

ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA DO TOMATEIRO AO FUNGO *Phytophthora infestans*

**Maria Nilsa Martins de Araújo¹, André Oliveira Souza¹, Fabyano Fonseca e Silva²,
Sebastião Martins Filho²**

¹ Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-graduação em Estatística Aplicada e Biometria, 36570-000, Viçosa - MG, nijsama@vicosa.ufv.br, andreolisouza@gmail.com

² Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Informática: Área de Estatística, 36570-000, Viçosa - MG, fabyanofonseca@ufv.br, martinsfilho@ufv.br

Resumo- Neste trabalho foi avaliada a sobrevivência à requeima do tomateiro causada pelo fungo *Phytophthora infestans*, que acarreta grandes perdas nesta cultura. Foram utilizados o método não paramétrico de Kaplan-Meier e os modelos paramétricos exponencial, Weibull e log-normal para ajustar as curvas de sobrevivência. No método não-paramétrico utilizou-se o teste logrank para comparar as funções de sobrevivência, o qual mostrou que os *clusters* 6 e 9 não diferiram entre si, *clusters* estes que apresentaram maior sobrevivência pelo método de Kaplan-Meier. Na aplicação dos modelos paramétricos, ambos foram ajustados pelos modelos exponencial, Weibull e log-normal. Desta forma, pode-se concluir que os acessos pertencentes a estes *clusters* foram os mais resistentes ao fungo *Phytophthora infestans*.

Palavras-chave: Kaplan-Meier, Teste logrank, Modelo exponencial, Modelo Weibull, Modelo Log-normal.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

A requeima do tomateiro causada pelo fungo *Phytophthora infestans*, acarreta grandes perdas nos campos de cultivo, principalmente quando as condições ambientais são predisponentes, ou seja, alta umidade e baixa temperatura. A doença caracteriza-se por ser agressiva e de grande impacto destrutivo, podendo limitar ou até mesmo impedir o cultivo econômico do tomateiro sob condições de alta umidade e baixas temperaturas (Lopes & Santos, 1994).

Dados sobre o tempo até a ocorrência de eventos são coletados rotineiramente, tanto no campo como em laboratórios, na área de epidemiologia de doenças das plantas. Os exemplos incluem o tempo de aparecimento do primeiro sintomas em uma população de plantas; o tempo de germinação em uma população de esporos fúngicos e o tempo de desfolha em uma população contaminada por determinados patógenos.

Apesar da ocorrência comum destes dados em patologia vegetal, a análise de sobrevivência raramente é usada.

A análise de sobrevivência é usada quando a variável resposta corresponde ao período de tempo até a ocorrência de algum evento de interesse. Este período também é definido como tempo de falha, sendo o termo falha a ocorrência do evento em questão. Uma característica importante dos dados de sobrevivência é a presença de censuras, as quais são consideradas observações incompletas, e se caracterizam como dados de indivíduos para os quais a ocorrência do evento não foi verificada (Colosimo e Giolo, 2006).

A presença de censura é o fator que diferencia a análise de sobrevivência de outras técnicas de análise de dados. Dentre os métodos estatísticos considerados em análise de sobrevivência, um dos mais utilizados é a estimação de curvas de sobrevivência. Estas curvas relacionam a probabilidade do evento de interesse ocorrer em função dos valores assumidos pela variável em questão, ou seja, os tempos observados. Após esta estimação, também é de grande interesse a comparação entre as curvas provenientes de diferentes tratamentos.

Ainda em relação a área de Fitopatologia, tal procedimento estatístico também pode ser utilizado a fim de identificar tratamentos (diferentes cultivares, diferentes sistemas de manejo, etc...) que providenciam maior sobrevivência em relação a doenças que ocorrem em uma cultura de interesse.

O objetivo deste trabalho foi utilizar dados de progresso de doenças no decorrer do tempo com o intuito de estimar curvas de sobrevivência utilizando o estimador não paramétrico de Kaplan-Meier e o teste log-rank. Foi utilizado também os modelos paramétricos exponencial, Weibull e log-normal

Metodologia

O experimento foi conduzido no Campo Experimental do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa utilizando dados de tomateiros do BGH - UFV (Banco de Germoplasma de Hortaliças da UFV), o qual atualmente possui 7225 acessos, com 25 famílias e 106 espécies.

