MISTURAS DE MODELOS "LOGIT", "PROBIT" E "COMPLEMENTO LOG-LOG"

SILVIO SANDOVAL ZOCCHI

Engenheiro Agrônomo

Orientadora: Prof^a. Dr^a. CLARICE G. B. DEMÉTRIO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Estatística e Experimentação Agronômica.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Julho - 1993

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCLQ/USP

Zocchi, Silvio Sandoval
Z84m Misturas de modelos "Logit", "Probit" e "Comple-
mento Log-Log". Piracicaba, 1993.
129p. ilustr.

Diss.(Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Distribuição de tolerância 2. Ensaio biológico
3. Estatística agrícola 4. Modelo matemático
I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,
Piracicaba

CDD 630.2195

MISTURAS DE MODELOS "LOGIT", "PROBIT" E "COMPLEMENTO LOG-LOG"

SILVIO SANDOVAL ZOCCHI

Aprovada em: 27.08.1993

Comissão julgadora:

Prof ^a . Dr ^a . Clarice Garcia Borges Demétrio	ESALQ/USP
--	-----------

Prof. Dr. Décio Barbin	ESALQ/USP
------------------------	-----------

Prof ^a . Dr ^a . Sheila Zambello de Pinho	IB/UNESP
--	----------

Prof^a. Dr^a. CLARICE G. B. DEMÉTRIO

Orientadora

MISTURAS DE MODELOS "LOGIT", "PROBIT" E "COMPLEMENTO LOG-LOG"

SILVIO SANDOVAL ZOCCHI

Aprovada em: 27.08.1993

Comissão julgadora:

Prof^ª. Dr^ª. Clarice Garcia Borges Demétrio ESALQ/USP

Prof. Dr. Décio Barbin ESALQ/USP

Prof^ª. Dr^ª. Sheila Zambello de Pinho IB/UNESP

Prof^ª. Dr^ª. CLARICE G. B. DEMÉTRIO

Orientadora

Dedico. com carinho.

Aos meus pais,

Ampélio e Maria Ignez.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra Clarice G. B. Demétrio, pela dedicação, permanente estímulo, valiosa orientação e sobretudo, pela grande amizade.

Aos docentes do Curso de Pós-graduação em Estatística e Experimentação Agronômica da ESALQ-USP, pelo conhecimento e experiência transmitidos.

Aos Professores Dr. Décio Barbin e Dra Sheila Zambello de Pinho, pelas valiosas sugestões.

Ao Prof. Dr. Gilberto Casadei de Batista, Chefe do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pela orientação na área entomológica e auxílio prestado através da cessão de instalações, material e pessoal especializado.

Ao Doutorando Valmir Antônio Costa, à Funcionária Maria Edilene de Oliveira e à Graduanda Erica Harada, pelo inestimável apoio e amizade.

Ao Professor Dr. Sérgio Batista Alves, pela cessão de dados de experimentos realizados no Depto. de Entomologia, amizade e constante estímulo.

Aos professores Dr. Sinval Silveira Neto e Dr. Jerry Stimac, por conciliarem, junto com os demais professores do departamento, conhecimento, trabalho, companheirismo, boa vontade, otimismo e constante alegria.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Chefe do CNPDA-EMBRAPA, Dr. Clayton Campanhola, pelo auxílio prestado no planejamento dos

ensaios.

Aos funcionários do Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ-USP, pela cooperação e manifestação de solidariedade.

A colega Dinara Fernandez, pelo companheirismo e amizade.

A Maria Izalina Alves, pela excelente revisão da redação e presença amiga.

Ao Regente Norberto e amigos do Coral Luiz de Queiroz que através da música formaram uma feliz família.

A família Vieira: Norberto, Mari, André, Thais e Sofia, pela qual tenho imensa admiração e carinho.

Ao Mestre Gil e amigos Daniel e Dodo, da Associação Cordão-de-Ouro, pela sincera amizade e amor às raízes brasileiras.

Aos amigos André, Deleandro e Deleandrino, presentes em grandes momentos.

Aos companheiros Reginaldo e Juliano, que vêm me ensinando a aceitar como sou.

A Dona Joana, Dona Clarinda e Dona Yolanda pelo constante otimismo.

Aos que, colocando barreiras, me ensinaram a superá-las.

A todos que, de uma forma geral, colaboraram para a realização deste trabalho.

A Deus.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
SUMMARY	iii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAL	12
3.1. Ensaio de Resistência da Mosca (<i>Musca domestica</i>) ao Inseticida Deltametrina ...	12
3.1.1. Primeiro ensaio preliminar	14
3.1.2. Segundo ensaio preliminar	17
3.1.3. Ensaio definitivo	19
3.2. Ensaio de Sensibilidade de Um Isolado do Fungo <i>Metarhizium anisopliae</i> à Radiação Ultravioleta de 2.523 Å	21
3.3. Ensaio de Resistência dos Ovos de Uma Espécie de Verme (<i>Ostergagia Spp.</i>) do Carneiro, a Diferentes Concentrações da Droga Tiabendazol (TBZ)	23
4. MÉTODOS	26
4.1. As Funções de Distribuição de Tolerâncias	
4.2. Modelo Para População Com Uma Única Distribuição de Tolerâncias	31
4.3. Modelo Para População Com Uma Mistura de Duas ou Mais Distribuições de Tolerâncias Com Diferentes Parâmetros	33

	Página
4.4. Obtenção da Distribuição de Tolerâncias Para Um Ensaio de Dose e Resposta	36
4.5. Estimação dos Parâmetros	39
4.6. Obtenção das Expressões Para o Cálculo de $\partial P_i / \partial \phi_u$	42
4.6.1. Não considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade ..	42
4.6.2. Considerando a existência de uma taxa natural c de mortalidade	43
4.6.3. Obtenção das expressões para o cálculo das derivadas das funções de distribuição de tolerâncias $F(d)$ em relação aos parâmetros do modelo	44
4.7. Expressões Gerais Para a Obtenção do Vetor de Escores e da Matriz de Informação Para os Modelos Logístico e "Complemento-log-log"	46
4.7.1. Não considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade ..	46
4.7.2. Considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade	50
4.7.3. Exemplo 1 - Mistura de duas distribuições logísticas com diferentes parâmetros, não considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade	52

4.7.4. Exemplo 2 - Mistura de duas distribuições logísticas com diferentes parâmetros, considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade	55
4.8. Solução das Equações de Máxima Verossimilhança Através de Uma Modificação do Método de Newton-Raphson	57
4.9. Solução das Equações de Máxima Verossimilhança Através do Algoritmo EM, Considerando Uma Taxa Natural de Mortalidade Conhecida	58
4.9.1. Etapa E	58
4.9.1.1. Considerando a existência de apenas duas subpopulações	59
4.9.1.2. Considerando a existência de r subpopulações	61
4.9.2. Etapa M	61
4.9.3. Critério de parada	62
4.10. Adequação do Modelo	62
4.11. Doses Letais. Estimação por Ponto e por Intervalo	64
4.12. Planejamento de Ensaios de Dose e Resposta	67
4.12.1. Delineamento ótimo-D local	68
4.12.2. Delineamento ótimo-D bayesiano ..	75

	Página
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
5.1. Ensaio de Resistência da Mosca (<i>Musca domestica</i>) ao Inseticida Deltametrina ...	76
5.1.1. Primeiro ensaio preliminar	76
5.1.2. Segundo ensaio preliminar	79
5.1.3. Planejamento do ensaio definitivo	86
5.1.4. Ensaio definitivo	88
5.2. Ensaio de Sensibilidade de Um Isolado do Fungo <i>Metarhizium anisopliae</i> à Radiação Ultravioleta de 2.523 Å	96
5.3. Estudo da Resistência dos Ovos de Uma Espécie de Verme (<i>Ostergagia Spp.</i>) do Carneiro, a Diferentes Concentrações da Droga Tiabendazol (TBZ)	103
6. CONCLUSÕES	112
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
APÊNDICE	118

MISTURAS DE MODELOS "LOGIT", "PROBIT" E "COMPLEMENTO-LOG-LOG"

Autor: SILVIO SANDOVAL ZOCCHI

Orientadora: PROF^a. DR^a. CLARICE G. B. DEMÉTRIO

RESUMO

Nos ensaios de dose e resposta, geralmente são aplicadas diferentes intensidades (doses) de um estímulo (produto) a diferentes grupos de uma população de indivíduos, que poderão responder ou não. A dose máxima que cada indivíduo tolera é chamada tolerância e no caso de se considerar toda a população, ter-se-á uma distribuição de tolerâncias.

Muitas vezes, porém, dentro de uma mesma população, existe uma mistura de indivíduos de diferentes sexos, raças, estágios de desenvolvimento, etc., caracterizando subpopulações com diferentes distribuições de tolerâncias. LWIN & MARTIN (1989) apresentam uma mistura de modelos "probit". Neste trabalho, faz-se um estudo geral

para misturas de modelos "probit", "logit" e "complemento-log-log".

Para a estimação dos parâmetros desses modelos, utilizou-se o método de escores de Fisher e uma modificação do algoritmo EM, implementados através dos pacotes computacionais Excel 4.0 for Windows e GLIM.

Para exemplificar essa metodologia, foi conduzido e analisado um ensaio de resistência da mosca (*Musca domestica*) ao inseticida deltametrina. Analisou-se, ainda, um ensaio de sensibilidade de um isolado do fungo *Metarhizium anisopliae* a diferentes doses de radiação e reanalisou-se o ensaio de resistência dos ovos do verme *Ostergagia Spp.* a diferentes doses de tiabendazol (TBZ), apresentado por LWIN & MARTIN (1989).

Observou-se a adequação do método aos casos em que havia razões biológicas para a existência de uma mistura de distribuições, confirmada pelo mau ajuste de modelos para uma única distribuição. Confirmando o que afirmaram TITTERINGTON & MORGAN (1977), observou-se, ainda, na estimação dos parâmetros do modelo de misturas, a menor velocidade de convergência do algoritmo EM, quando comparado com o método de Newton-Raphson modificado (método de escores de Fisher)

MIXTURES OF LOGIT, PROBIT AND COMPLEMENT-LOG-LOG MODELS

Author: SILVIO SANDOVAL ZOCCHI

Adviser: PROF. DR. CLARICE G. B. DEMETRIO

SUMMARY

It is very common in dose-response essays to apply different intensities (doses) of a stimulus to different groups of a population of individuals, which can answer or not. The maximum dose which each individual tolerate is called tolerance and thus there is a distribution of tolerances for the population.

Several times, although, the population is a mixture of individuals of different species, sexes, development stages, etc., which define sub-populations with different tolerance distributions. LWIN & MARTIN (1989) present a model for probit mixtures. This work is a general study comparing mixtures of probits, logits and complement-log-log. For the estimation of the parameters, it

was used the Fisher scoring method and a modification of the EM algorithm, implemented using Excel 4.0 for Windows and GLIM.

One essay of fly resistance to the deltamethrin insecticide was conducted and analysed to exemplify the method. An essay of sensibility of one isolate of the fungus *Metarhizium anisopliae* to different radiation doses and the essay presented by LWIN & MARTIN (1989) were also analysed.

It was verified that the method was good for the cases for which there were biological reasons for a mixture. Also it was confirmed what said TITTERINGTON & MORGAN (1977), that the EM algorithm is very slow to converge when compared to the modified Newton-Raphson method.

1. INTRODUÇÃO

Os ensaios de dose e resposta são muito utilizados em Entomologia, Zoologia, Tecnologia de Sementes, etc. Assim, por exemplo, em Entomologia, são aplicadas diferentes doses de um inseticida a diferentes grupos de uma mesma população de insetos. Em cada um desses grupos, o inseto poderá tolerar ou não a dose aplicada. A tolerância ao inseticida varia de um indivíduo para outro dentro da população o que determina, portanto, uma distribuição de tolerâncias.

As distribuições de tolerâncias mais frequentemente usadas são a distribuição normal, a logística e a do valor extremo. O problema usual, nos ensaios em questão, consiste em se estimar os parâmetros da distribuição escolhida. Em alguns casos, porém, a população não apresenta uma única distribuição, mas sim uma mistura de duas ou mais distribuições de tolerâncias.

Ainda na área de Entomologia, por exemplo, muitas vezes são realizados ensaios de dose e resposta tendo como um dos objetivos principais a determinação de doses que

matam uma certa porcentagem da população de insetos, chamadas doses letais. Nesses ensaios as doses crescentes de um determinado produto são aplicadas a grupos diferentes de insetos sendo feitas as contagens do número de insetos mortos. Sabe-se, porém, que para muitas espécies, os insetos respondem de maneira diferente às doses, dependendo do sexo, ou seja, machos e fêmeas têm distribuições de tolerâncias diferentes. Assim, uma das soluções mais utilizadas é a condução de ensaios separados para machos e fêmeas. Dessa forma, podem-se estimar separadamente os parâmetros da distribuição das tolerâncias para as fêmeas e para os machos, assim como as respectivas doses letais. Essa solução resolve parte dos casos, mas não quando o processo de sexagem, separação dos insetos por sexo, for muito caro ou difícil de ser realizado. Além disso, na natureza, as populações ocorrem na forma de misturas, não só de sexos diferentes mas de espécies, raças, estágios de desenvolvimento e idades diferentes.

Nesses casos, torna-se necessária a utilização de um modelo alternativo em que existem misturas de distribuições, como o de mistura de modelos "probit", proposto por LWIN & MARTIN (1989).

Como objetivo principal do presente trabalho, pretende-se estender tal estudo, para misturas de modelos "logit" e "complemento-log-log".

Para estimar os parâmetros desses modelos,

será utilizado o método de escores de Fisher, implementado através do pacote computacional Excel 4.0 for Windows.

Como método alternativo, utilizar-se-á uma modificação do algoritmo EM, implementado através do pacote computacional GLIM ("Generalized Linear Interactive Modelling", PAYNE, 1986).

Como ilustração dos modelos, pretende-se planejar e conduzir um ensaio de toxicidade do inseticida deltametrina a moscas (*Musca domestica*) adultas, que teoricamente apresentam respostas diferentes segundo o sexo. Pretende-se, ainda, analisar os dados provenientes de um ensaio de sensibilidade do fungo *Metarhizium anisopliae* a diferentes doses de radiação ultravioleta, assim como de um ensaio de resistência dos ovos do verme *Ostergagia Spp.* do carneiro à droga tiabendazol.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Segundo ASHTON (1972), devemos considerar dois componentes nos ensaios biológicos: um é a intensidade do estímulo, que pode ser uma dose de uma droga ou veneno, e o outro é o indivíduo, por exemplo, um inseto ou uma planta, que vai receber o estímulo e como consequência, produzir uma resposta. Quando a resposta é binária, a sua ocorrência ou não, vai depender da intensidade do estímulo aplicado. Para qualquer indivíduo, existe um certo nível de intensidade do estímulo abaixo do qual a resposta não ocorre e acima do qual ocorre, o que é chamado tolerância. Essa tolerância varia de um indivíduo para o outro dentro da população, o que determina, portanto, uma distribuição de tolerâncias.

Se uma dose d é dada à população toda e $f(t)$ é a função densidade de probabilidade das tolerâncias, todos os indivíduos com tolerância abaixo de d irão responder ao estímulo e a probabilidade P de haver resposta será dada por:

$$P = P(T \leq d) = F(d) = \int_{-\infty}^d f(t) dt \quad . \quad (1)$$

A probabilidade P de resposta tem propriedades de uma distribuição contínua de probabilidades e tem, geralmente, formato sigmóide. A fim de que procedimentos comuns de regressão linear simples possam ser usados para a estimação inicial dos parâmetros do modelo, a idéia é usar uma transformação que linearize essa curva.

DOBSON (1990) descreve as principais distribuições de tolerâncias ou seja, a normal, a logística e a do valor extremo, e as transformações "probit", "logit" e "complemento log-log" que linearizam as distribuições acumuladas correspondentes. Além dessas distribuições, que possuem apenas dois parâmetros, MORGAN (1992) descreve os seguintes modelos: assimétrico de Aranda-Ordaz¹, que inclui os modelos "logit" e "complemento log-log" como casos particulares; modelo "quantit", baseado na distribuição ômega, proposto por Copenhaver & Mielke², que inclui, entre outras, as distribuições "logit" e uniforme; modelo logístico-cúbico, proposto por Morgan³, que é uma aproximação da distribuição ômega, com a vantagem de ser bem mais simples e evitar problemas de convergência na estimação dos seus parâmetros.

¹ ARANDA-ORDAZ, F. J. On two families of transformations to additivity for binary response data. Biometrika, London, 68(2): 357-64, 1981. (Correção: Biometrika, 70(1): 303).

² COPENHAVER, T. W. & MIELKE, P. M. Quantit analysis: a quantal assay refinement. Biometrics, Alexandria, 33: 175-87, 1987.

³ MORGAN, B. J. T. The cubic logistic model for quantal assay data. Applied Statistics, Oxford, 34(2): 105-19, 1985.

Esses modelos podem ser utilizados na análise da maioria dos ensaios biológicos, porém, como observou FAREWELL (1982), em alguns casos a distribuição pode ser modelada como uma mistura de distribuições unimodais conhecidas. Um exemplo claro de população heterogênea resultante de uma mistura é mencionado por Milicer⁴, citado por MORGAN (1992), que estudou as idades da primeira menstruação de 7000 meninas polonesas. Nesse caso, a heterogeneidade era provavelmente causada por uma mistura de meninas pertencentes a populações urbanas e rurais ou a diferentes grupos étnicos. Num outro exemplo em que razões biológicas justificaram a utilização do modelo de misturas, LWIN & MARTIN (1989) estudaram a resistência dos ovos de um verme do carneiro à droga tiabendazol, observando ovos provenientes de uma mistura de indivíduos resistentes e suscetíveis. Eles consideraram uma mistura de distribuições normais, estimando os seus parâmetros através da maximização direta da função de máxima verossimilhança e através de uma adaptação do algoritmo EM (DEMPSTER *et alii*, 1977) que reduz o problema da mistura de normais a uma série de modelos normais simples. Embora DEMPSTER *et alii* (1977) tenham garantido a convergência desse algoritmo, TITTERINGTON & MORGAN (1977), observaram que geralmente essa convergência é

⁴ MILICER, H. Age at menarche of girls in Wrocław, Poland, in 1966. Human Biology, Detroit, 40: 249-59, 1968.

lenta. De acordo com MORGAN (1992), as diferenças numéricas observadas entre as estimativas obtidas pelos dois métodos pode ser explicada por diferentes critérios de parada utilizados.

Quanto à condução de ensaios de dose e resposta, na Entomologia, existem várias formas de aplicação do inseticida. Um dos métodos mais utilizados em ensaios desse tipo, com a mosca doméstica (*Musca domestica*) é aplicação tópica. Esse método, utilizado por SULAIMAN *et alii* (1990), NAZER & AL-AZZEH (1986), PALMER *et alii* (1991), PALMER & CASIDA (1989) e outros, consta da aplicação de uma micro-gota do inseticida sobre o inseto, com uma concentração conhecida do produto, por meio de um micro-aplicador.

A grande vantagem desse método é a de se conhecer exatamente a quantidade do inseticida que cada inseto vai receber. Existem, no entanto, alguns problemas como os danos causados aos insetos na manipulação dos mesmos quando são pegos para receberem a dose do inseticida e no caso de um número grande de insetos, além de ser muito trabalhoso, pode levar a diferenças consideráveis nos tempos de exposição dos insetos ao produto, para uma mesma dose.

