

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CRISTIANO NUNES NESI

**MODELAGEM ESTATÍSTICA COM APLICAÇÕES EM
DOENÇAS DE PLANTAS**

**CURITIBA
2013**

CRISTIANO NUNES NESI

MODELAGEM ESTATÍSTICA COM APLICAÇÕES EM DOENÇAS DE
PLANTAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof.^a Dra. Louise Larissa May De Mio

Co-orientador: Prof. PhD. Paulo Justiniano Ribeiro Junior

CURITIBA
2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL



PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pelo candidato **CRISTIANO NUNES NESI**, sob o título "**MODELAGEM ESTATÍSTICA COM APLICAÇÕES EM DOENÇAS DE PLANTAS**", para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido o candidato são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Tese.

Curitiba, 06 de Março de 2013.

Professora Dra. Louise Larissa May De Mio
Coordenadora do Programa

Dr. José Maurício Fernandes
Primeiro Examinador

Professor Dr. Adalberto Corrêa Café Filho
Segundo Examinador

Dr. Henri Stuker
Terceiro Examinador

Professor Dr. Paulo Justiniano Ribeiro Junior
Quarto Examinador

Professor Dr. Louise Larissa May De Mio
Presidente da Banca e Orientadora

*A DEUS, autor de toda criação.
Aos meus pais, Avelino e Zilma, por todo amor, apoio e cuidado.
À minha esposa, Stéfani De Bettio, pelo companheirismo, amizade,
confiança e paciência.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Avelino e Zilma pelo apoio e amor incondicional em todas as etapas de minha vida.

À minha esposa, Stéfani De Bettio, por compreender minha ausência e pela força inestimável na realização do curso.

Aos meus irmãos, Adriano, Cristiane e Adriana e aos sobrinhos Lucas, Maria Eduarda, Pedro e Livia, pela oportunidade de fazermos parte de uma bela família.

Às grandes amigas e protetoras Diana De Bettio e Massae Kobo, que com carinho de mãe me apoiaram nesta caminhada.

Ao pensador e humanista Carlos Bernardo González Pecotche (Maestro Raumsol), pelos conhecimentos que me fazem compreender o sentido da minha existência.

Aos estudantes da Fundação Logosófica, em especial os da Filial Curitiba, pela fraternal acolhida e valioso intercâmbio de conhecimentos.

Aos professores Dra. Louise Larissa May De Mio e PhD. Paulo Justiniano Ribeiro Junior, pela confiança em dedicar à minha formação parte do valioso tempo de suas vidas.

À Epagri e ao povo catarinense, pela liberação em tempo integral para realizar o curso.

À UNOESC, em especial à Professora Marcieli Maccari e ao Professor Claudio Luiz Orço, pelo apoio durante o curso.

Aos professores Silvia Shimakura, Walmes Zeviani e Wagner Bonat, por compartilharem comigo seus conhecimentos.

Aos amigos do LEG: Paulo Justiniano, Silvia Shimakura, Wagner Bonat, Walmes Zeviani, Elias Krainski, Julcemara de Moraes e Edy Célia Coelho, pela amizade cultivada nestes anos de convivência.

Aos amigos do LEMID, Prof^ª. Larissa, Giselda Alves, Marcos Dolinski, Gabriel Fer-

reira, Natasha Hamada e Renato Blood, pela parceria nas disciplinas e nos trabalhos realizados.

Aos professores dos Programas de Pós-graduação: Métodos Numéricos em Engenharia, Engenharia Florestal e Produção Vegetal (todos na UFPR), Estatística e Experimentação Agronômica (ESALQ/USP) e Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP/FIOCRUZ), pela acolhida ao cursar disciplinas.

À Lucimara Antunes, secretária do Programa de Pós-graduação em Agronomia, pela alegria, disposição e eficiência com que presta os seus serviços para o bom andamento do programa.

Ao amigo e colega de Epagri, Dr. Henri Stuker, pelo apoio e aconselhamento nos momentos em que decisões importantes precisaram ser tomadas.

Às famílias de Maria Gertildes de Souza Hugen, Ingrid Annita Casellas, Juanita Carmen Kukul e Maria Odete da Silva, pela agradável convivência, colaborando para que a vida em Curitiba se tornasse mais fácil.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão parcial da bolsa de estudos.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho, serei sempre grato!

Hasta siempre!

“O homem jamais se arrependerá de haver proporcionado a seu espírito todo elemento de juízo requerido pelo desenvolvimento pleno de suas aptidões e pelo exercício sem limitações de sua inteligência.”

Da Sabedoria Logosófica.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
RESUMO	v
ABSTRACT	vii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivo geral	2
1.2 Objetivos específicos	3
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Modelagem estatística em epidemiologia	4
2.2 Modelos de Regressão	5
2.2.1 Estimação	6
2.2.2 Testes de hipóteses	9
2.2.3 Modelos lineares mistos	10
2.2.4 Modelos não lineares	11
2.2.5 Modelos em análise de sobrevivência	14
2.3 Aspectos gerais na cultura do pessegueiro	19
2.3.1 Ferrugem do pessegueiro	20
2.3.2 Podridão parda	21
2.3.3 Curvas de progresso nas doenças do pessegueiro	22
REFERÊNCIAS	25
3 CAPÍTULO I - INFERÊNCIAS COM O MODELO LOGÍSTICO SOB DIFERENTES PARAMETRIZAÇÕES	32
RESUMO	32
ABSTRACT	34
3.1 INTRODUÇÃO	36
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	38

3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
3.4	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	50
4	CAPÍTULO II - HETEROGENEITY OF PEACH RUST PROGRESS CURVE WITHIN THE TREE CANOPY	52
	RESUMO	52
	ABSTRACT	54
4.1	INTRODUCTION	54
4.2	MATERIAL AND METHODS	55
4.3	RESULTS	60
4.4	DISCUSSION	71
4.5	CONCLUSIONS	73
	REFERENCES	74
5	CAPÍTULO III - ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA COMO FER- RAMENTA NO ESTUDO DE DOENÇA NA PÓS-COLHEITA DE PÊSSEGOS	78
	RESUMO	78
	ABSTRACT	79
5.1	INTRODUÇÃO	80
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	81
	5.2.1 Descrição dos dados	81
	5.2.2 Técnicas de análise	83
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
5.4	CONCLUSÕES	95
	REFERÊNCIAS	96
6	CONCLUSÕES GERAIS	101

LISTA DE TABELAS

	Página
3.1 Estimativas dos parâmetros, respectivos erros padrões (EP) e intervalos de confiança (IC) para o modelo logístico, em quatro parametrizações, ajustados aos dados de progresso temporal de incidência da ferrugem do pessegueiro causada por <i>Tranzschelia discolor</i> nas cultivares Chimarrita e Chiripá.	42
3.2 Medidas de não linearidade intrínseca (NLI) e devida ao efeito de parâmetros (NLP) para o modelo logístico em quatro parametrizações, ajustado aos dados do progresso temporal da incidência de ferrugem do pessegueiro causada por <i>Tranzschelia discolor</i> nas cultivares Chimarrita e Chiripá. . . .	43
3.3 Resultados do viés de Box em relação a estimativa do parâmetro (VR) e em relação ao erro padrão das estimativas dos parâmetros (VR_{ep}) do modelo logístico em quatro parametrizações ajustados aos dados de progresso temporal da incidência de ferrugem do pessegueiro causada por <i>Tranzschelia discolor</i> nas cultivares Chimarrita e Chiripá.	44
3.4 Relações entre os parâmetros do modelo logístico em função da parametrização adotada.	47
3.5 Limites dos intervalos de confiança para as estimativas dos parâmetros nas parametrizações I, II, III e IV obtidos a partir das estimativas dos parâmetros em I e II.	48
4.1 Area under the incidence progress curve (AUDPC) for peach rust (<i>Tranzschelia discolor</i>) depending on the height of the stem in the canopy of orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.	64
4.2 Area under the severity progress curve (AUDPC) for peach rust (<i>Tranzschelia discolor</i>) depending on the height of the stem in the canopy of orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009. . . .	65
4.3 Log-likelihoods of the fitted models for incidence and severity of peach rust (<i>Tranzschelia discolor</i>) in orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.	66

4.4	Parameter estimates of the linear mixed-models fitted to the data of peach rust (<i>Tranzschelia discolor</i>) incidence depending on the height of the stem in orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.	67
4.5	Parameter estimates of the linear mixed-models fitted to the data of peach rust (<i>Tranzschelia discolor</i>) severity depending on the height of the stem in orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.	68
4.6	Evaluation of the presence of urediniospores in wind-driven traps installed in the orchard using fungicides ^a . Growing seasons 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.	70
5.1	Número de frutos observados (n), número de frutos com sintomas de <i>Monilinia fructicola</i> (e), seguidos do respectivo tempo mediano para expressão dos sintomas (t) em função da cultivar (Exemplo 1) ou momento de inoculação do fruto (Exemplo 2)	89
5.2	Estimativas do risco relativo de expressão de sintomas de <i>Monilinia fructicola</i> estimados pelo modelo semiparamétrico de Cox, seguidos dos intervalos com 95% de confiança e coeficiente de correlação linear simples (r_{H_0}) entre os resíduos padronizados de Schoenfeld e o tempo, para cultivares (Exemplo 1) e momento de inoculação do fruto (Exemplo 2).	93

LISTA DE FIGURAS

	Página	
3.1	Valores observados (círculos) e curvas ajustadas (linhas) para o progresso temporal da incidência de ferrugem do pessegueiro causada por <i>Tranzschelia discolor</i> nas cultivares Chimarrita e Chiripá.	40
3.2	Regiões de confiança baseadas na deviance (linha cheia) e respectivas aproximações quadráticas (linha tracejada) para as estimativas dos parâmetros em quatro parametrizações do modelo logístico ajustados aos dados do progresso temporal da incidência da ferrugem do pessegueiro (<i>Tranzschelia discolor</i>) nas cultivares Chimarrita (coluna da esquerda) e Chiripá (coluna da direita). I, II, III e IV correspondem às parametrizações utilizadas. . . .	45
3.3	Perfis de verossimilhança para as estimativas dos parâmetros em quatro parametrizações do modelo logístico ajustados aos dados do progresso temporal da incidência de <i>Tranzschelia discolor</i> em duas cultivares de pessegueiro. I, II, III e IV correspondem às parametrizações utilizadas. Coluna da esquerda para a cultivar Chimarrita e da direita para a cultivar Chiripá.	46
4.1	Temporal progress of peach rust incidence caused by <i>Tranzschelia discolor</i> in orchards managed with (OF, a and b) or without (OWF, c and d) fungicides, both depending on the height of the stem in the canopy. Growing seasons 2007/2008 (a , c) and 2008/2009 (b , d).	61
4.2	Temporal progress of peach rust severity caused by <i>Tranzschelia discolor</i> in orchards managed with (OF, a and b) or without (OWF, c and d) fungicides, both depending on the height of the stems in the canopy. Growing seasons 2007/2008 (a , c) and 2008/2009 (b , d).	62
4.3	Average biweekly temperature (°C), relative humidity (%) and biweekly accumulated precipitation (mm) observed in peach orchards with (a , b , c and d) or without (e , f , g and h) fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009. Data obtained from Simepar/PR.	63

5.1	Estimativas das curvas de Kaplan-Meier das funções de sobrevivência $S(t)$ descrevendo os tempos para expressão dos sintomas de <i>Monilinia fructicola</i> em pêssegos inoculados. a , b e c : cultivares avaliadas nas safras 2009/2010, 2010/2011 e conjunta entre as safras, respectivamente; d , e e f : momento em que os frutos foram inoculados em dias após o florescimento pleno, avaliados nas safras 2008/2009, 2009/2010 e conjunta entre as safras, respectivamente.	88
5.2	Resíduos padronizados de Schoenfeld estimados para o modelo semi-paramétrico de Cox em função dos tempos para cada covariável no estudo. Gráficos A , B , C e D para avaliação do efeito de cultivares (Exemplo 1) e gráficos E , F , G e H para avaliação do efeito do momento em que os frutos foram inoculados e protegidos (Exemplo 2).	91
5.3	Estimativas pontuais de fragilidade e respectivos intervalos com 95% de confiança, utilizando diferentes distribuições para o efeito de fragilidade (Gama e Lognormal) e algoritmos de estimação (EM, AIC e REML): (A) Gama-EM com variância do efeito aleatório de 0,078 (p=0,14), (B) Gama-AIC com variância do efeito aleatório de 0,087 (p=0,14), (C) Gauss-REML com variância do efeito aleatório de 0,074 (p=0,14), (D) Gauss-AIC com variância do efeito aleatório de 0,085 (p=0,13).	92

RESUMO

Após medir ou estimar a intensidade da doença em uma população de hospedeiros, o uso de análises estatísticas auxilia na compreensão do processo epidêmico. Este trabalho tem como objetivo abordar aspectos sobre modelagem estatística com aplicações no estudo das principais doenças do pessegueiro. Inicialmente, aborda-se a teoria geral em modelagem estatística com foco na aplicação em epidemiologia de doenças de plantas, seguida dos aspectos gerais da cultura do pessegueiro e suas principais doenças. O trabalho está organizado em três artigos. Primeiro, fez-se um estudo sobre parametrizações do modelo logístico, pois sua expressão pode ser escrita de forma que os parâmetros tenham interpretações convenientes, mas as propriedades estatísticas dos modelos, seu comportamento numérico e a validade das inferências são afetados pela parametrização. Avaliou-se a relação entre as inferências e o comportamento não linear de quatro parametrizações do modelo logístico ajustado aos dados do progresso temporal da incidência da ferrugem do pessegueiro causada por *Tranzschelia discolor*. Calcularam-se medidas de não linearidade do modelo e, para as estimativas dos parâmetros, avaliou-se o viés de Box, construíram-se superfícies de log-verossimilhança, respectivas aproximações quadráticas e perfis de verossimilhança. No segundo trabalho, caracterizou-se o início e o progresso temporal da ferrugem do pessegueiro (*T. discolor*) em ramos nos terços inferior, médio e superior da copa da planta, em pomares com e sem o uso de fungicidas. Avaliou-se incidência e severidade da ferrugem em folhas e lesões nos ramos. Nas análises, adotou-se um modelo linear misto, considerando a altura do ramo na copa da planta como efeito fixo, cultivares e blocos como efeito aleatório. A área abaixo da curva de progresso da ferrugem foi maior nos ramos do terço superior em comparação aos ramos do terço inferior. O inóculo inicial diferiu entre as posições, entretanto com taxas de progresso similares para incidência e severidade. No terceiro trabalho, utilizou-se dois estudos de caso sobre incidência de podridão parda em pós-colheita de pêssegos causada por *Monilinia fructicola*, considerando safras conjuntamente e a existência de efeito aleatório compartilhado por frutos de uma mesma árvore para descrever as principais técnicas em análise de sobrevivência. Aplicou-se a técnica não paramétrica de Kaplan-Meier e a estatística log-rank, além do modelo semiparamétrico de Cox para estimar o efeito de cultivares e do número de dias após a floração plena no momento da inoculação sobre a sobrevivência ao sintoma de podridão parda e sobre o risco instantâneo de expressá-lo em duas safras consecutivas. A análise de sobrevivência com efeito basal variando entre safras e a verificação do efeito de árvore como fator de agrupamento com efeito aleatório mostraram-se adequados para interpretar o comportamento da doença, além de respeitar a natureza da variável e do fenômeno estudado.

Palavras-chave: Epidemiologia. Modelos não lineares. Modelos mistos. Análise de sobrevivência. *Tranzschelia discolor*. *Monilinia fructicola*.

ABSTRACT

After measuring or estimating the disease intensity in a population of hosts, statistical analysis helps to understand the epidemic process. This work aims to apply statistical models to study one of the most common diseases of the peach tree. The work starts with a general description of statistical modeling, focusing on its application in plant disease epidemiology, followed by a discussion of general aspects of the peach tree cultivation and its main diseases. This thesis is divided into three prospective articles. Firstly, a study of the logistic model parametrization was performed, because its formula can be written such as that the parameters have a convenient interpretation, but the model's statistical properties, its numerical behavior and the inferences validities are influenced by parametrization. The relation between inferences and nonlinear behavior of the logistic model was evaluated, with the model parametrized in four different ways and fitted to data from temporal progress of peach rust incidence caused by *Tranzschelia discolor*. The nonlinearity measures of the model were calculated and, for the estimation of parameters, the bias Box, log-likelihood surfaces, respective quadratic approximations and likelihood profiles were constructed and evaluated. In the second study the onset and the temporal progress of peach rust (*T. discolor*) was characterized, in twigs of the lower, middle and upper third of the tree canopy, in orchards with and without fungicides. Positional information on the disease within the canopy was obtained by assessing incidence and severity of peach rust on leaves of both orchards. A mixed linear model was used, considering height of the twig in the canopy as a fixed effect, cultivars and blocks as random effects. The area under the rust progress curve was bigger in twigs of the upper third compared to twigs of the lower third. The primary inoculum was different among positions, though with similar progress rates in terms of incidence and severity. The third investigation was an analysis of two case studies over the incidence of post harvest brown rot (*Monilinia fructicola*) in peaches were used, considering the harvests together and the existence of a random effect shared by fruits of the same tree to describe the main techniques for survival analysis. We used the Kaplan-Meier method, the log-rank statistics and the semi-parametric Cox model to estimate the effect of cultivars and number of days after full bloom at inoculation, over survival to brown rot and over the immediate risk of expressing the disease in two consecutive harvests. The survival analysis with varying baseline effect between seasons and the verification of the effect of tree as grouping factor with random effect proved to be suitable to interpret the disease and complementary to conventional analyzes respecting the nature of the variable and the phenomenon.

Key words: Epidemiology. Nonlinear models. Mixed models. Survival analysis. *Tranzschelia discolor*. *Monilinia fructicola*.

1 INTRODUÇÃO

A caracterização da intensidade de uma doença de plantas no tempo é fundamental em epidemiologia para descrever e compreender a sua dinâmica. Utilizando-se curvas de progresso da doença, interações entre patógeno, hospedeiro e ambiente podem ser caracterizadas, estratégias de controle avaliadas e níveis futuros de doenças previstos. Além disso, a partir da curva de progresso vários aspectos podem ser observados, como o início da epidemia, as quantidades inicial, máxima e final da doença, a taxa de aumento da doença, a forma da curva e a duração da epidemia (Van Der Plank, 1963; Madden e Hughes, 1995; Garrett et al., 2004; Madden et al., 2007; Bergamin Filho, 2011).

O estudo de modelos estatísticos para descrever dinâmicas de doenças assume posição de importância na teoria epidemiológica. Após medir ou estimar a intensidade da doença em uma população de hospedeiros, o uso de ferramentas estatísticas auxilia na compreensão do processo epidêmico. Geralmente, utilizam-se modelos para resumir os aspectos essenciais das observações de interesse. No modelo estatístico, as estruturas de casualidade, que são concebidas através do raciocínio epidemiológico e motivadas por evidências empíricas, são representadas pelos efeitos principais e interações, associados a cada covariável escolhida para compor o modelo. Uma vantagem dos modelos estatísticos para a descrição e representação do conhecimento científico está na possibilidade de afirmações probabilísticas. Na construção de intervalos de confiança a variabilidade é geralmente interpretada como o grau de incerteza associado às previsões produzidas pelo modelo e para os testes de hipóteses está relacionada à estimativa da probabilidade do erro de rejeição da hipótese nula (Madden et al., 2007; Carvalho et al., 2011).

Por razões biológicas, muitas curvas de progresso de doenças têm formato sigmóide, principalmente doenças em que ocorrem múltiplos ciclos de infecção durante uma mesma epidemia (policíclicas). Numerosas funções matemáticas já foram propostas para descrever estas curvas, destacando-se a logística que é amplamente utilizada em biologia de populações e, especialmente, em patologia de plantas (Van Der Plank, 1963; Madden et al., 2007). Utilizando-se reparametrizações, a expressão do modelo logístico pode ser escrita de forma que os parâmetros tenham sentido biológico e interpretações mais convenientes. Por outro lado, nem sempre a forma paramétrica facilita a convergência dos processos iterativos utilizados na estimação dos seus parâmetros, sendo necessário procurar uma parametrização mais apropriada. Entretanto, as propriedades estatísticas de modelos não lineares, seu comportamento numérico no processo de estimação, além da validade de inferências assintóticas são funções da aproximação linear destes modelos o que é afetado, principalmente, pela parametrização adotada (Ratkowsky, 1993; Cordeiro et al., 2009; Fox e Weisberg, 2010; Tjørve e Tjørve, 2010).

Há situações de relevância prática em epidemiologia de doenças de plantas nas quais os modelos de regressão tradicionais não são adequados pela existência, por exemplo, de heterogeneidade entre indivíduos ou unidades experimentais, interações entre covariáveis ou observações correlacionadas no tempo e no espaço. Nestes casos, a variabilidade das observações usualmente não segue a variabilidade prescrita pelo modelo de probabilidades e o modelo de regressão pode ser estendido pela adição de efeitos aleatórios (McCulloch e Searle, 2001; Schabenberger e Pierce, 2002; Bonat et al., 2012). Outra situação comum em epidemiologia é aquela em que se avalia a ocorrência de um evento e do tempo para sua ocorrência em uma população de indivíduos. Neste caso, técnicas de análise estatística convencionais não são apropriadas para este tipo de dados, pois o tempo de observação raramente tem distribuição normal e os dados podem ser censurados, ou seja, o estudo pode terminar antes que todos os indivíduos avaliados sofram o evento de interesse, observando-se parcialmente a resposta. Frequentemente, dados desta natureza são submetidos à análise estatística convencional com exclusão de observações censuradas e transformação de dados, o que limita a capacidade de inferência. Nestes casos, a análise de sobrevivência, que utiliza o método da verossimilhança para estimar os parâmetros, efetivamente extrai informações relevantes e estimativas confiáveis (Bewick et al., 2004; Scherm e Ojiambo, 2004; Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011).

