

# Modelagem da incidência de plantas doentes e subsídios para o desenvolvimento de planos amostrais em pomares

Ana Beatriz C. Czermainski\*

## Introdução

O monitoramento é parte essencial do manejo integrado de pragas e doenças. Quando conduzido sistematicamente sobre uma base quantitativa ele gera a informação necessária para detectar mudanças importantes na atividade da praga ou no crescimento da doença e para dar suporte às decisões de manejo. Grande parte das pesquisas em epidemiologia vegetal envolve monitoramento dos componentes biológicos e ambientais que condicionam a ocorrência de epidemias, mas pouco tem sido dirigido a estudar a amostragem apropriada das populações de fitopatógenos ou de seus efeitos sobre a planta.

Em cultivos comerciais, medidas precisas da incidência ou de severidade não são de fácil obtenção e dependem de planos amostrais específicos. O padrão espacial da 'população da doença' raramente é uniforme, portanto, planos amostrais delineados sob essa pressuposição podem não levar a estimativas acuradas e precisas, necessitando modificação (2,15). Para a maioria das fruteiras, o monitoramento de pomares comerciais quanto à ocorrência de doenças é feito de forma empírica e planos amostrais não estão validados.

O objetivo deste trabalho é abordar alguns aspectos a respeito do desenvolvimento de planos amostrais para monitoramento de doenças em cultivos agrícolas, bem como a importância do conhecimento prévio do padrão espacial da epidemia e mostrar como a modelagem da incidência de doença em pomares pode ser uma ferramenta na obtenção de subsídios para programas amostrais efetivos. É explorada uma aplicação com a análise espacial e modelagem de dados de incidência de leprose dos citros de um talhão comercial de 'Valência'.

## Padrão temporal e espacial de doenças e planos de amostragem

O estudo do padrão temporal e espacial de plantas doentes gera informações sobre a importância do inóculo primário, os mecanismos de dispersão do patógeno, a direção e distância de propagação da doença e sobre o efeito de fatores ambientais na epidemia (2). Padrão espacial e planos de amostragem em estudos epidemiológicos têm sido abordados tanto de forma genérica ou teórica (8,9,13,14,15) como dirigida a patossistemas específicos (6,11,16). Muitos autores referem-se à importância em

conhecer o padrão espacial da doença para o estabelecimento de planos amostrais. Mas, como observado por Lin (12), um dilema se apresenta: uma estratégia de amostragem requer o conhecimento da distribuição espacial e a definição da distribuição espacial requer amostragem (12). A análise do padrão de incidência no campo é um precursor da investigação de estratégias amostrais e da análise dos dados que elas geram (6). A definição do modelo estatístico do padrão espacial ou da função de densidade de probabilidade que melhor descreve dados de incidência auxilia o planejamento de processos amostrais. É comum o uso das distribuições discretas binomial, Poisson e beta-binomial para descrever o padrão espacial de doenças, onde mapas de incidência são divididos em 'quadrats', cuja distribuição de freqüências gera uma base para estimação dos parâmetros de uma distribuição de probabilidade apropriada (7,8,9).

### O desenvolvimento de um plano amostral

É necessária uma distinção entre os objetivos de amostragem para fins de pesquisa daqueles para a implementação prática de um resultado de pesquisa. No primeiro caso, necessita-se avaliar precisamente a densidade da população do patógeno ou de sintomas da doença, ter clara a sua relação com as perdas e estabelecer níveis de ação. Já no manejo fitossanitário de um cultivo comercial, é menos importante quantificar densidades populacionais exatas, mas, sim, constatar, rápida e economicamente, como se encontra a densidade da população alvo em relação aos limiares de ação, estes determinados através de pesquisa (5). Em qualquer dos casos, a precisão de estimativas das características epidêmicas depende da amostragem adequada. Seja em pesquisa experimental ou num levantamento em cultivo comercial, amostras devem ser maiores quando se destinam a avaliar doenças do que quando são para outras avaliações agrônomicas como crescimento ou produtividade, devido à maior influência das variabilidades biológica e ambiental (3). Por outro lado, a implementação prática de um programa de monitoramento de pomares comerciais pode ter o objetivo de estimação de níveis de incidência ou severidade ou o objetivo de mapear, no talhão ou quadra, as áreas com alta densidade da doença. Em geral, ambos objetivos são de interesse.