Outro método utilizado, segundo Campanhola⁵, é o de se aplicar o produto com uma certa concentração em um

⁵ CAMPANHOLA, C. (CNPDA-EMBRAPA, Jaguariúna, SP) Comunicação pessoal, 1992.

frasco e em seguida colocar os insetos dentro dos mesmos. Este último procedimento, utilizado com inseticidas de contato, pode ser adotado quando se tem uma grande quantidade de insetos por frasco.

Embora exista uma grande quantidade de métodos para testar inseticidas, que variam de acordo com a espécie e os objetivos do teste, esses métodos são geralmente bem padronizados e o ambiente é em grande parte controlado, mas as variações nos insetos são difíceis ou impossíveis de se eliminar. Entomologistas testando a mesma espécie de inseto dia a dia observam flutuações em seus resultados sem qualquer mudança considerável nas condições do teste ou no modo da coleta dos insetos. Assim, SUN (1960) descreve as condições, anteriores ao ensaio, que podem afetar a reação dos insetos aos inseticidas. Cita entre as principais condições pré-ensaio a temperatura e a umidade do ar, a espécie utilizada, a raça, o estágio de desenvolvimento, o sexo e a nutrição.

GAINES & MISTRIC (1960), por sua vez, descrevem e citam exemplos de como os fatores nutrição, temperatura, umidade, modo de manipulação dos insetos, densidade populacional e tipo de recipiente onde são colocados os mesmos, podem afetar os insetos e os resultados do bioensaio, durante a exposição dos mesmos aos inseticidas.

BEARD (1960) faz algumas considerações a respeito dos critérios que podem ser utilizados para se

determinar a ação tóxica de um inseticida, assim como o tempo entre a exposição dos insetos ao inseticida e a avaliação do ensaio.

Quanto ao planejamento dos ensaios, grande parte dos artigos em Entomologia para comparação de respostas a produtos químicos é baseada nos valores estimados das doses letais DL_{50} e DL_{90} (doses que matam respectivamente 50 e 90% dos indivíduos da população) e seus respectivos intervalos de confiança. Assim, esse tipo de experimento deve ser planejado de modo que esses parâmetros sejam bem estimados.

FINEY (1971) fornece um guia de delineamentos para a estimação precisa da DL_{50} que muitas vezes é utilizado impropriamente para a estimação de doses letais mais extremas como a DL_{90} .

Visando resolver esse problema, ROBERTSON *et alii* (1984) estudaram o efeito da seleção de doses e do número total de insetos usados no experimento na precisão das estimativas da DL_{90} e da DL_{50} . Concluíram que, sem se preocupar com o número de doses, as estimativas mais precisas da DL_{50} são obtidas quando as doses levam a porcentagens de mortalidade igualmente distribuídas entre 25 e 75%. Estimativas precisas para a LD_{90} requerem, no entanto, duas ou mais respostas menores ou iguais a 10% e a maioria entre 75 e 95%. Fornecem, ainda, um guia de delineamentos para ensaios com 3 a 8 doses e números totais de insetos iguais a 120, 240, 480 e 720. Para chegar a essas conclusões,

realizaram várias simulações pelo método de Monte Carlo para o modelo logístico, de acordo com o método descrito por SMITH *et alii* (1984).

ATKINSON & DONEV (1992), por sua vez, apresentaram a teoria para a obtenção de delineamentos ótimos baseados em diversos critérios de otimização. Dentre os vários tipos de delineamento ótimo descreveram o delineamento ótimo-D, baseado na minimização da variância geral dos parâmetros do modelo e o delineamento ótimo-C, baseado na minimização da variância de uma combinação linear dos parâmetros do modelo, combinação que poderia ser, por exemplo, o desenvolvimento em série de Taylor da função de uma certa dose letal. Assim, podemos verificar que surgirão diferentes delineamentos de acordo com o critério adotado.

ATKINSON & DONEV (1992) classificaram, ainda, os delineamentos ótimos como locais ou bayesianos, os locais, baseados unicamente nas estimativas dos parâmetros do modelo adotado, obtidas a partir de ensaios preliminares, e os bayesianos, baseados nas distribuições *a priori* dos parâmetros.

Com o objetivo de obter delineamentos ótimos eficientes de acordo com dois ou mais critérios ao mesmo tempo, ATKINSON *et alii* (1993) propuseram um critério geral denominado por eles critério "omnibus".

Na área dos delineamentos ótimos bayesianos, TSUTAKAWA (1972,1980) estudou a obtenção de delineamentos

específicos para ensaios de dose-resposta com doses igualmente espaçadas e números iguais de insetos por dose. CHALONER & LARNTZ (1989) estudaram a obtenção desses mesmos delineamentos, sem, no entanto, considerar as restrições impostas por TSUTAKAWA (1972,1980).

3. MATERIAL

O material utilizado consistiu dos resultados obtidos em diversos ensaios de dose e resposta apresentados a seguir.

3.1. Ensaio de Resistência da Mosca (*Musca domestica*) ao Inseticida Deltametrina

Um ensaio de dose e resposta em que se supunha que havia uma mistura de duas distribuições de tolerâncias foi conduzido no Departamento de Entomologia da ESALQ-USP em setembro de 1992. Devido à facilidade de criação, optou-se por utilizar adultos de mosca doméstica (*Musca domestica*) que teoricamente respondem de maneira diferente a uma dose de inseticida, de acordo com o sexo e portanto, esperava-se trabalhar com uma mistura de duas distribuições de tolerâncias, uma para as fêmeas e outra para os machos. Esperava-se, ainda, poder comparar os resultados obtidos considerando-se o modelo para misturas, com os obtidos a partir das análises considerando-se isoladamente os sexos.

A fim de evitar que houvesse uma mistura de indivíduos resistentes e indivíduos suscetíveis ao inseticida escolhido, procurou-se utilizar um que ainda não houvesse sido largamente utilizado no controle da mosca doméstica, no caso, a deltametrina.

Uma vez escolhidos a espécie e o inseticida, optou-se pelo método de aplicação do inseticida diluído em acetona, em frascos de vidro com a posterior colocação das moscas no interior dos mesmos. Alguns ensaios foram então conduzidos a fim de se determinarem a quantidade de moscas por frasco, a quantidade adequada de acetona para a diluição da deltametrina e o tempo mínimo de exposição das moscas ao CO_2 , utilizado como anestésico em três fases do experimento. Em seguida foi conduzido um ensaio com diferentes doses de deltametrina que chamou a atenção pelo fato de haver uma alta taxa de mortalidade, ao redor de 25%, na testemunha, o que poderia ter sido causado pela falta de água e alimentação. Assim, de forma a verificar a necessidade da alimentação durante a execução do ensaio, foi conduzido o chamado primeiro ensaio preliminar.

Em seguida, com o objetivo de se estimarem as doses a serem utilizadas no ensaio definitivo, foi conduzido o segundo ensaio preliminar com seis doses diferentes (incluída a testemunha) de deltametrina. Baseado nos resultados desse ensaio, foi então planejado e conduzido o ensaio definitivo, com dez doses diferentes (incluída a

testemunha) e três repetições por dose.

A seguir, são apresentados os procedimentos utilizados para o primeiro e segundo ensaios preliminares e para o definitivo, assim como os resultados obtidos em cada um deles.

3.1.1. Primeiro ensaio preliminar

O procedimento para esse ensaio (ver Figura 1) consistiu de :

1. Coletar aproximadamente 100 moscas do moscário, colocá-las dentro de um saco plástico e anestesiá-las com CO_2 por 6 minutos.
2. Passá-las para canaletas de cartolina de 25x4 cm para efetuar a contagem das 100 moscas necessárias por frasco e colocá-las dentro de um dos 6 frascos do ensaio.
3. Colocar um pedaço de algodão embebido com a solução 5% de sacarose no frasco e tampá-lo com um pedaço de filó de 15x15 cm preso por meio de um elástico.
4. Repetir os itens 1, 2 e 3 até que se tenham três frascos com o algodão com a solução de sacarose e três sem o algodão com a solução de sacarose.
5. Colocar, ao acaso, os 6 frascos no suporte de madeira sob ventilação contínua.
6. Dezesseis horas após a instalação do ensaio, anestesiá-las as moscas de cada frasco com CO_2 por 10 segundos e passá-las

para um saco plástico de 21x30 cm contendo uma folha de papel sulfite e um furo de 5x5 cm tampado previamente com pedaço de "voil" para permitir a ventilação.

7. Repetir o item 6 para todos os frascos e esperar 20 minutos para passar o efeito do anestésico.

8. Separar, em cada saco, as moscas "mortas" (sem capacidade de se fixarem na superfície da folha de papel sulfite) das vivas (com capacidade de se fixarem na folha de papel).

9. Anestesiá-las as moscas de todos os sacos com CO_2 e colocá-las em frascos (um para cada saco) contendo álcool, para a posterior sexagem.

Os resultados desse ensaio são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Número total de moscas (*Musca domestica*) e número de moscas mortas de acordo com o sexo e com o fornecimento ou não da alimentação.

Alimentação	Repetição	Machos	Fêmeas	Total de machos mais fêmeas
Não fornecida	1	33 (33) ¹	6 (63)	39 (99)
	2	36 (36)	12 (66)	48 (102)
	3	30 (31)	3 (69)	33 (100)
Fornecida	1	5 (25)	0 (78)	5 (103)
	2	5 (26)	0 (74)	5 (100)
	3	1 (19)	0 (82)	1 (101)

¹ Os números entre parênteses indicam o número total de moscas

Figura 1 - Esquema do procedimento utilizado para a condução do primeiro ensaio preliminar.

3.1.2. Segundo ensaio preliminar

O procedimento para esse ensaio consistiu de:

1. Preparar a solução estoque com a concentração 1000 μg de deltametrina por ml.
2. Preparar as diluições com as concentrações 100, 10, 1 e 0,1 $\mu\text{g/ml}$ de acetona.
3. Pipetar as diluições nos frascos e adicionar acetona para completar o volume final a aproximadamente 2 ml e tratar o frasco controle (testemunha) com 2 ml de acetona.
4. Tombar os frascos e rolá-los vagarosamente até o solvente se evaporar e deixá-los secarem totalmente.
5. Coletar aproximadamente 100 moscas do moscário, colocá-las dentro de um saco plástico e anestesiá-las com CO_2 por 6 minutos.
6. Passá-las para canaletas de cartolina de 25x4 cm para efetuar a contagem das 100 moscas necessárias e colocá-las dentro de um dos 6 frascos do ensaio, anotando o horário no frasco.
7. Colocar um pedaço de algodão embebido com a solução 5% de sacarose no frasco e tampá-lo com um pedaço de filó de 15x15 cm preso por meio de um elástico.
8. Colocar o frasco na estante preparada para o ensaio.
9. Repetir os itens 5 a 8 até todos os frascos serem utilizados.
10. Dezesseis horas após a hora marcada no frasco,

anestesiá-las com CO_2 por 10 segundos e passá-las para um saco plástico de 21x30 cm contendo uma folha de papel sulfite e um furo de 5x5 cm tampado previamente com pedaço de "voil" para permitir a ventilação.

11. Repetir o item 10 para todos os frascos e esperar 20 minutos para passar o efeito do anestésico.

12. Separar, em cada saco, as moscas "mortas" (sem capacidade de se fixarem na superfície da folha de papel sulfite) das vivas (com capacidade de se fixarem na folha de papel).

13. Anestesiá-las de todos os sacos com CO_2 e colocá-las em frascos (um para cada saco) contendo álcool, para a posterior sexagem.

Os resultados desse ensaio são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Número de moscas (*Musca domestica*) mortas e número total de moscas, considerando-se separadamente os machos, as fêmeas e o total de fêmeas mais machos, em função da dose utilizada de deltametrina.

Dose ($\mu\text{g/ml}$)	nº de machos		nº de fêmeas		nº de moscas	
	mortos	total	mortas	total	mortas	total
0,00	0	57	0	44	0	101
0,01	0	54	0	49	0	103
0,10	1	58	0	38	1	96
1,00	8	38	14	62	22	100
10,00	36	49	30	56	66	105
100,00	45	48	48	52	93	100

3.1.3. Ensaio definitivo

O procedimento para a realização do ensaio definitivo foi praticamente o mesmo que o do segundo ensaio preliminar com pequenas diferenças como a utilização de três repetições das seguintes doses de deltametrina: 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,78125; 0,390625 e 0 $\mu\text{g/ml}$, colocadas em 30 frascos diferentes distribuídos aleatoriamente em um suporte com 30 orifícios (Figura 2).

Os resultados desse ensaio são apresentados na Tabela 3. Como se pode observar, perderam-se duas parcelas com 100 moscas, ocasionado pelo escape de moscas vivas dos frascos.

Figura 2 - Esquema do suporte utilizado na condução do ensaio definitivo com os respectivos frascos.

Tabela 3 - Número total de moscas (*Musca domestica*) e número de moscas mortas em cada frasco, segundo a aplicação de diferentes doses de deltametrina, considerando-se separadamente as fêmeas, os machos e o total de fêmeas mais machos.

Dose ($\mu\text{g/ml}$)	rep.	nº de fêmeas		nº de machos		nº de moscas	
		mortas total		mortos total		mortas total	
0	1	0	56	0	43	0	99
	2	0	41	0	52	0	93
0,390625	1	4	55	8	47	12	102
	2	2	51	2	50	4	101
	3	4	50	1	46	5	96
0,78125	1	5	59	8	43	13	102
	2	6	52	9	47	15	99
1,5625	1	11	46	8	53	19	99
	2	13	55	12	44	25	99
	3	20	63	9	39	29	102
3,125	1	19	59	13	40	32	99
	2	18	51	18	55	36	106
	3	13	55	16	45	29	100
6,25	1	21	57	16	44	37	101
	2	14	47	30	56	44	103
	3	20	62	15	39	35	101
12,5	1	26	46	42	56	68	102
	2	28	44	48	56	76	100
	3	34	49	38	51	72	100
25	1	28	50	30	50	58	100
	2	46	56	37	48	83	104
	3	38	56	28	45	66	101
50	1	41	45	51	54	92	99
	2	56	58	39	41	95	99
	3	42	55	36	45	78	100
100	1	52	52	45	48	97	100
	2	42	48	48	54	90	102
	3	54	54	43	48	97	102

3.2. Ensaio de Sensibilidade de Um Isolado do Fungo *Metarhizium anisopliae* à Radiação Ultravioleta de 2.523 Å

O fungo *Metarhizium anisopliae* é um fungo que pode ser utilizado para o controle das cigarrinhas da cana-de-açúcar sendo que diferentes isolados desse fungo apresentam diferentes sensibilidades à radiação ultravioleta.

Para se determinar a sensibilidade natural de diferentes isolados de *M. anisopliae* à radiação ultravioleta Alves⁶ adotou a seguinte metodologia:

Após a purificação dos isolados, 400 conídios foram transferidos para placas de Petri com o meio de cultura BDA (batata, dextrose e agar-agar). Com uma alça de Drigallsky, os conídios foram espalhados na superfície do meio de cultura procurando-se deixar uma única camada de conídios.

As placas abertas foram, então, submetidas a diferentes tempos de exposição à radiação ultravioleta ("doses de radiação"), em segundos, tendo como fonte uma lâmpada do tipo G15-T8, instalada dentro de uma câmara de radiação (Figura 3) a uma distância de 30 cm da placa.

⁶ ALVES, S. B., 1984. Pesquisa de base sobre o fungo *Metarhizium anisopliae* para controle das cigarrinhas da cana-de-açúcar. Departamento de Entomologia da ESALQ-USP, Piracicaba, SP.

Figura 3 - Câmara de irradiação: a) placas de Petri com meio de cultura BDA, nas quais foram semeados conídios de *M. anisopliae*; b) bulbo da lâmpada emissora de luz ultravioleta (2.537 Å).

A seguir, as placas submetidas às diferentes doses de radiação foram levadas para uma sala mantida à temperatura de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Após 20 horas realizaram-se as contagens dos conídios germinados e dos não germinados através de um microscópio.

Os resultados desse ensaio são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Número total de conídios e número de conídios inviáveis de um isolado do fungo *Metarhizium anisopliae* submetidos a diferentes tempos de exposição à radiação ("doses"), em segundos.

Tempo de exposição à radiação UV	Número total de conídios	Número de conídios inviáveis ("mortos")
0	400	0
20	400	16
25	400	22
30	400	28
35	400	41
40	400	54
45	400	64
50	400	74
55	400	93
60	400	140
65	400	200
70	400	328

3.3. Ensaio de Resistência dos Ovos de Uma Espécie de Verme (*Ostergagia Spp.*) do Carneiro, a Diferentes Concentrações da Droga Tiabendazol (TBZ)

LWIN & MARTIN (1989) descrevem experimentos com o uso da droga tiabendazol no tratamento de carneiros infectados com o verme *Ostergagia Spp.* Segundo eles, o tempo mínimo requerido para uma geração de *Ostergagia Spp.* é de aproximadamente 3 semanas e assim, o tratamento regular dos carneiros a cada 3 semanas deveria resultar, considerando a ausência de raças resistentes, em um carneiro livre de vermes. Um experimento de 5 anos foi então conduzido para se

comparar esse regime de aplicação do vermícida com outro em que não era feito nenhum controle do verme e também com outro em que só eram dadas 5 doses do vermícida durante o ano, em espaços regulares de tempo. Após três anos do início do experimento, supõe-se que o verme "desenvolveu resistência" ao vermícida. No quarto ano do experimento, foram obtidos vermes de cada grupo de carneiros, cultivados para produzir um número suficiente de ovos e então testados com diferentes doses do vermícida. Para os tratamentos em que não foi dado o vermícida e o em que foram dadas 17 doses por ano (uma dose a cada 3 semanas), o modelo com uma única distribuição de tolerâncias foi adequado. No entanto, para o tratamento em que foram dadas somente 5 doses do vermícida por ano, tal modelo não foi adequado.

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos para esse último ensaio.

Tabela 5 - Número total de ovos e número de ovos não eclodidos de *Ostergagia Spp.* submetidos a diferentes doses de tiabendazol (TBZ).

Dose de TBZ ($\mu\text{g/ml}$)	Log(dose)	Número total de ovos	Número de ovos não eclodidos
0	-	1117	79
0,023	-1,638	909	74
0,0469	-1,329	1067	125
0,625	-1,204	1110	184
0,781	-1,107	1091	288
0,938	-1,028	1088	361
0,125	-0,903	1113	474
0,156	-0,807	1061	462
0,1875	-0,727	1065	512
0,25	-0,602	1077	624
0,3125	-0,505	1077	680
0,3750	-0,426	1077	748
0,50	-0,301	1090	845
0,625	-0,204	1103	947
0,75	-0,125	1052	946
1,00	0,000	1079	1044
1,25	0,097	1067	1060
1,5	0,176	251	250

Fonte: LWIN & MARTIN (1989)

4. MÉTODOS

A seguir, são apresentados os métodos utilizados para as análises dos ensaios anteriormente descritos, assim como para o planejamento ótimo de um ensaio com base nos resultados de um preliminar.