Foram cultivados 41 acessos de tomateiro do BGH, sendo realizados todos os tratamentos culturais recomendados para a cultura. Estes foram semeados em bandejas de 128 células contendo substrato comercial e mantidos em casa de vegetação, sendo transplantadas para o campo 30 dias após a semeadura. O delineamento experimental eleito foi o de blocos ao acaso, com três repetições e três plantas por parcela.

Para o preparo do inóculo foram feitas coletas de folíolos infectados, em lavouras de tomate de cidades localizadas na Zona da Mata Mineira, visto que fora detectado, entre os diversos isolados encontrados na região, grande variabilidade quanto à virulência. (Ribeiro et al., 2007).

A inoculação foi realizada 60 dias após o transplante e as avaliações foram feitas a cada três dias sendo a característica avaliada a área foliar lesionada pelo fungo *P. infestans*. Esta área foi transformada na variável severidade por meio da utilização do software Severity Pro 1.0. Ao final do experimento obtiveram-se dados de seis avaliações temporais para cada acesso considerado, estrutura esta que permitiu ajustar curvas de progressos de doenças individualmente para cada repetição para cada acesso considerado.

Ajustou-se o modelo exponencial $Y = y_0 \exp(rX)$ para descrever o comportamento da severidade (Y) em função do tempo (X), sendo y_0 a quantidade inicial de doença e r a taxa de progresso. Este ajuste foi realizado para cada repetição de cada acesso, o que possibilitou a obtenção de um arquivo com as estimativas geradas para y_0 e r . Tal ajuste foi efetuado pelo método dos mínimos quadrados para modelos de regressão não-linear utilizando o processo iterativo de Gauss-Newton.

Após a obtenção do arquivo citado anteriormente, realizou-se uma análise de variância multivariada, com o intuito de avaliar a influência dos acessos do BGH sobre estas estimativas dos parâmetros por meio do critério de Roy (Khattree & Naik, 2000). Sendo constatada esta influência, extraíram-se as médias ajustadas por quadrados mínimos (LSMEANS) e as mesmas foram submetidas à análise de agrupamento pelo método centróide. Nesta última análise obtiveram-se os valores dos desvios-padrão da raiz do quadrado médio (RMSSTD) em relação ao número de *clusters*, gerando um gráfico (Figura 1) que disponibilizou a identificação do número ótimo de *cluster* em relação a máxima curvatura. Este método foi utilizado com o intuito de oferecer um critério objetivo para a escolha do número de *cluster*, e não simplesmente adotar critérios subjetivos como a maioria dos trabalhos nesta área.

Para identificar o ponto de máxima curvatura e conseqüentemente o número ótimo de *cluster* (X_0), ajustou-se um modelo de regressão segmentada polinomial de segunda ordem (Rezende et al., 2007). Este modelo também é denominado Modelo Quadrático de Response Platô (MQRP), o qual assume que antes do ponto X_0 têm-se uma parábola e após este mesmo ponto uma reta constante.

Sendo assim, a descrição do modelo é a seguinte:

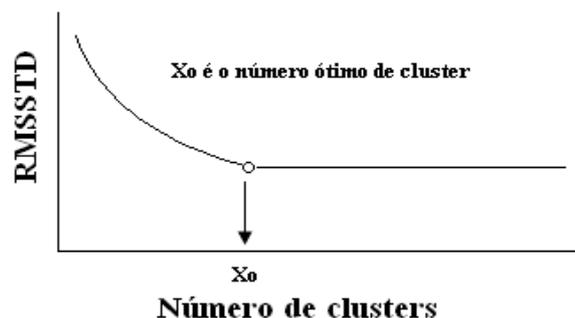


Figura 1. Representação do comportamento do RMSSTD em função do número de *clusters* (critério objetivo).

$$Y_i = \begin{cases} \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + e_i, & X_i \leq X_0 \\ P + e_i, & X_i > X_0 \end{cases}$$

em que: β_0 , β_1 e β_2 são os parâmetros da parábola ajustada antes de X_0 e P é o platô.