Nos estados da região Sul do Brasil, apesar da grande importância da cultura, a produtividade dos pessegueiros é baixa devido à falta de tecnificação das propriedades com problemas relacionados, principalmente, ao manejo fitossanitário dos pomares, destacando-se as doenças ferrugem do pessegueiro (*Tranzschelia discolor*), queima das flores e a podridão parda nos frutos causadas por *Monilinia fructicola* (Kowata et al., 2011; Fachinello et al., 2009). Assim, esforços em pesquisa devem ser empregados no desenvolvimento e aplicações de técnicas estatísticas que auxiliem os pesquisadores das áreas aplicadas no conhecimento detalhado das epidemias destas doenças e, com isso, contribuir para melhorar a eficiência das práticas de manejo adotadas.

1.1 Objetivo geral

Estudar aspectos relacionados a modelagem estatística em doenças de plantas com aplicações no estudo das principais doenças da cultura do pessegueiro.

1.2 Objetivos específicos

- i)* Avaliar a relação entre a condução de inferências e o comportamento não linear de parametrizações do modelo logístico;

- ii)* Utilizando a técnica de modelos mistos, caracterizar o início e o progresso temporal da ferrugem do pessegueiro em diferentes alturas dos ramos na copa das plantas em pomares com e sem uso de fungicidas;

- iii)* Utilizar estudos de caso de incidência de podridão parda em pós-colheita de pêssegos para abordar e aplicar as principais técnicas em análise de sobrevivência.

Este trabalho inicia com uma revisão de literatura sobre a teoria em modelagem estatística seguida pela abordagem de aspectos gerais da ferrugem do pessegueiro causada por *Tranzschelia discolor* e a queima das flores e podridão parda causadas por *Monilinia fructicola*. No Capítulo I, faz-se um estudo de diferentes parametrizações do modelo logístico e seus efeitos nas inferências. O Capítulo II, utiliza modelos lineares mistos na comparação da intensidade da ferrugem do pessegueiro entre alturas dos ramos na planta e, por fim, no Capítulo III são abordados os principais métodos em análise de sobrevivência, com aplicações em estudos de podridão parda em pós-colheita de pêssegos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Modelagem estatística em epidemiologia

Uma epidemia de doenças de plantas pode ser compreendida como uma mudança na intensidade da doença na população do hospedeiro no tempo e/ou no espaço. Em muitas situações, o componente espacial não é explicitamente considerado e o foco do estudo é sobre a mudança na intensidade da doença com o tempo. Geralmente, uma representação da epidemia é feita com a curva de progresso da doença, dada por um gráfico da intensidade da doença como variável resposta e o tempo como variável explicativa. A partir dessa curva, pode-se resumir o efeito das interações entre hospedeiro, patógeno e fatores ambientais (físicos e biológicos) sobre o desenvolvimento da doença (Van Der Plank, 1963). A curva de progresso da doença expressa a relação fundamental entre intensidade de doença e tempo, mas outras relações incluem intensidade de doença e distância da fonte de inóculo, perdas no rendimento em função da intensidade da doença no campo ou intensidade em função do nível de controle.

A quantificação do progresso da doença é desejável por várias razões, incluindo determinar se duas ou mais epidemias são diferentes em algum sentido e avaliar o efeito de tratamentos na maior (ou menor) intensidade da doença ou na sua taxa de mudança. A compreensão destes fatores pode ser usada para prever a quantidade de doença em um momento particular do tempo, quantificar o efeito de estratégias de controle ou desenvolver uma base teórica para determinar se uma epidemia ocorrerá e, no caso de ocorrência, identificar fatores que afetam a magnitude da taxa de incremento e a sua intensidade final (Van Der Plank, 1963; Madden, 1980; Madden et al., 2007).

A modelagem e a análise estatística dos dados são fundamentos metodológicos para a compreensão da epidemia e, como resultado, utiliza-se todo o conhecimento adquirido no controle da doença (Madden, 2006; Scherm et al., 2006). Modelos são representações simplificadas de um sistema e, por isso, quanto e como simplificar dependem, dentre outros fatores, do objetivo que se espera alcançar com o modelo. Na construção do modelo considera-se somente os elementos essenciais para que o objetivo seja alcançado. Desta forma, para qualquer fenômeno ou processo nunca se conseguirá uma completa descrição ou compreensão da realidade (Bergamin Filho e Amorim, 2001; Madden et al., 2007).

Em uma população de hospedeiros pode-se medir ou observar seus indivíduos

com relação à intensidade da doença ou outra variável de interesse. Entretanto, apenas a coleta do conjunto de dados não conduz automaticamente à compreensão da epidemia. Além disso, as populações sob estudo em epidemiologia raramente são pequenas, o que torna necessária a observação do fenômeno de interesse em apenas alguns indivíduos (amostra), mas com objetivo em aplicar os resultados obtidos nestes pequenos conjuntos de dados para compreender o fenômeno em grandes populações (Madden et al., 2007). Logo, modelos estatísticos também são necessários para se fazer inferência sobre grandes populações baseado em informação limitada (Madden, 1980; Scherm et al., 2006; Madden et al., 2007).

2.2 Modelos de Regressão

Modelos de regressão são modelos estatísticos que descrevem a variação em uma ou mais variáveis resposta como função de uma ou mais variáveis explicativas ou co-variáveis. Nestas situações, procura-se verificar a existência e quantificar o efeito de covariáveis sobre a resposta, embora a relação não seja necessariamente de causa e efeito. Inferência baseada em tais modelos é conhecida como análise de regressão.

Considere-se que Y_1, Y_2, \dots, Y_n são variáveis aleatórias independentes e identicamente distribuídas, X é a matriz de delineamento conhecida associada ao conjunto de variáveis explicativas e θ o vetor de parâmetros desconhecidos. Um modelo de regressão em notação matricial pode ser escrito na forma (Bonat et al., 2012):

$$Y|X \sim f(\underline{\mu}, \phi), \text{ com } \underline{\mu} = g(\underline{\theta}; X).$$

A distribuição de probabilidades da variável resposta $f(\underline{\mu}, \phi)$ é descrita por dois conjuntos de parâmetros, os de locação (média, μ) e os de dispersão (precisão/variância, ϕ). Nas análises realizadas neste trabalho supõe-se que o parâmetro de dispersão é comum a todas as observações e o que muda é o parâmetro de média. Em geral, ϕ tem como espaço paramétrico os reais positivos. Para a média, a função $g(\cdot)$ deve mapear o preditor linear ou não linear, de forma que possa produzir valores no espaço paramétrico de $\underline{\mu}$.

Para a declaração completa do modelo são necessárias duas suposições. A primeira se refere a distribuição de probabilidades atribuída à variável resposta, neste caso $f(\underline{\mu}, \phi)$. A segunda é a definição de uma função $g(\cdot)$ fazendo com que o preditor linear ou não linear, que pode apresentar qualquer valor nos reais, seja mapeado adequadamente para o espaço paramétrico da parte de média do modelo.

A função $g(\cdot)$ deve ser duplamente diferenciável, exceto para modelos não lineares e, no caso linear, tem como argumentos a matriz de delineamento X conhecida e os parâmetros $\underline{\theta}$ desconhecidos a serem estimados. Sendo a função $g(\cdot)$ definida e mapeando os valores do preditor (linear ou não) para o espaço paramétrico de $\underline{\mu}$, o modelo é composto e pode ter seus parâmetros estimados, por exemplo, pela maximização da função de verossimilhança.

2.2.1 Estimação

A seguir serão apresentados os conceitos de estimação por máxima verossimilhança e por mínimos quadrados. As definições apresentadas são baseadas em diversas obras, destacando-se Draper e Smith (1966), Bates e Watts (1980), Azzalini (1996), Pawitan (2001), Dobson (2002), Seber e Wild (2003), Ritz e Streibig (2008) e Bonat et al. (2012).

a) Estimação por máxima verossimilhança

A função de verossimilhança é dada pela expressão da distribuição conjunta de todas as variáveis aleatórias envolvidas no modelo, porém vista como função dos parâmetros que as indexam, uma vez que observando-se os dados, estes se tornam quantidades fixas. Para cada particular valor do parâmetro (escalar ou vetor), a verossimilhança é uma medida de compatibilidade, plausibilidade ou similaridade com a amostra observada (Bonat et al., 2012).

Considere-se que $y = [Y_1, \dots, Y_n]^T$ denota um vetor aleatório com função de probabilidade dada por $f(y; \theta)$ que depende do vetor de parâmetros $\theta = [\theta_1, \dots, \theta_p]^T$. A função de verossimilhança para θ , dado os valores observados de y , é a função $L(y; \theta)$. A verossimilhança $L(y; \theta)$ é algebricamente a mesma que a função densidade de probabilidade $f(y; \theta)$, mas a notação reflete a mudança na ênfase da variável aleatória y com θ fixo, para os parâmetros θ com y fixo. Como L é definida em termos de um vetor aleatório y , L também é uma variável aleatória, uma vez que a cada amostra e um conjunto fixo θ tem-se L 's diferentes.

Denotando-se Θ como o conjunto de todos os possíveis valores do vetor de parâmetros θ , Θ é chamado de espaço paramétrico. A estimativa de máxima verossimilhança de θ é o valor $\hat{\theta}$ que maximiza a função de verossimilhança, isto é

$$L(\hat{\theta}; y) \geq L(\theta; y)$$

para todo θ pertencente a Θ . Equivalentemente, $\hat{\theta}$ é o valor que maximiza a função de log-verossimilhança $l(\theta; y) = \log L(\theta; y)$, uma vez que a função logarítmo é monótona crescente. Então,

$$l(\hat{\theta}; y) \geq l(\theta; y)$$

para todo θ pertencente a Θ . Normalmente é mais fácil trabalhar com a função de log-verossimilhança do que com a função de verossimilhança.

O estimador $\hat{\theta}$ é obtido diferenciando-se a função de log-verossimilhança em relação a cada θ_j de θ e resolvendo-se as equações simultâneas

$$\frac{\partial l(\theta; y)}{\partial \theta_j} = 0$$

para $j = 1, \dots, p$.

É necessário checar se a solução corresponde ao máximo de $l(\theta; y)$, verificando se a matriz de segundas derivadas

$$\frac{\partial^2 l(\theta; y)}{\partial \theta_j \partial \theta_k}$$

avaliada em $\theta = \hat{\theta}$ é negativa definida. Também é necessário verificar se existem quaisquer valores de θ do espaço paramétrico que resultam em máximos locais de $l(\theta; y)$. Quando todos os máximos locais são identificados, o valor de $\hat{\theta}$ correspondente ao maior valor é o estimador de máxima verossimilhança.

Uma propriedade importante dos estimadores de máxima verossimilhança é que se $g(\theta)$ é uma função real qualquer dos parâmetros θ , então o estimador de máxima verossimilhança de $g(\theta)$ é $g(\hat{\theta})$, denominada propriedade da invariância dos estimadores de máxima verossimilhança. Uma consequência é que se pode trabalhar com uma função dos parâmetros que é conveniente para estimação por máxima verossimilhança e então usar a propriedade da invariância para obter as estimativas dos parâmetros de interesse.

b) Estimação por mínimos quadrados

Considere Y_1, \dots, Y_n como variáveis aleatórias independentes com valores esperados μ_1, \dots, μ_n , respectivamente. Suponha que os μ'_i s são funções do vetor de parâmetros

que se deseja estimar, $\theta = [\theta_1, \dots, \theta_p]^\top$, $p < n$. Então,

$$E(Y_i) = g(x, \theta).$$

A forma mais simples do método de mínimos quadrados consiste em encontrar a estimativa $\hat{\theta}$ que minimize a soma de quadrados das diferenças entre os Y_i 's e seus valores esperados

$$SQR(\theta) = \sum_{i=1}^n [Y_i - g(x, \theta)]^2$$

Usualmente, $\hat{\theta}$ é obtido por diferenciação de $SQR(\theta)$ em relação a cada elemento θ_j de θ e resolvendo as equações simultâneas

$$\frac{\partial SQR(\theta)}{\partial \theta_j} = 0,$$

com $j = 1, \dots, p$.

Entretanto, para modelos não lineares, a busca pelo mínimo é um problema a ser resolvido com o uso de métodos numéricos, usando-se aproximação linear que converge para o ponto de mínimo a cada iteração. Desta forma, este procedimento também apresenta estimativas baseadas em aproximações assintóticas para os erros padrões e os testes de hipóteses, e a qualidade de tal aproximação depende de quão forte é a não linearidade do modelo. Na estimação por mínimos quadrados também é necessário checar se a solução corresponde a um mínimo, isto é, se a matriz de derivadas é positiva definida e identificar o mínimo global entre estas soluções e qualquer mínimo local no espaço paramétrico.

Supondo-se que os Y_i 's têm variâncias que não são todas iguais, pode ser desejável minimizar a soma de quadrados ponderada das diferenças

$$SQR(\theta) = \sum_{i=1}^n \omega_i [Y_i - g(x, \theta)]^2$$

em que os pesos são dados, por exemplo, por $\omega_i = (\sigma_i^2)^{-1}$. Desta forma, as observações com grandes variâncias terão menos influência sobre as estimativas.

Ressalta-se que quando $\varepsilon \sim N(0, I\sigma^2)$, a estimativa de mínimos quadrados de θ é também estimativa de máxima verossimilhança para θ . Isto ocorre pois a função de verossimilhança para este problema pode ser escrita por

$$l(\theta, \sigma^2) = (2\pi\sigma^2)^{-\frac{n}{2}} \exp \frac{-SQR(\theta)}{2\sigma^2}.$$

Neste caso, se σ^2 é conhecido, maximizar $l(\theta, \sigma^2)$ em relação a θ é equivalente a

minimizar $SQR(\theta)$ também em relação a θ .

2.2.2 Testes de hipóteses

Geralmente há interesse em testar hipóteses sobre os parâmetros ou sobre funções dos parâmetros. Com efeitos fixos, o teste de hipóteses pode ser de que as diferenças entre as médias dos níveis de um fator são zero ou, ocasionalmente, que os parâmetros são iguais a uma constante pré-definida. Para efeitos aleatórios, uma hipótese útil é a de que um componente de variância é zero ou igual a algum valor pré definido. Além destes casos, pode-se usar estimativas dos parâmetros para estabelecer intervalos de confiança para os parâmetros ou suas combinações (McCulloch e Searle, 2001).

a) Teste da razão de verossimilhança

Na metodologia da análise de variância tradicional (sob suposição de normalidade), testam-se hipóteses utilizando-se a estatística F que é uma razão de quadrados médios. Para modelos mais gerais, como estatística de testes de hipóteses pode-se utilizar o teste da razão de verossimilhanças (TRV) que por sua forma pode ser utilizado em uma maior variedade de situações.

A forma geral do TRV pode ser descrita como a seguir. Seja $\hat{\theta}$ o máximo de todos os valores de θ . Similarmente, seja $\hat{\theta}_0$ o máximo de θ limitado (restrito ou definido) por alguma hipótese H_0 pertencente a alguns elementos de θ ; e seja $L(\hat{\theta}_0)$ o valor da verossimilhança usando $\hat{\theta}_0$ para θ . Então, o teste da razão de verossimilhança é $L(\hat{\theta}_0)/L(\hat{\theta})$ e isto leva, sob certas condições, a uma estatística teste para a hipótese H_0 .

b) Teste de Wald

Outro procedimento geral para teste de hipóteses é conhecido como teste de Wald. Se $\hat{\theta}$ é uma estimativa de θ e $I(\hat{\theta})$ é a matriz de informação para $\hat{\theta}$, então

$$(\hat{\theta} - \theta_0)^\top [I(\hat{\theta})]^{-1} (\hat{\theta} - \theta_0)$$

é uma estatística teste para a hipótese $H: \theta = \theta_0$ que tem, sob algumas condições, aproximadamente uma distribuição χ_p^2 em que p é o número de hipóteses.

2.2.3 Modelos lineares mistos

Modelos mistos surgem quando algum dos componentes do modelo são fixos enquanto outros são aleatórios. Um modelo misto envolve no mínimo duas variáveis aleatórias e duas constantes na parte sistemática do modelo. Modelos mistos são usados para representar experimentos com vários fatores onde os níveis de algum fator são pré-determinados enquanto os níveis de outros são escolhidos aleatoriamente. Nos modelos mistos, alguns componentes do vetor de médias não são tratados como constantes mas como realizações de variáveis aleatórias (McCulloch e Searle, 2001; Schabenberger e Pierce, 2002).

Nas diversas aplicações da modelagem estatística, surgem situações nas quais os modelos de regressão tradicionais não são adequados pela existência de características que violam suposições de modelos usuais. Isto pode ocorrer quando há observações correlacionadas no tempo, interações complexas no efeito conjunto de algumas covariáveis, heterogeneidade entre indivíduos que pode não ser suficientemente descrita por covariáveis, entre outras. Nestas situações, a variabilidade das observações usualmente não segue a prescrita pelo modelo de probabilidades e a classe de modelos de regressão é estendida pela adição de efeitos aleatórios, incorporando variáveis não observadas (latentes). Considerando que Y é um vetor de observações de dimensão n , a seguinte estrutura hierárquica descreve um modelo de regressão com efeitos aleatórios (Bonat et al., 2012):

$$\begin{aligned} [Y | b, X] &\sim f(\underline{\mu}, \phi) \text{ com} \\ g(\underline{\mu}) &= X\underline{\beta} + Z\underline{b} \text{ e} \\ \underline{b} &\sim NMV(\underline{0}, \Sigma). \end{aligned}$$

O preditor linear é decomposto em duas componentes, a parte de efeitos fixos $X\underline{\beta}$ e a parte aleatória $Z\underline{b}$. Nos modelos lineares, as matrizes de delineamento X e Z são consideradas conhecidas representando os efeitos de covariáveis de interesse. O vetor $\underline{\beta}$ representa os efeitos fixos que deverão ser estimados e o vetor \underline{b} são quantidades não observadas (latentes) para a qual atribui-se aqui uma distribuição gaussiana multivariada de média 0 e matriz de covariância Σ . De acordo com a estrutura imposta a Σ pode-se induzir diversos tipos de correlação entre as observações Y . É usual adotar a suposição de

independência condicional em $[Y | b]$, ou seja, dado os efeitos aleatórios as observações são independentes, o que é usado na construção de verossimilhança e explorado por algoritmos numéricos.

2.2.4 Modelos não lineares

Um modelo é não linear quando o valor esperado de uma variável dependente Y não pode ser escrita como funções lineares dos seus parâmetros. A forma clássica de um modelo normal não linear é expressa como

$$Y = g(\beta; X) + \varepsilon,$$

em que $g(\beta; X) = E(Y | X)$ e os ε_i s são não correlacionados e normalmente distribuídos com média zero e variância comum σ^2 , isto é, $\varepsilon \sim N(0, I\sigma^2)$, $g(\beta; X)$ é uma função diferenciável em β , $\beta = [\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_p]^\top$ contém parâmetros desconhecidos a serem estimados e $X = (x^{(1)}, x^{(2)}, \dots, x^{(s)})$ representa a matriz de dimensão $n \times s$, dos valores de s variáveis explanatórias (Seber e Wild, 2003; Cordeiro et al., 2009).

Ao contrário de regressão linear, a minimização da $SQR(\beta)$ será um problema não linear devido à não linearidade de $g(\cdot)$, sendo necessário utilizar métodos de otimização numérica. Estes métodos são procedimentos iterativos que, idealmente, aproximam-se do valor ótimo do parâmetro a cada passo. Em cada passo, os algoritmos determinam o novo valor do parâmetro baseado nos dados, no modelo e no valor da estimativa corrente.

As principais complicações dos métodos de otimização numérica são a escolha de valores iniciais para os parâmetros e a técnica para distinguir o mínimo global de um mínimo local. Estes dois problemas são relacionados, de forma que se o valor inicial for suficientemente próximo do valor ótimo do parâmetro, o procedimento estará cada vez mais próximo do valor ideal do parâmetro e o algoritmo convergirá em poucos passos. Desta forma, é fundamental especificar valores iniciais adequados, pois uma escolha ruim pode levar ao ajuste de um modelo incorreto. Caso não se consiga o ajuste do modelo apesar de tentativas adequadas de valores iniciais, isso pode indicar que o modelo não é apropriado para os dados em questão (Seber e Wild, 2003). Como as soluções de um problema de regressão não linear são numéricas, elas podem diferir como consequência de diferentes algoritmos, diferentes implementações de um mesmo algoritmo, diferentes parametrizações ou diferentes valores iniciais.

A principal característica dos modelos não lineares é que a parte fixa $g(\beta; X)$

geralmente decorre de um processo determinístico deduzido a partir de situações teóricas, quase sempre baseado em equações diferenciais, de tal forma que os parâmetros podem ter interpretações práticas. Muitas vezes, assume-se que o pesquisador tem algum conhecimento sobre o tipo de função $g(\cdot)$ a ser utilizada. Os métodos de regressão não lineares são empregados na análise de dados para os quais há uma relação funcional não linear entre preditor e resposta empiricamente ou teoricamente estabelecida (Ritz e Streibig, 2008; Cordeiro et al., 2009).