4.1. As Funções de Distribuição de Tolerâncias

Como já citado em 2., as doses máximas toleráveis ou tolerâncias variam de um indivíduo para o outro dentro da população, determinando uma distribuição de tolerâncias. Seja, por exemplo, $f(t)$ a função densidade de probabilidade das tolerâncias e d uma dose qualquer aplicada aos indivíduos da população; então a probabilidade de haver resposta de um indivíduo a essa dose será dada pela função de distribuição de tolerâncias $F(d)$, isto é, por:

$$F(d) = \int_{-\infty}^d f(t) dt$$

cujo gráfico tem geralmente o formato sigmóide.

As distribuições de tolerâncias mais comumente utilizadas em ensaios de dose e resposta são as distribuições normal, logística e a do valor extremo, cujas funções densidade de probabilidade são dadas, respectivamente, por:

$$f(t) = \frac{\beta}{\sqrt{2\pi}} \exp \left\{ -\frac{1}{2} (\alpha + \beta t)^2 \right\} \quad (2)$$

onde $\alpha = -\mu/\sigma$, $\beta = 1/\sigma$ e $T \sim N(\mu; \sigma^2)$

$$f(t) = \beta \frac{\exp(\alpha + \beta t)}{[1 + \exp(\alpha + \beta t)]^2} \quad (3)$$

$$f(t) = \beta \exp \left[\alpha + \beta t - \exp(\alpha + \beta t) \right] \quad (4)$$

para $-\infty < t < \infty$, e cujas representações gráficas aparecem na Figura 4.

Como se pode observar, as distribuições normal e logística são simétricas em relação à média, enquanto que a distribuição do valor extremo é assimétrica à esquerda.

Figura 4 - Distribuições de tolerâncias normal, logística e do valor extremo.

Uma vez estabelecidas as funções densidade de probabilidade, podem-se obter as respectivas funções de distribuição que no caso são dadas por:

$$F(d) = \int_{-\infty}^d \frac{\beta}{\sqrt{2\pi}} \exp \left\{ -\frac{1}{2} (\alpha + \beta t)^2 \right\} dt = \Phi(\alpha + \beta d) \quad (5)$$

$$F(d) = \frac{\exp(\alpha + \beta d)}{1 + \exp(\alpha + \beta d)} \quad (6)$$

$$e \quad F(d) = 1 - \exp \left[-\exp(\alpha + \beta d) \right] \quad (7)$$

cujas representações gráficas aparecem na Figura 5.

Figura 5 - Funções de distribuição acumulada de tolerâncias normal, logística e do valor extremo.

As funções de distribuições acumuladas de tolerâncias normal e logística são muito semelhantes, o que geralmente leva a valores ajustados muito próximos.

A fim de reduzir essas curvas sigmóides a retas, para que técnicas como a regressão linear simples possam ser usadas para a estimação inicial dos parâmetros, devem-se fazer certas transformações. As transformações correspondentes às distribuições normal, logística e do valor extremo são respectivamente chamadas "probit", "logit" e "complemento-log-log" e são obtidas por:

$$\text{probit}(F) = \Phi^{-1}(F) = \alpha + \beta d \quad (8)$$

$$\text{logit}(F) = \ln \left[\frac{F}{1 - F} \right] = \alpha + \beta d \quad (9)$$

$$\text{compl.-log-log}(F) = \ln \left[-\ln(1 - F) \right] = \alpha + \beta d \quad (10)$$

onde, $F = F(d)$.

Uma observação que merece ser citada no momento, é que em muitos casos práticos a população exibe uma taxa natural de mortalidade independente da ação da dose aplicada. Seja c essa taxa; então uma função de distribuição mais próxima a essa realidade pode ser obtida através de:

$$F^*(d) = c + (1 - c)F(d) \quad (11)$$

Uma outra observação importante é a de que as distribuições de tolerâncias têm formatos geralmente assimétricos à direita quando se considera a dose na escala real. Uma forma de se amenizar esse problema é utilizar o logaritmo da dose ($x = \log d$).

De acordo com MORGAN (1992), poder-se-ia usar como alternativa a essa transformação, uma transformação pertencente à família de transformações de Box-Cox que inclui a logarítmica, a quadrática, a inversa, entre outras. Nessa transformação, as doses d_i são transformadas para:

$$x_i = \begin{cases} (d_i^\lambda - 1)/\lambda, & \lambda \neq 0 \\ \log_e(d_i), & \lambda = 0 \end{cases}$$

4.2. Modelo Para População Com Uma Única Distribuição de Tolerâncias

Seja inicialmente uma população com uma única distribuição de tolerâncias F . Suponha que n_i indivíduos (insetos, parasitas, etc...) são escolhidos aleatoriamente da população e são submetidos à dose $d_i (i=1, \dots, k)$; seja m_i o número de indivíduos mortos devido à aplicação da dose d_i . A probabilidade de morte de cada um dos indivíduos submetidos à i -ésima dose será $F(d_i)$.

Dessa forma, para n_i fixo, tem-se que m_i tem distribuição binomial de índice n_i e parâmetro $p_i = F(d_i)$, ou seja, a probabilidade de exatamente m_i indivíduos morrerem devido à aplicação de uma dose d_i será dada por:

$$P(m_i | n_i; F) = \begin{bmatrix} n_i \\ m_i \end{bmatrix} F(d_i)^{m_i} (1 - F(d_i))^{n_i - m_i} \quad (12)$$

Num ensaio de dose e resposta, os tamanhos das amostras $n_1, \dots, n_k$ são escolhidos independentemente uns dos outros para cada dose $d_1, \dots, d_k$ pré-selecionada. Assim, $m_1, \dots, m_k$ são independentes uns dos outros para $n_1, \dots, n_k$ fixos. Dessa forma, a probabilidade de se observarem exatamente m_1 indivíduos mortos na primeira amostra, m_2 na

segunda, e assim por diante até m_k na k -ésima amostra, submetidos às doses $d_1, d_2, \dots, d_k$ respectivamente, será dada por:

$$\begin{aligned}
 P(m_1, \dots, m_k | n_1, \dots, n_k; F) &= \prod_{i=1}^k P(m_i | n_i; F) = \\
 &= \prod_{i=1}^k \left[\begin{matrix} n_i \\ m_i \end{matrix} \right] P_i^{m_i} (1 - P_i)^{n_i - m_i} \quad (13)
 \end{aligned}$$

onde,

$$P_i = F(d_i) \quad (14)$$

No caso de se considerar a existência de uma taxa natural de mortalidade c tem-se:

$$\begin{aligned}
 P(m_1, \dots, m_k | n_1, \dots, n_k; F^*) &= \prod_{i=1}^k P(m_i | n_i; F^*) = \\
 &= \prod_{i=1}^k \left[\begin{matrix} n_i \\ m_i \end{matrix} \right] P_i^{m_i} (1 - P_i)^{n_i - m_i} \quad (15)
 \end{aligned}$$

onde,

$$P_i = F^*(d_i) = c + (1-c) F(d_i) \quad (16)$$

4.3. Modelo Para População Com Uma Mistura de Duas ou Mais Distribuições de Tolerâncias Com Diferentes Parâmetros

Seja uma população heterogênea de indivíduos que pode, por razões biológicas, ser considerada como uma mistura de subpopulações mais homogêneas. Pode-se supor que existem proporções $\theta_1, \dots, \theta_r$ da população, cada uma das quais com uma distribuição de tolerâncias $F_j (j=1, \dots, r)$ diferente. Suponha que n_i indivíduos são escolhidos aleatoriamente da população e são submetidos a uma dose $d_i (i=1, \dots, k)$; seja m_i o número de indivíduos mortos resultante da aplicação da dose d_i . Então n_i pode ser considerado como uma soma de r variáveis aleatórias $N_1^{(i)}, \dots, N_r^{(i)}$ onde $N_j^{(i)}$ representa o número de indivíduos selecionados da j -ésima subpopulação, na i -ésima amostra (Ver Figura 6)

Figura 6 - Esquema de uma amostra de n_i indivíduos pertencentes a r subpopulações com diferentes distribuições de tolerâncias.

Para n_i fixo, $(N_1^{(i)}, \dots, N_r^{(i)})$ tem distribuição multinomial com índice n_i e parâmetros $\theta_1, \dots, \theta_r$. Analogamente, m_i pode ser considerado como a soma de r variáveis aleatórias $M_1^{(i)}, \dots, M_r^{(i)}$, onde $M_j^{(i)}$ representa o número de indivíduos mortos da j -ésima subpopulação devido à aplicação da i -ésima dose.

Para $(N_1^{(i)}, \dots, N_r^{(i)})$ fixo, as variáveis aleatórias $M_1^{(i)}, \dots, M_r^{(i)}$ são independentes e $M_j^{(i)}$ tem distribuição binomial com índice $N_j^{(i)}$ e parâmetros $F_j(d_i)$. Dessa forma, m_i terá, para n_i fixo, distribuição binomial com índice n_i e parâmetro P_i dado por:

$$P_i = \sum_{j=1}^r \theta_j F_j(d_i)$$

A probabilidade de se observarem exatamente m_1 indivíduos mortos na primeira amostra, m_2 na segunda, e assim por diante até m_k na k -ésima amostra, submetidos às doses $d_1, d_2, \dots, d_k$, respectivamente, será dada por:

$$P(m_1, \dots, m_k | n_1, \dots, n_k; F_1, \dots, F_r; \theta) =$$

$$= \prod_{i=1}^k \left[\begin{matrix} n_i \\ m_i \end{matrix} \right] P_i^{m_i} (1 - P_i)^{n_i - m_i} \quad (17)$$

onde,

$$P_i = \sum_{j=1}^r \theta_j F_j(d_i)$$

e

$$\theta' = [\theta_1, \dots, \theta_r] \quad .$$

No caso de se considerar a existência de uma taxa natural de mortalidade c , tem-se:

$$P(m_1, \dots, m_k | n_1, \dots, n_k; F_1^*, \dots, F_r^*; \theta) =$$

$$= \prod_{i=1}^k \left[\begin{matrix} n_i \\ m_i \end{matrix} \right] P_i^{m_i} (1 - P_i)^{n_i - m_i} \quad (18)$$

onde,

$$P_i = \sum_{j=1}^r \theta_j F_j^*(d_i) \quad , \quad (19)$$

$$F_j^*(d_i) = c + (1-c) F_j(d_i)$$

e

$$\theta' = [\theta_1, \dots, \theta_r]$$

Nesse caso, a expressão (19) reduz-se a:

$$P_i = c + (1-c) \sum_{j=1}^r \theta_j F_j(d_i) \quad . \quad (20)$$

4.4. Obtenção da Distribuição de Tolerâncias Para Um Ensaio de Dose e Resposta

Uma forma de se levantar a hipótese de haver uma mistura de distribuições de tolerâncias é através da observação da distribuição de frequências de tolerâncias.

Essa distribuição pode, de acordo com LWIN & MARTIN (1989), ser obtida construindo-se o histograma com altura:

$$\hat{f}(d_i) = \frac{p_i - p_{i-1}}{d_i - d_{i-1}} \quad (i=2, \dots, k) \quad (21)$$

para o i -ésimo intervalo $(d_i ; d_{i-1}]$ das doses, onde $\hat{f}(d_i)$ pode ser considerado um estimador empírico da densidade de probabilidades $f(d_i)$, e p_i e p_{i-1} são dadas, respectivamente, por m_i/n_i e m_{i-1}/n_{i-1} .

Seja como exemplo o ensaio fictício cujos

resultados encontram-se na Tabela 6. A partir desses dados tem-se a distribuição de frequências apresentada na Tabela 7 e o histograma correspondente como Figura 7.

Tabela 6 - Resultado de um ensaio de dose e resposta (dados fictícios).

Dose d_i	Número total de indivíduos por dose n_i	Número de indivíduos que responderam à dose m_i	p_i
10	100	0	0,00
20	100	5	0,05
30	100	20	0,20
40	100	45	0,45
50	100	65	0,65
60	100	70	0,70
70	100	80	0,80
80	100	95	0,95
90	100	100	1,00

Tabela 7 - Distribuição de densidades estimadas de probabilidades.

Dose	Densidade estimada de probabilidades $\hat{f}(x_i)$
(10 ; 20]	0,005
(20 ; 30]	0,015
(30 ; 40]	0,025
(40 ; 50]	0,020
(50 ; 60]	0,005
(60 ; 70]	0,010
(70 ; 80]	0,015
(80 ; 90]	0,005

Figura 7 - Distribuição de tolerâncias para o ensaio fictício

Observando-se a Figura 7, pode-se levantar a hipótese de haver uma mistura de duas distribuições de tolerâncias, a primeira com média ao redor de 40, compreendendo aproximadamente 60% da população e a segunda com média ao redor de 75. Esses valores podem ser utilizados como valores iniciais nos processos de estimação.

Uma outra vantagem de se construir esse histograma, é que se pode verificar se há necessidade ou não de se utilizar a escala logarítmica para as doses. Assim, se a distribuição for muito assimétrica à direita, será interessante verificar se a utilização da escala logarítmica para as doses conduz à simetria da distribuição, adequada às distribuições normal e logística ou conduz à assimetria à esquerda, adequada à distribuição do valor extremo.

4.5. Estimação dos Parâmetros

Considere o modelo proposto em 4.3. e seja ϕ o vetor de parâmetros do modelo, dado por:

$$\begin{aligned}\phi' &= (\theta_1, \dots, \theta_{r-1}, \alpha_1, \dots, \alpha_r, \beta_1, \dots, \beta_r) = \\ &= (\phi_1, \dots, \phi_{3r-1})\end{aligned}$$

no caso de não se considerar a existência de uma taxa natural de mortalidade e

$$\begin{aligned}\phi' &= (c, \theta_1, \dots, \theta_{r-1}, \alpha_1, \dots, \alpha_r, \beta_1, \dots, \beta_r) \\ &= (\phi_1, \dots, \phi_{3r})\end{aligned}$$

no caso de se considerar a existência da taxa natural c de mortalidade, observando-se que θ_r pode ser obtido através de:

$$\theta_r = 1 - \sum_{j=1}^{r-1} \theta_j$$

De (17) tem-se que a função de verossimilhança L é dada por:

$$L = \prod_{i=1}^k \left[\begin{matrix} n_i \\ m_i \end{matrix} \right] P_i^{m_i} (1 - P_i)^{n_i - m_i}$$

e, conseqüentemente, o logaritmo da função de verossimilhança é:

$$\begin{aligned} \ell = \ln L = \sum_{i=1}^k \ln \left[\frac{n_i}{m_i} \right] + \sum_{i=1}^k m_i \ln P_i + \\ + \sum_{i=1}^k (n_i - m_i) \ln (1 - P_i) \end{aligned} \quad (22)$$

A obtenção dos estimadores para os parâmetros do modelo pode ser feita através da solução do sistema de equações de elementos:

$$U_u = \frac{\partial \ell}{\partial \phi_u} = \frac{\partial \ell}{\partial P_i} \frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = 0$$

onde U_u é chamado função escore.

Mas,

$$\frac{\partial \ell}{\partial P_i} = \sum_{i=1}^k \frac{m_i}{P_i} - \sum_{i=1}^k \frac{n_i - m_i}{(1-P_i)} = \sum_{i=1}^k \frac{m_i - n_i P_i}{P_i (1-P_i)}$$

e portanto,

$$\frac{\partial \ell}{\partial \phi_u} = \sum_{i=1}^k \frac{m_i - n_i P_i}{P_i (1-P_i)} \frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} \quad (23)$$

Logo, o sistema de equações tem seus elementos dados por:

$$\sum_{i=1}^k \frac{m_i - n_i P_i}{P_i (1-P_i)} \frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = 0 \quad (24)$$

e pode ser representado pelo vetor de escores

$$\mathbf{u} = \mathbf{g} \quad (25)$$

onde, $\mathbf{U} = (U_1, U_2, \dots)'$ e $\mathbf{0} = (0, 0, \dots, 0)'$.

A matriz de variâncias e covariâncias $\mathbf{I} = E[\mathbf{U} \mathbf{U}']$ dos U_u 's, chamada matriz de informação, tem seu (j,t)-ésimo elemento dado por:

$$I_{jt} = E \left[U_j U_t \right] = E \left[\frac{\partial \ell}{\partial \phi_j} \frac{\partial \ell}{\partial \phi_t} \right] = - E \left[\frac{\partial^2 \ell}{\partial \phi_j \partial \phi_t} \right] \quad (26)$$

onde,

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 \ell}{\partial \phi_j \partial \phi_t} = & \sum_{i=1}^k \left[- \frac{m_i}{P_i^2} + \frac{n_i - m_i}{(1-P_i)^2} \right] \frac{\partial P_i}{\partial \phi_j} \frac{\partial P_i}{\partial \phi_t} + \\ & + \sum_{i=1}^k \frac{m_i - n_i P_i}{P_i (1-P_i)} \frac{\partial^2 P_i}{\partial \phi_j \partial \phi_t} \end{aligned}$$

e portanto,

$$\begin{aligned} I_{jt} = - E \left[\frac{\partial^2 \ell}{\partial \phi_j \partial \phi_t} \right] = & \sum_{i=1}^k \left[\frac{n_i P_i}{P_i^2} - \frac{n_i - n_i P_i}{(1-P_i)^2} \right] \frac{\partial P_i}{\partial \phi_j} \frac{\partial P_i}{\partial \phi_t} - \\ & - \sum_{i=1}^k \frac{n_i P_i - n_i P_i}{P_i (1-P_i)} \frac{\partial^2 P_i}{\partial \phi_j \partial \phi_t} = \sum_{i=1}^k \frac{n_i}{P_i (1-P_i)} \frac{\partial P_i}{\partial \phi_j} \frac{\partial P_i}{\partial \phi_t} . \quad (27) \end{aligned}$$

Em geral, as equações (24) não têm solução explícita e precisam ser resolvidas por processos iterativos como o método de Newton-Raphson modificado e uma adaptação do algoritmo EM (DEMPSTER *et alii*, 1977).

As estimativas das variâncias dos parâmetros e das covariâncias entre os mesmos são obtidas através da

inversa da matriz de informação.

A obtenção do vetor $\mathbf{U}$ de escores, tanto quanto da matriz de informação $\mathbf{I}$, como pode ser observado nas expressões (23) e (27), depende, no entanto, da obtenção de $\partial P_i / \partial \phi_u$, feita a seguir.