Com a obtenção do número ótimo de *cluster*, foi possível agrupar os 41 acessos em apenas 10 grupos que representam curvas de progressos estatisticamente diferentes, os quais correspondem aos diferentes tratamentos a serem considerados na análise de sobrevivência.

O tempo até a incidência de 5% da doença foi computado via regressão inversa como já mencionado anteriormente, e este processo pode ser melhor compreendido de acordo com a Figura 2.

Estes tempos, que na verdade correspondem a variável dependente na análise de sobrevivência, foram calculados considerando os acessos e suas repetições dentro de cada um dos 10 *clusters*. Para introduzir as censuras aos dados, uma vez que os mesmos não se apresentavam naturalmente devido ao fato de terem sido obtidos indiretamente, confeccionou-se um intervalo de confiança de 95% para a média da variável resposta (tempo até atingir 5% de incidência). Assim, valores desta variável que se apresentavam acima do limite superior do intervalo de confiança (este valor foi 5,5) foram considerados como observações censuradas.

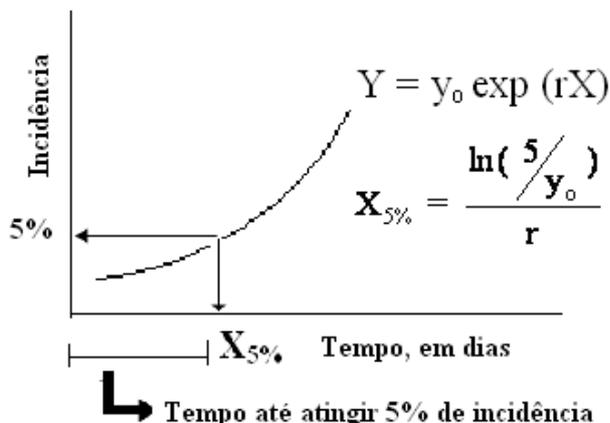


Figura 2. Representação gráfica do processo de obtenção dos dados de sobrevivência por meio de regressão inversa.

Foi utilizado o método não-paramétrico de Kaplan-Meier para estimar as funções de sobrevivência de cada *cluster* e traçar suas curvas. Para comparação destes *clusters* foi utilizado o teste *logrank*. Modelos paramétricos também foram utilizados na estimação das curvas de sobrevivências utilizando os modelos probabilísticos exponencial, Weibull e log-normal.

Resultados

Na Figura 3 estão apresentadas as curvas de sobrevivência estimadas pelo método de Kaplan-Meier para os 10 *clusters* formados pelos acessos de tomateiro. Pode ser verificado que os acessos pertencentes aos *clusters* 6 e 9 obtiveram maior função de sobrevivência e não diferiram entre si. De maneira contrária, pode ser verificado que os acessos pertencentes aos *clusters* 7 e 10 obtiveram a menor função de sobrevivência e também não diferiram entre si.

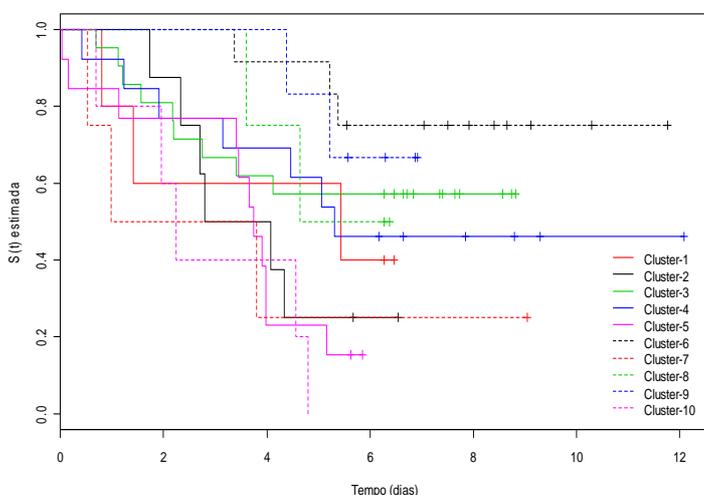


Figura 3 – Curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier para dez *clusters* formados pelos acessos de tomateiro.