Em epidemiologia de doenças de plantas, alguns modelos não lineares são comumente utilizados para descrever o progresso temporal das doenças. Os principais modelos são o exponencial, o monomolecular, o logístico, o de Gompertz e de Richards, descritos brevemente a seguir, com base em Van Der Plank (1963), Madden (1980), Madden (2006), Madden et al. (2007) e Bergamin Filho (2011).

a) Modelo Exponencial: este modelo também é conhecido como modelo logarítmico, geométrico ou Malthusiano. É apropriado quando indivíduos doentes dão origem a novos indivíduos doentes o que indica que a velocidade de aumento da doença é proporcional à própria quantidade de doença. Por ser demasiado simplista, este modelo pode ser utilizado para descrever estágios iniciais de doenças policíclicas, enquanto a quantidade de doença não exceder (arbitrariamente) a 5%. A equação que descreve a quantidade de doença (y) em função do tempo (t) é dada por

$$y = y_0 e^{r_E t},$$

em que y_0 é um parâmetro interpretado como quantidade inicial de doença e r_E um parâmetro de taxa de incremento da doença. A forma linearizada deste modelo é dada por

$$\ln(y) = \ln(y_0) + r_E t$$

que descreve uma relação linear entre $\ln(y)$ e t com inclinação r_E e intercepto $\ln(y_0)$.

b) Modelo Monomolecular: este modelo é apropriado para epidemias em que não há dispersão de inóculo secundário na mesma estação de crescimento, o que significa que o aumento da doença se deve ao inóculo produzido em epidemias anteriores ou epidemias em outros locais. Neste modelo, a velocidade de aumento da doença é proporcional ao inóculo inicial e à taxa de incremento, ambos supostos constantes. A equação que descreve

a intensidade de doença (y) em função do tempo (t) é dada por

$$y = 1 - (1 - y_0)e^{-r_M t},$$

com interpretação dos parâmetros análoga ao modelo exponencial. A equação produz uma curva côncava em relação à abscissa, aproximando-se assintoticamente da quantidade máxima de doença. Pode ser linearizada por

$$\ln\left(\frac{1}{1-y}\right) = \ln\left(\frac{1}{1-y_0}\right) + r_M t.$$

Esta equação produz uma reta com intercepto $\ln\left(\frac{1}{1-y_0}\right)$ e inclinação r_M . Para baixos valores de y , $\ln\left(\frac{1}{1-y}\right)$ é aproximadamente igual a y mas a transformação se desvia substancialmente de y com o seu incremento.

c) Modelo Logístico: este modelo incorpora aspectos dos modelos monomolecular e exponencial e tem sido o mais empregado desde que Van Der Plank (1963) propôs seu uso para descrever o progresso de doenças policíclicas. A equação que descreve a intensidade de doença (y) em função do tempo (t) é dada por

$$y = \frac{1}{1 + \left(\frac{1}{y_0} - 1\right)e^{-r_L t}}.$$

Plotando-se y em função do tempo t dá origem a uma curva em forma de 'S' simétrica em torno de $y = 0,5$ e assintótica para 0 e 1 com y_0 representando a intensidade da doença em $t = 0$ e r_L a taxa de incremento. O modelo logístico pode ser linearizado por

$$\ln\left(\frac{y}{1-y}\right) = \ln\left(\frac{y_0}{1-y_0}\right) + r_L t,$$

configurando a equação de uma reta com intercepto $\ln\left(\frac{y_0}{1-y_0}\right)$ e inclinação r_L . Ressalta-se que há diferentes formas equivalentes de escrever o modelo logístico (parametrizações), como será abordado no Capítulo I.

d) Modelo de Gompertz: apropriado para doenças policíclicas como alternativa ao modelo logístico, com ponto de inflexão em torno de $y = 0,37$, fazendo com que a curva

alcance um máximo mais rapidamente que o modelo logístico. A equação que descreve a quantidade de doença (y) em função do tempo (t) é dada por

$$y = e^{-(-\ln y_0)e^{-r_G t}},$$

com y_0 relacionado ao inóculo inicial e r_G a taxa de incremento.

Esta equação pode ser linearizada transformando-se em

$$-\ln(-\ln(y)) = -\ln(-\ln y_0) + r_G t,$$

que produz uma reta com intercepto $-\ln(-\ln y_0)$ e taxa r_G .

e) Modelo de Richards: este modelo difere dos demais por ser mais flexível, podendo assumir outras formas, devido a inclusão de um parâmetro adicional ' m '. O modelo de Richards pode acomodar uma ampla variedade de formas e incluir modelos mais simples como casos especiais. A equação que descreve a quantidade de doença (y) em função do tempo (t) é dada por

$$y = (1 + (y_0^{1-m} - 1)e^{-r_R t})^{\frac{1}{1-m}},$$

com y_0 e r_R interpretados como nos modelos anteriores.

Para $m = 0$ a equação transforma-se na função monomolecular, para $m = 2$ na logística e para m tendendo a 1 na de Gompertz. A forma linearizada da equação é dada por

$$\ln\left(\frac{1}{y^{1-m} - 1}\right) = -\ln(y_0^{1-m} - 1) + r_R t.$$

2.2.5 Modelos em análise de sobrevivência

O modelo de sobrevivência, como qualquer modelo de regressão, é composto por uma variável resposta, covariáveis explicativas, a função de ligação e a estrutura de erro (Carvalho et al., 2011). A variável resposta pode ser expressa de três formas interconversíveis: probabilidade de sobrevivência, taxa de incidência e taxa de incidência acumulada.

A probabilidade de sobrevivência é definida como a probabilidade de não ocorrer o evento de interesse dentro do intervalo de tempo $[t_0, t]$. Por definição, essa probabilidade é 1 no início da observação (em t_0). Normalmente, costuma-se utilizar uma transformação em escala tal que a probabilidade de sobrevivência seja interpretada como frequência de sobreviventes no tempo t em relação ao total de indivíduos sob estudo, ao invés de uma probabilidade. A taxa de incidência é definida como a taxa instantânea de ocorrência do evento de interesse no tempo t , condicionada à sua não ocorrência anterior a t . A incidência acumulada difere do conceito de risco, embora sejam aproximadamente iguais numericamente, quando a incidência é baixa.

a) Funções de sobrevivência e de risco

A função de sobrevivência $S(t)$ descreve a probabilidade de um indivíduo sobreviver por mais de um determinado tempo t , ou seja, a probabilidade de que, decorrido um tempo t , o indivíduo não apresente o evento. Isto é definido como $S(t) = Pr(T > t)$, em que T é o tempo até a ocorrência de um evento. De maneira semelhante, a distribuição acumulada do tempo de vida $F(t)$ é a probabilidade de que o indivíduo expresse o evento antes do tempo t . A partir dessa definição, $S(t)$ é simplesmente o complemento da função de distribuição acumulada:

$$S(t) = Pr(T > t) = 1 - Pr(T \leq t) = 1 - F(t).$$

A função $\lambda(t)$ expressa o risco instantâneo de um indivíduo expressar o evento no tempo t , condicional à permanecer sem o evento até o tempo t :

$$\lambda(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{Pr(t \leq T < t + \Delta t \mid T \geq t)}{\Delta t}.$$

A função de risco é também chamada de função ou taxa de incidência, força de infecção, taxa de falha, força de mortalidade ou força de mortalidade condicional. Apesar de se utilizar o nome risco, $\lambda(t)$ é uma taxa e não uma probabilidade. Sua unidade é tempo^{-1} e pode assumir qualquer valor real maior que zero, não estando restrita ao intervalo $[0,1]$. A função de risco pode ser relacionada com a função de sobrevivência de várias formas, entre elas

$$\lambda(t) = \frac{f(t)}{S(t)},$$

em que $f(t)$ é a função densidade de probabilidade interpretada como a probabilidade de

um indivíduo sofrer um evento em um intervalo instantâneo de tempo (Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011).

De maneira geral, a análise de sobrevivência visa obter estimadores das funções usadas para especificar o tempo de vida, testando a dependência dessas funções com covariáveis.

b) Estimador produto Kaplan-Meier

Os métodos de estimação das funções apresentados até o momento podem ser utilizados quando não há censura. Ocorre censura quando não se conhece o momento de ocorrência do desfecho do evento. O estimador de Kaplan-Meier, proposto por Kaplan e Meier (1958), traz uma solução para a estimação de $S(t)$ quando há indivíduos censurados. Ele utiliza os conceitos de independência de eventos e de probabilidade condicional para desdobrar a condição de sobreviver até o tempo t em uma sequência de elementos independentes que caracterizam a sobrevivência em cada intervalo de tempo anterior a t , cuja probabilidade é condicional aos indivíduos que estão em risco no período (Akbar et al., 2009; Goel et al., 2010; Carvalho et al., 2011). Assume-se que as ocorrências dos eventos são independentes entre os indivíduos e, conseqüentemente, a função de sobrevivência é estimada pelo produto das probabilidades de permanecer sem o evento até o tempo t . A função de sobrevivência $S(t)$ é estimada empiricamente por

$$\widehat{S}(t) = \prod_{i=1}^n \left(1 - \frac{d_i}{n_i}\right),$$

em que d_i é o número de indivíduos que sofreram o evento em um dado tempo t_i ($i = 1, \dots, k$) e n_i é o número de indivíduos sob risco no tempo t_i , ou seja, os indivíduos que não sofreram o evento e não foram removidos do estudo (censurados) até o instante imediatamente anterior a t_i .

O gráfico de $S(t)$ em função do tempo (t) é chamado curva de sobrevivência. O método de Kaplan-Meier estima esta curva a partir dos tempos de sobrevivência sem que seja necessário pressupor uma distribuição de probabilidades mesmo quando há censura no conjunto de observações (Akbar et al., 2009). Por convenção, os gráficos de Kaplan-Meier são representados com degraus para indicar os instantes do tempo em que ocorrem eventos terminais (sintomas) e sinais (+) para indicar observações censuradas (Carvalho et al., 2011). A abordagem não paramétrica da análise de sobrevivência, utilizando o estimador de Kaplan-Meier, permite realizar testes de significância estatística para comparar tratamentos (Akbar et al., 2009; Goel et al., 2010). Neste contexto, o teste log-rank

(LR) é o mais usado, mas deve ser aplicado apenas para comparar grupos definidos por variáveis categóricas (Akbar et al., 2009) e quando a razão das funções de risco dos tratamentos a serem comparados é aproximadamente constante, característica denominada de riscos proporcionais (Colosimo e Giolo, 2006). Com o teste log-rank, testa-se a hipótese nula de que não há diferença entre as curvas de sobrevivência de cada estrato. O teste log-rank compara a distribuição da ocorrência dos eventos observados em cada estrato com a distribuição que seria esperada se a incidência fosse igual em todos os estratos. A estatística do teste é calculada por

$$LR = \sum_{i=1}^n \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i},$$

em que O e E são, respectivamente, o total de eventos observados e esperados em cada estrato, em que os esperados são obtidos supondo que a hipótese nula é verdadeira (Carvalho et al., 2011). Para comparação de apenas dois tratamentos, o valor da estatística log-rank tem distribuição de χ^2 com um grau de liberdade (Akbar et al., 2009). O teste log-rank pode ser estendido para mais de dois tratamentos, embora em várias situações, seja necessário estudar a relação entre o tempo de vida e diversas variáveis explicativas simultaneamente, além de categorizar variáveis contínuas para aplicação do teste. Para contornar estes inconvenientes e tornar a análise mais explicativa, utilizam-se os modelos de regressão paramétricos ou semiparamétricos.

c) Modelo semiparamétrico de sobrevivência

A regressão paramétrica exige que se suponha uma distribuição estatística para o tempo de sobrevivência, e esta suposição, caso não seja adequada, pode fazer com que as estimativas dos parâmetros sejam incorretas. Entretanto, muitas vezes o interesse do estudo não é estimar os parâmetros da distribuição do tempo de sobrevivência, mas estimar o efeito de covariáveis. Foi partindo dessas questões que Cox (1972) propôs um modelo denominado modelo semiparamétrico de riscos proporcionais, que passou a ser o mais utilizado na análise de dados de sobrevivência (Carvalho et al., 2011).

O modelo de Cox de riscos proporcionais é definido em McGilchrist e Aisbett (1991) pelo produto dos componentes não paramétrico $\lambda_0(t)$ e paramétrico $g(x^\top \theta)$

$$\lambda(t) = \lambda_0(t)g(x^\top \theta),$$

em que $\lambda(t)$ descreve o risco do indivíduo apresentar o evento de interesse no tempo t ,

$\lambda_0(t)$ é o risco basal no tempo t e $g(x^\top\theta)$ é o efeito multiplicativo das variáveis explicativas combinadas na função. O componente não paramétrico $\lambda_0(t)$ não é especificado e é uma função não-negativa do tempo, usualmente chamado função de risco de base ou basal, pois $\lambda(t) = \lambda_0(t)$ na ausência de covariáveis ($x = 0$). O componente paramétrico é frequentemente expresso na forma

$$g(x^\top\theta) = \exp(x^\top\theta) = \exp(\theta_1x_1 + \dots + \theta_px_p),$$

em que x é o vetor de variáveis explicativas e θ é o vetor de parâmetros a ser estimado (Fox e Weisberg, 2011).

O modelo de Cox é dito de riscos proporcionais porque as razões entre as taxas de risco dos indivíduos são assumidas constantes no tempo de acompanhamento do estudo (Carvalho et al., 2011). Assim, a razão entre o risco de ocorrência do evento para dois indivíduos k e l , com covariáveis $x_k^\top = (x_{k1}, x_{k2}, \dots, x_{kp})$ e $x_l^\top = (x_{l1}, x_{l2}, \dots, x_{lp})$ é

$$\frac{\lambda_k(t|x_k)}{\lambda_l(t|x_l)} = \frac{\exp(x_k^\top\theta)}{\exp(x_l^\top\theta)},$$

ou seja, é constante no tempo.

O modelo de regressão de Cox é caracterizado pelos coeficientes θ 's que medem os efeitos das covariáveis sobre a função de risco. Estas quantidades devem ser estimadas a partir das observações amostrais para que o modelo fique determinado.

O procedimento de regressão usado para ajustar o modelo de Cox consiste em maximizar a função de verossimilhança parcial $L(\theta)$ para o vetor de parâmetros (θ),

$$L(\theta) = \prod_{i=1}^n \left\{ \frac{\exp(x_i^\top\theta)}{\sum \exp(x_i^\top\theta)} \right\}^{\delta_i},$$

em que δ_i é uma variável aleatória que indica a ocorrência ($\delta = 1$) ou censura ($\delta = 0$) do evento (Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011).

Eventualmente, os indivíduos sob estudo podem apresentar grande heterogeneidade ou diferentes fragilidades não atribuíveis a qualquer característica medida. Este problema pode ser tratado com a introdução de um efeito aleatório para cada indivíduo, o que torna as estimativas dos efeitos das covariáveis mais consistentes (Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011). Partindo do modelo de Cox clássico, a inclusão de efeitos aleatórios é feita a partir de uma variável aleatória desconhecida (Z), que reflete a heterogeneidade ou fragilidade do indivíduo ou grupo (McGilchrist e Aisbett, 1991; Sargent, 1998) atuando multiplicativamente sobre o risco de base. Assim, para um indivíduo

com covariáveis representadas pelo vetor x e efeito aleatório $Z = z$, o modelo de riscos proporcionais passa a ser

$$\lambda(t) = z\lambda_0(t)g(x^\top\beta).$$

Assume-se que os valores das fragilidades são uma amostra independente da variável aleatória Z com distribuição de probabilidade conhecida de média 1 e variância desconhecida (Kosorok et al., 2004; Gorfine et al., 2006). Para estimar a variância do efeito aleatório é necessário escolher uma distribuição estatística para a variável aleatória Z .

2.3 Aspectos gerais na cultura do pessegueiro

O pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch) é uma frutífera de origem asiática, adaptada a áreas temperadas e subtropicais. Em 2009, a produção mundial de pêssegos e nectarinas foi de aproximadamente 19 milhões de toneladas, sendo os principais produtores a China, a Itália, os EUA e a Espanha. O Brasil ocupa a 14^a posição mundial, com uma produção anual próxima a 220 mil toneladas. Entre os países da América do Sul, o Brasil é superado pelo Chile e Argentina com produções aproximadas de 357 e 318 mil t ano⁻¹, respectivamente (FAO, 2012).

A área de pessegueiro no Brasil é superior a 20.000 ha, com produção em torno de 220.700 t ano⁻¹ o que leva à produtividade média de 11 t ha⁻¹. A região Sul do país é responsável por cerca de 73% da quantidade produzida, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor nacional (60,2%), seguido pelo Paraná (6,7%) e por Santa Catarina (6,1%). A produtividade nestes estados é de 8,9 t ha⁻¹, 10,2 t ha⁻¹ e 12,4 t ha⁻¹ para Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, respectivamente, bem abaixo daquelas obtidas nos pomares de Minas Gerais (22,1 t ha⁻¹) e São Paulo (21,0 t ha⁻¹) (IBGE, 2010).

Nos estados da região Sul, a baixa produtividade é devida à falta de tecnificação das propriedades, com problemas na adubação, nos tratamentos culturais e, principalmente, no manejo fitossanitário dos pomares (Fachinello et al., 2009). No Paraná, a ferrugem do pessegueiro que causa danos principalmente nas folhas, a queima das flores e a podridão parda nos frutos estão entre os maiores problemas fitossanitários da cultura (May De Mio et al., 2004).

Diante disso, esforços em pesquisa devem ser empregados para o conhecimento

detalhado das epidemias destas doenças e com isso contribuir para melhorar a eficiência das práticas de manejo adotadas nesta cultura.

2.3.1 Ferrugem do pessegueiro

A ferrugem do pessegueiro, causada pelo fungo *Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel & Litv., é considerada a doença foliar mais importante da cultura em regiões subtropicais. Essa doença tem sido observada com maior frequência nos pomares da região metropolitana de Curitiba, devido às temperaturas amenas e alta umidade relativa (Alves e May-De Mio, 2008; Kowata et al., 2011). A sintomatologia da doença começa com manchas verde-amareladas em ambas faces da folha, formando lesões angulares e irregulares que, após iniciada a colonização, se tornam amarelo brilhante na face superior. Com o desenvolvimento do patógeno forma-se uma massa pulverulenta na face inferior da folha pela presença dos uredinósporos (Goldsworthy e Smith, 1931).

Infecções em folhas e cancos nos ramos são os sintomas mais comuns em pessegueiros no Brasil, embora na Califórnia, EUA, infecções nos frutos também são observadas, caracterizando componente da doença que resulta em perda econômica direta (Adaskaveg et al., 2000; Soto-Estrada e Adaskaveg, 2004). Um importante dano causado pela ferrugem é a queda precoce das folhas infectadas que pode estimular, antecipadamente, a floração e brotação e reduzir a produtividade do pomar na safra seguinte (Soto-Estrada e Adaskaveg, 2004). No trabalho de Alves e May De Mio (2008), a desfolha precoce causada por ferrugem em pessegueiros da cultivar Chimarrita causou o prolongamento do período de floração e diminuiu a produtividade, sendo que no tratamento com maior controle da ferrugem a produtividade foi 45% superior à testemunha sem controle. Este fato pode ser explicado pelo trabalho de Alves et al. (2008) que observaram correlação negativa entre concentração de carboidratos nos ramos e desfolha e evidenciaram a importância do controle químico da doença para reduzir a intensidade da ferrugem após a colheita dos frutos. Variações nos valores de incidência e severidade entre as safras podem estar relacionadas com a época de início da epidemia (Alves et al., 2008) que ocorre em função da quantidade de inóculo inicial presente nos ramos (Soto-Estrada et al., 2005).

Atualmente, as pesquisas no Brasil buscam cultivares tolerantes e práticas de manejo como forma de reduzir a intensidade da ferrugem. Nos últimos anos, isto pode ser observado nos trabalhos de Carvalho et al. (2002), Citadin et al. (2005), Rodrigues et al. (2008), Assmann et al. (2010), Citadin et al. (2010), Alves et al. (2011), Alves (2012), Dolinski (2012) e Alves et al. (2013).

2.3.2 Podridão parda

A queima das flores e a podridão parda são causadas pelo fungo *Monilinia fructicola* (Wint) Honey. Este fungo causa danos em flores, ramos e frutos em pré e pós-colheita, o que torna os períodos de floração e maturação dos frutos as fases de maior susceptibilidade da cultura. Na infecção das flores pode ocorrer necrose das anteras, ovário e pedúnculo e até a sua morte. As flores mortas tornam-se marrons, podendo exibir esporulação do fungo e permanecerem fixas ao ramo por uma goma exsudada. A partir deste ponto, o fungo pode penetrar no ramo e causar cancos que levam à murcha e morte da parte terminal do ramo com intensa esporulação do fungo (Byrde e Willetts, 1977; May De Mio et al., 2004).

Nos frutos em amadurecimento, inicialmente são observadas pequenas lesões pardas que evoluem para extensas manchas marrons cobertas pela esporulação do fungo, principalmente na fase de maturação dos frutos. Em seguida, os frutos começam a desidratar, tornam-se mumificados, permanecendo na planta ou no solo (Moreira, 2005). Villarino et al. (2012) verificaram a existência de correlação positiva para incidência de podridão parda em pêssegos entre o dia da colheita e sete dias após. Neste mesmo estudo, 72% de incidência de podridão parda em pós-colheita foi devida à incidência na colheita e uma perda total dos frutos quando a incidência na colheita chegou a 30%.

O controle da doença é feito, basicamente, eliminando-se fontes de inóculo e com aplicações de produtos químicos (May De Mio et al., 2004). Entretanto, novas formas de controle têm sido buscadas visando o uso racional de produtos químicos ou até mesmo eliminando o seu uso. Neste sentido, Blood et al. (2007) avaliaram a eficiência de ingredientes ativos ainda não recomendados para a cultura, comparando sua eficiência com o fungicida mancozebe, liberado para o controle da doença. O efeito de aplicações de fungicidas de diferentes grupos químicos associados ou não com fosfitos de K, além de controladores biológicos como os fungos *Trichothecium roseum* e *Penicillium sp.* foram avaliados no trabalho de Moreira et al. (2008). Keske et al. (2010) verificaram o efeito de cultivares e da posição do ramo na planta em relação às linhas de plantio sobre a incidência de podridão parda latente em frutos verdes e na colheita, além da dinâmica do inóculo em pomar sob sistema orgânico. A susceptibilidade de 11 cultivares à queima das flores e à podridão parda em frutos verdes, na colheita e em pós-colheita, foi avaliada em sistema de produção integrada no trabalho de Alves (2012).