4.6. Obtenção das Expressões Para o Cálculo de $\partial P_i / \partial \phi_u$

4.6.1. Não considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade

Nesse caso, como já visto, o vetor ϕ de parâmetros é dado por:

$$\begin{aligned}\phi' &= (\theta_1, \dots, \theta_{r-1}, \alpha_1, \dots, \alpha_r, \beta_1, \dots, \beta_r) = \\ &= (\phi_1, \dots, \phi_{3r-1})\end{aligned}$$

e

$$P_i = \sum_{j=1}^{r-1} \theta_j F_j(d_i) + \left[1 - \sum_{j=1}^{r-1} \theta_j \right] F_r(d_i) \quad .$$

Assim, para $u=1, \dots, r-1$,

$$\frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = \frac{\partial P_i}{\partial \theta_j} = F_j(d_i) - F_r(d_i) \quad j=1, \dots, r-1 \quad (28)$$

para $u=r, \dots, 2r-1$,

$$\frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = \frac{\partial P_i}{\partial \alpha_j} = \theta_j \frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \alpha_j} \quad j=1, \dots, r \quad (29)$$

e para $u=2r, \dots, 3r-1$,

$$\frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = \frac{\partial P_i}{\partial \beta_j} = \theta_j \frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \beta_j} \quad j=1, \dots, r \quad (30)$$

4.6.2. Considerando a existência de uma taxa natural c de mortalidade

Nesse caso, como já visto, o vetor ϕ de parâmetros é dado por:

$$\begin{aligned} \phi' &= (c, \theta_1, \dots, \theta_{r-1}, \alpha_1, \dots, \alpha_r, \beta_1, \dots, \beta_r) \\ &= (\phi_1, \dots, \phi_{3r}) \end{aligned}$$

e

$$P_i = c + (1-c) \left[\sum_{j=1}^{r-1} \theta_j F_j(d_i) + \left[1 - \sum_{j=1}^{r-1} \theta_j \right] F_r(d_i) \right].$$

Assim, para $u=1$,

$$\frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = \frac{\partial P_i}{\partial c} = 1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_j(d_i) \quad (31)$$

para $u=2, \dots, r$,

$$\frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = \frac{\partial P_i}{\partial \theta_j} = (1-c) [F_j(d_i) - F_r(d_i)] \quad j=1, \dots, r-1 \quad (32)$$

para $u=r+1, \dots, 2r$,

$$\frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = \frac{\partial P_i}{\partial \alpha_j} = (1-c) \theta_j \frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \alpha_j} \quad j=1, \dots, r \quad (33)$$

e para $u=2r+1, \dots, 3r$,

$$\frac{\partial P_i}{\partial \phi_u} = \frac{\partial P_i}{\partial \beta_j} = (1-c) \theta_j \frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \beta_j} \quad j=1, \dots, r \quad (34)$$

4.6.3. Obtenção das expressões para o cálculo das derivadas das funções de distribuição de tolerâncias $F(d)$ em relação aos parâmetros do modelo

Conforme visto em 4.1., as funções de distribuição de tolerâncias normal, logística e do valor extremo são dadas, respectivamente, por:

$$F_j(d_i) = \Phi(\alpha_j + \beta_j d_i) \quad (35)$$

$$F_j(d_i) = \frac{\exp(\alpha_j + \beta_j d_i)}{1 + \exp(\alpha_j + \beta_j d_i)} \quad (36)$$

e

$$F_j(d_i) = 1 - \exp \left[- \exp(\alpha_j + \beta_j d_i) \right] \quad (37)$$

Derivando as expressões (35), (36) e (37), respectivamente, em relação aos parâmetros α_j $j=1, \dots, r$, tem-se:

$$\frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \alpha_j} = \frac{\partial \Phi(\alpha_j + \beta_j d_i)}{\partial \alpha_j}$$

$$\frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \alpha_j} = \frac{\exp(\alpha_j + \beta_j d_i)}{[1 + \exp(\alpha_j + \beta_j d_i)]^2} = \frac{1}{\beta_j} f_j(d_i)$$

e

$$\frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \alpha_j} = \exp\left[\alpha_j + \beta_j d_i - \exp(\alpha_j + \beta_j d_i)\right] = \frac{1}{\beta_j} f_j(d_i)$$

onde, $f_j(d_i)$ é o valor da função de densidade de probabilidade no ponto d_i considerado.

Observa-se que, para as distribuições logística e do valor extremo:

$$\frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \alpha_j} = \frac{1}{\beta_j} f_j(d_i) \quad (38)$$

e, para a distribuição normal, essa derivada só pode ser calculada através de métodos numéricos. Assim, como os ajustes dos modelos normal e logístico geralmente são muito próximos, optar-se-á pelo modelo logístico. Dessa forma, as expressões apresentadas a seguir, servirão apenas para os modelos logístico e do valor extremo.

Analogamente para os parâmetros β_j $j=1, \dots, r$ tem-se que:

$$\frac{\partial F_j(d_i)}{\partial \beta_j} = \frac{1}{\beta_j} f_j(d_i) d_i \quad (39)$$

Assim, com as expressões obtidas em 4.5. e 4.6., pode-se chegar, como será descrito em 4.7., às

expressões para obtenção do vetor de escores e da matriz de informação, necessários tanto para a estimação dos parâmetros do modelo, quanto para a obtenção das estimativas dos desvios padrões das estimativas desses parâmetros.

4.7. Expressões Gerais Para a Obtenção do Vetor de Escores e da Matriz de Informação Para os Modelos Logístico e "Complemento-log-log"

4.7.1. Não considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade

No caso, o vetor ϕ de parâmetros é dado por:

$$\phi' = (\theta_1, \dots, \theta_{r-1}, \alpha_1, \dots, \alpha_r, \beta_1, \dots, \beta_r) \quad .$$

Através das expressões (23), (28), (29), (30), (38) e (39), tem-se que o vetor $\mathbf{U}$ de escores para o modelo com r subpopulações pode ser obtido através de:

$$\mathbf{U} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k G_i (F_{1i} - F_{ri}) \\ \dots \\ \sum_{i=1}^k G_i (F_{r-1,i} - F_{ri}) \\ \hline \sum_{i=1}^k G_i \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} \\ \dots \\ \sum_{i=1}^k G_i \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \\ \hline \sum_{i=1}^k G_i \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} d_i \\ \dots \\ \sum_{i=1}^k G_i \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} d_i \end{bmatrix}_{3r-1}^1 \quad (40)$$

onde,

$$G_i = \frac{m_i - n_i P_i}{P_i (1 - P_i)}$$

$$F_{ji} = F_j(d_i) \quad \text{e} \quad f_{ji} = f_j(d_i) \quad .$$

Através das expressões (27), (28), (29), (30), (38) e (39), tem-se que a matriz $\mathbf{I}$ de informação para o modelo com r subpopulações pode ser obtida através de:

$$I = \begin{bmatrix} I_{11} & I_{12} & I_{13} \\ I_{21} & I_{22} & I_{23} \\ I_{31} & I_{32} & I_{33} \end{bmatrix} \quad (41)$$

$\begin{matrix} & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \end{matrix}$
 $\begin{matrix} 3r-1 & & & & 3r-1 \end{matrix}$

onde,

$$I_{11} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i (F_{1i} - F_{ri})^2 & \dots & \sum_{i=1}^k H_i (F_{1i} - F_{ri}) (F_{r-1,i} - F_{ri}) \\ \dots & \dots & \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i (F_{r-1,i} - F_{ri}) (F_{1i} - F_{ri}) & \dots & \sum_{i=1}^k H_i (F_{r-1,i} - F_{ri})^2 \end{bmatrix}$$

$\begin{matrix} & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \end{matrix}$
 $\begin{matrix} r-1 & & & & r-1 \end{matrix}$

$$I_{22} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \left[\frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} \right]^2 & \dots & \sum_{i=1}^k H_i \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \\ \dots & \dots & \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} & \dots & \sum_{i=1}^k H_i \left[\frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \right]^2 \end{bmatrix}$$

$\begin{matrix} & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \end{matrix}$
 $\begin{matrix} r & & & & r \end{matrix}$

$$I_{33} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \left[\frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} d_i \right]^2 & \dots & \sum_{i=1}^k H_i \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} d_i^2 \\ \dots & \dots & \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} d_i^2 & \dots & \sum_{i=1}^k H_i \left[\frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} d_i \right]^2 \end{bmatrix}$$

$\begin{matrix} & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \\ & & & & \end{matrix}$
 $\begin{matrix} r & & & & r \end{matrix}$

$$I_{12} = I'_{21} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i (F_{1i} - F_{ri}) \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} & \dots & \sum_{i=1}^k H_i (F_{1i} - F_{ri}) \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \\ \dots & \dots & \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i (F_{r-1,i} - F_{ri}) \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} & \dots & \sum_{i=1}^k H_i (F_{r-1,i} - F_{ri}) \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \end{bmatrix}_{r-1}^r$$

$$I_{13} = I'_{31} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i (F_{1i} - F_{ri}) \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} d_i & \dots & \sum_{i=1}^k H_i (F_{1i} - F_{ri}) \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} d_i \\ \dots & \dots & \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i (F_{r-1,i} - F_{ri}) \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} d_i & \dots & \sum_{i=1}^k H_i (F_{r-1,i} - F_{ri}) \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} d_i \end{bmatrix}_{r-1}^r$$

$$I_{23} = I'_{32} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \left[\frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} \right]^2 d_i & \dots & \sum_{i=1}^k H_i \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} d_i \\ \dots & \dots & \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} d_i & \dots & \sum_{i=1}^k H_i \left[\frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \right]^2 d_i \end{bmatrix}_r$$

onde,

$$H_i = \frac{n_i}{P_i(1-P_i)}$$

$$F_{ji} = F_j(d_i)$$

$$f_{ji} = f_j(d_i)$$

e

$$P_i = \sum_{j=1}^r \theta_j F_j(d_i)$$

4.7.2. Considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade

No caso, o vetor ϕ de parâmetros é dado por:

$$\phi' = (c, \theta_1, \dots, \theta_{r-1}, \alpha_1, \dots, \alpha_r, \beta_1, \dots, \beta_r)$$

Através das expressões (23), (31), (32), (33), (34), (38) e (39), tem-se que o vetor U_c de escores para o modelo com r subpopulações, considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade c , pode ser obtido através de:

$$U_c = \left[\frac{\sum_{i=1}^k G_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right]}{(1-c) U} \right]_1^{3r} \quad (42)$$

onde,

$$F_{ji} = F_j(d_i)$$

$$G_i = \frac{m_i - n_i P_i}{P_i(1-P_i)}$$

$$P_i = c + (1-c) \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji}$$

e U , dado por (40), é o vetor de escores para o modelo sem taxa natural de mortalidade.

Através das expressões (27), (31), (32), (33), (34), (38) e (39), tem-se que a matriz I_c de informação para o modelo com r subpopulações, considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade c , pode ser obtida através

de:

$$I_c = \begin{bmatrix} I_{c_{11}} & I_{c_{12}} \\ I_{c_{21}} & I_{c_{22}} \end{bmatrix}_{3r} \quad (43)$$

onde,

$$I_{c_{11}} = \sum_{i=1}^k H_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right]^2$$

$$H_i = \frac{n_i}{P_i(1-P_i)}$$

$$I_{c_{22}} = (1-c)^2 I$$

$$I_{c_{21}} = I'_{c_{12}} = (1-c) \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right] (F_{1i} - F_{ri}) \\ \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right] (F_{r-1,i} - F_{ri}) \\ \hline \sum_{i=1}^k H_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right] \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} \\ \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right] \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} \\ \hline \sum_{i=1}^k H_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right] \frac{\theta_1}{\beta_1} f_{1i} d_i \\ \dots \\ \sum_{i=1}^k H_i \left[1 - \sum_{j=1}^r \theta_j F_{ji} \right] \frac{\theta_r}{\beta_r} f_{ri} d_i \end{bmatrix}_{3r-1}^1$$

e I , dada por (41), é a matriz de informação para o modelo

sem taxa natural de mortalidade.

No caso de se conhecer previamente a taxa natural c de mortalidade, tem-se que o vetor de escores passa a ser dado por $(1-c)U$ e a matriz de informação por $I_{c_{22}} = (1-c)^2 I$.

4.7.3. Exemplo 1 - Mistura de duas distribuições logísticas com diferentes parâmetros, não considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade

No caso, está sendo considerada a presença de apenas duas subpopulações, ou seja, $r=2$ e o vetor ϕ de parâmetros é dado, conseqüentemente, por:

$$\phi' = (\theta_1, \alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2) \quad .$$

Tem-se ainda que:

$$P_i = \theta_1 F_1(d_i) + \theta_2 F_2(d_i)$$

onde,

$$\theta_2 = 1 - \theta_1$$

$$F_j(d_i) = \frac{\exp(\alpha_j + \beta_j d_i)}{1 + \exp(\alpha_j + \beta_j d_i)}$$

e

$$f_j(d_i) = \beta_j \frac{\exp(\alpha_j + \beta_j d_i)}{[1 + \exp(\alpha_j + \beta_j d_i)]^2} = \beta_j F_j(d_i) [1 - F_j(d_i)]$$

Assim, o vetor $\mathbf{U}$ de escores pode ser obtido através de:

$$\mathbf{U} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k G_i [F_1(d_i) - F_2(d_i)] \\ \hline \sum_{i=1}^k G_i \theta_1 F_1(d_i) [1 - F_1(d_i)] \\ \sum_{i=1}^k G_i \theta_2 F_2(d_i) [1 - F_2(d_i)] \\ \hline \sum_{i=1}^k G_i \theta_1 F_1(d_i) [1 - F_1(d_i)] d_i \\ \sum_{i=1}^k G_i \theta_2 F_2(d_i) [1 - F_2(d_i)] d_i \end{bmatrix} \quad (44)$$

5 1

onde,

$$G_i = \frac{m_i - n_i P_i}{P_i(1-P_i)} .$$

A matriz de informação $\mathbf{I}$, por sua vez, pode ser obtida através de:

$$\mathbf{I} = \begin{bmatrix} \begin{array}{c|c|c} \mathbf{I}_{11} & \mathbf{I}_{12} & \mathbf{I}_{13} \\ \hline \mathbf{I}_{21} & \mathbf{I}_{22} & \mathbf{I}_{23} \\ \hline \mathbf{I}_{31} & \mathbf{I}_{32} & \mathbf{I}_{33} \end{array} \end{bmatrix} \quad (45)$$

5 5

onde,

$$\mathbf{I}_{11} = \sum_{i=1}^k H_i [F_1(d_i) - F_2(d_i)]^2 .$$

Usando-se $F_{ji} = F_j(d_i)$, $j=1;2$, tem-se:

$$I_{22} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \theta_1^2 F_{1i}^2 (1-F_{1i})^2 & \sum_{i=1}^k H_i \theta_1 F_{1i} (1-F_{1i}) \theta_2 F_{2i} (1-F_{2i}) \\ \sum_{i=1}^k H_i \theta_2 F_{2i} (1-F_{2i}) \theta_1 F_{1i} (1-F_{1i}) & \sum_{i=1}^k H_i \theta_2^2 F_{2i}^2 (1-F_{2i})^2 \end{bmatrix}_2$$

$$I_{33} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \theta_1^2 F_{1i}^2 (1-F_{1i})^2 d_i^2 & \sum_{i=1}^k H_i \theta_1 F_{1i} (1-F_{1i}) \theta_2 F_{2i} (1-F_{2i}) d_i^2 \\ \sum_{i=1}^k H_i \theta_2 F_{2i} (1-F_{2i}) \theta_1 F_{1i} (1-F_{1i}) d_i^2 & \sum_{i=1}^k H_i \theta_2^2 F_{2i}^2 (1-F_{2i})^2 d_i^2 \end{bmatrix}_2$$

$$I_{21} = I'_{12} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \theta_1 (F_{1i} - F_{2i}) F_{1i} (1-F_{1i}) \\ \sum_{i=1}^k H_i \theta_2 (F_{1i} - F_{2i}) F_{2i} (1-F_{2i}) \end{bmatrix}_1$$

$$I_{31} = I'_{13} = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i \theta_1 (F_{1i} - F_{2i}) F_{1i} (1-F_{1i}) d_i \\ \sum_{i=1}^k H_i \theta_2 (F_{1i} - F_{2i}) F_{2i} (1-F_{2i}) d_i \end{bmatrix}_1$$

$$I_{23} = I'_{32} =$$

$$= \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i [\theta_1 F_{1i} (1-F_{1i})]^2 d_i & \sum_{i=1}^k H_i \theta_1 F_{1i} (1-F_{1i}) \theta_2 F_{2i} (1-F_{2i}) d_i \\ \sum_{i=1}^k H_i \theta_2 F_{2i} (1-F_{2i}) \theta_1 F_{1i} (1-F_{1i}) d_i & \sum_{i=1}^k H_i [\theta_2 F_{2i} (1-F_{2i})]^2 d_i \end{bmatrix}_2$$

onde,

$$H_i = \frac{n_i}{P_i(1-P_i)}$$

4.7.4. Exemplo 2 - Mistura de duas distribuições logísticas com diferentes parâmetros, considerando a existência de uma taxa natural de mortalidade

No caso, $r=2$ e o vetor ϕ de parâmetros é dado por:

$$\phi' = (c, \theta_1, \alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2)$$

e

$$P_i = c + (1-c) [\theta_1 F_1(d_i) + \theta_2 F_2(d_i)]$$

O vetor U_c de escores pode ser obtido através de:

$$U_c = \left[\frac{\sum_{i=1}^k G_i (1 - \theta_1 F_{1i} - \theta_2 F_{2i})}{(1-c) U} \right]_1$$

onde,

$$G_i = \frac{m_i - n_i P_i}{P_i(1-P_i)}$$

e U é dado por (44).

A matriz de informação I_c , por sua vez, pode ser obtida através de:

$$I_C = \begin{bmatrix} I_{C_{11}} & I_{C_{12}} \\ I_{C_{21}} & I_{C_{22}} \end{bmatrix}$$

onde,

$$I_{C_{11}} = \sum_{i=1}^k H_i (1 - \theta_1 F_{1i} - \theta_2 F_{2i})^2$$

$$H_i = \frac{n_i}{P_i(1-P_i)}$$

$$I_{C_{22}} = (1-c)^2 I$$

$$I_{C_{21}} = I_{C_{12}} = (1-c) \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k H_i (1 - \theta_1 F_{1i} - \theta_2 F_{2i}) (F_{1i} - F_{2i}) \\ \sum_{i=1}^k H_i (1 - \theta_1 F_{1i} - \theta_2 F_{2i}) \theta_1 F_{1i} (1 - F_{1i}) \\ \sum_{i=1}^k H_i (1 - \theta_1 F_{1i} - \theta_2 F_{2i}) \theta_2 F_{2i} (1 - F_{2i}) \\ \sum_{i=1}^k H_i (1 - \theta_1 F_{1i} - \theta_2 F_{2i}) \theta_1 F_{1i} (1 - F_{1i}) d_i \\ \sum_{i=1}^k H_i (1 - \theta_1 F_{1i} - \theta_2 F_{2i}) \theta_2 F_{2i} (1 - F_{2i}) d_i \end{bmatrix}$$

e I , dada por (45), é a matriz de informação para o modelo sem taxa natural de mortalidade.

4.8. Solução das Equações de Máxima Verossimilhança Através de Uma Modificação do Método de Newton-Raphson

Nesse método, a m-ésima aproximação $\phi^{(m)}$ do vetor de parâmetros ϕ é dada por:

$$\phi^{(m)} = \phi^{(m-1)} + \left[I^{(m-1)} \right]^{-1} U^{(m-1)} \quad (46)$$

onde,

$\phi^{(m-1)}$ é a estimativa na iteração de ordem m-1,

$\phi^{(m)}$ é a estimativa na iteração de ordem m,

U é o vetor de escores e

I é a matriz de informação para ϕ .

O processo começa com a escolha de valores iniciais para os parâmetros e termina quando $\phi^{(m)}$ diferir de $\phi^{(m-1)}$ por uma quantidade muito pequena pré-estabelecida. Pode-se, então, obter a matriz estimada de variâncias e covariâncias de ϕ através de I^{-1} . No caso de se considerar a existência de uma taxa natural de mortalidade, basta substituir U por U_c e I por I_c .