Na Tabela 1 estão apresentados os resultados dos testes *logrank* utilizados na comparação das curvas de sobrevivência.

Tabela 1. Valores de probabilidade (p-valor) referentes ao teste *Log-rank* utilizado para comparação dos *clusters*

| Cluster | p-valor | Cluster | p-valor | Cluster | p-valor |
|---------|---------|---------|---------------|---------|-------------------|
| 1 x 2 | 0,7131 | 2 x 9 | 0,0469 | 5 x 6 | 0,0008 |
| 1 x 3 | 0,4915 | 2 x 10 | 0,4036 | 5 x 7 | 0,9473 |
| 1 x 4 | 0,8244 | 3 x 4 | 0,7003 | 5 x 8 | 0,1716 |
| 1 x 5 | 0,3177 | 3 x 5 | 0,0473 | 5 x 9 | 0,0131 |
| 1 x 6 | 0,1346 | 3 x 6 | 0,2178 | 5 x 10 | 0,5377 |
| 1 x 7 | 0,5123 | 3 x 7 | 0,1363 | 6 x 7 | 0,0170 |
| 1 x 8 | 0,7079 | 3 x 8 | 0,9218 | 6 x 8 | 0,2950 |
| 1 x 9 | 0,3551 | 3 x 9 | 0,4950 | 6 x 9 | 0,7145 |
| 1 x 10 | 0,1557 | 3 x 10 | 0,0326 | 6 x 10 | <0,0001 |
| 2 x 3 | 0,2530 | 4 x 5 | 0,0779 | 7 x 8 | 0,3091 |
| 2 x 4 | 0,2661 | 4 x 6 | 0,1002 | 7 x 9 | 0,0737 |
| 2 x 5 | 0,6629 | 4 x 7 | 0,2539 | 7 x 10 | 0,8199 |
| 2 x 6 | 0,3177 | 4 x 8 | 0,8237 | 8 x 9 | 0,5232 |
| 2 x 7 | 0,6182 | 4 x 9 | 0,3679 | 8 x 10 | 0,0834 |
| 2 x 8 | 0,2579 | 4 x 10 | 0,0370 | 9 x 10 | 0,0052 |

Pode ser verificada nesta tabela a diferença significativa (p-valor < 0,05) entre as comparações das curvas 2x9, 3x5, 3x10, 4x10, 5x6, 5x9, 6x7, 6x10, 7x9 e 9x10.

Na figura 4 podem ser verificadas as curvas de sobrevivência obtidas pelo ajuste dos modelos probabilísticos exponencial, Weibull e log-normal, comparadas com o método não-paramétrico de Kaplan-Meier.

Discussão

Pelo método não-paramétrico de Kaplan-Meier (Figura 3) pode ser observado para um tempo de 5 dias que a probabilidade de sobrevivência dos *clusters* 6 e 9 esta acima de 80%, enquanto para os *cluster* 7 e 10 a probabilidade de sobrevivência esta abaixo de 25%.

No *cluster* 3, utilizando a abordagem paramétrica, o teste da razão de verossimilhança foi significativo para os três modelos estudados, indicando que os ajustes destes modelos não foram adequados. Desta forma, para este *cluster* o melhor modelo foi o gama generalizado.

Conclusão

Os acessos pertencentes aos *clusters* 6 e 9 foram os mais resistentes a requeima do tomateiro causado pelo fungo *Phytophthora infestans*.

Referências

- COLOSIMO, E.A.; GIOLO, S.R. **Análise de sobrevivência aplicada**. ABE - Projeto Fisher. São Paulo: Edgar Blücher, 2006.
- LOPES, C.A. & SANTOS, J.R.M. **Doenças do tomateiro**. Brasília: EMBRAPA/CNPq, 1994. 67p.