Resultados relevantes com este patossistema também podem ser encontrados nos

trabalhos de May De Mio et al. (2011), Negri et al. (2011), Kowata et al. (2011), Dolinski (2012) e Keske et al. (2013).

2.3.3 Curvas de progresso nas doenças do pessegueiro

A seguir serão abordados alguns trabalhos que utilizaram modelagem e curvas de progresso de doenças para compreensão dos patossistemas da ferrugem, da queima das flores e da podridão parda em pessegueiros, destacando-se os aspectos relacionados à modelagem dos dados.

Para ferrugem do pessegueiro, Martins e Amorim (1999) avaliaram o progresso da frequência de infecção por ferrugem (pústulas cm^{-2}) em função do tempo após a inoculação com urediniósporos em mudas de pessegueiro de duas cultivares com diferentes períodos de molhamento foliar. Em outro trabalho, Martins e Amorim (2000) utilizaram curvas de progresso da doença para avaliar o progresso da ferrugem (pústulas cm^{-2}) em função do tempo após inoculação cruzada com urediniósporos de *T. discolor* coletados de folhas de pessegueiro, nectarineira e ameixeira. Nos dois estudos, ajustou-se aos dados o modelo não linear de Gompertz, estimando-se taxa de infecção e frequência de infecção final.

Carvalho et al. (2002) avaliaram o progresso da severidade da ferrugem do pessegueiro em plantas sem tratamento químico. Aos dados do percentual de área foliar lesionada (severidade) ajustou-se um modelo linear quadrático com o qual foi estimado o momento no tempo de máxima severidade. Furman et al. (2003) relacionaram o progresso temporal da ferrugem com diferentes estágios de crescimento do fruto. Avaliou-se o progresso da severidade (número de lesões por fruto) e da incidência (proporção de frutos infectados) em diferentes fases fenológicas de duas cultivares de pessegueiro por três safras, além do progresso da incidência em função do peso do fruto. Em todos os casos, ajustou-se o modelo logístico para estimar parâmetros relacionados a inóculo inicial, taxa de progresso e quantidade final da doença.

Soto-Estrada e Adaskaveg (2004) estudaram o progresso temporal da incidência de lesões nos ramos de pessegueiros e a porcentagem de germinação de urediniósporos de *T. discolor*. Aos dados de incidência ajustou-se um modelo linear quadrático para estimar o momento de incidência máxima. Para comparar o progresso temporal das lesões nas folhas, em diferentes locais e cultivares, os autores ajustaram aos dados formas linearizadas dos modelos logístico e monomolecular.

O progresso temporal da incidência e da severidade da ferrugem do pessegueiro em duas safras foi descrito por Alves et al. (2008). Para comparar as epidemias e relacionar a intensidade da doença com desfolha, os autores calcularam a área abaixo da curva de progresso da doença. Após poda verde como estratégia para controle da ferrugem, Rodrigues et al. (2008) utilizaram curvas de progresso do percentual de folhas lesionadas (incidência) e do percentual de área foliar lesionada (severidade) da doença entre 33 e 81 dias após a poda verde. Tanto para incidência quanto para severidade, ajustou-se o modelo linear quadrático para estimar os valores finais de incidência e severidade.

Em Horsfield e Wicks (2010), o declínio da viabilidade de urediniósporos de *T. discolor* em folhas de amendoeiras foi expresso por curvas de progresso para comparar áreas geográficas de origem e local de permanência das folhas (na planta, no solo ou em laboratório) após a colheita dos frutos. A comparação de locais foi feita utilizando-se análise de variância sobre o percentual de germinação de urediniósporos em cada uma de cinco datas de avaliação.

Assmann et al. (2010) avaliaram o progresso temporal da incidência, da severidade e da desfolha causada por ferrugem em cultivares de pessegueiro agrupadas de acordo com o nível de sensibilidade dos genótipos. A incidência e severidade nos genótipos foram comparadas por análise de variância em cada uma das avaliações. Aos dados de desfolha, em quatro avaliações, ajustou-se o modelo linear quadrático, sem realizar inferências a partir das estimativas dos parâmetros. Para comparação dos fungicidas de três grupos químicos, Alves et al. (2011) empregaram análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da incidência e da severidade e ajustaram o modelo logístico aos dados de incidência no tratamento testemunha, estimando-se inóculo inicial e taxa de progresso da doença.

Os trabalhos citados a seguir utilizaram curvas de progresso da doença e modelagem estatística no estudo de doenças causadas por *Monilinia fructicola* em pessegueiros.

Souza et al. (1999) avaliaram o progresso temporal da área lesionada por podridão parda em pêssegos inoculados com e sem ferimentos e tratados com água destilada ou com cloreto de cálcio. Moreira e May De Mio (2006) avaliaram o progresso temporal da incidência de lesões de podridão parda em frutos com ferimentos e tratados com ingredientes químicos e agentes biológicos. O efeito de tratamentos com fungicidas na incidência de podridão parda em frutos (colheita e pós-colheita) foi avaliado aos 10, 13 e 16 dias após as aplicações dos fungicidas no trabalho de Blood et al. (2007). Basseto et al. (2007) avaliaram o progresso dos diâmetros das colônias de *M. fructicola* em função do tempo (dias) após exposição a diferentes doses de luz UV-C, além de incidência e severidade de podridão parda em pêssegos inoculados com *M. fructicola* e submetidos a diferentes

tempos de exposição à luz UV-C. Nestes trabalhos, fez-se a comparação dos tratamentos utilizando-se análise de variância.

O progresso temporal da incidência de podridões em pós-colheita de pêssegos foi avaliado diariamente (por nove dias) em sete tratamentos físicos e químicos por Sestari et al. (2008). Os tratamentos foram comparados por análise de variância realizada a cada dia. No trabalho de Carvalho et al. (2009), a incidência e severidade da podridão parda em pêssegos foi comparada entre produtos alternativos e convencionais para o controle da podridão por análise de variância aplicada nas avaliações aos três e cinco dias após a colheita.

Moreira et al. (2008) avaliaram o progresso da incidência de podridão parda entre colheita até cinco dias na pós-colheita. Keske et al. (2010) avaliaram o progresso temporal da podridão parda em fruto verde e na colheita em diferentes cultivares. Vilarino et al. (2010) relacionaram incidência de infecção latente, número de conídios de *M. fructicola* no ar e nos frutos com o tempo e calcularam as respectivas áreas abaixo da curva de progresso para relacionar com outras variáveis. O número de conídios m^{-3} do ar em função do tempo e a incidência de infecções latentes foram avaliados em flores e frutos de diferentes cultivares de pessegueiro e safras no trabalho de Vilarino et al. (2012).

Nos trabalhos com ferrugem, em geral observa-se o ajuste de modelos não lineares, formas linearizadas destes modelos e/ou modelos polinomiais. Nos trabalhos com podridão parda, uma característica comum é a utilização de análise de variância para comparar epidemias em avaliações pontuais no tempo. Frente a isto, observa-se que há um padrão na relação entre técnica de análise e fenômeno estudado, deixando-se talvez, de se aplicar técnicas de modelagem estatística mais adequadas ao estudo do fenômeno, principalmente nos trabalhos com podridão parda.

REFERÊNCIAS

Adaskaveg, J.E.; Soto-Estrada, A.; Forster, H.; Thompson, D.; Hasey, J.; Manji, B.T.; Teviotdale, B. **Peach rust caused by *Tranzschelia discolor* in California**. 9p. University of California: Oakland, CA. 2000.

Alves, G. **Características fitotécnicas e comportamento de cultivares de pessegueiro em relação à podridão parda e à ferrugem na Lapa/PR**. 105f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

Alves, G.; Spolti, P.; Nesi, C.N.; Del Ponte, E.M.; May-De Mio, L.L. Susceptibility levels and grouping of peach cultivars in relation to peach rust under field conditions. **Acta Scientiarum Agronomy**. no prelo. 2013.

Alves, G.; Ferreira, G.M.; May-De Mio, L.L. Temporal progress of peach rust and fungicides to control the foliar diseases of peach tree. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33(n.spe1): 436-440, 2011.

Alves, G.; May-De Mio L.L. Effect of leaf fall caused by rust on peach tree flowering and yield. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30:907-912, 2008.

Alves, G.; May-De Mio L.L.; Zanette, F.; Oliveira, M.C. Peach rust and its effect on the defoliation and carbohydrate concentration in branches and buds. **Tropical Plant Pathology**, 33:370-376, 2008.

Assmann, A.P.; Citadin, I.; Santos, I.; Wagner Junior, A. Peach genotype reaction to leaf rust. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 45:32-40, 2010.

Azzalini, A. **Statistical Inference - Based on the likelihood**. London: Chapman & Hall, 341p, 1996.

Bassetto, E.; Amorim, L.; Benato, E.A.; Gonçalves, F.P.; Lourenço, S.A. Efeito da Irradiação UV-C no Controle da Podridão Parda (*Monilinia fructicola*) e da Podridão Mole (*Rhizopus stolonifer*) em Pós-Colheita de Pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, 32(5): 393-399, 2007.

Bates, D.M.; Watts, D.G. Relative curvature measures of nonlinearity. **Journal of The**

Royal Statistical Society, Serie B, Methodological, 42(1): 1-25, 1980.

Bergamin Filho, A. Curvas de progresso da doença. In: Amorim, L.; Rezende, J.A.M; Bergamin Filho, A. **Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos (Vol. I)**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 2011, p.647-666.

Bergamin Filho, A.; Amorim, L. Epidemiologia comparativa entre os patossistemas temperado e tropical: conseqüências para a resistência a fungicidas. **Fitopatologia Brasileira** 26:119-127, 2001.

Bewick, V.; Cheek, L.; Ball, J. Statistics review 12: Survival analysis. **Critical Care** 8(5):389-394, 2004.

Blood, R.R.Y.; Roveda, L.F.; May De Mio, L.L.; Moreira, L.M. Eficiência da aplicação de clorotalonil, tiofanato metílico e tetraconazole no controle de podridão parda em pessegueiro. **Scientia Agraria**, 8(4): 455-458, 2007.

Bonat, W.H.; Krainski, E.T.; Ribeiro Junior, P.J.; Zeviani, W.M. **Minicurso: Métodos computacionais para inferência com aplicações em R**. João Pessoa, ABE: 20° Simpósio Nacional de Probabilidade e Estatística. 260p, 2012.

Byrde, R.J.; Willetts, H.J. **The brown rot fungi of fruit - their biology and control**. Oxford: Pergamon, 1977.

Carvalho, M.S.; Andreozzi, V.L.; Codeço, C.T.; Campos, D.P.; Barbosa, M.T.S.; Shimakura, S.E. **Análise de Sobrevivência: teoria e aplicações em saúde**, 2^a.Ed. Rio de Janeiro RJ. FIOCRUZ, 432p, 2011.

Carvalho, V.L.; Cunha, R.L.; Chalfun, N.N.J.; Moura, P.H.A. Alternativas de controle pós-colheita da podridão-parda e da podridão-mole em frutos de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 31(1):78-83, 2009.

Carvalho, V.L.; Gonçalves-Gervásio, R.C.R.; Santa-Cecília, L.V.C.; Kato, C.M.; Foureaux, L.V.; Campelo, M.G. Peach rust [*Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel & Litvinov] control alternatives. **Ciência e Agrotecnologia**, 26:227-231, 2002.

Citadin, I.; Bertuol, O.; Bassani, M.H.; Sousa, R.N.; Pinotti, L.C.A.; Soletti, T. Peach leaf rust control with diferent fungicide sprays. **Revista Brasileira de Fruticultura**,

27:317-319, 2005.

Citadin, I.; Mazaro, S.M.; Danner, M.A.; Raseira, M.C.B.; Malagi, G. Variability in leaf rust susceptibility among peach cultivars. **Revista Ceres**, 57:185-193, 2010.

Colosimo, E.A.; Giolo, S.R. **Análise de sobrevivência aplicada**. Editora Edgard Blücher, São Paulo, 2006.

Cordeiro, G.M.; Prudente, A.A.; Demétrio, C.G.B. Uma revisão dos modelos normais não lineares. **Revista Brasileira de Biometria**, 27(3): 360-393, 2009.

Cox, D.R. Regression models and life tables (with discussion). **Journal Royal Statistical Society**, 34:187-220, 1972.

Dobson, A.J. **An introduction to generalized linear models**. London: Chapman & Hall, 380p, 2002.

Dolinski, M.A. **Produtividade, crescimento vegetativo, doenças e qualidade pós-colheita de pessegueiro adensado com manejos de adubação nitrogenada e poda verde**. 125f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

Draper, N.R.; Smith, H. **Applied Regression Analysis**. New York: John Wiley & Sons, 407p, 1966.

Fachinello, J.C.; May De Mio, L.L.; Rangel, A. **Produção Integrada de pêssego**. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO E SECRETARIA DE DESENVOLVIMENTO AGROPECUÁRIO E COOPERATIVISMO. **Produção Integrada no Brasil: agropecuária sustentável alimentos seguros**. 1.ed. Brasília: MAPA/ACS, p.779-810, 2009.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>> Acesso em: 10 jul. 2012.

Fox, J.; Weisberg, S. **Nonlinear Regression and Nonlinear Least Squares in R - An Appendix to An R Companion to Applied Regression**, 2nd. ed. Thousand Oaks, CA: Sage, 2010.

Fox, J.; Weisberg, S. **Cox Proporcional-Hazards regression for survival data in R - An R Companion to Applied Regression**, 2nd. ed. Thousand Oaks, CA: Sage, 2011.

Furman, L.A.; Lalancette, N.; White Jr., J.F. Peach rusty spot epidemics: temporal analysis and relationship to fruit growth. **Plant Disease**, 87(12):366-374, 2003.

Garrett, L.; Madden, L.V.; Hughes, G.; Pfender, W.F. New applications of statistical tools in plant pathology. **Phytopathology**, 94(9):999-1003, 2004.

Goldsworthy, M.C.; Smith, R.E. Studies on rust of clingstone peaches in California. **Phytopathology**, 21:133-168, 1931.

Horsfield, A.; Wicks, T. Sources of primary inoculum of *Tranzschelia discolor*. **Australian Plant Pathology**, 39:350-357, 2010.

Kaplan, E.L.; Meier, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, 53(282):457-481, 1958.

Keske, C.; Amorim, L.; Biasi, L.A.; May De Mio, L.L. Queima das flores e podridão parda em pessegueiro sob sistema de cultivo orgânico. **Ciência Rural**, 40(8):1682-1688, 2010.

Keske, C.; May De Mio, L.L.; Amorim, L. Spatial pattern of brown rot within peach trees related to inoculum of *Monilinia fructicola* in organic orchard. **Journal of plant pathology**, 95(1):65-71, 2013.

Kowata, L.S. **Avaliação da produção integrada de pêssegos no Paraná e do progresso da ferrugem em diferentes sistemas de manejo**. 90 f., Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

Kowata, L.S.; Amorim, L.; Fachinello, J.C.; May De Mio, L.L. Implementação do sistema de produção integrada de pêssegos no Paraná. **Bragantia**, 70(2):325-333, 2011.

Madden, L.V. Quantification of disease progression. **Protection Ecology**, 2:159-176, 1980.

Madden, L.V.; Hughes, G. Plant disease incidence: distributions, heterogeneity and temporal analysis. **Annual Review of Phytopathology**, 33:529-564, 1995.

Madden, L.V. Botanical epidemiology: some key advances and its continuing role in disease management. **European Journal of Plant Pathology**, 115:3-23, 2006.

Madden, L.V.; Hughes, G.; Bosh F.V.D. **The study of plant disease epidemics**. Minnesota: The American Phytopathological Society, 421p, 2007.

Martins, M.C.; Amorim, L. Effect of leaf wetness periods on the monocyclic components of peach rust. **Fitopatologia Brasileira**, 24:552-555, 1999.

Martins, M.C.; Amorim, L. Caracterização morfológica e especialização patogênica de *Tranzschelia discolor* em diferentes espécies de Prunus. **Fitopatologia Brasileira**, 25:79-83, 2000.

May De Mio, L.L.; Cuquel, F.L.; Monteiro, L.B.; Motta, A.C.V.; Monte Serrat, B. Produtividade, incidência de podridão parda e danos causados por pragas em pêssego cultivado sob produção integrada. **Revista Brasileira de Fruticultura**, E:424-428, 2011.

May De Mio, L.L.; Garrido, L.; Bueno, B. Doenças de fruteiras de caroço. In: Monteiro, L.B.; May De Mio, L.L.; Monte Serrat, B.; Cuquel, F.L. (eds). **Fruteiras de caroço: uma visão ecológica**. 1. ed. Curitiba: UFPR, p.169-222, 2004.

McGilchrist, C.A.; Aisbett, C.W. Regression with frailty in survival analysis. **Biometrics**, 47:461-466, 1991

McCulloch, C.E.; Searle, S.R. **Generalized, Linear and Mixed Models**. New York: John Wiley & Sons, 325p, 2001.

Moreira, L.M. **Alternativas de controle integrado da podridão parda do pessegueiro**. 130f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

Moreira, L.M.; May De Mio, L.L. Efeito de fungos antagonistas e produtos químicos no controle da podridão parda em pomares de pessegueiro. **Revista Floresta**, 36(2):287-

293, 2006.

Moreira, L.M.; May De Mio, L.L.; Valdebenito-Sanhueza, R.M. Fungos antagonistas e efeito de produtos químicos no controle da podridão parda em pomar de pessegueiro. **Summa Phytopathologica**, 34(3):272-276, 2008.

Negri, G.; Biasi, L.A.; Wordell Filho, J.A.; May De Mio, L.L. Manejo da queima das flores e da podridão-parda do pessegueiro cultivado em sistema orgânico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, E:415-423, 2011.

Pawitan, I. **In all likelihood: statistical modelling and inference using likelihood**. 1ª Ed. New York, Oxford University Press, 2001.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal - Culturas Temporárias e Permanentes**. Rio de Janeiro: IBGE, 37: 89p, 2010.

Ratkowsky, D.A. **Nonlinear regression modeling**, New York: M. Dekker, 1993.

Ritz, C.; Streibig, J.C. **Nonlinear Regression with R**. Copenhagen: Springer, 144p, 2008.

Rodrigues, A.; Scarpate Filho, J.A.; Araújo, J.P.C.; Girardi, E.A.; Scarpar, F.V. Rust *Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel and Litvinov control by green pruning in peach. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30:634-638, 2008.

Schabenberger, O.; Pierce, F.J. **Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences**. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 2002.

Scherm, H.; Ngugi, H.K.; Ojiambo, P.S. Applications of survival analysis in botanical epidemiology. **Phytopathology**, 94:1022-1026, 2004.

Seber, G.A.F.; Wild, C.J. **Nonlinear regression**, New York: J. Wiley, 752p, 2003.

Sestari, I.; Giehl, R.F.H.; Pinto, J.A.V.; Brackmann, A. Condições de atmosfera controlada para pêssegos 'Maciel' colhidos em dois estádios de maturação. **Ciência Rural**, 38:1240-1245, 2008.

Soto-Estrada, A.; Adaskaveg, J.E. Temporal and quantitative analyses of stem lesion development and foliar disease progression of peach rust in California. **Phytopathology**, 94:52-60, 2004.

Soto-Estrada, A.; Forster, H.; Demanson, D.A.; Adaskaveg, J.E. Initial infection and colonization of leaves and stems of cling peach by *Tranzschelia discolor*. **Phytopathology**, 95:943-950, 2005.

Souza, A.L.B.; Chitarra, M.I.F.C.; Chitarra, A.B.; Machado, J.C. Resistência pós-colheita de pêssego (*Prunus persica* cv. Buriti) a *Monilinia fructicola*: Indução de respostas bioquímicas pela aplicação de CaCl₂ no local da injúria. **Ciência e Agrotecnologia**, 23(4):864-874, 1999.

Tjørve, E.; Tjørve, K.M.C. A unified approach to the Richards-model family for use in growth analyses: why we need only two model forms. **Journal of Theoretical Biology**, 267: 417-425, 2010.

Van Der Plank, J.E. **Plant Diseases: Epidemics and Control**, Academic Press, NY, 349p, 1963.

Villarino, M.; Melgarejo, P.; Usall, J.; Segarra, J.; De Cal, A. Primary inoculum sources of *Monilinia* spp. in Spanish peach orchards and their relative importance in brown rot. **Plant Disease**, 94:1048-1054, 2010.

Villarino, M.; Melgarejo, P.; Usall, J.; Segarra, J.; Lamarca, N.; De Cal, A. Secondary inoculum dynamics of *Monilinia* spp. and relationship to the incidence of postharvest brown rot in peaches and the weather conditions during the growing season. **European Journal of Plant Pathology**, 133:585-598, 2012.