Alternativamente a esse método, pode-se solucionar as equações de máxima verossimilhança através do algoritmo EM descrito em 4.9., para os casos em que não há taxa de mortalidade natural.

4.9. Solução das Equações de Máxima Verossimilhança Através do Algoritmo EM, Considerando Uma Taxa Natural de Mortalidade Conhecida

Esse algoritmo consta de duas etapas, a primeira, chamada E (de estimação) e a segunda, chamada M (de maximização) que são descritas em **4.9.1.** e **4.9.2.**, respectivamente.

4.9.1. Etapa E

Para começar o processo de análise, valores iniciais devem ser atribuídos aos parâmetros α_j e β_j ($j=1, \dots, r$).

A primeira etapa do algoritmo EM, chamada E (de estimação), trata da atualização dos parâmetros θ_j ($j=1, \dots, r-1$), a partir dos valores anteriores dos parâmetros.

A seguir, apresenta-se um exemplo de como fazer essa atualização, inicialmente considerando a existência de apenas duas subpopulações, a primeira de machos e a segunda de fêmeas e posteriormente, generalizando para r subpopulações.

4.9.1.1. Considerando a existência de apenas duas subpopulações

Nesse caso, a probabilidade P_i de um indivíduo morrer é dada por:

$$P_i = \theta_1 F_1^*(d_i) + \theta_2 F_2^*(d_i) \quad (47)$$

onde,

θ_1 = probabilidade de ser fêmea;

θ_2 = probabilidade de ser macho;

$\theta_2 = 1 - \theta_1$;

$F_j^*(d_i)$ = probabilidade de morrer dado que o indivíduo pertence à j-ésima subpopulação (j-ésimo sexo), dada por:

$$F_j^*(d_i) = c + (1-c) F_j(d_i) \quad , j=1,2 .$$

Seja E_j o evento pertencer à j-ésima subpopulação ou seja, no caso, ser do j-ésimo sexo. Desse modo, E_1 corresponde ao evento ser fêmea e E_2 ao evento ser macho. Sejam, ainda, os eventos D, estar morto e S, estar vivo.

Seja, agora, $\theta_i^*(E_j|D)$ a probabilidade de um inseto, que recebeu uma dose d_i de inseticida, ser do j-ésimo sexo dado que ele está morto. Essa probabilidade pode ser obtida através de:

$$\theta_i^*(E_j|D) = \frac{\theta_j F_j^*(d_i)}{\theta_1 F_1^*(d_i) + \theta_2 F_2^*(d_i)} = \frac{\theta_j F_j^*(d_i)}{P_i} \quad . \quad (48)$$

Seja, agora, $\theta_i^*(E_j|S)$ a probabilidade de um inseto, que recebeu uma dose d_i de inseticida, ser do j -ésimo sexo dado que ele está vivo. Essa probabilidade pode ser obtida através de:

$$\theta_i^*(E_j|S) = \frac{\theta_j [1 - F_j^*(d_i)]}{1 - P_i} \quad . \quad (49)$$

Assim, o número m_{ij}^* esperado de insetos mortos do j -ésimo sexo que receberam a i -ésima dose é dado por:

$$m_{ij}^* = m_i \theta_i^*(E_j|D) \quad . \quad (50)$$

Como consequência, o número total M_j^* esperado de insetos mortos do j -ésimo sexo pode ser obtido através de:

$$M_j^* = \sum_{i=1}^k m_{ij}^* \quad . \quad (51)$$

Analogamente, o número n_{ij}^* esperado de insetos do j -ésimo sexo que receberam a i -ésima dose é dado por:

$$n_{ij}^* = m_{ij}^* + (n_i - m_i) \theta_i^*(E_j|S) \quad . \quad (52)$$

e o número total N_j^* esperado de insetos do j -ésimo sexo pode ser obtido através de:

$$N_j^* = \sum_{i=1}^k n_{ij}^* \quad . \quad (53)$$

Assim, dados os valores dos parâmetros da distribuição, a proporção estimada $\hat{\theta}_j$ de insetos do j -ésimo sexo pode ser obtida por:

$$\hat{\theta}_j = \frac{N_j^*}{N} \quad (54)$$

onde,

$$N = \sum_{i=1}^k n_i = \sum_{j=1}^r N_j^* \quad (55)$$

4.9.1.2. Considerando a existência de r subpopulações

Generalizando para r subpopulações, tem-se que P_i é dado por:

$$P_i = \sum_{j=1}^r \theta_j F_j^*(d_i) \quad (56)$$

sendo as demais expressões, (48) a (55), válidas também para esse caso.

4.9.2. Etapa M

Essa etapa M (de maximização) trata da atualização dos valores dos parâmetros α_j e β_j ($j=1, \dots, r$), a partir das estimativas de θ_j obtidas na etapa anterior. No caso, a atualização é feita através do método padrão para a

análise de ensaios de dose-resposta, considerando-se o número de insetos mortos m_{ij}^* e o número total de insetos n_{ij}^* obtidos, respectivamente, segundo as expressões (50) e (51).

4.9.3. Critério de parada

As etapas E e M do algoritmo, são repetidas até que:

$$\frac{|D^{(m)} - D^{(m-1)}|}{D^{(m)}} \leq K \quad (57)$$

onde,

$D^{(m)}$ é o valor da "deviance" (medida de discrepância definida em 4.10.) na m-ésima etapa;

$D^{(m-1)}$ é o valor da "deviance" na (m-1)-ésima etapa;

K é um valor previamente estipulado, bastante pequeno.

4.10. Adequação do Modelo

Em 4.8. e 4.9. foi visto como estimar os parâmetros do modelo adotado. Agora, a fim de se medir o ajustamento do mesmo, devem-se introduzir algumas medidas de discrepância.

Para dados com distribuição binomial a estatística comumente usada na análise do modelo logístico é o X^2 generalizado de Pearson, dado por:

$$X^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(m_i - n_i P_i)^2}{n_i P_i (1 - P_i)} \quad .$$

Para dados com distribuição normal com parâmetros μ e σ^2 , X^2/σ^2 é distribuído exatamente como $\chi^2_{(k-p)}$, onde p é o número de parâmetros utilizados no ajuste do modelo e k o número de doses. Para erros não normais, no entanto, χ^2 é uma aproximação que em muitos casos pode ser pobre. Na comparação entre modelos, por sua vez, pode-se usar a diferença entre os X^2 que tem, assintoticamente, distribuição $\chi^2_{(p-q)}$, onde $(p-q)$ é a diferença entre os números de parâmetros dos dois modelos.

Uma outra medida de discrepância é a "deviance", definida por NELDER & WEDDERBURN (1972) e usada em MCCULLAGH & NELDER (1989) como:

$$D = 2 (\ell_n - \ell_p)$$

onde, ℓ_n e ℓ_p são os máximos da log-verossimilhança para os modelos saturado e corrente (sob pesquisa) e que, para o caso do modelo com distribuição binomial, fica:

$$D = 2 \sum_{i=1}^k \left[m_i \ln \left[\frac{m_i}{n_i P_i} \right] + (n_i - m_i) \ln \left[\frac{n_i - m_i}{n_i - n_i P_i} \right] \right] \quad .$$

Para se testar a adequação de um modelo, a "deviance" com $k-p$ graus de liberdade deve ser comparada com alguma distribuição de referência. Na prática costuma-se utilizar para isso, a distribuição $\chi^2_{(k-p)}$, o que é feito sem

muito rigor pois a "deviance", em geral, não tem, nem mesmo assintoticamente, essa distribuição. No entanto, demonstra-se que a diferença entre duas "deviances" tem, assintoticamente, distribuição $\chi^2_{(p-q)}$, onde (p-q) é a diferença entre os números de parâmetros dos dois modelos.

Comparando-se as duas medidas tem-se que, apesar da estatística X^2 ser mais facilmente interpretada, apresenta a desvantagem de geralmente não ser aditiva para modelos encaixados, o que ocorre com a "deviance".

4.11. Doses Letais. Estimação por Ponto e por Intervalo

Seja $DL_{100\pi}$ a dose que mata $\pi \cdot 100\%$ dos indivíduos de uma população, denominada dose letal $\pi 100$. Podemos obter essas doses letais a partir das expressões (8), (9) e (10), ou seja, no caso da distribuição normal:

$$\text{probit}(\pi) = \Phi^{-1}(\pi) = \alpha + \beta DL_{100\pi}$$

e portanto,

$$DL_{100\pi} = \frac{\text{probit}(\pi) - \alpha}{\beta},$$

cujas estimativas podem ser obtidas através de:

$$\hat{DL}_{100\pi} = \frac{\text{probit}(\pi) - \hat{\alpha}}{\hat{\beta}}, \quad (58)$$

Analogamente, para a distribuição logística

tem-se:

$$\text{logit}(\Pi) = \ln \left[\frac{\Pi}{1 - \Pi} \right] = \alpha + \beta \text{DL}_{100\Pi}$$

e

$$\text{DL}_{100\Pi} = \frac{\text{logit}(\Pi) - \alpha}{\beta} ,$$

cuja estimativa pode ser obtida através de:

$$\hat{\text{DL}}_{100\Pi} = \frac{\text{logit}(\Pi) - \hat{\alpha}}{\hat{\beta}} . \quad (59)$$

Finalmente, para a distribuição do valor extremo, tem-se:

$$\text{compl.-log-log}(\Pi) = \ln[-\ln(1-\Pi)] = \alpha + \beta \text{DL}_{100\Pi} ,$$

e

$$\text{DL}_{100\Pi} = \frac{\text{compl.-log-log}(\Pi) - \alpha}{\beta} .$$

cuja estimativa pode ser obtida através de:

$$\hat{\text{DL}}_{100\Pi} = \frac{\text{compl.-log-log}(\Pi) - \hat{\alpha}}{\hat{\beta}} . \quad (60)$$

Além das estimativas pontuais (58), (59) e (60), devem-se contruir intervalos de confiança para as doses letais, o que, para um dado modelo, pode ser feito através de diversos métodos. Dentre os principais, MORGAN (1992) cita e compara: os métodos delta, um outro baseado no teorema de Fieller e um terceiro baseado na razão de verossimilhança.

O método delta, que será adotado, produz intervalos necessariamente simétricos, adequados aos casos em que são estimadas doses letais medianas. Assim, de acordo com esse método, desenvolvendo-se $\hat{DL}_{100\pi}$ em série de Taylor até primeira ordem em torno de $(\alpha, \beta)'$, obtém-se:

$$\hat{DL}_{100\pi} \cong DL_{100\pi} + \begin{bmatrix} (\hat{\alpha} - \alpha) & (\hat{\beta} - \beta) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \frac{\partial DL_{100\pi}}{\partial \alpha} \\ \frac{\partial DL_{100\pi}}{\partial \beta} \end{bmatrix}$$

onde,

$$\frac{\partial DL_{100\pi}}{\partial \alpha} = - \frac{1}{\beta}$$

e

$$\frac{\partial DL_{100\pi}}{\partial \beta} = - \frac{DL_{100\pi}}{\beta} .$$

Então, se $E(\hat{\alpha}) = \alpha$ e $E(\hat{\beta}) = \beta$,

$$E[\hat{DL}_{100\pi}] \cong DL_{100\pi}$$

e

$$\text{Var}[\hat{DL}_{100\pi}] \cong \frac{1}{\beta^2} \text{Var}(\hat{\alpha}) + 2 \frac{DL_{100\pi}}{\beta^2} \text{Cov}(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) + \frac{DL_{100\pi}^2}{\beta^2} \text{Var}(\hat{\beta})$$

ou seja,

$$\text{Var}[\hat{DL}_{100\pi}] \cong \frac{1}{\beta^2} \left[\text{Var}(\hat{\alpha}) + 2 DL_{100\pi} \text{Cov}(\hat{\alpha}, \hat{\beta}) + DL_{100\pi}^2 \text{Var}(\hat{\beta}) \right]$$

e o intervalo de confiança para $DL_{100\pi}$, com um coeficiente de confiança $100(1-p)$, pode ser obtido através de:

$$\text{I.C.} \left[\hat{DL}_{100\pi} \right]_{1-p} \cong \hat{DL}_{100\pi} \pm z_{p/2} \left[\text{Var} \left[\hat{DL}_{100\pi} \right] \right]^{1/2}$$

onde $z_{p/2}$ é valor de uma variável aleatória Z com distribuição normal reduzida tal que $P(Z > z_{p/2}) = p/2$.

4.12. Planejamento de Ensaios de Dose e Resposta

Com o objetivo particular de se planejar o ensaio definitivo utilizando moscas, a partir dos resultados do ensaio preliminar, ambos descritos em 3.1., procurou-se obter o delineamento ótimo para o mesmo.

Esse delineamento consta das doses a serem utilizadas e os respectivos pesos. Considere como exemplo fictício, o delineamento ótimo dado na Tabela 8 a seguir.

Tabela 8 - Exemplo de delineamento ótimo para um ensaio fictício

Doses d_i	$x_i = \log(d_i)$	Pesos $\xi(x_i)$
0,126	-0,9	0,25
1,26	0,1	0,50
10,0	1,0	0,25

Nesse caso, 25% do número total de insetos disponíveis para o ensaio devem ser usados para a dose $x_1 = -0,9$; 50% para a dose $x_2 = 0,1$ e 25% para a dose $x_3 = 1$. Assim, se estão disponíveis $N=200$ insetos para o ensaio,

$n_1 = 200 \cdot 0,25 = 50$ insetos serão utilizados para a primeira dose; $n_2 = 200 \cdot 0,5 = 100$ para a segunda e $n_3 = 200 \cdot 0,25 = 50$ para a dose terceira.

Generalizando, se forem utilizadas k doses, o número de insetos para a i -ésima dose será dado por:

$$n_i = N \xi(x_i) \quad i=1, \dots, k$$

onde,

N = número total de insetos disponíveis para o ensaio;

$\xi(x_i)$ = peso associado à i -ésima dose;

$$\sum_i \xi(x_i) = 1 \quad , \quad 0 \leq \xi(x_i) \leq 1 \quad ;$$

$$\text{e } \sum_i n_i = N \quad .$$

Como notação geral para um delineamento qualquer com um conjunto de doses e respectivos pesos, será usada:

$$\xi = \begin{bmatrix} x_1 & x_2 & \dots & x_k \\ \xi(x_1) = \frac{n_1}{N} & \xi(x_2) = \frac{n_2}{N} & \dots & \xi(x_k) = \frac{n_k}{N} \end{bmatrix}$$

4.12.1. Delineamento ótimo-D local

Esse método, descrito por ATKINSON & DONEY (1992), trata da obtenção do delineamento ótimo ξ^* através da maximização do determinante da matriz de informação, o que

corresponde à minimização da variância geral das estimativas dos parâmetros a partir de valores desses parâmetros escolhidos ou obtidos *a priori*.

Uma característica importante do delineamento ótimo-D local ξ^* é que o número de doses é igual ao número p de parâmetros estimados do modelo e os pesos dessas doses são iguais a $1/p$. Assim,

$$\xi^* = \begin{bmatrix} x_1 & x_2 & \dots & x_p \\ \xi(x_1) = \frac{1}{p} & \xi(x_2) = \frac{1}{p} & \dots & \xi(x_p) = \frac{1}{p} \end{bmatrix}$$

Seja como exemplo a obtenção das doses x_1 e x_2 $x_i \in X = [-2; 2]$ ($i=1,2$) para o modelo logístico simples, isto é, sem mistura de distribuições de tolerâncias, supondo $\alpha=0$ e $\beta=1$ e os pesos das doses iguais a n/N .

Como já visto, para esse modelo, tem-se que P_i é dado por:

$$P_i = \frac{e^{\alpha + \beta x_i}}{1 + e^{\alpha + \beta x_i}}$$

que, para $\alpha=0$ e $\beta=1$, fica igual a:

$$P_i = \frac{e^{x_i}}{1 + e^{x_i}} .$$

Por causa da simetria da distribuição logística em relação à dose zero, devida aos parâmetros escolhidos,

os logaritmos das duas doses ótimas serão simétricos em relação à dose zero, ou seja, se se considerar $x_1 = -a$, ter-se-á $x_2 = a$. Dessa forma,

$$P_1 = \frac{1}{1 + e^a}$$

e

$$P_2 = \frac{1}{1 + e^a} .$$

A matriz de informação, por sua vez, é dada por:

$$I = \begin{bmatrix} \sum_{i=1}^k n_i P_i (1-P_i) & \sum_{i=1}^k n_i P_i (1-P_i) x_i \\ \sum_{i=1}^k n_i P_i (1-P_i) x_i & \sum_{i=1}^k n_i P_i (1-P_i) x_i^2 \end{bmatrix}$$

que, para $\alpha=0$, $\beta=1$, $x_1 = -a$, $x_2 = a$ e um número fixo de insetos por dose, ou seja, $n_1 = n_2 = n$ fica:

$$I = 2n \frac{e^a}{(1 + e^a)^2} \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & a^2 \end{bmatrix} .$$

Seja M o determinante de I, dado, no caso por:

$$M = |I| = 4n^2 \left[\frac{e^a}{(1 + e^a)^2} \right]^2 a^2$$

Maximizando-se M em relação a a, tem-se que o valor obtido é $a = 1,543405$, ou seja, devem-se utilizar, no novo ensaio, as doses $x_1 = -1,543405$ e $x_2 = 1,543405$ que levam às porcentagens de mortalidades $P_1 = 17,6\%$ e $P_2 = 82,4\%$.

Assim, tem-se o seguinte delineamento ótimo-D local:

$$\xi^* = \begin{bmatrix} -1,543405 & 1,543405 \\ 0,5 & 0,5 \end{bmatrix} .$$

Uma maneira de se verificar se o delineamento, segundo um certo critério, é ótimo ou não, é observar o comportamento da variância padronizada do valor estimado em relação aos possíveis valores das doses. Para isso, considerando a matriz de informação (I) como o seguinte produto:

$$I = X' W W_{\xi} X$$

onde,

$W = \text{diag}\{Np_i(1-p_i)\}$ é a matriz $n \times n$ de pesos das observações e

$W_{\xi} = \text{diag}\{\xi(x_i)\} = \text{diag}\{n_i/N\}$ é a matriz $n \times n$ de pesos associados às doses,

$$W W_{\xi} = \begin{bmatrix} n_1 p_1 (1-p_1) & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots \\ 0 & \dots & n_k p_k (1-p_k) \end{bmatrix}_k$$

e X é dada, para esse modelo, por

$$X = \begin{bmatrix} 1 & x_1 \\ \dots & \dots \\ 1 & x_k \end{bmatrix}_2$$

Seja, ainda, o vetor x' como uma linha da matriz X , isto é, no caso, $x' = [1 \ x]$

Assim, pode-se definir, de acordo com ATKINSON & DONEV (1992), a variância padronizada do valor estimado para uma dose qualquer $x \in \mathcal{X}$, dado um certo delineamento ξ , como:

$$d(x, w, \xi) = w(x) x' I^{-1}(\xi) x$$

onde, $w(x) = N P(x) (1 - P(x))$

No exemplo em questão, para $N=100$ e $n=50$, $d(1,543405, \xi) = d(-1,543405, \xi) = 2$.

