual "período" se convierte en un nuevo factor en el conjunto de tratamientos. La variable dependiente sería el rendimiento dentro de cada período, y el análisis sería mediante un diseño de parcelas divididas en el tiempo. Los períodos usados se deben escoger con cuidado. Por ejemplo, muchos perennes son bianuales; para esos casos se deben definir períodos de dos años, mientras que períodos de un año llevarían a heterogeneidad en los errores experimentales. La suma sobre más de un año generalmente conlleva un efecto de suavización, dado que la mayoría de las producciones de los cultivos varían de año a año.

Otros enfoques también se han probado o sugerido. Stevens (1949) ha analizado de manera exitosa primero la producción total y luego por períodos. De otro lado, Steel (1955) ha sugerido un análisis multivariado tomando la producción de cada período como una variable diferente.

LITERATURA CITADA

1. Butters, R. 1964. Some practical considerations in the conduct of field trials of "Robusta" coffee. *J. Hort. Sci.* 39: 24-33.
2. Cochran, W.G. y G.M. Cox. 1957. *Experimental design*. 2nd ed. Wiley, New York.
3. Cunningham, R.K. y J.C. Burridge. 1959. The effect of the yield variability of amelonado cacao on the design of fertilizer field experiments in Ghana. *J. Hort. Sci.* 34: 229-237.
4. Monroe, R.J. y D.D. Mason. 1955. Problems of experimental inference with special reference to multiple location experiments and experiments with perennial crops. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 66: 410-414.
5. Moore, C.S. y S.C. Pearce. 1976. Methods of reducing crops variation in apples. *J. Hort. Sci.* 51: 533-544.
6. Parker, E.R. 1942. Adjustment of yields in an experiment with orange trees. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 41: 23-33.
7. Pearce, S.C. 1976. *Field experimentation with fruit trees and other perennial crops*. Commonwealth Bureau of Hort. and Plantation Crops. Tech. Comm. 23. 2nd ed. (rev). (Available from Commonwealth Agr. Bureau, Central Sales, Farnham Royal, Slough SL2 3BN, England).
8. Pearce, S.C. 1949. The variability of apples. I. The extent of crops variation and its minimization by statistical means. *J. Hort. Sci.* 25: 3-9.
9. Pearce, S.C. y A. H.F. Brown. 1960. Improving fruit tree experiments by a preliminary study of the trees. *J. Hort. Sci.* 35: 56-65.
10. Pearce, S.C. y C.S. Moore. 1976. Reduction of experimental error in perennial crops, using adjustment by neighboring plots. *Expt. Agr.* 12: 267-272.
11. Reed, H.S. 1929. Correlations between growth and fruit production of apricots. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 25: 247-249.
12. Rigney, J.A. 1946. Some statistical problems confronting horticultural investigators. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 48: 351-357.
13. Rigney, J.A., E.B. Morrow, y W.L. Lott. 1949. A method of controlling experimental error for perennial horticultural crops. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 45: 209-212.
14. Sharpe, R.H. y G.H. Blackmon. 1950. A study of plot size and experimental design with pecan yield data. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 56: 236-241.
15. Steel, R.G.D. 1955. An analysis of perennial crop data. *Biometrics* 11: 201-212.
16. Stevens, W.L. 1949. Análise estadística do ensaio de variedades de café. *Bragantia* 9: 103-123.
17. Swallow, V.H. 1981. Statistical approaches to studies involving perennial Crops. *J. Hort. Sci.* 16 (5): 634-636.
18. Suddw. R.H. y R.D. Anthony. 1929. The correlation of trunk measurements with tree performance in apples. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 25: 244-246.
19. Vernon, A.J. y M.G. Morris. 1964. Variability in West African peasant cocoa farms: time studies on Agodi cocoa yield. *J. Hort. Sci.* 39: 241-253.
20. Wilcox, J.C. 1940. Adjusting apple yields for differences in size of tree. *Sci. Agr.* 21: 139-148.
21. Yeager, A.F. y L.P. Latimer. 1940. Tree girth and yield as indicators of sub-sequent apple yield productivity. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 37: 101-105.