3 CAPÍTULO I - INFERÊNCIAS COM O MODELO LOGÍSTICO SOB DIFERENTES PARAMETRIZAÇÕES

RESUMO

O modelo logístico geralmente é utilizado para caracterizar o progresso temporal de uma epidemia. Com reparametrizações, a sua expressão pode ser escrita de forma que os parâmetros tenham interpretações convenientes. Entretanto, as propriedades estatísticas de modelos não lineares, seu comportamento numérico e a validade das inferências dependem da aproximação linear dos modelos e são afetadas pela parametrização. Neste trabalho, avaliou-se a relação entre a condução de inferências e o comportamento não linear de quatro parametrizações do modelo logístico. Utilizaram-se dados do progresso temporal da incidência de ferrugem do pessegueiro nas cultivares Chimarrita e Chiripá (seis repetições) em 14 avaliações quinzenais. Avaliaram-se as parametrizações $y = \alpha_1/(1 + \exp(\alpha_2 - x)/\alpha_3)$ (I); $y = \beta_1/(1 + \beta_2 \exp(\beta_3 x))$ (II); $y = 1/(\gamma_1 + \exp(\gamma_2 + \gamma_3 x))$ (III); $y = \delta_1/(1 + (-1 + 1/\delta_2) \exp(-\delta_3 x))$ (IV), em que y : incidência estimada; x : dias após o início das avaliações; $\alpha_1, \beta_1, \gamma_1, \delta_1$: assíntota superior fixada em 1 (100% das folhas com sintomas); $\alpha_2, \beta_2, \gamma_2, \delta_2$: parâmetros relacionados ao intercepto e ao ponto de inflexão; $\alpha_3, \beta_3, \gamma_3, \delta_3$: parâmetros relacionados à taxa de incremento. Calcularam-se medidas de não linearidade intrínseca (NLI) e devida ao efeito de parâmetros (NLP). Avaliou-se o viés das estimativas calculando-se o vício de Box. Após o ajuste do modelo nas quatro parametrizações, construíram-se as superfícies de log-verossimilhança baseadas na deviance, as respectivas aproximações quadráticas e os perfis de verossimilhança para as estimativas dos parâmetros 2 e 3. As parametrizações I e III para as duas cultivares apresentaram, proporcionalmente às estimativas dos parâmetros, os menores erros padrões para os dois parâmetros. Em II e IV os erros padrões de β_2 e δ_2 são maiores que o valor das estimativas na cultivar Chiripá. A não linearidade intrínseca foi não significativa para as parametrizações nas duas cultivares. As medidas de NLP são significativas nas parametrizações II e IV com viés dos parâmetros β_2 e δ_2 acima do aceitável, caracterizando-os como responsáveis pelo afastamento da linearidade. Os contornos da deviance são praticamente elípticos na parametrização I, com eixos paralelos aos eixos cartesianos. A parametrização III, em comparação a I, apresentou rotação dos eixos do contorno com inclinação negativa e leve assimetria dos contornos. As parametrizações II e IV apresentaram forte desvio da forma elíptica e II parecem ser mais suscetíveis a problemas numéricos pois apresentam assimetria mais acentuadas, principalmente na cultivar Chiripá. Nos perfis de verossimilhança, observa-se assimetria acentuada nos parâmetros β_2 e γ_2 o que corrobora os resultados até então apresentados. Com as expressões que relacionam as parametrizações entre si, pode-se ajustar o modelo aos dados com a parametrização adequada e a partir dela calcular as estimativas em parametrizações de

interesse. Com contornos de verossimilhança elípticos e os parâmetros pelo menos aproximadamente ortogonais (como na parametrização I), as estimativas pontuais e intervalares do modelo em uma parametrização podem levar aos seus equivalentes em outra pelo princípio da invariância do estimador.

Palavras-chave: Progresso temporal. Não-linearidade. Viés. Verossimilhança.

INFERENCES USING A LOGISTIC MODEL UNDER DIFFERENT PARAMETERIZATIONS

ABSTRACT

The logistic model is generally used to characterize the temporal progress of an epidemic. Varying the parameters, its formula can be written such that the parameters gain themselves convenient interpretations. In the meantime, statistical properties of nonlinear models, their numeric behavior and validity of inferences depend on linear approximation of the model and are influenced by parametrization. In this chapter, the relation between conduction of inferences and nonlinear behavior of the logistic model parametrized in four different ways was evaluated. Data of peach rust temporal progress incidence on cultivars Chimarrita and Chiripá were used (six repetitions) during 14 evaluations every fifteen days. The parameters were evaluated as follows : $y = \alpha_1/(1 + \exp(\alpha_2 - x)/\alpha_3)$ (I); $y = \beta_1/(1 + \beta_2 \exp(\beta_3 x))$ (II); $y = 1/(\gamma_1 + \exp(\gamma_2 + \gamma_3 x))$ (III); $y = \delta_1/(1 + (-1 + 1/\delta_2) \exp(-\delta_3 x))$ (IV), where y : estimated incidence, x : days after the start of the assessments; $\alpha_1, \beta_1, \gamma_1, \delta_1$: upper asymptote fixed at 1 (100 % of the leaves with symptoms); $\alpha_2, \beta_2, \gamma_2, \delta_2$: parameters related to the intercept and the inflection point; $\alpha_3, \beta_3, \gamma_3, \delta_3$: parameters related to the rate of increase. Measures of intrinsic nonlinearity (INL) and parametric nonlinearity (PNL) were calculated. Bias of the estimations was evaluated calculating the bias of Box. After adjusting the model in four different sets of parameters, the log-likelihood surfaces based on deviance were constructed. The respective quadratic approximations and the likelihood profiles for the estimations of parameters 2 and 3 were defined too. The set of parameters II and III for the two cultivars presented, proportionally to the estimation of parameters, the lowest default errors for the two parameters. In II and IV the default errors of β_2 and δ_2 estimates are higher than the estimates for the cultivar Chiripá. The IN was not significant for the parametrizations in the two cultivars. The measures of PNL are significant in parametrizations II and IV with bias above the tolerance for the parameters β_2 and δ_2 thus characterizing them as responsible for deviation from linearity. The deviance contours are substantially elliptical for parametrization I, with axes parallel to the Cartesian axes. Parametrization III, compared to I, presented contour axes rotation with negative inclination and slight contour asymmetry. Parametrizations II and IV presented huge deviations from elliptical shape and II seemed to be more sensible to numerical problems since they showed a more intense asymmetry, mainly in Chiripá cultivar. In the likelihood profiles, a clear asymmetry observed in β_2 and γ_2 parameters, which confirms the results so far presented. With parametrizations interacting formulas, it is possible to adjust model to data with the adequate parametrization and, from there, calculate the estimations of the parametrization of interest. With elliptical likelihood contours and almost orthogonal

parameters (like in parametrization I), the model punctual and interval estimations in one parametrization can lead to its equivalents in another, due to the principle of invariance of the estimator.

Key words: Temporal progress. Non-linearity. Bias. Likelihood.

3.1 INTRODUÇÃO

A curva de progresso da doença, usualmente expressa plotando-se a porção da doença em função do tempo é a primeira e importante forma de representação de uma epidemia de doenças em plantas (Van Der Plank, 1963). Nestas curvas, o início da epidemia, a quantidade de inóculo inicial, a taxa de aumento da doença, a forma da curva, as quantidades máxima e final da doença e a duração da epidemia, entre outros, podem ser caracterizados (Bergamin Filho, 2011).

Modelos que descrevem curvas de progresso de doenças fazem parte da classe de modelos denominados não lineares, expressos como $y_i = g(x_i, \theta) + \varepsilon_i$, ($i = 1, 2, \dots, n$) em que x_i é um vetor conhecido de variáveis explanatórias associadas com a i -ésima resposta observável y_i , θ é um vetor de parâmetros desconhecidos e a função g é não linear nos parâmetros e assume-se conhecida e diferenciável em θ . Usualmente assume-se que os erros ε_i são independentes, identicamente e normalmente distribuídos com média zero e variância constante (Seber e Wild, 2003). A principal característica dos modelos não lineares é que a parte fixa $g(x_i, \theta)$ geralmente decorre de um processo determinístico deduzido a partir de situações teóricas sendo que os parâmetros podem ser interpretáveis (Cordeiro et al., 2009).

Por razões biológicas, muitas curvas de progresso da doença têm formato sigmóide, principalmente doenças consideradas policíclicas, ou seja, aquelas em que ocorrem múltiplos ciclos de infecção durante uma mesma epidemia (Van Der Plank, 1963; Madden et al., 2007). Numerosas funções matemáticas foram propostas para descrever estas curvas, destacando-se a logística que é amplamente utilizada em biologia de populações e especialmente em patologia de plantas. Devido à ampla aplicação do modelo logístico em epidemiologia (Madden et al., 2007), utilizando-se de reparametrizações adequadas a expressão desse modelo pode ser escrita de forma que os parâmetros tenham sentido biológico o que resulta em interpretações mais convenientes (Ratkowsky, 1993). Por outro lado, nem sempre o modelo é expresso numa forma paramétrica adequada, que facilite a convergência rápida dos processos iterativos utilizados na estimativa dos seus parâmetros, sendo necessário procurar uma parametrização mais apropriada (Cordeiro et al., 2009; Tjørve e Tjørve, 2010). Entretanto, as propriedades estatísticas de modelos não lineares, seu comportamento numérico no processo de estimação, além da validade de inferências assintóticas são funções da aproximação linear destes modelos o que é afetado, principalmente, pela parametrização adotada (Ratkowsky, 1993; Fox e Weisberg, 2010).

Em geral, a técnica usada para estimar os parâmetros em equações lineares ou não lineares é o método de mínimos quadrados ordinários que coincide com o método

de máxima verossimilhança nos casos em que o modelo tem resposta normal independente e variância constante (Seber e Wild, 2003; Cordeiro et al., 2009). O estimador de mínimos quadrados para parâmetros em modelos lineares são não viesados, normalmente distribuídos e de mínima variância. Quando estas pressuposições são satisfeitas, o critério de mínimos quadrados proporciona estimativas ótimas (Seber e Wild, 2003). Entretanto, para modelos não lineares as propriedades dos estimadores de mínimos quadrados são válidas apenas assintoticamente, ou seja, quando o tamanho da amostra aumenta para o infinito as propriedades do estimador aproximam-se das propriedades de mínimos quadrados para modelos lineares. Assim, percebe-se que todos os procedimentos inferenciais para modelos não lineares admitem suposição de adequada aproximação linear para fazerem uso de propriedades assintóticas.

Existem medidas para verificar se o grau de não linearidade de um modelo de regressão não linear é suficientemente pequeno para que as técnicas usuais de estimação, desenvolvidas para a regressão linear, sejam utilizadas como uma boa aproximação (Cordeiro et al., 2009). Bates e Watts (1980) desenvolveram medidas de não linearidade baseados no conceito geométrico de curvatura e mostraram que a não linearidade de um modelo pode ser devida à curvatura real do modelo (intrínseca), que é invariante à parametrização, e a não linearidade devida à forma como os parâmetros aparecem no modelo e pode ser modificada por meio de reparametrização. Pequenos valores para curvatura intrínseca e para curvatura devida ao efeito de parâmetros indicam boa aproximação linear (Cook e Witmer, 1985).

Assim, em modelos não lineares, quando se avalia se o modelo proposto proporciona uma boa descrição dos dados, a comparação do coeficiente de determinação e a análise de resíduos (Draper e Smith, 1998) podem ser insuficientes na seleção de modelos. Baixos valores de curvatura intrínseca e de curvatura devida ao efeito de parâmetros significam, respectivamente, menor viés nos valores preditos da resposta e maior validade dos testes estatísticos associados às estimativas dos parâmetros.

Trabalhos que utilizam medidas de curvatura para escolha de modelos e parametrizações adequadas são escassos na literatura, principalmente no que se refere a curvas de progresso de doenças de plantas. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a relação entre a condução de inferências e o comportamento não linear de quatro parametrizações do modelo logístico ajustados aos dados de progresso temporal da incidência da ferrugem do pessegueiro causada pelo fungo *Tranzschelia discolor*.

Neste trabalho serão avaliadas quatro parametrizações do modelo logístico e a interpretação dos respectivos parâmetros. Após o ajuste do modelo em cada parametrização, serão discutidas medidas de não linearidade e de vício das estimativas, além da visualização das superfícies e perfis de verossimilhança e respectivas aproximações quadráticas. A

relação entre as expressões em cada parametrização será abordada.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados neste trabalho foram obtidos de Alves (2012) e são provenientes de plantas das cultivares Chimarrita e Chiripá num pomar de pessegueiros implantado em 2004, localizado em Curitiba/PR (25° 55' 10" S, 49° 57' 26" W e altitude de 945 m), com plantas conduzidas no sistema 'Y' e espaçadas de 1 m entre plantas e 2,5 m entre linhas. Cada árvore foi considerada uma unidade experimental e de observação. Em cada lado da árvore voltado para as entrelinhas, foram marcados três ramos do ano (aproximadamente 35 cm de comprimento), totalizando seis repetições. Em cada ramo avaliou-se o número de folhas com sintomas de ferrugem do pessegueiro causada por *Tranzschelia discolor* em relação ao número total de folhas do ramo em 14 avaliações quinzenais no período entre 15/09/2008 e 26/02/2009.

Aos dados de incidência ajustou-se o modelo logístico nas parametrizações propostas por Ratkowsky (1993) e Madden et al. (2007):

$$y = \frac{\alpha_1}{1 + e^{-\frac{\alpha_2 - x}{\alpha_3}}} \quad (\text{I}),$$

$$y = \frac{\beta_1}{1 + \beta_2 e^{\beta_3 x}} \quad (\text{II}),$$

$$y = \frac{\gamma_1}{1 + e^{\gamma_2 + \gamma_3 x}} \quad (\text{III}),$$

$$y = \frac{\delta_1}{1 + (\frac{1}{\delta_2} - 1)e^{-\delta_3 x}} \quad (\text{IV}),$$

em que: α_1 , β_1 , γ_1 e δ_1 representam a assíntota máxima do modelo; α_2 é o valor do tempo para o qual a resposta é a metade da assíntota máxima, o que corresponde ao ponto de inflexão da curva; β_2 é um parâmetro relacionado ao tempo até a inflexão; γ_2 é um parâmetro relacionado à inclinação no ponto de inflexão; δ_2 é o valor de y para tempo zero ($t = 0$), o que corresponde a intersecção com o eixo x ; α_3 , β_3 , γ_3 e δ_3 são parâmetros relacionados à taxa de incremento da incidência. Neste estudo, a incidência atingiu todas as folhas nas últimas avaliações e, dessa forma, a assíntota máxima (α_1 , β_1 , γ_1 e δ_1) foi fixada em 1 em todas as parametrizações.

Os parâmetros foram estimados por mínimos quadrados, utilizando-se o procedimento iterativo de Gauss-Newton para obtenção das estimativas e demais estatísticas,

definido como padrão na função `nls` desenvolvida para ajuste de modelos não lineares no conjunto de funções básicas do programa R (R Development Core Team, 2011).

Os intervalos de confiança assintóticos com $100(1 - \alpha)\%$ de confiança para os parâmetros serão construídos pelos limites

$$\hat{\theta} \pm t_{\alpha/2} \times (\hat{\kappa}^{jj})^{1/2},$$

em que $\hat{\theta}$ é o vetor de estimativas dos parâmetros, $t_{\alpha/2}$ é o quantil $(1 - \alpha/2)$ de uma distribuição t de Student com $n - p$ graus de liberdade e $(\hat{\kappa}^{jj})$ é a estimativa do elemento (j, j) da estrutura de variância-covariância (Cordeiro et al., 2009).

As medidas de curvatura foram obtidas com a função `rms.curv()` disponível no pacote `MASS` (Venables e Ripley, 2002). Esta função tem como padrão decompor a não linearidade do modelo em intrínseca (NLI) e devida ao efeito de parâmetros (NLP), conforme proposto por Bates e Watts (1980). Os valores de curvatura foram comparados com o raio do disco de confiança $100(1 - \alpha)$, portanto, situações em que $NLI \times \sqrt{F} \leq 1/2$ e $NLP \times \sqrt{F} \leq 1/2$ com $F = F_{\alpha, p, n-p}$ (n = número de observações e p = número de parâmetros), indicam que a aproximação linear é razoável (Ratkowsky, 1993; Seber e Wild, 2003). Os valores de $NLI \times \sqrt{F} \leq 1/2$ e $NLP \times \sqrt{F} \leq 1/2$ são calculados diretamente pela função utilizada.

Uma ferramenta auxiliar no diagnóstico de não linearidade é o viés da estimativa, capaz de detectar componentes individuais do vetor de parâmetros que tenham comportamento excessivamente não linear (Seber e Wild, 2003; Cordeiro et al., 2009). A avaliação do viés dos estimadores foi realizada calculando-se uma estatística proposta por Box (1971) e denominada vício de Box expresso em relação à estimativa do parâmetro (VR%) e em relação ao erro padrão da estimativa (VRep%). O vício de Box foi obtido com função escrita por Zeviani (2009) e implementada em R. Vícios expressos como uma porcentagem da estimativa do parâmetro, em valor absoluto, são um indicador do comportamento não linear do modelo quando excedem 1% e indicam qual ou quais parâmetros são os maiores responsáveis pelo comportamento distante do linear (Box, 1971; Mazucheli e Achcar, 2002).

Após o ajuste do modelo nas quatro parametrizações, construíram-se as superfícies de log-verossimilhança em duas dimensões (dois parâmetros) baseadas na deviance e as respectivas aproximações quadráticas (Bonat et al., 2012). Os perfis de verossimilhança para as estimativas dos parâmetros 2 e 3, em cada parametrização, foram construídos utilizando-se a função `mle2` disponível no pacote `bbmle` (Bolker e R Development Core Team, 2012).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na FIGURA 3.1 observa-se o progresso temporal da incidência da ferrugem do pessegueiro nas cultivares Chimarrita e Chiripá. A cultivar Chiripá apresentou como característica retardar o início da doença em relação à Chimarrita o que resultou em incidência próxima a zero até os 50 dias para a cultivar Chiripá. Independente da parametrização adotada, os valores ajustados para a curva do modelo logístico são os mesmos nas diferentes parametrizações.

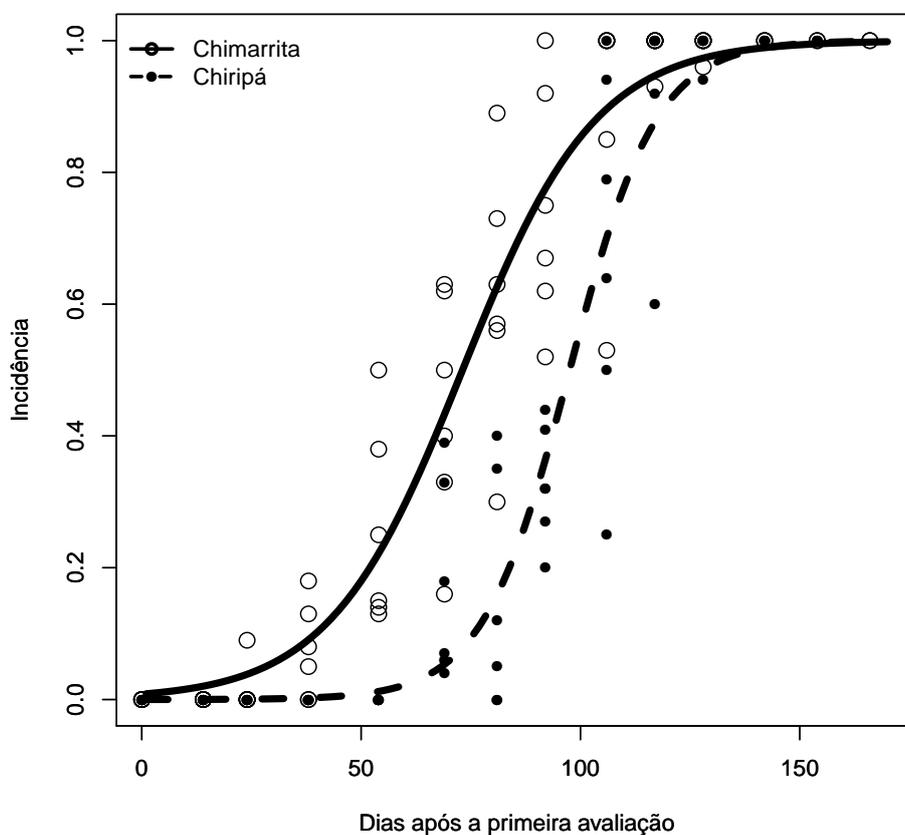


FIGURA 3.1 Valores observados (círculos) e curvas ajustadas (linhas) para o progresso temporal da incidência de ferrugem do pessegueiro causada por *Tranzschelia discolor* nas cultivares Chimarrita e Chiripá.

Nas duas cultivares há progresso lento no início da epidemia, seguido por um crescimento rápido estabilizando no final, comportamento característico de uma curva de crescimento sigmóide com assíntota superior como o modelo logístico (Tjørve e Tjørve,

2010). O modelo logístico se ajusta bem à epidemias de doenças policíclicas, ou seja, aquelas em que lesões dão origem a novas lesões no mesmo ciclo da cultura, com velocidade de aumento proporcional à própria quantidade de doença em cada instante (Bergamin Filho, 2011).

Na TABELA 3.1 observam-se as estimativas dos parâmetros do modelo logístico seguidas dos respectivos erros padrões e intervalos de confiança. Pela parametrização I estimou-se em 73,13 e 95,54 dias, respectivamente para as cultivares Chimarrita e Chiripá, o tempo para que 50% das folhas apresentassem sintomas. Destaca-se a imprecisão das estimativas como observado pela magnitude dos erros padrões o que reflete na grande amplitude dos intervalos de confiança, principalmente nas parametrizações II e IV para as estimativas de β_2 e δ_2 , respectivamente. Na parametrização II, o parâmetro β_2 controla o tempo até a inflexão e, apesar da grande magnitude para a cultivar Chiripá (18770), não difere de zero como mostra o intervalo de confiança. Observa-se que as parametrizações I e III, para as duas cultivares, apresentam, proporcionalmente às estimativas dos parâmetros, os menores erros padrões para os dois parâmetros. Nas parametrizações II e IV os erros padrões de β_2 e δ_2 são maiores que as estimativas na cultivar Chiripá.