Para uniformidade de conceitos e termos, distinguem-se as expressões *método* ou *técnica amostral* e *plano amostral*. A técnica ou método amostral diz respeito ao método usado para coletar a informação de uma única unidade de observação, em geral uma planta ou um órgão da planta. Amorim (1) faz uma detalhada abordagem sobre métodos de avaliação de doenças, os quais correspondem a métodos amostrais e destaca esse aspecto como o de maior importância para assegurar acurácia na avaliação de doenças. Uma vez estabelecido o método amostral mais adequado a um patossistema, estabelecer

um plano amostral significa definir a unidade amostral, o número de unidades, se serão aleatoriamente ou sistematicamente selecionadas, distribuídas na área total ou dentro de uma subárea do talhão e o caminhar a ser seguido em campo. Todos esses aspectos correspondem ao *delineamento amostral*, que pode ser distinto a cada etapa do programa de monitoramento ou ser permanentemente designado para um ciclo inteiro. O momento para iniciar um *programa amostral* e a frequência de amostragem envolve considerações de sazonalidade, clima e a influência ambiental sobre a fenologia e suscetibilidade do hospedeiro e sobre o ciclo biológico de vetores e patógenos. Além do método amostral adequado, outros requisitos são: a clareza de objetivos, a definição da população alvo, o nível de precisão desejado e a restrição de tempo e recursos (1,3). Métodos de simulação têm sido úteis para se comparar esquemas amostrais distintos, por exemplo quanto à dimensão e forma de quadrats e caminho amostral, em cenários com diferentes níveis de incidência e de agregação (12,17).

### Regressão logística e amostragem

Regressão logística tem sido usada em pesquisa epidemiológica, tanto em epidemiologia humana como agrícola, onde respostas binárias, comumente a presença e ausência de doença, são modeladas em função de variáveis preditoras que são possíveis fatores de risco de ocorrência da doença ou fatores de interação com a mesma. Modelos de regressão logística são modelos de probabilidade ou estocásticos, pois representam chance ou probabilidade de ocorrência de um evento (Y) sob um dado conjunto de covariáveis ou preditoras (X). Se  $Y_i$  é a resposta binária sobre o estado de doença de uma planta, então  $y_i=0$  se a planta está sadia, no tempo ou levantamento t, e  $y_i=1$  se a planta apresenta sintomas.  $Y_i$  tem distribuição de Bernoulli e o total de plantas doentes num conjunto de n plantas,  $\sum Y_i$ , tem distribuição binomial com parâmetros n e  $p_i$ . O parâmetro  $p_i$  representa a probabilidade de uma planta estar infectada e é comumente estimado por  $(\sum Y_i)/n$  considerando-se iguais e independentes as chances de doença em cada planta, sem levar em conta outras variáveis ou influências temporais ou espaciais. No contexto de modelos lineares generalizados é possível modelar as proporções ou probabilidades  $p_i$  em função de variáveis explanatórias  $X_k$ ,  $k=1, \dots, K$ , tal que  $g(p_i)=x'_k \beta$ , em que g é uma função de ligação adequada,  $x_k$  é o vetor de valores das covariáveis associadas a planta i e  $\beta$  é o vetor de parâmetros. Uma das funções mais utilizadas é a função logit em que  $g(p_i)=\ln[p_i/(1-p_i)]$ . A probabilidade  $P(Y_i=1 | x_{ik})=p_i$  é modelada como combinação linear de covariáveis, tal que  $\text{logit}(p_i)=\ln[p_i/(1-p_i)]=\hat{\beta}_0 + \sum_k \hat{\beta}_k x_{ik}$ . Uma vez determinadas as estimativas dos parâmetros  $\beta_k$ , a probabilidade de plantas passarem ao estado doente,

condicionada às realizações das covariáveis, é obtida por  $p_i = \exp\{\hat{\beta}_0 + \sum_k \hat{\beta}_k x_{ik}\} / (1 + \exp\{\hat{\beta}_0 + \sum_k \hat{\beta}_k x_{ik}\})$ .