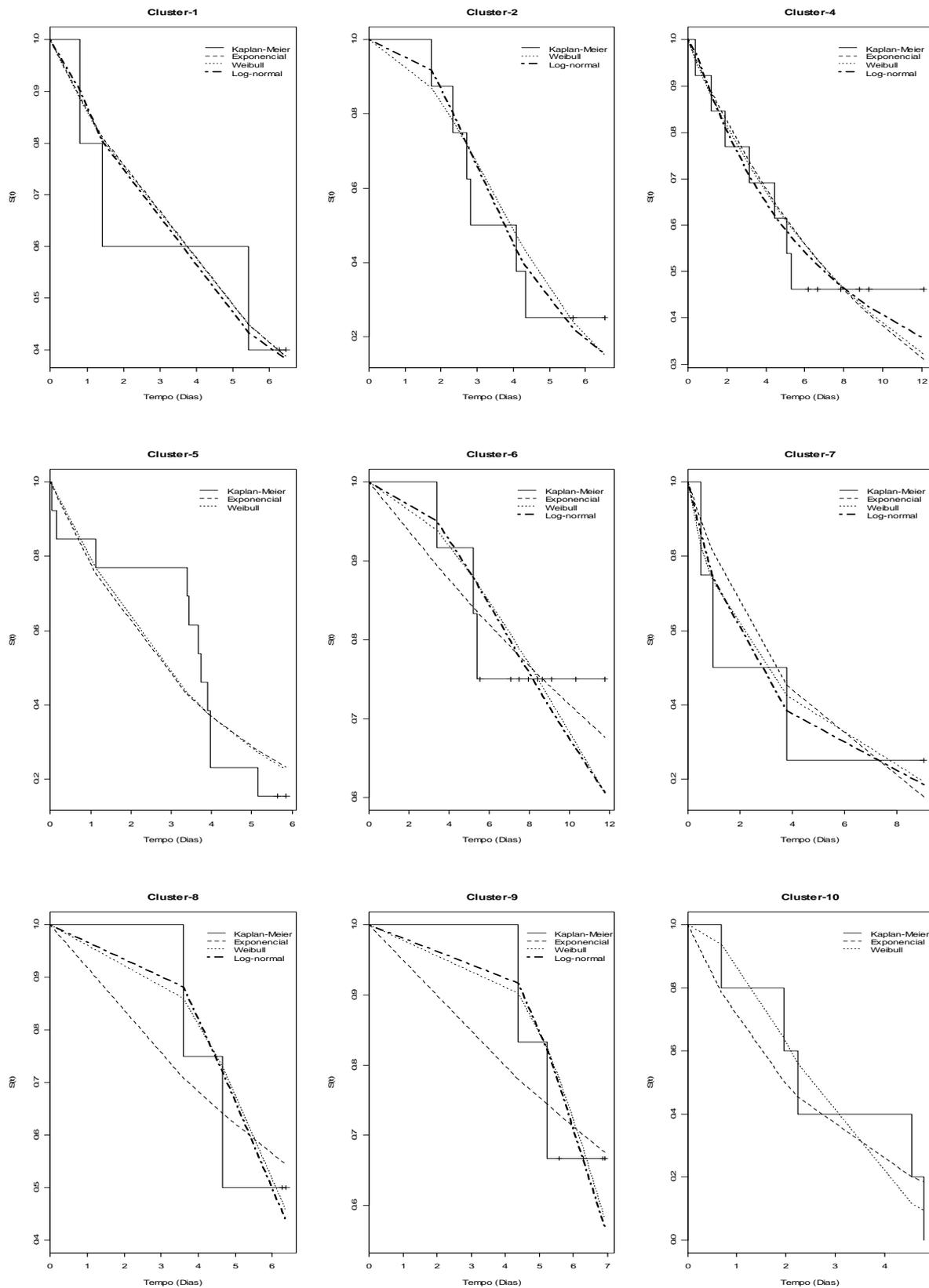


Figura 4 – Curvas de sobrevivência para os tempos até 5% de incidência de *Phytophthora infestans* em tomateiro estimadas pelos modelos Exponencial, de Weibull e Log-normal versus a curva de sobrevivência estimada por Kaplan-Meier.