TABELA 3.1 Estimativas dos parâmetros, respectivos erros padrões (EP) e intervalos de confiança (IC) para o modelo logístico, em quatro parametrizações, ajustados aos dados de progresso temporal de incidência da ferrugem do pessegueiro causada por *Tranzschelia discolor* nas cultivares Chimarrita e Chiripá.

Parametrização	Parâmetro	Estimativa	EP	IC (95%)
Chimarrita				
$y = \frac{1}{1+e^{-\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$ (I)	α_2	73,1270	1,5830	(70,023; 76,230)
	α_3	15,2370	1,4250	(12,443; 18,030)
$y = \frac{1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$ (II)	β_2	121,4475	57,0267	(9,677; 233,22)
	β_3	-0,0656	0,0061	(-0,077; -0,0536)
$y = \frac{1}{1+e^{\gamma_2+\gamma_3 x}}$ (III)	γ_2	4,7995	0,46955	(3,8791; 5,7198)
	γ_3	-0,0656	0,0064	(-0,0777; -0,0536)
$y = \frac{1}{1+(\frac{1}{\delta_2}-1)e^{-\delta_3 x}}$ (IV)	δ_2	0,0082	0,0038	(0,0007; 0,0156)
	δ_3	0,0656	0,0061	(0,0536; 0,0777)
Chiripá				
$y = \frac{1}{1+e^{-\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$ (I)	α_2	95,5400	1,2830	(95,025; 100,055)
	α_3	9,9130	1,0780	(7,800; 12,025)
$y = \frac{1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$ (II)	β_2	18770	20210	(-20836; 58374)
	β_3	-0,1009	0,01987	(-0,1224; -0,0794)
$y = \frac{1}{1+e^{\gamma_2+\gamma_3 x}}$ (III)	γ_2	9,8399	1,0766	(7,7298; 11,9501)
	γ_3	-0,1009	0,0110	(-0,1224; -0,0794)
$y = \frac{1}{1+(\frac{1}{\delta_2}-1)e^{-\delta_3 x}}$ (IV)	δ_2	0,000053	0,000057	(-0,000059; 0,000166)
	δ_3	0,1009	0,01092	(0,07938; 0,1224)

As medidas de não linearidade são apresentadas na TABELA 3.2. Nesta situação, as medidas de curvatura intrínseca (NLI) e devida aos efeitos de parâmetros (NLP) devem ser inferiores a 0,5, para as duas cultivares, indicando curvatura aceitável. Para os dados de uma mesma cultivar todas as parametrizações apresentam o mesmo valor de NLI, que é invariante à parametrização (Bates e Watts, 1980; Bonat et al., 2012). A não linearidade intrínseca é geralmente a menor componente e neste trabalho, não significativa para os dados das duas cultivares. As medidas de NLP são significativas nas parametrizações

II e IV, pois seus valores são superiores a 0,5. Entretanto, na parametrização I, a NLP é inferior à NLI, ressaltando a qualidade desta parametrização. Destaca-se que para a cultivar Chiripá a NLP é bem superior que para a Chimarrita, corroborando a afirmação de Seber e Wild (2003) de que o efeito da parametrização na curvatura é dependente dos dados. Nas parametrizações II e IV há afastamento significativo da linearidade, o que compromete as inferências (Ratkowsky, 1993; Cordeiro et al., 2009), pois quanto mais próximo do linear for o comportamento de um modelo não linear, mais precisos serão os resultados assintóticos e, conseqüentemente, mais confiáveis serão as inferências (Cook e Witmer, 1985; Mazucheli e Achcar, 2002).

TABELA 3.2 Medidas de não linearidade intrínseca (NLI) e devida ao efeito de parâmetros (NLP) para o modelo logístico em quatro parametrizações, ajustado aos dados do progresso temporal da incidência de ferrugem do pessegueiro causada por *Tranzschelia discolor* nas cultivares Chimarrita e Chiripá.

Parametrização	Chimarrita		Chiripá	
	NLI	NLP	NLI	NLP
$y = \frac{\alpha_1}{1+e^{\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$ (I)	0,1779	0,1179	0,1976	0,1400
$y = \frac{\beta_1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$ (II)	0,1779	3,2913	0,1976	13,7100
$y = \frac{\gamma_1}{1+e^{\gamma_2+\gamma_3 x}}$ (III)	0,1779	0,2604	0,1976	0,2988
$y = \frac{\delta_1}{1+(\frac{1}{\delta_2}-1)e^{-\delta_3 x}}$ (IV)	0,1779	3,1982	0,1976	13,6930

O afastamento da linearidade para as parametrizações II e IV nas duas cultivares, deve-se aos parâmetros β_2 e δ_2 , respectivamente, com vícios superiores a 1% (TABELA 3.3). A parametrização I apresentou vícios menores que 1% para os dois parâmetros nas duas cultivares e a parametrização III apresentou valores pouco superiores a 1% na cultivar Chiripá. Observando-se os vícios em relação ao erro padrão da estimativa (VRep%) tem-se as mesmas conclusões, mas sem o efeito da magnitude do parâmetro.

TABELA 3.3 Resultados do viés de Box em relação a estimativa do parâmetro (VR) e em relação ao erro padrão das estimativas dos parâmetros (VR_{ep}) do modelo logístico em quatro parametrizações ajustados aos dados de progresso temporal da incidência de ferrugem do pessegueiro causada por *Tranzschelia discolor* nas cultivares Chimarrita e Chiripá.

Parametrização	Parâmetro	Chimarrita		Chiripá	
		VR	VR_{ep}	VR	VR_{ep}
----- % -----					
$y = \frac{1}{1+e^{\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$ (I)	α_2	-0,0026	-0,1212	-0,0019	-0,1457
	α_3	0,0041	0,0436	0,0219	0,2011
$y = \frac{1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$ (II)	β_2	15,2764	32,5335	69,3405	64,4068
	β_3	0,8709	-9,3107	1,1603	-10,6718
$y = \frac{1}{1+e^{\gamma_2+\gamma_3 x}}$ (III)	γ_2	0,8859	9,0556	1,1572	10,5766
	γ_3	0,8709	-9,3107	1,1603	-10,6718
$y = \frac{1}{1+(\frac{1}{\delta_2}-1)e^{-\delta_3 x}}$ (IV)	δ_2	6,5382	14,0388	46,5596	43,2485
	δ_3	0,8709	9,3107	1,1603	10,6718

As parametrizações II e IV, com maiores erros padrões e intervalos de confiança (TABELA 3.1) também apresentam maiores medidas de NLP (TABELA 3.2). Nestes casos, os parâmetros β_2 e δ_2 , são aqueles com viés acima do aceitável, caracterizando-os como responsáveis pelo afastamento da linearidade.

A FIGURA 3.2 apresenta as regiões de confiança exata e aproximada em cada parametrização. Verifica-se que na parametrização I os contornos da deviance são praticamente elípticos com eixos paralelos aos eixos cartesianos. De acordo com Bonat et al. (2012), para otimização dos algoritmos, os procedimentos baseados em avaliação de gradiente têm melhor taxa de convergência quando a função objetivo apresenta simetria e ortogonalidade. Do ponto de vista de inferência estatística, como a obtenção de intervalos de confiança, a ortogonalidade permite fazer inferência para um parâmetro sem a necessidade de correções considerando a curvatura na direção dos demais parâmetros.

A parametrização III, em comparação a I, apresentou rotação dos eixos do contorno com inclinação negativa e uma leve assimetria dos contornos. A rotação se deve ao fato de que as funções de reparametrização entre I e III são praticamente lineares e a assimetria se deve ao fato de uma delas ser um quociente (TABELA 3.4). As parametrizações II e IV apresentaram forte desvio da forma elíptica, destacando-se a parametrização

II como mais susceptível a problemas numéricos pois apresenta assimetria mais acentuada que a parametrização IV, com efeito notável na cultivar Chiripá.

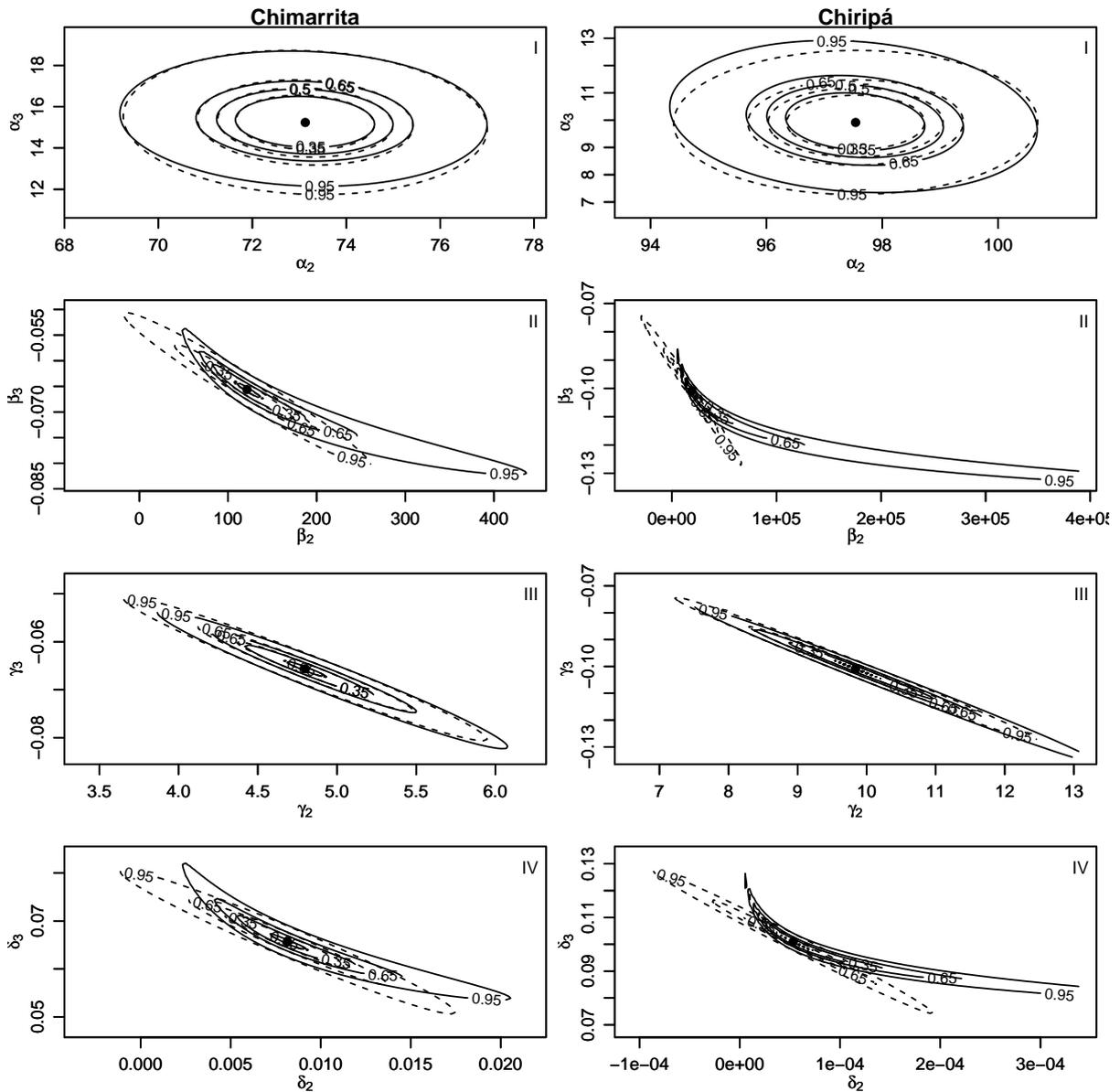


FIGURA 3.2 Regiões de confiança baseadas na deviance (linha cheia) e respectivas aproximações quadráticas (linha tracejada) para as estimativas dos parâmetros em quatro parametrizações do modelo logístico ajustados aos dados do progresso temporal da incidência da ferrugem do pessegueiro (*Tranzschelia discolor*) nas cultivares Chimarrita (coluna da esquerda) e Chiripá (coluna da direita). I, II, III e IV correspondem às parametrizações utilizadas.

Na FIGURA 3.3 são apresentados os perfis de verossimilhança para os parâmetros 2 e 3 em todas as parametrizações. Por padrão, o método gráfico para verossimilhança

perfilhada apresenta a raiz quadrada da diferença da deviance, com gráficos em forma de 'V' para os casos em que há boa aproximação quadrática (Bolker e R Development Core Team, 2012). Observa-se assimetria acentuada nos parâmetros β_2 e γ_2 o que corrobora os resultados até então apresentados. O método utilizado não perfilhou a verossimilhança para β_2 na cultivar Chiripá devido à forte assimetria do parâmetro, o que leva a problemas numéricos na exploração da verossimilhança perfilhada.

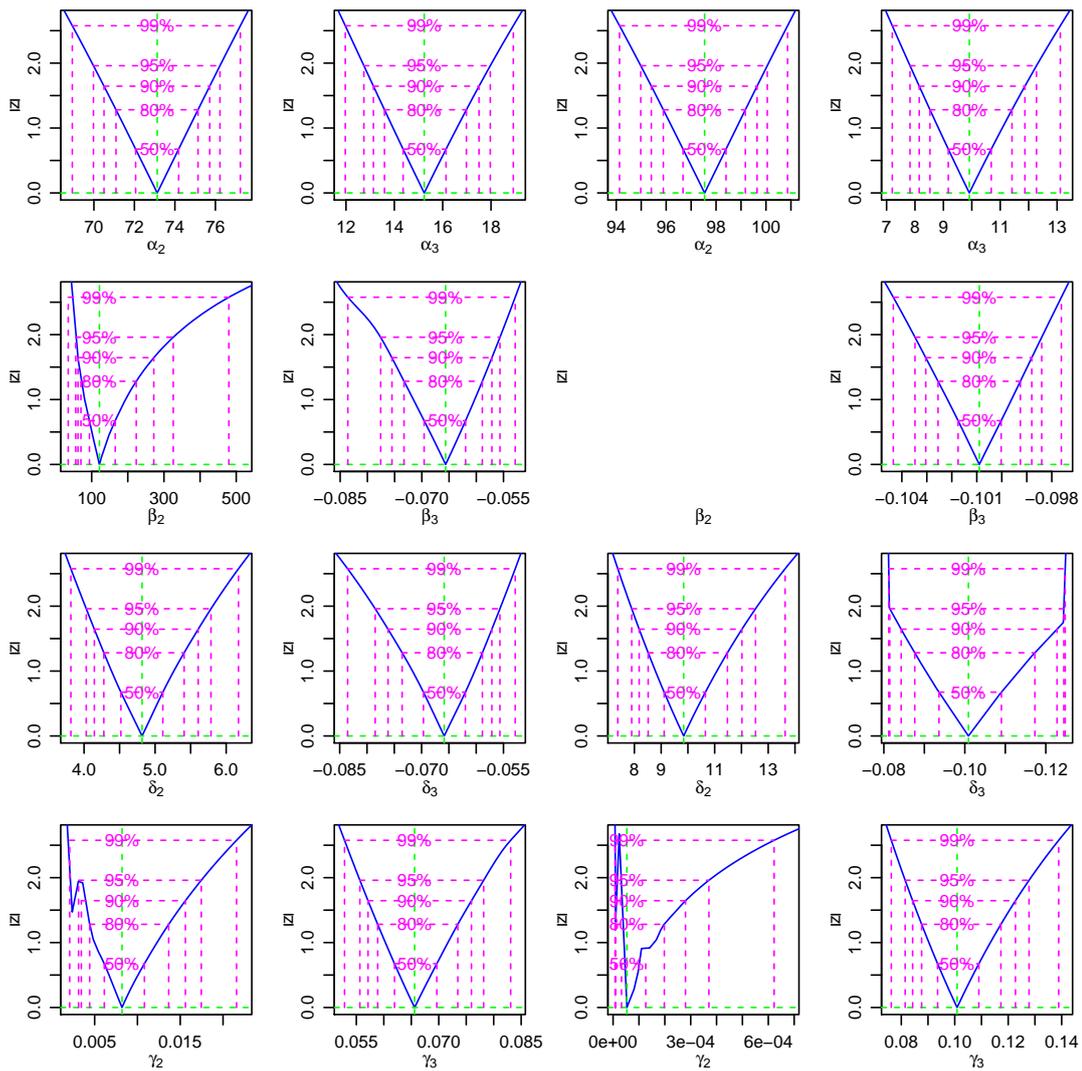


FIGURA 3.3 Perfis de verossimilhança para as estimativas dos parâmetros em quatro parametrizações do modelo logístico ajustados aos dados do progresso temporal da incidência de *Tranzschelia discolor* em duas cultivares de pessegueiro. I, II, III e IV correspondem às parametrizações utilizadas. Coluna da esquerda para a cultivar Chimarrita e da direita para a cultivar Chiripá.

Na TABELA 3.4 apresentam-se as expressões que relacionam as parametrizações do modelo logístico entre si, deixando claro que são todas formas de um mesmo modelo, com diferentes significados para os parâmetros conforme abordam os trabalhos de Tjørve e Tjørve (2010) e Ueda et al. (2010). A partir destas relações, pode-se ajustar o modelo aos dados com a parametrização que mais se aproxime do comportamento linear (Cordeiro et al., 2009) e a partir dela calcular as estimativas em parametrizações que tenham interpretação de interesse. Desde que os intervalos de confiança sejam obtidos pela verossimilhança perfilhada, ou os contornos sejam elípticos e os parâmetros pelo menos aproximadamente ortogonais (como na parametrização I), as estimativas pontuais e intervalares do modelo em uma parametrização podem levar aos seus equivalentes em outra parametrização pelo princípio da invariância do estimador de máxima verossimilhança.

TABELA 3.4 Relações entre os parâmetros do modelo logístico em função da parametrização adotada.

Parametrização	$y = \frac{\alpha_1}{1+e^{-\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$	$y = \frac{\beta_1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$	$y = \frac{\gamma_1}{1+e^{\gamma_2+\gamma_3 x}}$	$y = \frac{\delta_1}{1+(\frac{1}{\delta_2}-1)e^{-\delta_3 x}}$
		$\beta_1 = \alpha_1$	$\gamma_1 = \alpha_1$	$\delta_1 = \alpha_1$
$y = \frac{\alpha_1}{1+e^{-\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$		$\beta_2 = e^{\frac{\alpha_2}{\alpha_3}}$	$\gamma_2 = \frac{\alpha_2}{\alpha_3}$	$\delta_2 = \frac{1}{e^{\frac{\alpha_2}{\alpha_3}}+1}$
		$\beta_3 = \frac{-1}{\alpha_3}$	$\gamma_3 = \frac{-1}{\alpha_3}$	$\delta_3 = \frac{1}{\alpha_3}$
	$\alpha_1 = \beta_1$		$\gamma_1 = \beta_1$	$\delta_1 = \beta_1$
$y = \frac{\beta_1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$	$\alpha_2 = \frac{-\log(\beta_2)}{\beta_3}$		$\gamma_2 = \log(\beta_2)$	$\delta_2 = \frac{1}{\beta_2+1}$
	$\alpha_3 = \frac{-1}{\beta_3}$		$\gamma_3 = \beta_3$	$\delta_3 = -\beta_3$
	$\alpha_1 = \gamma_1$	$\beta_1 = \gamma_1$		$\delta_1 = \gamma_1$
$y = \frac{\gamma_1}{1+e^{\gamma_2+\gamma_3 x}}$	$\alpha_2 = \frac{-\gamma_2}{\gamma_3}$	$\beta_2 = e^{\gamma_2}$		$\delta_2 = \frac{1}{e^{\gamma_2}+1}$
	$\alpha_3 = \frac{-1}{\gamma_3}$	$\beta_3 = \gamma_3$		$\delta_3 = -\gamma_3$
	$\alpha_1 = \delta_1$	$\beta_1 = \delta_1$	$\gamma_1 = \delta_1$	
$y = \frac{\delta_1}{1+(\frac{1}{\delta_2}-1)e^{-\delta_3 x}}$	$\alpha_2 = \frac{\log(\frac{1}{\delta_2}-1)}{\delta_3}$	$\beta_2 = \frac{1}{\delta_2} - 1$	$\gamma_2 = \log(\frac{1}{\delta_2} - 1)$	
	$\alpha_3 = \frac{1}{\delta_3}$	$\beta_3 = -\delta_3$	$\gamma_3 = -\delta_3$	

Utilizando-se as estimativas apresentadas na TABELA 3.1 para a cultivar Chimmarrita e a relação entre os parâmetros na TABELA 3.4, os intervalos de confiança para as estimativas dos parâmetros em I, II, III e IV foram calculadas a partir daquelas obtidas em I e II. Para as estimativas pontuais os valores são os mesmos estimados para cada

parametrização e apresentados na TABELA 3.1.

Como os intervalos de confiança (TABELA 3.1) não são perfilhados, há uma discrepância em relação aos valores dos limites dos intervalos de confiança obtidos a partir das estimativas I e II e apresentados na TABELA 3.5. Partindo-se da parametrização I, as estimativas em II, III e IV são próximas daquelas obtidas diretamente com o ajuste do modelo. Entretanto, partindo-se de II a diferença é maior, principalmente quando se migra da parametrização II para a I como refletido na grande amplitude dos intervalos de confiança, principalmente para a estimativa de α_2 .

Merece destaque o fato de que parâmetros com estimativas próximas de zero estão mais sujeitas a problemas computacionais no momento da estimação (Gilat e Subramaniam, 2008).

TABELA 3.5 Limites dos intervalos de confiança para as estimativas dos parâmetros nas parametrizações I, II, III e IV obtidos a partir das estimativas dos parâmetros em I e II.