A partir do teorema da equivalência geral citado em CHALONER & LARNTZ (1989), pode-se dizer que o delineamento é ótimo, segundo o critério de otimização D , se o máximo valor de $d(x, w, \xi)$, $x \in \mathcal{X}$, for igual ao número de parâmetros do modelo.

Observando-se a Figura 8, que apresenta o gráfico de $d(x, w, \xi^*)$ em função de x , para $N=100$ e $n=50$, pode-se observar que o valor máximo de $d(x, w, \xi^*)$, $x \in [-2; 2]$ é igual a 2, ou seja, o número de parâmetros do modelo, ocorrendo para os valores $x = -1,543405$ e $x = 1,543405$, mostrando

que o delineamento obtido é o ótimo.

Figura 8 - Gráfico de $d(x, w, \xi^*)$ em função de x , para o delineamento ξ^* .

Para avaliar a eficiência de um delineamento qualquer ξ em relação ao delineamento ótimo-D local ξ^* , ATKINSON & DONEV (1992) definem essa eficiência como:

$$D_{ef} = \left\{ \frac{|I(\xi)|}{|I(\xi^*)|} \right\}^{1/p}.$$

Considere-se, para exemplificar, o seguinte delineamento, com $N=100$, para o mesmo modelo,

$$\xi = \begin{bmatrix} -2 & 0 & 2 \\ 1/4 & 1/2 & 1/4 \end{bmatrix}.$$

Nesse caso, a eficiência desse novo

delineamento, em relação ao ótimo-D é dada por:

$$D_{ef} = \left\{ \frac{372,72}{501,18} \right\}^{1/2} = 0,8624 = 86,24\% .$$

Além disso, o comportamento da variância padronizada para $x \in [-2;2]$ pode ser visto através do gráfico apresentado na Figura 9.

Figura 9 - Gráfico de $d(x,w,\xi)$ em função de x , para o delineamento ξ .

Como se pode observar, o valor máximo de $d(x,w,\xi)$ é maior do que o número de parâmetros, indicando que o delineamento não é ótimo-D.

4.12.2. Delineamento ótimo-D bayesiano

Uma grande desvantagem dos delineamentos ótimos locais é que eles dependem das estimativas pontuais *a priori* dos parâmetros do modelo e são bastante suscetíveis a esses valores. Uma outra desvantagem é que esses delineamentos não permitem verificar a adequação do modelo devido ao número de doses ser igual ao número de parâmetros a serem estimados.

Uma alternativa é considerar, além das estimativas *a priori* dos parâmetros, as suas distribuições *a priori* e com base nelas, obter o delineamento ótimo-D bayesiano.

O critério para a escolha do delineamento ótimo-D bayesiano passa a ser, então, a esperança do determinante da matriz de informação em relação aos parâmetros do modelo, que é máxima para o delineamento ótimo-D.

Nesse caso, de acordo com ATKINSON & DONEV (1992), quanto maior a incerteza a respeito dos parâmetros do modelo, maior o número de doses diferentes, e os pesos das doses não têm que ser necessariamente iguais.

A variância padronizada do valor estimado para uma dose x passa a ser dada por:

$$d(x, w, \xi) = E_{\theta} \left[w(x) x' I^{-1}(\xi) x \right]$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Ensaio de Resistência da Mosca (*Musca domestica*) ao Inseticida Deltametrina

5.1.1. Primeiro ensaio preliminar

Baseando-se na Tabela 1 (página 15), foi construída a Tabela 9, com as porcentagens de fêmeas por frasco.

Tabela 9 - Porcentagens de fêmeas por frasco, de acordo com o fornecimento ou não da alimentação.

Alimentação	Repetição (frasco)	Porcentagem de fêmeas
Não fornecida	1	63,6
	2	64,7
	3	69,0
Fornecida	1	75,7
	2	74,0
	3	81,2

Analisando-se a Tabela 9 observa-se que as porcentagens de fêmeas por frasco são sempre superiores a 60%, ao contrário da igualdade esperada de proporções para os dois sexos. Esse fato levantou a possibilidade de ter havido problemas anteriores ao ensaio, provavelmente no moscário, o que foi confirmado posteriormente quando descobriu-se que houve falta de fornecimento de água às moscas um dia antes do ensaio. Isso veio reforçar a importância que se deve dar às condições anteriores ao ensaio descritas por SUN (1960).

Essa informação, no entanto, não invalidou totalmente o ensaio, pois a condição de falta de água foi igual para todas as moscas do moscário, sugerindo, assim, amostragens periódicas no moscário como forma de detectar eventuais falhas. Por outro lado, alertou para o fato de que possivelmente as fêmeas tenham uma resistência maior do que os machos a condições pré-ensaio.

A Tabela 10 apresenta as proporções médias de moscas mortas por frasco, de acordo com o sexo e com o fornecimento ou não da alimentação. Pode-se observar, nessa tabela, uma grande diminuição da mortalidade, de 39,8% para 3,6%, ocasionada pelo fornecimento da alimentação, fato que levou à adoção da inclusão do pedaço de algodão embebido com a solução de sacarose em cada frasco, conforme citado em NAZER & AL-AZZEH (1986). Observa-se, ainda a mortalidade quase total (98,9%) dos machos sem alimentação e a mortalidade de apenas 10,7% das fêmeas nas mesmas condições,

além da ausência de mortalidade das fêmeas contra 14,8% dos machos nos frascos em que foi fornecida a alimentação. Essas diferenças podem ter sido causadas por uma menor resistência à falta de alimentação dos machos em relação às fêmeas, mas a maior porcentagem de fêmeas indica que condições como a falta de água antes do ensaio favoreceram uma maior sobrevivência das fêmeas. Assim, com base nesse ensaio, não se pode concluir a respeito da diferença de resistências em relação ao sexo.

Tabela 10 - Proporções médias de moscas (*Musca domestica*) mortas por frasco, de acordo com o sexo e com o fornecimento ou não da alimentação.

Alimentação	Machos	Fêmeas	Total de fêmeas mais machos
Não fornecida	0,989	0,107	0,398
Fornecida	0,148	0,000	0,036

Embora, no caso, uma análise mais rigorosa não seja necessária, a Tabela 11 apresenta os resultados esperados supondo o modelo logístico considerando o fator alimentação com dois níveis (fornecida e não fornecida), por onde se pode chegar às mesmas conclusões anteriores.

Tabela 11 - Proporções médias esperadas de moscas (*Musca domestica*) mortas por frasco, de acordo com o sexo e com o fornecimento ou não da alimentação, segundo o modelo logístico.

Alimentação	Machos	Fêmeas	Total de fêmeas mais machos
Não fornecida	0,9900	0,1177	0,4028
Fornecida	0,1571	0,0000	0,0362
"Deviance"	4,9390	7,0342	7,8694
χ^2	4,389	6,923	7,138
Número de graus de liberdade	4	4	4

$$\chi^2_{(4;0,05)} = 9,488$$

O programa utilizado (Programa 1) para a estimação dos parâmetros do modelo adotado encontra-se no Apêndice.

5.1.2. Segundo ensaio preliminar

Analisando-se a Tabela 2 (página 18), observa-se a não ocorrência de mortalidade na testemunha (dose 0) e portanto, pode-se supor que não há ocorrência de mortalidade natural, ou seja, $c=0$.

A Figura 10 apresenta a distribuição observada de frequências das tolerâncias para esse experimento. Como

se pode notar, a distribuição é bastante assimétrica à direita, sugerindo a utilização da escala logarítmica para as doses. Assim construiu-se a Figura 11 com a distribuição das tolerâncias nessa nova escala, que não sugere a utilização do modelo para mistura de distribuições, apesar do pequeno número de classes.

Figura 10 - Distribuição observada das tolerâncias das moscas (*Musca domestica*) a diferentes concentrações de deltametrina.

Figura 11 - Distribuição observada das tolerâncias das moscas (*Musca domestica*) a diferentes concentrações de deltametrina em escala logarítmica.

As Tabelas 12, 13 e 14 apresentam os resultados obtidos para o número de graus de liberdade, "deviance" e X^2 generalizado após o ajuste dos modelos logístico, "probit" e "complemento-log-log" para uma única distribuição de tolerâncias, considerando-se, separadamente as fêmeas, os machos e o total de fêmeas mais machos.

Tabela 12 - Valores de "deviance" e X^2 generalizado de Pearson para as distribuições de tolerância normal, logística e do valor extremo, considerando-se o caso de uma única distribuição para as fêmeas.

Distribuição	"Deviance"	X^2	número de graus de liberdade
normal	3,0548	2,336	2
logística	4,2145	3,136	2
do valor extremo	5,0330	2,990	2

$$\chi^2_{(2;0,05)} = 5,99$$

Tabela 13 - Valores de "deviance" e X^2 generalizado de Pearson para as distribuições de tolerância normal, logística e do valor extremo, considerando-se o caso de uma única distribuição para os machos

Distribuição	"Deviance"	X^2	número de graus de liberdade
normal	1,1753	1,205	3
logística	1,1493	1,056	3
do valor extremo	9,538	8,774	3

$$\chi^2_{(3;0,05)} = 7,81$$

Tabela 14 - Valores de "deviance" e X^2 generalizado de Pearson para as distribuições de tolerância normal, logística e do valor extremo, considerando-se o caso de uma única distribuição para o total de machos mais fêmeas.

Distribuição	"Deviance"	X^2	número de graus de liberdade
normal	1,1255	0,9686	3
logística	3,0429	2,426	3
do valor extremo	12,290	9,561	3

$$\chi^2_{(3;0,05)} = 7,81$$

Analisando-se essas tabelas, observa-se inicialmente, um menor número de graus de liberdade para a análise considerando as fêmeas (Tabela 12), o que foi causado pelo fato de terem sido utilizadas, nessa análise, somente as quatro maiores doses de deltametrina, ao contrário das outras análises que utilizaram as cinco maiores doses. Observa-se ainda, que, nos três casos, os valores observados da "deviance" e do X^2 são menores que o valor tabelado de χ^2 ao nível de 5% de probabilidade, considerando-se os modelos "probit" (distribuição normal) e logístico, indicando a adequação desses modelos.

As estimativas para o modelo logístico e os valores ajustados são apresentados, respectivamente nas Tabelas 15 e 16.

Tabela 15 - Doses letais DL_{50} e respectivos intervalos de 95% de confiança (I.C.) e estimativas dos parâmetros do modelo logístico com respectivos desvios padrões (entre parênteses), considerando-se separadamente machos, fêmeas e o total de machos mais fêmeas.

	Machos	Fêmeas	Total de machos mais fêmeas
DL_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	4,06	6,52	5,26
I.C.	2,59 ; 6,36	4,17 ; 10,19	3,85 ; 7,19
α	-1,379 (0,2865)	-1,555 (0,2670)	-1,501 (0,1918)
β	2,266 (0,2866)	1,911 (0,2484)	2,082 (0,1834)

Tabela 16 - Números observados e esperados de moscas mortas, segundo o modelo logístico, considerando-se separadamente fêmeas, machos e o total de fêmeas mais machos.

Dose ($\mu\text{g/ml}$)	número de machos mortos		número de fêmeas mortas		número total de moscas mortas	
	obs.	esp.	obs.	esp.	obs.	esp.
0,01	0	0,1	0	0,2	0	0,3
0,10	1	1,5	0	1,2	1	2,6
1,0	8	7,6	14	10,8	22	18,2
10	36	34,7	30	32,9	66	67,3
100	45	46,0	48	47,1	93	93,5

Analisando-se a Tabela 15, pode-se observar que a dose letal para os machos foi um pouco menor do que a para as fêmeas, embora essa diferença não seja significativa, se se compararem os intervalos de confiança. Considerando, ainda, que o ajuste para o total de machos mais fêmeas foi adequado, conclui-se que não há a necessidade de se considerar o modelo para misturas de distribuições de tolerâncias. Entretanto, para confirmar esse fato, foi conduzida a análise para mistura de duas distribuições logísticas de tolerâncias cujos resultados são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 - Valores de "deviance", X^2 generalizado de Pearson, doses letais DL_{50} e respectivos intervalos de 95% de confiança (I.C.) e estimativas dos parâmetros do modelo para mistura de duas distribuições logísticas com respectivos desvios padrões (entre parênteses), considerando-se $\theta_1 = \theta_2 = 0,5$.

Parâmetros	Subpopulação 1	Subpopulação 2
α	-3,601 (1,0965)	-0,3465 (0,3814)
β	2,713 (0,6579)	3,661 (1,1210)
DL_{50} ($\mu g/ml$)	21,24	1,243
I.C.	11,4 ; 39,5	0,732 ; 2,111
"Deviance"= 0,06398		
$X^2 = 0,03379$	$\chi^2_{(1;0,05)} = 3,84$	

Através das Tabelas 14 e 17, observa-se uma diminuição da "deviance" de 3,0429 com 3 graus de liberdade para 0,06398 com 1 grau de liberdade, ou seja, uma diferença de 2,9789 com 2 graus de liberdade. Comparando-se esse valor com o tabelado ($\chi^2_{(2),05} = 5,99$) conclui-se que, como era de se esperar, não se deve utilizar, no caso, o modelo para misturas. Confirmando essa conclusão, pode-se notar que os valores estimados das doses letais para a primeira subpopulação e para a segunda subpopulação estão muito distantes dos valores obtidos a partir das análises isoladas (4,06 para machos e 6,52 para fêmeas), fato que sugere a utilização do modelo de misturas somente quando houver razões biológicas comprovadas pela observação do histograma das tolerâncias.

5.1.3. Planejamento do ensaio definitivo

De acordo com as estimativas dos parâmetros considerando-se o modelo logístico separadamente para fêmeas e para machos (Tabela 15) e com a matriz de informação para mistura de duas distribuições logísticas com iguais proporções, ausência de mortalidade natural e o logarítmo das doses entre -2 e 2, ou seja, $x \in [-2;2]$, tem-se o seguinte delineamento ótimo-D local:

$$\xi^* = \begin{bmatrix} -1,220 & 0,107 & 1,004 & 2 \\ 1/4 & 1/4 & 1/4 & 1/4 \end{bmatrix}$$

que correspondem, respectivamente, às doses 0,060; 1,28; 10,1 e 100 $\mu\text{g/ml}$ com as porcentagens esperadas de mortalidade iguais a 1,8; 22,4; 65,0 e 93,5%.

A inexistência, na época do planejamento do ensaio definitivo, dos artigos e publicações mais recentes e a dificuldade computacional encontrada na implementação dos métodos propostos por TSUTAKAWA (1972,1980) levou à utilização dos delineamentos citados por ROBERTSON *et alii* (1984).

Inicialmente, decidiu-se utilizar 10 doses diferentes, sendo uma delas a testemunha, de modo a se ter condições de estimar os parâmetros do modelo proposto. Decidiu-se, também, pela utilização de 3 repetições por dose devido a problemas que pudessem ocorrer durante a condução do ensaio.

Com base nas estimativas dos parâmetros do ensaio preliminar, procurou-se planejar o definitivo de modo que fosse possível estimar tanto a DL_{50} quanto DL_{90} com uma boa precisão e que as doses fossem igualmente espaçadas de modo a facilitar a obtenção dessas doses através da diluição de uma solução padrão. Assim, foram escolhidas as doses, em $\mu\text{g/ml}$ de deltametrina, 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0,78125; 0,390625 e 0 correspondendo, respectivamen-

te, às seguintes porcentagens esperadas de mortalidade: 93, 88, 80, 69, 54, 38, 25, 15, 9 e 0%. Assim, tem-se quatro doses com porcentagens esperadas de mortalidade entre 25 e 75% que permitem, segundo (ROBERTSON *et alii*, 1984), a estimação precisa da DL_{50} , três acima de 75% e duas inferiores a 10% para a estimação da DL_{90} .

5.1.4. Ensaio definitivo

Analisando-se a Tabela 3 (página 20), observa-se a não ocorrência de mortalidade na testemunha (dose 0) e portanto, pode-se supor que não há ocorrência de mortalidade natural, ou seja, $c=0$.

As Tabelas 18, 19 e 20 mostram as análises de "deviance" para a mortalidade considerando somente as fêmeas e os modelos "probit", logístico e "complemento-log-log" para uma única distribuição de tolerâncias. Como se pode observar, para os três casos, o valor da estatística F para a falta de ajuste foi não significativa indicando a adequação de qualquer um desses modelos.

Tabela 18 - Análise de "deviance" para a variável número de fêmeas mortas, considerando-se o modelo logístico para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	603,622559	75,452820	30,94
Modelo	1	577,444885	577,444885	236,76
Falta de ajuste	7	26,177673	3,739668	1,53
Resíduo	17	41,461823	2,438931	
Total	25	645,084412	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

Tabela 19 - Análise de "deviance" para a variável número de fêmeas mortas, considerando-se o modelo "probit" para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	603,622559	75,452820	30,94
Modelo	1	578,772583	578,772583	237,31
Falta de ajuste	7	24,849976	3,549997	1,46
Resíduo	17	41,461823	2,438931	
Total	25	645,084412	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

Tabela 20 - Análise de "deviance" para a variável número de fêmeas mortas, considerando-se o modelo "complemento-log-log" para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	603,622559	75,452820	30,94
Modelo	1	587,859192	587,859192	241,03
Falta de ajuste	7	15,763367	2,251909	0,92
Resíduo	17	41,461823	2,438931	
Total	25	645,084412	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

As Tabelas 21, 22 e 23, por sua vez, mostram as análises de "deviance" para a mortalidade considerando somente os machos e os modelos "probit", logístico e "complemento-log-log" para uma única distribuição de tolerâncias. Como se pode observar o valor da estatística F para a falta de ajuste, para o modelo "complemento-log-log" foi significativo, indicando a não adequação do mesmo, ao contrário dos demais modelos.

Tabela 21 - Análise de "deviance" para a variável número de machos mortos, considerando-se o modelo logístico para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	510,843994	63,855499	38,01
Modelo	1	481,274963	481,274963	286,51
Falta de ajuste	7	29,569031	4,224147	2,51
Resíduo	17	28,556465	1,679792	
Total	25	539,400452	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

Tabela 22 - Análise de "deviance" para a variável número de machos mortos, considerando-se o modelo "probit" para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	510,843994	63,855499	38,01
Modelo	1	480,353699	480,353699	285,96
Falta de ajuste	7	30,490295	4,355756	2,59
Resíduo	17	28,556465	1,679792	
Total	25	539,400452	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

Tabela 23 - Análise de "deviance" para a variável número de machos mortos, considerando-se o modelo "complemento-log-log" para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	510,843994	63,855499	38,01
Modelo	1	471,025818	471,025818	280,41
Falta de ajuste	7	38,818176	5,688311	3,39
Resíduo	17	28,556465	1,679792	
Total	25	539,400452	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

A seguir, analisou-se o total de insetos mortos, considerando-se os três modelos citados e uma única distribuição de tolerâncias (Tabelas 24, 25 e 26). Como se pode observar, os valores da estatística F para a falta de ajuste também não foram significativos indicando a adequação de qualquer um dos modelos considerados. Esperava-se, no entanto, que esses modelos considerando uma única distribuição de tolerâncias não fossem adequados no caso de considerarmos o total de insetos (machos mais fêmeas).