Modelos de regressão logística podem ser ajustados para incorporar a correlação espacial ao modelar probabilidade de doença em uma planta ou quadrat como dependente de plantas ou quadrats vizinhos quanto à própria doença ou outras covariáveis ambientais. Outra possibilidade de modelagem é através do modelo autolístico (10), que permite associar a probabilidade da doença em uma planta, num instante t, ao *status* das plantas vizinhas no mesmo instante. A análise da estrutura de correlação espacial serve para elucidar as condições nas quais aumenta a epidemia e pode subsidiar componentes do delineamento tal como o tamanho de unidade amostral.

### Um exemplo ilustrativo com dados de leprose dos citros

Entre janeiro/2002 e novembro/2004, epidemias de leprose dos citros foram monitoradas em talhões comerciais sob coordenação do Fundecitrus (veja R. B. Bassanezi, neste volume). São utilizados os dados de 45 levantamentos censitários de árvores de um talhão de laranja 'Valência', correspondentes à incidência de plantas infestadas pelo ácaro *Brevipalpus. phoenicis* e à incidência de plantas com sintomas de leprose dos citros, causada por *Citrus leprosis virus*. O progresso temporal foi analisado através do modelo logístico e o padrão espacial diagnosticado por diversos métodos. A incidência tanto de infestação como da doença foi modelada através de regressão logística e do modelo autolístico (4).

São apresentadas as análises do padrão espacial considerando-se diversas dimensões de quadrats e demonstrado que o diagnóstico do padrão espacial da incidência de sintomas é diferente conforme o tamanho de quadrat utilizado. Quadrats de tamanhos 2x3 e 3x3 são consistentes quanto ao diagnóstico e são escalas mais fáceis de serem conduzidas na coleta de informação em campo.

Através de modelos de regressão logística, a probabilidade de doença é modelada em função de variáveis regressoras construídas de forma a captar informação oriunda da própria planta e da sua vizinhança, no tempo passado, a respeito da incidência quanto à presença do ácaro e da doença. É possível constatar a influência do *status* de doença das vizinhas na linha de plantio e nas linhas adjacentes e a baixa influência da presença do ácaro, em levantamentos anteriores, tanto nas plantas como na vizinhança. Em poucas avaliações é detectado o efeito, sobre o resultado da incidência de leprose, da presença de ácaros na planta aproximadamente 22, 46 ou 70 dias antes.

Aplicado o modelo autologístico aos dados de vinte levantamentos, com incidência de leprose variável entre 0,03 a 0,32, é possível verificar que a probabilidade de uma planta estar com sintomas aumenta se uma de suas vizinhas na linha de plantio também apresentar a doença, no mesmo momento. Nas condições do último levantamento, a "chance" de uma planta apresentar sintomas é 5 vezes maior se houver uma vizinha doente na linha e quase 11 vezes maior se, além daquela, houver também uma planta doente na linha adjacente. Entretanto, a probabilidade de plantas estarem infestadas pelo ácaro aumenta levemente se sua vizinhança está, concomitantemente, hospedando a praga.

Considera-se o ajuste de modelos de regressão logística ferramenta eficaz para demonstrar a influência de covariáveis definidas para levantar a informação de vizinhança defasada no tempo. Também efetivo é o uso do modelo autologístico para estudar a influência de autocorrelação espacial e obter subsídios sobre a população alvo para monitoramento e sobre tamanho e forma da unidade amostral. Para leprose dos citros, os resultados alcançados neste trabalho confirmam que a presença ou ausência do ácaro não é um indicador suficiente para suposições sobre o risco de ocorrência de epidemia. Monitorar somente a população do ácaro é uma prática não recomendável considerando o alto custo financeiro de uma decisão de controle químico e o prejuízo ambiental. Na amostragem para a tomada de decisão de controle deve ser levada em conta a presença de sintomas e ácaros e não somente a presença de ácaros.