Parametrização		Parâmetro	$y = \frac{\alpha_1}{1+e^{\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$ (I)	$y = \frac{\beta_1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$ (II)
$y = \frac{\alpha_1}{1+e^{\frac{\alpha_2-x}{\alpha_3}}}$ (I)		α_2		(29,2253; 101,7173)
		α_3		(12,8758; 18,6569)
$y = \frac{\beta_1}{1+\beta_2 e^{\beta_3 x}}$ (II)		β_2	(68,5791; 277,9799)	
		β_3	(-0,0804; -0,0555)	
$y = \frac{\gamma_1}{1+e^{\gamma_2+\gamma_3 x}}$ (III)		γ_2	(4,2280; 5,6275)	(2,2698; 5,4520)
		γ_3	(-0,0804; -0,0555)	(-0,0777; -0,0536)
$y = \frac{\delta_1}{1+(\frac{1}{\delta_2}-1)e^{-\delta_3 x}}$ (IV)		δ_2	(0,0036; 0,0144)	(0,0043; 0,0937)
		δ_3	(0,0555; 0,0804)	(0,0536; 0,0777)

3.4 CONCLUSÕES

Diante do exposto, ficou clara a relação existente entre parametrização e qualidade das inferências. Avaliando-se as parametrizações pela precisão das estimativas, pelas medidas de não linearidade e de viés ou pela visualização das superfícies e perfis de verossimilhança, pode-se recomendar, em termos de conveniência para a estimação e inferência, que a ordem de preferência deve ser para este caso I, III, IV e II entre as parametrizações.

REFERÊNCIAS

Alves, G. **Características fitotécnicas e comportamento de cultivares de pessegueiro em relação à podridão parda e à ferrugem na Lapa/PR**. 105f. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

Bates, D.M.; Watts, D.G. Relative curvature measures of nonlinearity. **Journal of The Royal Statistical Society**, Serie B, Methodological, London, 42(1): 1-25, 1980.

Bergamin Filho, A. **Curvas de progresso da doença**. In: Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos (Vol. I), Amorin, L.; Rezende, J.A.M; Bergamin Filho, A.; Piracicaba: Editora Agronômica Ceres. p.647-666, 2011.

Bolker, B.; R DEVELOPMENT CORE TEAM. **bbmle: Tools for general maximum likelihood estimation**. R package version 1.0.4.1, 2012. <http://CRAN.R-project.org/package=bbmle>

Bonat, W.H.; Krainski, E.T.; Ribeiro Junior, P.J.; Zeviani, W.M. Minicurso: **Métodos computacionais para inferência com aplicações em R**. João Pessoa, ABE:20° Simpósio Nacional de Probabilidade e Estatística. 113p., 2012.

Box, M.J. Bias in nonlinear estimation. **Journal of The Royal Statistical Society**, Serie B, Methodological, London, 33(2): 171-201, 1971.

Cook, R.D.; Witmer, J.A. A note on parameter-effects curvature. **Journal of the American Statistical Association**, 80(392): 872-878, 1985.

Cordeiro, G.M.; Prudente, A.A.; Demétrio, C.G.B. Uma revisão dos modelos normais não-lineares. **Revista Brasileira de Biometria**, 27(3): 360-393, 2009.

Draper, N.R.; Smith, H. **Applied Regression Analysis**. New York: John Wiley & Sons, 407p. 1998.

Fox, J.; Weisberg, S. **Nonlinear regression and nonlinear least squares in R - An R Companion to Applied Regression**, 2nd. ed. Thousand Oaks, CA: Sage. 2010.

Gilat, A.; Subramaniam, V. **Métodos Numéricos para Engenheiros e Cientistas: uma introdução com aplicações usando o MATLAB**. Porto Alegre: Bookman, 2008.

Madden, L.V.; Hughes, G.; Bosh, F.V.D. **The study of plant disease epidemics**. Minnesota: The American Phytopathological Society, 2007.

Mazucheli, J.; Achcar, J.A. Algumas considerações em regressão não linear. **Acta Scientiarum**, 24(6): 1761-1770, 2002.

R Development Core Team. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011.

Ratkowsky, D.A. **Nonlinear regression modeling**, New York: M. Dekker, 1993.

Seber, G.A.F.; Wild, C.J. **Nonlinear regression**, New York: J. Wiley, 2003.

Tjørve, E.; Tjørve, K.M.C. A unified approach to the Richards-model family for use in growth analyses: why we need only two model forms. **Journal of Theoretical Biology**, 267: 417-425, 2010.

Ueda, C.M.; Yamamoto, A.Y.; Nunes, W.M.C.; Scapim, C.A.; Guedes, T.A. Nonlinear models for describing the Citrus Variegated Chlorosis in groves of two counties at north-western Paraná State, Brazil. **Acta Scientiarum Agronomy**, 32(4): 603-611, 2010.

Van Der Plank, J.E. **Plant Diseases: epidemics and control**. New York: Academic Press. 1963.

Venables, W.N.; Ripley, B.D. **Modern Applied Statistics with S**. Fourth Edition. New York: Springer, 2002.

Zeviani, W.M. **Avaliação de modelos de regressão não linear na cinética de liberação de potássio de resíduos orgânicos**. 87f., Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agropecuária) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

4 CAPÍTULO II - HETEROGENEITY OF PEACH RUST PROGRESS CURVE WITHIN THE TREE CANOPY

ABSTRACT

Peach rust (*Tranzschelia discolor*) is the main foliar disease in peach trees, and because it is active early in the season, it can cause severe defoliation. Few epidemiological studies have been conducted on peach rust, and there is no information concerning the spatial distribution of the disease within the canopy. This study aims to characterise the disease onset and temporal progress of peach rust in three height strata in peach trees in orchards both with and without fungicide. Evaluations of both incidence and severity were conducted fortnightly between November and April for two consecutive years. Positional information for the disease within the canopy was obtained by assessing the incidence and severity of peach rust on leaves in both orchards. A linear mixed model with the position of stems as the fixed effect and cultivars and blocks as random effects was adopted for the data analysis. In the orchard using fungicide, incidence and severity reached 80 and 1.5%, respectively, while reaching 100 and 15% in the orchard not using fungicide. The area under the curve of disease progress was higher for the upper stems compared with the lower. The initial inoculum differs in virulence depending upon its the position, however, with similar rates for both of the disease growth models considered. The models were logistic and exponential for incidence and severity, respectively. There was evidence of autoinfection, with surviving pathogens having been observed on stems at the beginning of the second season. Urediniospores were detected by traps within the experimental area between late winter and early spring.

Key-words: *Prunus persica*. *Tranzschelia discolor*. Canopy. Spatio-temporal progress.

HETEROGENEIDADE DA CURVA DE PROGRESSO DA FERRUGEM DO PESSEGUEIRO NA COPA DA PLANTA

RESUMO

A ferrugem do pessegueiro (*Tranzschelia discolor*) é a principal doença foliar do pessegueiro e quando a infecção ocorre no início da estação de crescimento pode causar desfolha severa. Poucos estudos epidemiológicos têm sido conduzidos e não há informações sobre a distribuição espacial da doença dentro da copa da planta. Este estudo teve como objetivo caracterizar o início e o progresso temporal da ferrugem do pessegueiro em três alturas de ramos na planta em pomares com e sem o uso de fungicidas. Avaliações de incidência e severidade foram conduzidas quinzenalmente entre novembro e abril durante dois anos consecutivos. Informações sobre a doença dentro da copa da planta foram obtidas avaliando-se incidência e severidade da ferrugem em folhas nos dois pomares. Um modelo linear misto, considerando a altura do ramo como efeito fixo, cultivares e blocos como efeito aleatório foi adotado para as análises. No pomar com fungicida, a incidência e a severidade atingiram, respectivamente, 80 e 1,5% e no pomar sem fungicidas 100 e 15%. A área abaixo da curva de progresso da ferrugem foi maior nos ramos superiores em comparação aos inferiores. O inóculo inicial diferiu entre as posições, entretanto com taxas de progresso similares para incidência e severidade. Há evidências de autoinfecção com patógeno sobrevivendo em ramos a partir do segundo ano. Urediniósporos foram detectados inicialmente em armadilhas dentro da área experimental, entre o final do inverno e início da primavera.

Palavras-chave: *Prunus persica*. *Tranzschelia discolor*. Progresso espaço-temporal.

4.1 INTRODUCTION

Peach rust, caused by *Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel & Litvinov, is of increasing importance in the south and southeast of Brazil, where the winter season is mild, and peach rust causes frequent epidemics (Alves and May-De Mio 2008; Citadin et al. 2010; Kowata et al. 2011). Rainy periods, high relative humidity and mild temperatures in the region are favourable to the development of this disease (Goldsworthy and Smith 1931).

The disease can produce twig cankers, leaf lesions and fruit lesions on peach trees (*Prunus persica* (L.) Batsch) (Adaskaveg et al. 2000; Sadravi et al. 2007; Alves et al. 2010). In regions with a subtropical climate, twig cankers are thought to be the major survival medium for the inoculum, when plants are completely defoliated during the dormancy period, providing an initial inoculum for infections in the following season (Soto-Estrada et al. 2005; Alves et al. 2008; Alves et al. 2010; Horsfield and Wicks 2010).

The damage caused by rust is of economic importance because the early loss of the injured leaves can stimulate early flowering and sprouting (Soto-Estrada and Adaskaveg 2004), reducing the orchard's yield (Alves and May-De Mio 2008). Although fruit infections are not common in Brazil, epidemics during the initial stages of fruit growth result in deformed fruit at harvest (Soto-Estrada and Adaskaveg 2004).

Many studies correlate the occurrence of peach rust with early defoliation (Alves et al. 2008; Rodrigues et al. 2008; Assmann et al. 2010). Alves et al. (2008) observed that with a larger number of pulverisations, plants kept their leaves longer and increased the photosynthate concentration in stems. An early occurrence of rust outbreaks on peach trees, with consequent early defoliation, reduced the number of flowers and, consequently, the number of fruits in the subsequent crop (Alves and May-De Mio 2008). Fungicide application is a common phytosanitary management strategy for rust control. However, it can be inefficient (Kowata et al. 2011).

The epidemiological characterisation of this disease is challenging, as it is dependent on many factors, such as, the source of inoculum, the cultivar, weather, plant spacing and cultural management. In California, USA, rust was found on leaves in the fall during several growing seasons. But in some other years, the disease developed to epidemic levels during the spring and summer seasons. The inconsistent occurrence of epidemics limits detailed research on the epidemiology of this disease, as reported by Soto-Estrada and Adaskaveg (2004).

There have been few studies examining the spatial variation of diseases within the plant canopy, especially for diseases on fruit trees. However, information concerning

whether the introduction of the primary inoculum came from inside or outside of the peach orchard can be partially inferred from the spatial pattern of the disease on the trees. On soybeans, Zambenedetti et al. (2007) observed that Asian leaf rust severity (*Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow) was higher on the lower third of the plant canopy, which can be explained by the specific micro-climate in this area of the plant. Pires et al. (2009) examined the spatial pattern of rust lesions caused by *Puccinia triticina* Erikss on individual wheat leaves and modelled the appearance of rust in time and in space along the leaf blade, but they did not examine spatial patterns within the stand of wheat grass. For peach trees, Rodrigues et al. (2008) observed that disease development could be influenced by the variable exposure of different areas of the plant canopy to solar radiation and humidity, having observed a higher incidence and severity of rust on the leaves of stems positioned in the shaded portions of the plant.

Peach rust studies have not considered the patterns of rust intensity inside the tree canopy, which could provide useful epidemiological information, as demonstrated by Everhart et al. (2011), in which the tridimensional spatial pattern of brown rot (*Monilinia laxa*) in sour cherry canopies (*Prunus cerasus*) was characterised.

The current study has the following aims: *i*) to characterise the beginning of the disease and the temporal progress of leaf rust in peach tree canopies at three different height strata from observations of orchards that did or did not use fungicides; and *ii*) to verify the relative predominance of autoinfection or alloinfection in the experimental orchard.

4.2 MATERIAL AND METHODS

This study was performed in two orchards, one with the use of fungicides another without, in the metropolitan region of Curitiba City, Paraná State, Brazil. The regional climate is subtropical, in Köppen's classification, with cool summers and no definite dry season (Cfb). The climate data for both orchards were obtained from the Simepar Technological Institute, PR (station 25474946, Lapa, PR)

Orchard descriptions

Orchard using fungicide (OF): Data were obtained from an experiment carried out inside a commercial orchard in the municipality of Lapa, PR (25^o 24' 42" S, 49° 14' 53" W

and 863 m of altitude) during the 2007/08 and 2008/09 seasons, managed in accordance with integrated peach production protocols (Fachinello 2001). The orchard was planted in 2004, using a randomised block design with three replications. Each block consisted of one peach tree row containing 11 cultivars. The experimental unit consisted of three plants per cultivar, with the central plant used as the observation unit and the side plants used as borders. The orchard were trained to an Y-shaped system, with a spacing of 1.5 m and 6.0 m between trees and rows, respectively. Alternating sprayings of mancozeb and captan were applied between October and January of both the 2007/08 and 2008/09 seasons, with two more sprayings of metiran fungicide applied in February and March of the second season, for a total of 8 and 10 sprayings, respectively.

The measurements were taken from the central plant of each experimental unit, on eight stems per year, with approximately 35 cm of length each, selected from opposite sides of the plant. Two stems were in the lower third of the tree, four stems were in the middle third (two stems facing the row and two facing the between-row area) and two stems were in the upper third of the plant canopy. The measurements were taken approximately every 15 days from the beginning of November (November 13th, 2007 and November 20th, 2008) until the end of April (April 23th, 2008 and April 17th, 2009).

Orchard without fungicide (OWF): The study was carried out in an orchard planted in 2004, located in Curitiba, PR (25° 55' 10" S, 49° 57' 26" W and 945 m of altitude), also during the same 2007/08 and 2008/09 seasons as the other study (OF). The 11 cultivars studied were the same as those used in the OF, with orchard trained in Y-shaped system and spaced with 1 m between trees and 2.5 m between rows.

Each tree was considered to be both an experimental and an observation unit. Three stems each year (approximately 35 cm in length, each) were measured on each side of the tree with a total of two stems in the lower third, two stems in the middle third and two stems in the upper third of the plant canopy, all of them facing the between-row area. The fortnightly evaluations were performed for two consecutive seasons from November 5th, 2007 to February 25th, 2008, and from September 15th, 2008 to February 26th, 2009.

Evaluation of peach rust on leaves

Incidence and severity were measured in both orchards at each evaluation. The incidence was defined by the number of leaves with rust symptoms divided by the total number of leaves on the stems, while severity was defined as the percentage of leaf tissue damaged by rust on each leaf. Severity evaluation used a diagrammatic scale with levels

of 0%, 0.8%, 2.4%, 4.5% and 13.7% of damaged leaf area (Peretto and Silva 2002). Values were assigned individually to each of the leaves on the twig and then averaged.

Evaluation of peach rust on stems

Thirty-five stems were collected per cultivar and kept in a moist chamber for 20 days at a temperature of 25° C during the 2008/09 and 2009/10 seasons for the OF and the 2010/11 season for the OWF. Both groups of stems were collected at the beginning of the growth season. After this incubation period, the occurrence of *T. discolor* in lesions on the stems was evaluated using a stereoscopic microscope and an optical microscope. For both orchards, the occurrence of *T. discolor* in the lesions on the stems was recorded.

Evaluation of *T. discolor* urediniospores in the air

Two wind-driven traps for monitoring urediniospores (Casa et al. 2004) were installed at the central part of the experiment, one at canopy height (1.5 m from the soil) and the other above the canopy (2.8 m from the soil) in the OF. A third wind-driven trap was installed 1.5 m from the soil and positioned 300 m from the experiment, facing the direction of the prevailing winds in the area. Each trap had a Vaseline-covered sheet covering 100% of its surface. Sheets were collected weekly and the presence of urediniospores was determined from June, 2008 to December, 2010, using an optical microscope (400x). An area equivalent to the area of two adjacent glass slides (2.2 x 2.2 cm), in the centre of the microscope stage, was considered as the visual field. Only the presence or absence of urediniospores was recorded during the two first seasons, while a quantification of urediniospore numbers was made during the third season (urediniospores per 4.84 cm²). Traps were not installed in the OWF because there were no commercial orchards near the experimental orchard although such set of traps could have been used to compare both orchards: ratio of inside/outside inoculum with and without fungicide.

Data Analysis

The area under the disease progress curve (AUDPC) was computed by trapezoidal integration (Campbell and Madden 1990) for both the incidence and the severity data, and a linear mixed model (Madden and Paul 2009) was used to assess the effect of stem

height on the AUDPC. In both orchards, stem height in the plant canopy was considered to be a fixed effect, while the effects of blocks and cultivars were considered to be random effects. The analysis of the OF data used the following model:

$$Y_{ijk} = u + a_i + b_j + c_k + \varepsilon_{ijk},$$

where Y_{ijk} is the AUDPC (incidence and severity), u is a constant, a_i is the height effect i , b_j is the block effect j , c_k is the cultivar effect k and ε_{ijk} is the experimental error. For the OWF there is no block term and the model reduces to:

$$Y_{ik} = u + a_i + c_k + \varepsilon_{ik}.$$

Temporal progress was described by fitting the disease progress curves to incidence and severity data. We employed the following linearised forms of the growth model (Soto-Estrada and Adaskaveg 2004; Madden et al. 2007) to compare stem heights:

$$\text{Gompertz: } -\log(-\log(y)) = -\log(-\log(y_0)) + r_G t;$$

$$\text{Logistic: } \log(y/(1-y)) = \log(y_0/(1-y_0)) + r_L t;$$

$$\text{Exponential: } \log(y) = \log(y_0) + r_E t;$$

where y is the incidence or severity as a proportion, y_0 is the initial disease level and r is the disease increase rate for the gompertz (r_G), logistic (r_L) and exponential (r_E) models.

Model fitting adopts a mixed model, considering the stem height as a fixed effect and cultivars and blocks as random effects (Madden and Paul 2010).

We initially consider a simple mixed model for the incidence or severity in the OF were the linearised variable according to the above models is at the l -day after onset epidemic is modelled by $Y_{ijkl} = (\beta_0 + b_{0ij} + b_{0ik}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijkl}$, b_{0ij} and $b_{0ik} \sim N(0, \sigma^2 b_0)$, $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2 \varepsilon)$. This model consider cultivar and block with random effects over intercept (β_0) and the same parameter β_0 among the heights (fixed effects). The next model consider that β_0 vary among heights: $Y_{ijkl} = (\beta_{0i} + b_{0ij} + b_{0ik}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijkl}$, b_{0ij} and $b_{0ik} \sim N(0, \sigma^2 b_0)$, $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2 \varepsilon)$. In the following model, cultivar and block have random effects over slope (β_1) $Y_{ijkl} = (\beta_{0i} + b_{0ij} + b_{0ik}) + (\beta_1 + b_{1ij} + b_{1ik})x_l + \varepsilon_{ijkl}$, b_{0ij} and $b_{0ik} \sim N(0, \sigma^2 b_0)$, $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2 \varepsilon)$. The following model consider also that β_1 vary among heights $Y_{ijkl} = (\beta_{0i} + b_{0ij} + b_{0ik}) + (\beta_{1i} + b_{1ij} + b_{1ik})x_l + \varepsilon_{ijkl}$, b_{0ij} and $b_{0ik} \sim N(0, \sigma^2 b_0)$, $\varepsilon_{ijkl} \sim N(0, \sigma^2 \varepsilon)$.

Similar models were used for the OWF just excluding the block term.

The model fitting was assessed by comparing nested models using the likelihood ratio test (LRT) (Pawitan 2001):

$$LRT = 2(\log L_1 - \log L_0)$$

where L_1 is the maximum likelihood under the more parameter-rich, complex model (i.e., alternative hypothesis) and L_0 is the maximum likelihood under the less parameter-rich, simple model (null hypothesis). The value of this statistic is always equal to or greater than zero simply because the superfluous parameters in the complex model provide a better explanation for the stochastic variation in the data than does the simpler model. In this case, the LRT statistic is asymptotically χ^2 distributed, with the number of degrees of freedom being equal to the difference in the number of free parameters between the two models. When the value of the LRT is considered statistically significant (p-value < 0.05), the conclusion is that the inclusion of additional parameters in the alternative model significantly increases the likelihood of the data and, consequently, the use of the more complex model is favoured. Conversely, a difference in the log-likelihood close to zero means that the alternative hypothesis does not fit the data significantly better than does the null hypothesis. The effect of plant height on the AUDPC (for incidence and severity) and on parameter estimates for the models chosen were compared using the Wald test (Pinheiro and Bates 2000). Data analyses were performed using the R statistical system (R Development Core Team 2011) and the add-on package `lme4` (Bates et al. 2011).

Data about weather conditions as temperature ($^{\circ}\text{C}$), relative humidity (%) and precipitation (mm) in both orchards were obtained from Simepar / PR.

4.3 RESULTS

The results are presented separately for each orchard because orchard management was different between the OF and OWF. The climate conditions were similar in both of the orchards.

Temporal progress of peach rust

Rust incidence in the OF was detected beginning at the end of January during the 2007/2008 season. During the 2008/2009 season, however, symptoms were visible only after the beginning of March (Figs. 4.1a and 4.1b), reaching a maximum of 60% during the 2007/2008, and 90% during the 2008/2009, season. For the OWF, rust symptoms were detected from November onwards during the 2007/2008 season, with a maximum incidence of 90% at the last evaluation on February, 25th, 2008 (Fig. 4.1c). For the 2008/2009 season, the symptoms appeared in September, peaking with an incidence of 100% at the last evaluation on February, 26th, 2009 (Fig. 4.1d).