Tabela 24 - Análise de "deviance" para a variável número total de moscas mortas, considerando-se o modelo logístico para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	1098,010254	137,251282	47,75
Modelo	1	1059,117920	1059,117920	368,45
Falta de ajuste	7	38,892334	5,556048	1,93
Resíduo	17	48,866570	2,874504	
Total	25	1146,876831	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

Tabela 25 - Análise de "deviance" para a variável número total de moscas mortas, considerando-se o modelo "probit" para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	1098,010254	137,251282	47,75
Modelo	1	1059,813965	1059,813965	368,69
Falta de ajuste	7	38,196289	5,456613	1,90
Resíduo	17	48,866570	2,874504	
Total	25	1146,876831	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

Tabela 26 - Análise de "deviance" para a variável número total de moscas mortas, considerando-se o modelo "complemento-log-log" para uma única distribuição de tolerâncias.

Fonte de variação	G.L.	"Deviance"	"Deviance" média	F
Doses	8	1098,010254	137,251282	47,75
Modelo	1	1057,934326	1057,934326	368,04
Falta de ajuste	7	40,075928	5,725132	1,99
Resíduo	17	48,866570	2,874504	
Total	25	1146,876831	$F_{(7;17;0,05)} = 2,61$	

A Tabela 27 apresenta as estimativas e os intervalos de confiança com um coeficiente de confiança de 95% de probabilidade das doses letais DL_{50} , em $\mu\text{g/ml}$, para fêmeas, para machos e para o total de machos mais fêmeas, considerando-se os modelos logístico, "probit" e "complemento-log-log", para uma única distribuição de tolerâncias. Analisando-se essa tabela, pode-se observar que, independente do modelo considerado, as doses letais DL_{50} estimadas para as fêmeas foram sempre um pouco maiores do que as doses letais para os machos. Essa diferença, contudo, não foi suficientemente grande para que se detectasse, na análise do total de machos mais fêmeas, uma mistura de distribuições de tolerâncias. Observa-se, ainda, que as doses letais DL_{50} estimadas considerando-se o modelo "complemento-log-log"

foram sempre maiores do que as estimadas através dos modelos logístico e "probit".

A Tabela 28 apresenta as estimativas dos parâmetros para os modelos considerados e os respectivos desvios padrões.

O programa utilizado (Programa 2) para a estimação dos parâmetros dos modelos citados usando o pacote computacional GLIM, encontra-se no Apêndice.

Tabela 27 - Estimativas e intervalos de confiança com um coeficiente de confiança de 95% de probabilidade das doses letais DL_{50} , em $\mu\text{g/ml}$, para fêmeas, para machos e para o total de machos mais fêmeas, considerando-se os modelos logístico, "probit" e "complemento-log-log", para uma única distribuição de tolerâncias.

	Modelo		
	Logístico	"Probit"	"Complemento-log-log"
Fêmeas	7,73 [6,70 ; 8,93]	7,58 [6,58 ; 8,72]	16,6 [14,5 ; 19,0]
Machos	6,19 [5,28 ; 7,25]	6,18 [5,29 ; 7,22]	14,5 [12,5 ; 16,9]
Total	6,97 [6,27 ; 7,75]	6,90 [6,21 ; 7,66]	15,7 [14,2 ; 17,3]

Tabela 28 - Estimativas e desvios padrões (entre parênteses) dos parâmetros dos modelos logístico, "probit" e "complemento-log-log", para uma única distribuição de tolerâncias, considerando-se separadamente fêmeas, machos e o total de machos mais fêmeas.

	Modelo					
	Logístico		"Probit"		"Complemento-log-log"	
	α	β	α	β	α	β
Fêmeas	-1,895 (0,1185)	2,133 (0,1117)	-1,111 (0,0645)	1,263 (0,0598)	-1,821 (0,0943)	1,493 (0,0714)
Machos	-1,585 (0,1174)	2,003 (0,1128)	-0,934 (0,0652)	1,181 (0,0605)	-1,500 (0,0899)	1,291 (0,0689)
Total	-1,745 (0,0834)	2,070 (0,0793)	-1,026 (0,0459)	1,224 (0,0425)	-1,662 (0,0650)	1,391 (0,0495)

5.2. Ensaio de Sensibilidade de Um Isolado do Fungo *Metarhizium anisopliae* à Radiação Ultravioleta de 2,523 Å

Analisando-se a Tabela 4 (página 23), observa-se a não ocorrência de mortalidade na testemunha (dose 0) e portanto, pode-se supor que não há ocorrência de mortalidade natural, ou seja, $c=0$. A Figura 12, apresenta a distribuição observada de frequências das tolerâncias para esse experimento. Como se pode notar, parece haver uma mistura de duas subpopulações, a primeira, mais sensível, com

tolerância média ao redor de 40 segundos, e a segunda, compreendendo a maior parte da população, com tolerância média ao redor de 70 segundos. O fato observado pode ser explicado na prática devido ao isolado do fungo ter sido obtido de diferentes cigarrinhas da cana-de-açúcar, com diferentes hábitos. Assim, o fungo coletado de cigarrinhas com o hábito de ficarem mais tempo expostas à radiação solar e portanto à radiação ultra-violeta (UV), é provavelmente mais resistente à essa radiação do que o fungo coletado de cigarrinhas com menor exposição ao sol.

Figura 12 - Distribuição observada de freqüências das tolerâncias dos conídios de um isolado do fungo *Metarhizium anisopliae* à radiação UV.

As Tabelas 29 e 30 apresentam os resultados obtidos para a "deviance", para o X^2 generalizado de Pearson e para o número de graus de liberdade, após o ajuste dos modelos "probit", logístico e "complemento-log-log" (distribuição do valor extremo) considerando-se uma única distribuição de tolerâncias e a mistura de duas distribuições de tolerâncias, respectivamente.

Tabela 29 - Valores de "deviance", X^2 generalizado de Pearson e número de graus de liberdade, para os modelos considerando-se as distribuições de tolerância normal, logística e do valor extremo, supondo-se o caso de uma única distribuição.

Modelo	"Deviance"	X^2	número de graus de liberdade
"probit"	140,13	133,2	9
"logit"	113,73	107,5	9
"complemento-log-log"	76,462	73,58	9

$$\chi^2_{(9;0,01)} = 21,67$$

Tabela 30 - Valores de "deviance", χ^2 generalizado de Pearson e número de graus de liberdade para o modelo de mistura de duas distribuições de tolerância normais, duas logísticas e duas do valor extremo.

Distribuições	"Deviance"	χ^2	número de graus de liberdade
normais	5,0745	5,1028	6
logísticas	4,1976	4,2238	6
do valor extremo	2,1096	2,1175	6

$$\chi^2_{(6;0,05)} = 12,59$$

Analisando-se a Tabela 29, observa-se que os valores observados da "deviance" e do χ^2 são maiores que o valor tabelado de χ^2 ao nível de 1% de probabilidade para os modelos considerando-se uma única distribuição de tolerâncias, enquanto que os valores apresentados na Tabela 30 são menores que o valor tabelado de χ^2 ao nível de 5% de probabilidade para os modelos de misturas de duas distribuições.

Pelo fato do modelo de duas distribuições do valor extremo ter apresentado a menor "deviance", optou-se pela adoção do mesmo, cujos ajustes considerando uma única distribuição e uma mistura de duas distribuições, podem ser visualizados na Figura 13.

Figura 13 - Proporções observadas e esperadas de conídios inviáveis em função da dose de radiação, considerando-se uma única distribuição de tolerâncias e a mistura de duas distribuições do valor extremo.

As estimativas dos parâmetros e das doses letais DL_{50} , e os respectivos desvios padrões para o modelo considerado, são apresentados na Tabela 31, enquanto que a Tabela 32, apresenta os números esperados de conídios inviáveis para os modelos para uma única distribuição de tolerâncias e para a mistura de duas distribuições do valor extremo.

Os programas (programas 3, 4, 5 e 6) utilizados para a estimação dos parâmetros dos modelos citados,

usando o algoritmo EM e o pacote computacional GLIM, encontram-se no Apêndice. Verificou-se que a convergência através desse algoritmo foi bastante lenta e dependente dos valores iniciais considerados para os parâmetros, confirmando as considerações de TITTERINGTON & MORGAN (1977). Em função disso, optou-se pela utilização da função SOLVER da planilha MICROSOFT EXCEL, para a solução das equações de máxima verossimilhança obtendo as estimativas dos parâmetros e para o cálculo das matrizes de informação e vetores de escores.

Verificou-se que os resultados obtidos através dos dois métodos citados, foram praticamente os mesmos.

Tabela 31 - Estimativas dos parâmetros e das doses letais DL_{50} , e respectivos desvios padrões (entre parênteses) considerando-se os casos de uma distribuição e mistura de duas distribuições do valor extremo.

Parâmetros	Estimativas	
	Uma única distribuição	Mistura de duas distribuições
θ_1	1	0,215 (0,0862)
α_1	-5,167 (0,1557)	-3,04 (0,3616)
α_2	-	-15,0 (3,103)
β_1	0,07613 (0,002638)	0,0727 (0,01932)
β_2	-	0,220 (0,04382)
DL_{50}_1	67,87 (0,5387)	41,76 (9,886)
DL_{50}_2	-	68,30 (0,6251)

Tabela 32 - Números observados e esperados de conídios inviáveis por placa, considerando-se uma única distribuição de tolerâncias e mistura de duas distribuições do valor extremo.

Dose	Número observado de conídios inviáveis	Número esperado de conídios inviáveis	
		Uma única distribuição	Mistura de duas subpopulações
0	0	-	-
20	16	10,32	16,02
25	22	15,01	22,08
30	28	21,77	29,92
35	41	31,45	39,63
40	54	45,17	51,04
45	64	64,33	63,71
50	74	90,52	77,75
55	93	125,20	96,25
60	140	169,07	130,85
65	200	220,96	206,20
70	328	276,62	326,69

5.3. Estudo de Resistência de Ovos de Uma Espécie de Verme (*Ostergagia Spp.*) do Carneiro, a Diferentes Concentrações da Droga Tiabendazol (TBZ)

Analisando-se a Tabela 5 (página 25), observa-se a ocorrência de mortalidade na testemunha (dose 0) e portanto, pode-se supor que há uma taxa de mortalidade

natural diferente de zero, ou seja, $c \neq 0$.

A Figura 14 apresenta a distribuição observada de frequências das tolerâncias para esse experimento. Como se pode notar, a distribuição é bastante assimétrica à direita, sugerindo a utilização da escala logarítmica para as doses. Assim, construiu-se a Figura 15 com a distribuição das tolerâncias nessa nova escala, que sugere a presença de uma mistura de duas subpopulações, a primeira, compreendendo ao redor de 40% da população, com tolerância média ao redor de -1,1 (escala logarítmica) e a segunda, com tolerância média ao redor de -0,4.

Figura 14 - Distribuição observada de frequências das tolerâncias dos ovos do verme *Ostergagia Spp.* a diferentes concentrações de tiabendazol (TBZ).

Figura 15 - Distribuição observada de freqüências das tolerâncias dos ovos do verme *Ostergagia Spp.* a diferentes concentrações de tiabendazol, em escala logarítmica.

As Tabelas 33 e 34 apresentam os resultados obtidos para a "deviance", para o X^2 generalizado de Pearson e para o número de graus de liberdade, após o ajuste dos modelos "probit", logístico e "complemento-log-log" considerando-se uma única distribuição e a mistura de duas distribuições de tolerâncias, respectivamente. Apresentam, ainda, os resultados para o caso em que a taxa de mortalidade foi estimada unicamente através da testemunha ($\hat{c}=79/1117$), sendo então considerada conhecida, e para o caso em que foi estimada a partir de todas as doses, incluindo a testemunha.

Tabela 33 - Valores de "deviance", X^2 generalizado de Pearson e número de graus de liberdade para as distribuições de tolerância normal, logística e do valor extremo, considerando-se uma única distribuição de tolerâncias, para os casos de taxa natural de mortalidade c conhecida e c estimada.

Distribuição	$c = 79/1117$		c estimada		g.l.*
	"Deviance"	X^2	"Deviance"	X^2	
normal	155,47	137,45	155,47	137,43	15
logística	209,31	180,35	209,13	179,86	15
do valor extremo	131,66	125,54	123,51	119,36	15

* g.l. = número de graus de liberdade

$$\chi^2_{(15;0,01)} = 30,58$$

Tabela 34 - Valores de "deviance", X^2 generalizado de Pearson e número de graus de liberdade, para as distribuições de tolerância normal, logística e do valor extremo, considerando-se a mistura de duas distribuições de tolerâncias, para os casos de taxa natural de mortalidade c conhecida e c estimada.

Distribuição	c = 79/1117		c estimada		g.l.*
	"Deviance"	X^2	"Deviance"	X^2	
normal	24,17	23,21	23,73	22,65	12
logística	35,42	33,03	35,42	33,00	12
do valor extremo	10,10	9,88	10,08	9,85	12

* g.l. = número de graus de liberdade

$$\chi^2_{(12;0,05)} = 21,03$$

Analisando-se essas tabelas, observa-se que os valores observados da "deviance" e do X^2 são maiores que o valor tabelado de χ^2 ao nível de 1% de probabilidade para os modelos considerando-se uma única distribuição de tolerâncias e são maiores que o valor tabelado de χ^2 ao nível de 5% de probabilidade para os modelos considerando-se a mistura de duas distribuições logísticas e mistura de duas normais, indicando a não adequação desses modelos. No entanto, observa-se que os valores observados para os modelos considerando-se a mistura de duas distribuições do valor extremo são menores que o valor tabelado de χ^2 ao nível de 5%

de probabilidade, indicando a adequação dos mesmos e não havendo a necessidade de se considerar uma mistura de três distribuições como em LWIN & MARTIN (1989).

Com relação à estimação da taxa c de mortalidade, quando esta é estimada unicamente a partir da testemunha ou como fizeram LWIN & MARTIN (1989) que estimaram c a partir da testemunha e da dose $0,0023 \mu\text{g/ml}$ $\left[\hat{c} = (79+74)/(1117+909) \right]$, não se tem idéia da grandeza do erro que se pode estar cometendo. Assim, é preferível estimar c a partir de todas as doses, incluindo a testemunha. Dessa forma, adotou-se o modelo para mistura de duas distribuições do valor extremo considerando-se c desconhecida, cujos ajustes considerando uma única distribuição e uma mistura de duas distribuições podem ser visualizados na Figura 16.

As estimativas dos parâmetros e das doses letais DL_{50} com os respectivos desvios padrões são apresentados na Tabela 35 e os números observados e esperados de ovos não eclodidos, na Tabela 36.

Tabela 35 - Estimativas dos parâmetros e das doses letais DL_{50} , e respectivos desvios padrões (entre parênteses), considerando-se o modelo com uma única distribuição de tolerâncias do valor extremo e o modelo com uma mistura de duas distribuições do valor extremo, para os casos de taxa natural de mortalidade c conhecida e c estimada.

Parâmetros	Taxa c conhecida		Taxa c estimada	
	Uma única distribuição	Mistura	Uma única distribuição	Mistura
c	79/1117 (0)	79/1117 (0)	0,0540 (0,00604)	0,0699 (0,00592)
θ_1	1	0,2604 (0,0291)	1	0,2601 (0,0292)
α_1	1,180 (0,0214)	11,03 (2,028)	1,175 (0,0212)	10,97 (2,071)
α_2	-	1,115 (0,0286)	-	1,114 (0,0286)
β_1	2,445 (0,0373)	10,24 (1,811)	2,382 (0,0435)	10,19 (1,859)
β_2	-	3,207 (0,1687)	-	3,201 (0,1730)
DL_{50_1}	-0,4823 (0,00544)	-1,077 (0,0137)	-0,4933 (0,00681)	-1,077 (0,0141)
DL_{50_2}	-	-0,3475 (0,0179)	-	-0,3481 (0,0184)

Tabela 36 - Números observados e esperados de ovos de *Ostergagia Spp.* não eclodidos, após a aplicação de diferentes doses de tiabendazol (TBZ), considerando-se os modelos com uma única distribuição de tolerâncias do valor extremo e mistura de duas distribuições do valor extremo.

Log(dose)	Nº observado de ovos não eclodidos	Número esperado de ovos não eclodidos	
		Uma única distribuição	Mistura de duas distribuições
-	79	60,30	78,08
-1,638	74	103,50	74,25
-1,329	125	186,53	124,90
-1,204	184	236,34	189,95
-1,107	288	272,28	277,19
-1,028	361	310,05	369,49
-0,903	474	390,63	465,62
-0,807	462	436,07	481,07
-0,727	512	497,02	520,66
-0,602	624	606,11	601,41
-0,505	680	691,63	672,28
-0,426	748	762,06	737,08
-0,301	845	877,83	855,50
-0,204	947	960,59	947,54
-0,125	946	962,17	958,15
0,000	1044	1038,97	1043,75
0,097	1060	1049,93	1055,49
0,176	250	249,28	250,18

Figura 16 - Proporções observadas e esperadas de ovos não eclodidos em função do logaritmo da dose aplicada, considerando-se uma única distribuição de tolerâncias e a mistura de duas distribuições do valor extremo.

6. CONCLUSÕES

O método proposto para misturas deve ser utilizado somente nos casos em que há razões biológicas para a existência de misturas de diferentes distribuições de tolerâncias, confirmada através da observação do histograma das tolerâncias.

O histograma das tolerâncias serve também para se verificar a necessidade de uma transformação para as doses. Permite, ainda, a obtenção de valores iniciais para os parâmetros do modelo, muito importantes para a velocidade de convergência dos algoritmos utilizados.

Uma observação importante é que a velocidade de convergência do algoritmo EM aplicado aos casos de misturas de distribuições, mostrou-se bastante lenta, sendo preferível, nesses casos, a utilização da planilha MICROSOFT EXCEL que possui um eficiente módulo para a maximização e minimização com restrições, de funções lineares e não lineares, além de permitir a construção de gráficos, durante o ajuste do modelo.

Como recomendação, na presença de taxa natural

de mortalidade, deve-se estimá-la, preferencialmente, a partir de todas as doses do ensaio, incluindo a testemunha de modo a se ter uma idéia da precisão de sua estimativa. Deve-se, ainda, estudar muito bem as condições anteriores ao ensaio e durante a sua condução, que possam afetar as respostas dos indivíduos, de modo a evitar a necessidade de se realizarem demasiadas repetições do mesmo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHTON, W. D. **The logit transformation with special reference to its uses in Bioassay.** London, Griffin, 1972. 88p.
- ATKINSON, A. C. & DONEV, A. N. **Optimum experimental designs.** Oxford, Oxford University Press, 1992. 328 p.
- ATKINSON, A. C.; CHALONER, K.; HERZBERG, A. M.; JURITZ, J. Optimum experimental designs for properties of a compartmental model. **Biometrics**, Alexandria, 1993. (No prelo).
- BEARD, R. L. Post-exposure conditions and determination of end-point. In: SHEPARD, H. H., ed. **Methods of testing chemicals on insects.** Minneapolis, Burgess Publ., 1960. v.2, cap.3, p. 19-27.
- CHALONER, K. & LARNTZ, K. Optimal Bayesian design applied to logistic regression experiments. **Journal of Statistical Planning and Inference**, Amsterdam, **21**: 191-208, 1989.