### **Considerações finais**

A experiência de técnicos que vivem o dia-a-dia dos pomares traz valiosas contribuições para pautar as ações de monitoramento de doenças. Porém, planos amostrais efetivos devem ser determinados embasados por estudos estatísticos. Ressalte-se a importância de levantamentos censitários em áreas comerciais na obtenção de retratos reais do padrão espacial de epidemias que servirão de base para a modelagem e estudos de simulação. Um desafio para epidemiologistas é demonstrar a utilidade de tais ferramentas no desenvolvimento de métodos para o avanço no conhecimento sobre os patossistemas ou usá-los para chegar a métodos aplicáveis em escala comercial na resolução de problemas práticos em campo.

### **Referências**

1. Amorim L, 1995. Avaliação de doenças. In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L, eds. Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. Ed. Ceres, São Paulo. 540-553.
2. Bergamin Filho A., Hau B, Amorim L, Laranjeira FF, 2002. Análise espacial de epidemias. RAPP 10:155-218.

3. Campbell CL, Duthie JA, 1989. Sampling for disease assessment. In: Wilcox WF, ed. Biological and Cultural Tests of Plant Diseases Biological and Cultural Tests, Minnesota. v. 4, p. v-ix.
4. Czermainski ABC, 2006. Dinâmica espaço-temporal de populações do patossistema leprose dos citros em condições naturais de epidemia. ESALQ/USP (Tese de Doutorado).
5. Hare JD, 1994. Sampling arthropod pests in citrus. In: Pedigo LP, Buntin GD, eds. Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture. CRC Press, Boca Raton. 417-431.
6. Hughes G, Gottwald TR, 1998. Survey methods for assessment of *Citrus tristeza virus* incidence. *Phytopathology* 88:715-723.
7. Hughes G, Madden LV, 1993. Using the beta-binomial distribution to describe aggregated patterns of disease incidence. *Phytopathology* 83:759-63.
8. Hughes G, Madden LV, 1994. Aggregation and incidence of disease: some implications for sampling. *Aspects of Applied Biology* 37:25-31.
9. Hughes G, Madden LV, Munkvold GP, 1996. Cluster sampling for disease incidence data. *Phytopathology* 86:132-137.
10. Krainski ET, Ribeiro Júnior PJ, Bassanezi RB, 2005. Rcitrus: Pacote para Análise de Padrões Espaciais de Doenças de Citrus. In: 50ª. Reunião Anual da RBRAS, Londrina. Anais...
11. Kritzman G, Shwartz H, Marcus R, Manulis S, Klietman F, Oppenheim D, Zilberstaine M, 2003. Testing a rapid diagnostic medium for *Erwinia amylovora* and development of a procedure for sampling blossoms in pear orchards. *Phytopathology* 93:931-940.
12. Lin CS, Poushinsky G, Mauer M, 1979. An examination of five sampling methods under random and clustered disease distributions using simulation. *Can. J. Pl. Sci.* 59:121-130.
13. Madden LV, Hughes G, 1999. An effective sample size for predicting plant disease incidence in a spatial hierarchy. *Phytopathology* 89: 770-781.
14. Madden LV, Hughes G, Munkvold GP, 1996. Plant disease incidence: inverse sampling, sequential sampling, and confidence intervals when observed mean incidence is zero. *Crop Protection* 15:621-632.
15. Madden LV, Hughes G, 1995. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity, and temporal analysis. *Annual Review of Phytopathology* 33: 529-564.
16. Turecheck WW, Mahafee WF, 2004. Spatial pattern analysis of hop powdery mildew in the Pacific Northwest: Implications for sampling. *Phytopathology* 94:1116-1128.
17. Xu XM, Ridout MS, 1998. Effects of Initial Epidemic Conditions, Sporulation Rate, and Spore Dispersal Gradient on the Spatio-Temporal Dynamics of Plant Disease Epidemics. *Phytopathology* 88:1000-1012.