- DEMPSTER, A. P.; LAIRD, N. M.; RUBIN, D. B. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B**, Oxford, **39**: 1-38, 1977.
- DOBSON, A. J. **Introduction to statistical modelling**. London, Cambridge University Press, 1990. 125p.
- FAREWELL, V. T. The use of mixture models for the analysis of survival data with long-term survivors. **Biometrics**, Alexandria, **38**: 1041-6, 1992.
- FINNEY, D. J. **Probit analysis**. 3.ed. London, Cambridge University Press, 1971. 333p.
- GAINES, J. C. & MISTRIC Jr., W. J. Factors affecting insects during exposure to insecticides. In: SHEPARD, H. H., ed. **Methods of testing chemicals on insects**. Minneapolis, Burgess Publ., 1960. v.2, cap.2, p. 10-8.
- LWIN, T. & MARTIN, P. J. Probits of mixtures. **Biometrics**, Alexandria, **45**: 721-32, 1989.
- McCULLAGH, P. & NELDER, J. A. **Generalized linear models**. London, Chapman & Hall, 1989. 511p.
- MORGAN, B. J. T. **Analysis of quantal response data**. London, Chapman & Hall, 1992. 514 p.

- NAZER, I. K. & AL-AZZEH, T. K. Resistance of the house fly, *Musca domestica domestica* (Diptera: Muscidae), to certain insecticides in the Amman area of Jordan. **Journal of Medical Entomology**, Annapolis, **23**(4): 405-10, 1986.
- NELDER, J. A. & WEDDERBURN, R. W. M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society. Series A**, Oxford, **39**: 370-84, 1972.
- PALMER, C. J. & CASIDA, J. E. 1-(4-Ethynylphenyl)-2,6,7-trioxabicyclo[2.2.2]octanes: a new order of potency for insecticides acting at the GABA-gated chloride channel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, **37**(1): 213-6, 1989.
- PALMER, C. J.; COLE, L. M.; LARKIN, J. P.; SMITH, I. H.; CASIDA, J. E. 1-(4-Ethynylphenyl)-4-substituted-2,6,7-trioxabicyclo[2.2.2]octanes: effect of a 4-substituent on toxicity to houseflies and mice and potency at the GABA-gated chloride channel. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, **39**(7): 1329-34, 1991.
- PAYNE, C. D., ed. **The GLIM system release 3.77 manual. Generalized linear interactive modelling.** Oxford, Numerical Algorithms Group, 1986.
- ROBERTSON, J. L.; SMITH, K. C.; SAVIN, N. E.; LAVIGNE, R. J. Effects of dose selection and sample size on the precision of lethal dose estimates in dose-mortality regression. **Journal of Economic Entomology**, Annapolis, **77**, 833-7, 1984.

SMITH, K. C.; SAVIN, N. E.; ROBERTSON, J. L. A Monte Carlo comparison of maximum likelihood and minimum chi square sampling distributions in logit analysis. **Biometrics**, Alexandria, **40**, 471-82, 1984.

SULAIMAN, S.; OMAR, B.; JEFFERY, J.; BUSPARANI, V. Evaluation of pyrethroids lambda cyhalothrin, deltamethrin and permethrin against *Musca domestica* (Linnaeus) (Diptera: Muscidae) in the laboratory. **Tropical Biomedicine**, Kuala Lumpur, **7**(2): 197-8, 1990.

SUN, Y. Pre-test Conditions wich Affect Insect Reaction. In: SHEPARD, H. H., ed. **Methods of testing chemicals on insects**. Minneapolis, Burgess Publ., 1960. v.2, cap.1, p.1-9.

TITTERINGTON, D. M. & MORGAN, B. J. T. Discussion of the paper by Dempster, Laird and Rubin. **Journal of the Royal Statitital Society**. Series B, Oxford, **39**(1): 17, 1977.

TSUTAKAWA, R. K. Design of experiment for bioassay. **Journal of the American Statistical Association**, Alexandria, **67**(339): 584-90, 1972.

TSUTAKAWA, R. K. Selection of dose levels for estimating a percentage point of a logistic quantal response curve. **Applied Statistics**, Oxford, **29**(1): 25-33, 1980.

APÉNDICE

Programa 1 - Programa utilizando o pacote computacional GLIM, para a estimação das porcentagens de mortalidade no primeiro ensaio preliminar.

```

$UNITS 6
$DATA ALIM Y1 N1 Y2 N2
!
!  ALIM: nivel 1 = com alimentacao
!  ALIM: nivel 2 = sem alimentacao
!  Y1 = numero de femeas mortas do total de N1 femeas
!  Y2 = numero de machos mortos do total de N2 machos
!  Y = numero total de moscas mortas do total de N moscas
!
$READ
1  0 78  5 25
1  0 74  5 26
1  0 82  1 19
2  6 63 33 33
2 12 66 36 36
2  3 69 30 31
!
!  ANALISE CONJUNTA (MACHOS + FEMEAS)
!
$CA Y=Y1+Y2:N=N1+N2
$YVAR Y
$ERR B N
$FACTOR ALIM 2
$FIT :+ALIM
$DIS E R
$CA %X2$
!
!  ANALISE CONSIDERANDO SOMENTE AS FEMEAS
!
$YVAR Y1
$ERR B1 N1
$FACTOR ALIM 2
$FIT :+ALIM
$DIS E R
$CA %X2$
!
!  ANALISE CONSIDERANDO SOMENTE OS MACHOS
!
$YVAR Y2
$ERR B2 N2
$FACTOR ALIM 2
$FIT :+ALIM
$DIS E R
$CA %X2$
$FINISH

```

Programa 2 - Programa utilizando o pacote computacional GLIM,
para a análise do ensaio definitivo.

```

$UNITS 26
$DATA TRAT DOSE M1 M2 V1 V2
!
! DOSE = dose de deltametrina
! LDOS = logaritmo da dose de deltametrina
! M1 = numero de femeas mortas
! M2 = numero de machos mortos
! V1 = numero de femeas vivas
! V2 = numero de machos vivos
!
$READ
1      100   52 45  0  3
2      50   41 51  4  3
3      25   28 30 22 20
4      12.5  26 42 20 14
5      6.25  21 16 36 28
6      3.125 19 13 40 27
7      1.5625 11  8 35 45
8      0.78125  5  8 54 35
9 0.390625  4  8 51 39
1      100   42 48  6  6
2      50   56 39  2  2
3      25   46 37 10 11
4      12.5  28 48 16  8
5      6.25  14 30 33 26
6      3.125 18 18 33 37
7      1.5625 13 12 42 32
9 0.390625  2  2 49 48
1      100   54 43  0  5
2      50   42 36 13  9
3      25   38 28 18 17
4      12.5  34 38 15 13
5      6.25  20 15 42 24
6      3.125 13 16 42 29
7      1.5625 20  9 43 30
8      0.78125  6  9 46 38
9 0.390625  4  1 46 45
$CAL N1=M1+V1:
      N2=M2+V2:
      N=N1+N2:
      M=M1+M2:
      LDOS=%LOG(DOSE)/%LOG(10)
!
$MACRO AJUSTE
$PRINT .....:
      Ajuste considerando a distribuicao logistica .....:
$LINK G$
$USE ANODEV$

```

```
$PRINT .....:
      Ajuste considerando a distribuicao "probit":
.....:
```

```
$LINK P$
$USE ANODEV$
$PRINT
```

```
.....:
      Ajuste considerando a distribuicao "compl.-log-log":
.....:
```

```
$LINK C$
$USE ANODEV$
$ENDMACRO$
```

```
!
$MACRO ANODEV
$FACTOR TRAT 9$
$FIT$
$CAL %A=%DF:
      %B=%DV
$FIT TRAT$
$CAL %C=%DF:
      %E=%DV:
      %F=%A-%C:
      %G=%B-%E
$FIT LDOS$
$CAL %H=%DF:
      %I=%DV:
      %J=%A-%H:
      %K=%B-%I:
      %L=%F-%J:
      %M=%G-%K:
      %N=%G/%F:
      %O=%K/%J:
      %P=%M/%L:
      %Q=%E/%C:
      %R=%N/%Q:
      %S=%O/%Q:
      %T=%P/%Q
```

```
$PRINT
```

```
-----:
C.V.                G.L.          Deviance    Dev.media
F:
-----:
Doses                *I %F,4 *R %G,15,6 *R %N,15,6 *R %R,9,2:
Modelo               *I %J,4 *R %K,15,6 *R %O,15,6 *R %S,9,2:
Falta de ajuste     *I %L,4 *R %M,15,6 *R %P,15,6 *R %T,9,2:
Residuo              *I %C,4 *R %E,15,6 *R %Q,15,6:
-----:
Total                *I %A,4 *R %B,15,6:
-----:
```



```

-----
$DIS E
$EXTRACT %PE
$EXTRACT %VC
$CAL %D=-%PE(1)/%PE(2):
      %V=((%VC(1)+2*%VC(2)*%D+%VC(3)*%D**2)/%PE(2)**2)**0.5:
      %I= %D-1.96*%V:
      %J= %D+1.96*%V:
      %K= 10**%D:
      %L= 10**%I:
      %M= 10**%J
$PRINT
-----
      :
      :                               Em log(microgramas/ml)      Em
microgramas/ml':
-----
      :
      :                               '%D'                               '%K:
      :   DL50                               ['%I'; '%J' ]   ['%L'; '%M']':
      :   IC(DL50)                               '*R %V,5,6:
      :   d.p.(DL50)
-----
$ENDMACRO$
$PRINT -----:
      : ANALISE CONSIDERANDO SOMENTE AS FEMEAS -----:
$YVAR M1$
$ERR B N1$
$USE AJUSTE$
$PRINT -----:
      : ANALISE CONSIDERANDO SOMENTE OS MACHOS -----:
$YVAR M2$
$ERR B N2$
$USE AJUSTE$
$PRINT -----:
      : ANALISE CONSIDERANDO MACHOS+FEMEAS -----:
$YVAR M$
$ERR B N$
$USE AJUSTE$
$FINISH$

```

Programa 3 - Programa usando o pacote computacional GLIM, para a estimação dos parâmetros do modelo para uma única distribuição de tolerâncias.

```

$UNITS 11
$DATA DOSE N M
! DOSE = dose de radiacao ultravioleta
! N = numero total de conidios
! M = numero de conidios inviaveis
$READ
20 400 16
25 400 22
30 400 28
35 400 41
40 400 54
45 400 64
50 400 74
55 400 93
60 400 140
65 400 200
70 400 328
$YVAR M
$ERR B N
!
!           Ajuste considerando a distribuicao logistica
!
$LINK G
$FIT :+DOSE
$DIS E R
$EXTRACT %PE$
$EXTRACT %VC$
$CAL %D=-%PE(1)/%PE(2)$
$CAL %V=(%VC(1)+2*%VC(2)*%D+%VC(3)*%D**2)/%PE(2)**2$
$PRINT 'DL50 =' %D$
$PRINT 'Var(DL50) =' %V$
!
!           Ajuste considerando a distribuicao normal
!
$LINK P
$FIT :+DOSE
$DIS E R
$EXTRACT %PE$
$EXTRACT %VC$
$CAL %D=-%PE(1)/%PE(2)$
$CAL %V=(%VC(1)+2*%VC(2)*%D+%VC(3)*%D**2)/%PE(2)**2$
$PRINT 'DL50 =' %D$
$PRINT 'Var(DL50) =' %V$
!
!           Ajuste considerando a distribuicao do valor extremo
!
$LINK C
$FIT :+DOSE

```

```

$DIS E R
$EXTRACT %PE$
$EXTRACT %VC$
$CAL %D=-%PE(1)/%PE(2)$
$CAL %V=(%VC(1)+2*%VC(2)*%D+%VC(3)*%D**2)/%PE(2)**2$
$PRINT 'DL50 =' %D$
$PRINT 'Var(DL50) =' %V$
$FINISH$

```

Programa 4 - Programa usando o pacote computacional GLIM, para a estimação dos parâmetros do modelo para uma mistura de duas distribuições "probit" de tolerâncias.

```

$UNITS 11
$DATA DOSE N M
! DOSE = dose de radiacao ultravioleta
! N = numero total de conidios
! M = numero de conidios inviaveis
$READ
20 400 16
25 400 22
30 400 28
35 400 41
40 400 54
45 400 64
50 400 74
55 400 93
60 400 140
65 400 200
70 400 328
$YVAR M
$ERR B N
$CA %N=%CU(N)
$ASSIGN TET=0.3:
        ALF=-4,-20:
        BET=0.08,0.3
!
!   valores iniciais adotados para os parametros do modelo
!
$MACRO EM
$ASSIGN PAR=TET,ALF,BET
!
!           ETAPA E
!
$CA %D=%E:
    A1=ALF(1)+BET(1)*DOSE:
    A2=ALF(2)+BET(2)*DOSE:
    F1=%NP(A1):

```

```

F2=%NP(A2):
P=TET(1)*F1+(1-TET(1))*F2:
MESP=N*P:
DEV=M*%LOG(M/MESP)+(N-M)*%LOG((N-M)/(N-MESP)):
%E=2*%CU(DEV):
T1D=TET(1)*F1/P:
T2D=(1-TET(1))*F2/P:
T1S=TET(1)*(1-F1)/(1-P):
T2S=(1-TET(1))*(1-F2)/(1-P):
M1=M*T1D:
M2=M*T2D:
N1=M1+(N-M)*T1S:
N2=M2+(N-M)*T2S:
TET(1)=%CU(N1)/%N
!
!           ETAPA M
!
$YVAR M1
$ERR B N1
$LINK P
$FIT :+DOSE
$EXTRACT %PE
$CA ALF(1)=%PE(1):
      BET(1)=%PE(2)
$YVAR M2
$ERR B N2
$LINK P
$FIT :+DOSE
$EXTRACT %PE
$CA ALF(2)=%PE(1):
      BET(2)=%PE(2)
$ASSIGN NPAR=TET,ALF,BET
$ENDMACRO
!
!           CRITERIO DE PARADA
!
$CA %I=0:%K=1:
$MACRO AJUSTE
$CA %I=%I+1 $PRINT          ITERACAO NUMERO      %I
$USE EM
$PRINT `Deviance =`%E:
      NPAR
$CA %A=%SQR(((%D-%E)/%E)**2):
      %K=%IF(%LT(%A,0.0001),0,1)
$ENDMACRO
$WHILE %K AJUSTE
$FINISH$

```

Programa 5 - Programa usando o pacote computacional GLIM, para a estimação dos parâmetros do modelo para uma mistura de duas distribuições "logit" de tolerâncias.

```

$UNITS 11
$DATA DOSE N M
! DOSE = dose de radiação ultravioleta
! N = número total de conídios
! M = número de conídios inviáveis
$READ
20 400 16
25 400 22
30 400 28
35 400 41
40 400 54
45 400 64
50 400 74
55 400 93
60 400 140
65 400 200
70 400 328
$YVAR M
$ERR B N
$CA %N=%CU(N)
$ASSIGN TET=0.3:
        ALF=-4,-20:
        BET=0.09,0.4
!
!       valores iniciais adotados para os parâmetros do modelo
!
$MACRO EM
$ASSIGN PAR=TET,ALF,BET
!
!       ETAPA E
!
$CA %D=%E:
    A1=%EXP(ALF(1)+BET(1)*DOSE):
    A2=%EXP(ALF(2)+BET(2)*DOSE):
    F1=A1/(1+A1):
    F2=A2/(1+A2):
    P=TET(1)*F1+(1-TET(1))*F2:
    MESP=N*P:
    DEV=M*%LOG(M/MESP)+(N-M)*%LOG((N-M)/(N-MESP)):
    %E=2*%CU(DEV):
    T1D=TET(1)*F1/P:
    T2D=(1-TET(1))*F2/P:
    T1S=TET(1)*(1-F1)/(1-P):
    T2S=(1-TET(1))*(1-F2)/(1-P):
    M1=M*T1D:
    M2=M*T2D:
    N1=M1+(N-M)*T1S:

```

```

      N2=M2+(N-M)*T2S:
      TET(1)=%CU(N1)/%N
!
!           ETAPA M
!
$YVAR M1
$ERR B N1
$LINK G
$FIT :+DOSE
$EXTRACT %PE
$CA ALF(1)=%PE(1):
      BET(1)=%PE(2)
$YVAR M2
$ERR B N2
$LINK G
$FIT :+DOSE
$EXTRACT %PE
$CA ALF(2)=%PE(1):
      BET(2)=%PE(2)
$ASSIGN NPAR=TET,ALF,BET
$ENDMACRO
!
!           CRITERIO DE PARADA
!
$CA %I=0:%K=1:
$MACRO AJUSTE
$CA %I=%I+1 $PRINT '          ITERACAO NUMERO ' %I
$USE EM
$PRINT 'Deviance ='%E:
      NPAR
$CA %A=%SQR(((%D-%E)/%E)**2):
      %K=%IF(%LT(%A,0.0001),0,1)
$ENDMACRO
$WHILE %K AJUSTE
$FINISH$

```

Programa 6 - Programa usando o pacote computacional GLIM, para a estimação dos parâmetros do modelo para uma mistura de duas distribuições "complemento-log-log".

```

$UNITS 11
$DATA DOSE N M
! DOSE = dose de radiacao ultravioleta
! N = numero total de conidios
! M = numero de conidios inviaveis
$READ
20 400 16
25 400 22
30 400 28
35 400 41

```

```

40 400 54
45 400 64
50 400 74
55 400 93
60 400 140
65 400 200
70 400 328
$YVAR M
$ERR B N
$CA %N=%CU(N)
$ASSIGN TET=0.6:
        ALF=-5,-8:
        BET=0.08,0.1
!
!       valores iniciais adotados para os parametros do modelo
!
$MACRO EM
$ASSIGN PAR=TET,ALF,BET
!
!       ETAPA E
!
$CA %D=%E:
    A1=%EXP(ALF(1)+BET(1)*DOSE):
    A2=%EXP(ALF(2)+BET(2)*DOSE):
    F1=1-%EXP(-A1):
    F2=1-%EXP(-A2):
    P=TET(1)*F1+(1-TET(1))*F2:
    MESP=N*P:
    DEV=M*%LOG(M/MESP)+(N-M)*%LOG((N-M)/(N-MESP)):
    %E=2*%CU(DEV):
    T1D=TET(1)*F1/P:
    T2D=(1-TET(1))*F2/P:
    T1S=TET(1)*(1-F1)/(1-P):
    T2S=(1-TET(1))*(1-F2)/(1-P):
    M1=M*T1D:
    M2=M*T2D:
    N1=M1+(N-M)*T1S:
    N2=M2+(N-M)*T2S:
    TET(1)=%CU(N1)/%N
!
!       ETAPA M
!
$YVAR M1
$ERR B N1
$LINK C
$FIT :+DOSE
$EXTRACT %PE
$CA ALF(1)=%PE(1):
    BET(1)=%PE(2)
$YVAR M2
$ERR B N2
$LINK C

```

```
$FIT :+DOSE
$EXTRACT %PE
$CA ALF(2)=%PE(1):
      BET(2)=%PE(2)
$ASSIGN NPAR=TET,ALF,BET
$ENDMACRO
!
!           CRITERIO DE PARADA
!
$CA %I=0:%K=1:
$MACRO AJUSTE
$CA %I=%I+1 $PRINT '          ITERACAO NUMERO ' %I
$USE EM
$PRINT 'Deviance = '%E:
      NPAR
$CA %A=%SQR(((%D-%E)/%E)**2):
      %K=%IF(%LT(%A,0.0001),0,1)
$ENDMACRO
$WHILE %K AJUSTE
$FINISH$
```