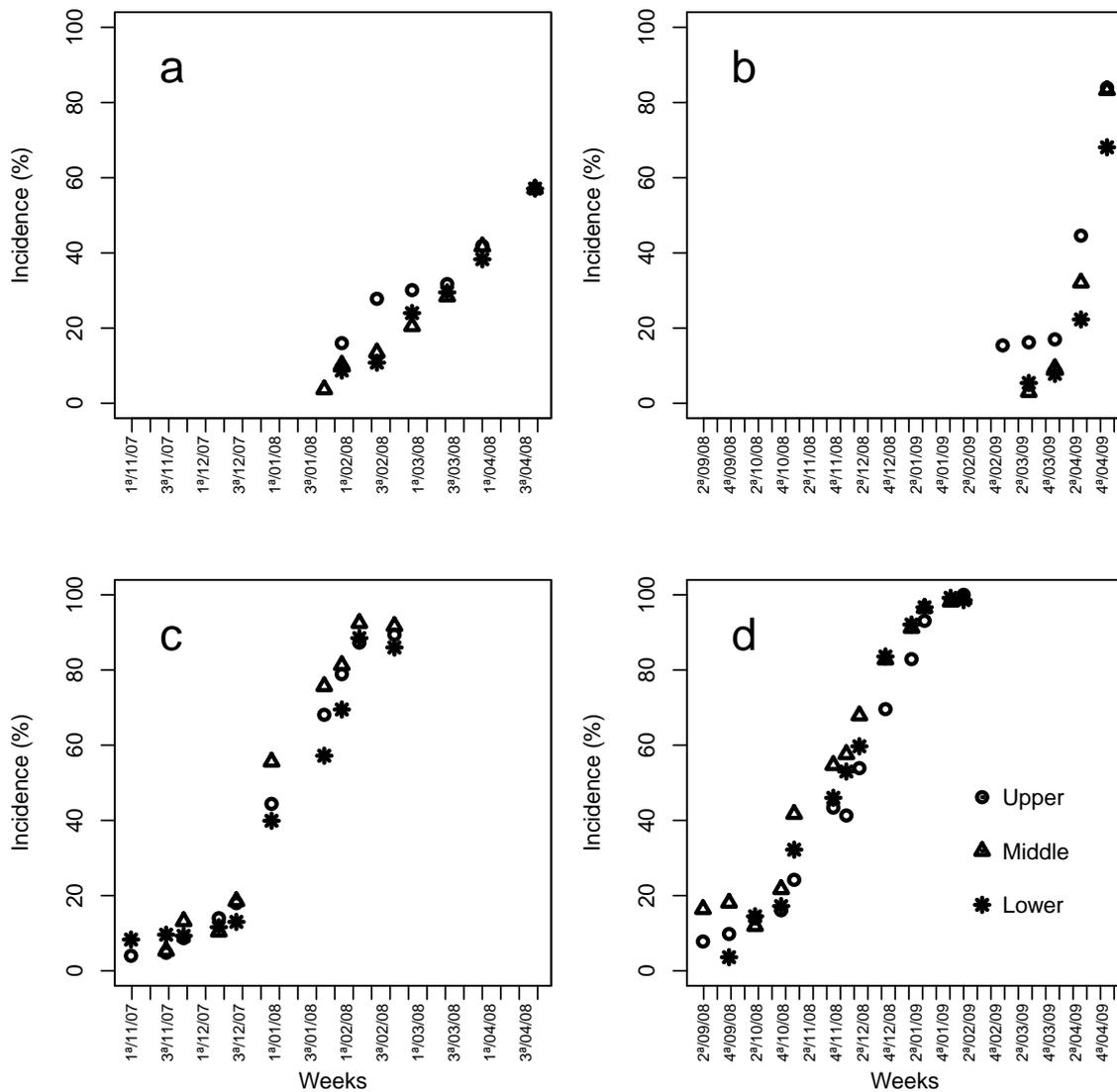


FIGURA 4.1 Temporal progress of peach rust incidence caused by *Tranzschelia discolor* in orchards managed with (OF, **a** and **b**) or without (OWF, **c** and **d**) fungicides, both depending on the height of the stem in the canopy. Growing seasons 2007/2008 (**a**, **c**) and 2008/2009 (**b**, **d**).

Rust severity in the OF reached 0.5% during the 2007/2008 season (Fig. 4.2a) and 2.0% during the 2008/2009 season (Fig. 4.2b). In the OWF, rust during the first season reached 10% and 15% during the second (Figs. 4.2c and 4.2d). Phytosanitary treatments at the OF were effective when the maximum observed severity was below 4% (Fig. 4.2), and there was no evidence of defoliation.

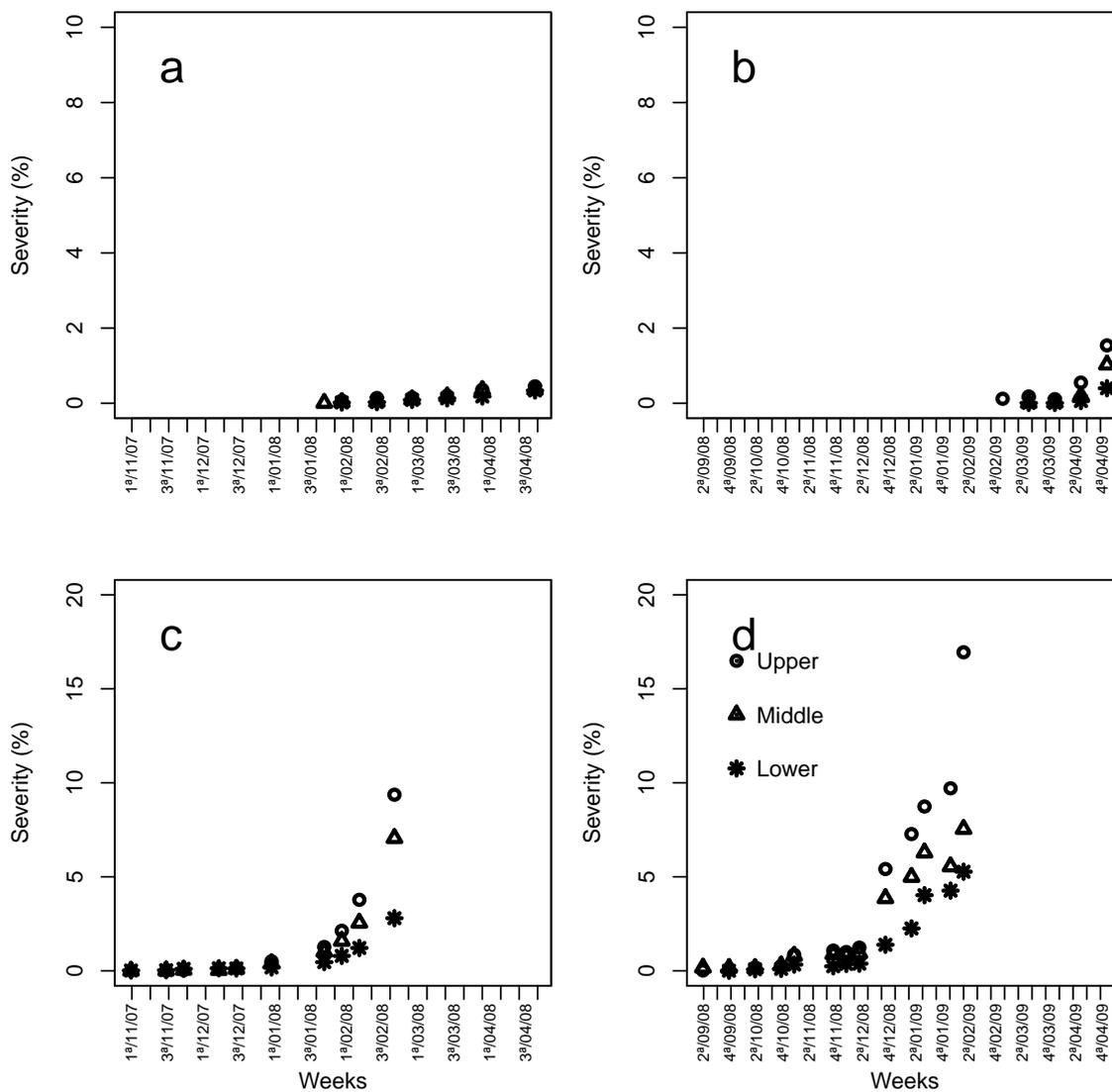


FIGURA 4.2 Temporal progress of peach rust severity caused by *Tranzschelia discolor* in orchards managed with (OF, **a** and **b**) or without (OWF, **c** and **d**) fungicides, both depending on the height of the stems in the canopy. Growing seasons 2007/2008 (**a**, **c**) and 2008/2009 (**b**, **d**).

During all seasons and in both orchards the symptoms caused by rust were first detected at least four weeks after the mean temperature ranged from 18°C to 22°C, the relative humidity between 74% and 94% and accumulated precipitation was approximately 100 mm (Fig. 4.3).

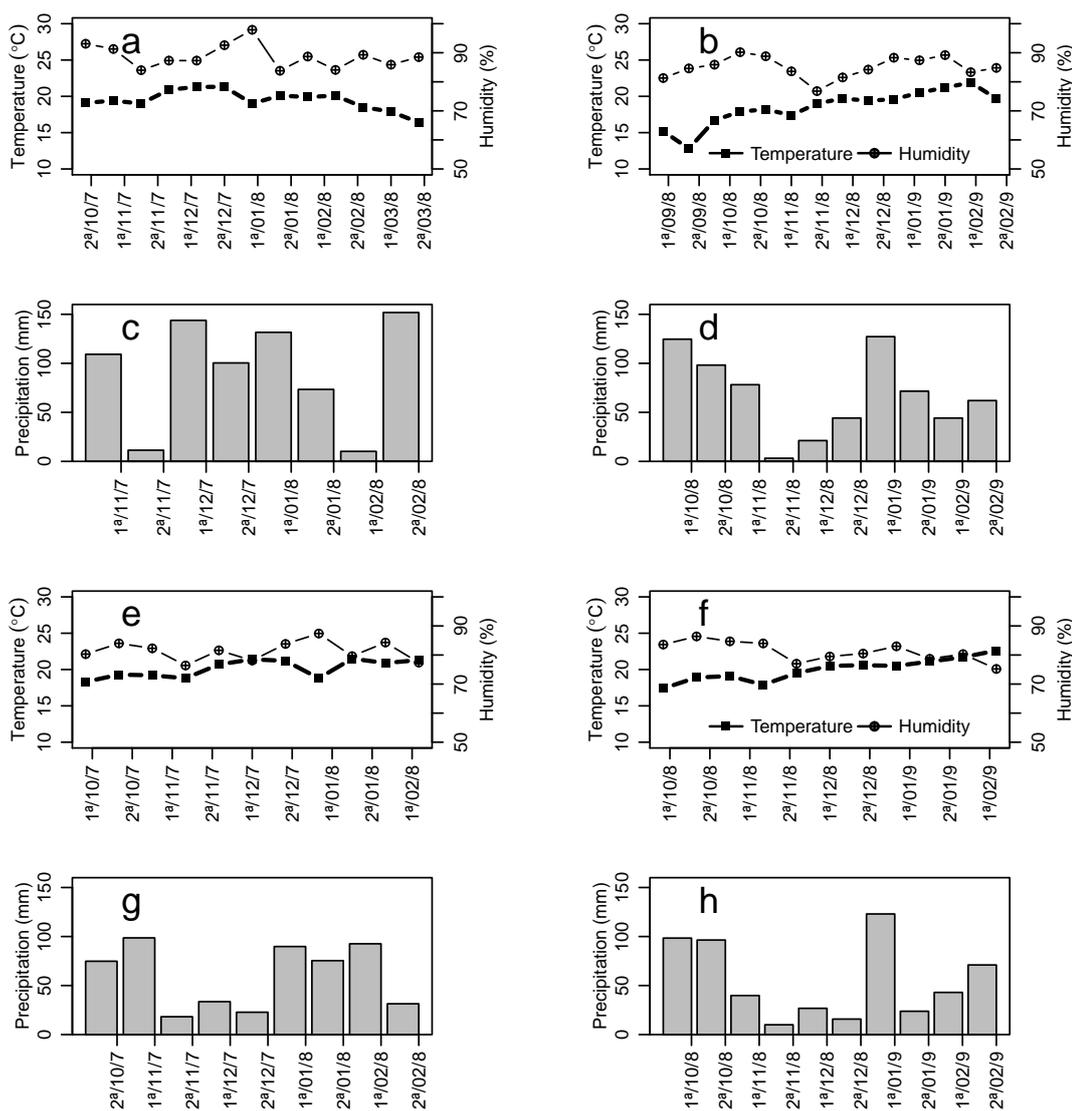


FIGURA 4.3 Average biweekly temperature ($^{\circ}\text{C}$), relative humidity (%) and biweekly accumulated precipitation (mm) observed in peach orchards with (a, b, c and d) or without (e, f, g and h) fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009. Data obtained from Simepar/PR.

The incidence AUDPC differed when comparing the upper and middle stems with the lower stems in the OF during both seasons, but it did not demonstrate any differences in the OWF (Table 4.1).

TABELA 4.1 Area under the incidence progress curve (AUDPC) for peach rust (*Tranzschelia discolor*) depending on the height of the stem in the canopy of orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.

Contrasts ^a	Season 2007/2008		Season 2008/2009	
	Means	p-value	Means	p-value
OF - Orchard with fungicides ^b				
Upper/Middle	19.79/19.15	0.6400	17.53/14.71	0.0570
Upper/Lower	19.79/16.41	0.0140	17.53/11.12	<0.0001
Middle/Lower	19.15/16.41	0.0460	14.71/11.12	0.0160
OWF - Orchard without fungicides				
Upper/Middle	33.10/29.38	0.4800	39.17/47.93	0.1200
Upper/Lower	33.10/35.65	0.6300	39.17/48.42	0.1000
Middle/Lower	29.38/35.65	0.2300	47.93/48.42	0.9300

^a Hypothesis testing of differences between pairs of stem height in the canopy carried out using the Wald test; ^b Orchard handled in accordance with the standards of integrated production of the peach system.

Regardless of the season or the use of fungicides, the AUDPC for severity was larger for the upper stems and differed significantly from the value for the lower ones (Table 4.2). In the OWF, the magnitude of the area under the curve was higher during the 2008/2009 season for all stem heights.

TABELA 4.2 Area under the severity progress curve (AUDPC) for peach rust (*Tranzschelia discolor*) depending on the height of the stem in the canopy of orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.

Contrasts ^a	Season 2007/2008		Season 2008/2009	
	Means	p-value	Means	p-value
OF - Orchard with fungicides ^b				
Upper/Middle	0.13/0.13	1.0000	0.34/0.13	<0.0001
Upper/Lower	0.13/0.08	0.0094	0.34/0.05	<0.0001
Middle/Lower	0.13/0.08	<0.0095	0.13/0.05	0.1000
OWF - Orchard without fungicides				
Upper/Middle	0.87/0.55	0.0500	1.90/1.11	0.0300
Upper/Lower	0.87/0.43	0.0079	1.90/0.79	0.0021
Middle/Lower	0.55/0.43	0.4900	1.11/0.79	0.3700

^a Hypothesis testing of differences between pairs of stem height in the canopy carried out using the Wald test; ^b Orchard handled in accordance with the standards of integrated production of the peach system.

The linearised form of the logistic model was best fitted for modelling the temporal progress of disease incidence, while the exponential model was best fitted for modelling severity (Table 4.3), with significant ($p < 0.05$) random effects for blocks and cultivars. The selected model for incidence and severity have cultivar and block with random effects over intercept (β_0) and slopes (β_1) and heights varying among β_0 . The models with different rate parameters “ r ” for each height were also fitted but they are not superior to simpler model with common “ r ” (by LRT).

Parameter estimates from the fitted models for both the temporal progress of disease incidence and the severity data are shown in Tables 4.4 and 4.5.

TABELA 4.3 Log-likelihoods of the fitted models for incidence and severity of peach rust (*Tranzschelia discolor*) in orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.

Model	Season 2007/2008			Season 2008/2009		
	log	gomp	exp	log	gomp	exp
OF - Orchard with fungicides^b						
Incidence						
$Y_{ijkl} = (\beta_0 + b_{0ij} + b_{0ik}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijkl}$	209	201	142	189	137	125
$Y_{ijkl} = (\beta_{0i} + b_{0ij} + b_{0ik}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijkl}$	212	204	146	211	157	148
$Y_{ijkl} = (\beta_0 + b_{0ij} + b_{0ik}) + (\beta_1 + b_{1ij} + b_{1ik})x_l + \varepsilon_{ijkl}$	218	204	146	214	157	148
$Y_{ijkl} = (\beta_{0i} + b_{0ij} + b_{0ik}) + (\beta_{1i} + b_{1ij} + b_{1ik})x_l + \varepsilon_{ijkl}$	217	209	151	215	164	157
Severity						
$Y_{ijkl} = (\beta_0 + b_{0ij} + b_{0ik}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijkl}$	2027	2027	2053	1487	1480	1486
$Y_{ijkl} = (\beta_{0i} + b_{0ij} + b_{0ik}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijkl}$	2041	2040	2066	1540	1538	1540
$Y_{ijkl} = (\beta_0 + b_{0ij} + b_{0ik}) + (\beta_1 + b_{1ij} + b_{1ik})x_l + \varepsilon_{ijkl}$	2041	2040	2068	1540	1538	1544
$Y_{ijkl} = (\beta_{0i} + b_{0ij} + b_{0ik}) + (\beta_{1i} + b_{1ij} + b_{1ik})x_l + \varepsilon_{ijkl}$	2042	2042	2069	1545	1541	1540
OWF - Orchard without fungicides						
Incidence						
$Y_{ijl} = (\beta_0 + b_{0ij}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijl}$	126	105	31	159	127	45
$Y_{ijl} = (\beta_{0i} + b_{0ij}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijl}$	131	109	35	172	138	53
$Y_{ijl} = (\beta_{0i} + b_{0ij}) + (\beta_1 + b_{1ij})x_l + \varepsilon_{ijl}$	134	116	35	175	139	53
$Y_{ijl} = (\beta_{0i} + b_{0ij}) + (\beta_{1i} + b_{1ij})x_l + \varepsilon_{ijl}$	134	116	35	175	142	53
Severity						
$Y_{ijl} = (\beta_0 + b_{0ij}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijl}$	819	816	819	1101	1091	1114
$Y_{ijl} = (\beta_{0i} + b_{0ij}) + \beta_1 x_l + \varepsilon_{ijl}$	847	843	858	1133	1123	1161
$Y_{ijl} = (\beta_{0i} + b_{0ij}) + (\beta_1 + b_{1ij})x_l + \varepsilon_{ijl}$	851	847	868	1154	1144	1190
$Y_{ijl} = (\beta_{0i} + b_{0ij}) + (\beta_{1i} + b_{1ij})x_l + \varepsilon_{ijl}$	850	846	869	1156	1146	1190

^b Orchard handled in accordance with the standards of integrated production of the peach system; log: $\log(y/(1-y)) = \log(y_0/(1-y_0)) + r_L t$, gomp: $-\log(-\log(y)) = -\log(-\log(y_0)) + r_G t$, exp: $\log(y) = \log(y_0) + r_E t$ e y = incidence or severity; β_0 : intercepts; β_1 : slopes; b_0 e b_1 : random effects on the intercept and slopes, respectively; i : i-height; j : j-cultivar; j : j-block; l : l-days after epidemic onset.

For rust incidence in the OF, there is a gradient in the values of $\log(y_0/(1-y_0))$, with higher values for the upper stems in comparison with the lower ones (Table 4.4). In the OWF this behaviour is consistent for the 2007/2008 season; however, in the next season, the opposite result occurs, and higher values of $\log(y_0/(1-y_0))$ were verified for the lower stems.

TABELA 4.4 Parameter estimates of the linear mixed-models fitted to the data of peach rust (*Tranzschelia discolor*) incidence depending on the height of the stem in orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.

Contrasts	Season 2007/2008		Season 2008/2009	
	Estimates ^a	p-value	Estimates	p-value
	$\log\left(\frac{y_0}{1-y_0}\right)$		$\log\left(\frac{y_0}{1-y_0}\right)$	
	OF - Orchard with fungicides ^b			
Upper/Middle	-5.94/-6.08	0.2400	-10.13/-10.61	<0.0001
Upper/Lower	-5.94/-6.21	0.0100	-10.13/-11.18	<0.0001
Middle/Lower	-6.08/-6.21	0.1400	-10.61/-11.18	<0.0001
	$r_L = 0.04$		$r_L = 0.10$	
	OWF - Orchard without fungicides			
Upper/Middle	-4.48/-4.33	0.3200	-3.97/-3.30	<0.0001
Upper/Lower	-4.48/-4.83	0.0160	-3.97/-3.60	0.0033
Middle/Lower	-4.33/-4.83	0.0001	-3.30/-3.60	0.0210
	$r_L = 0.06$		$r_L = 0.05$	

^a Parameter estimates for the transformed data $\log(y/(1-y)) = \log(y_0/(1-y_0)) + r_L t$, where y = incidence as a ratio 0-1 in the time t , y_0 = initial level of disease and r_L = disease increase rate for the logistic model. ^b Orchard handled in accordance with the standards of integrated production for the peach system.

For the progress of rust severity (Table 4.5), during both seasons and in both orchards, the initial level of severity had been always higher on the upper stems when compared with the lower ones, until the end of the cycle, due to the constant ratio between stem heights and to the same pattern in the incidence values. The estimated progress rates for both incidence and severity were not related to stem position (Tables 4.3 and 4.5).

TABELA 4.5 Parameter estimates of the linear mixed-models fitted to the data of peach rust (*Tranzschelia discolor*) severity depending on the height of the stem in orchards with or without fungicides. Growing seasons 2007/2008 and 2008/2009.

Contrastes	Season 2007/2008		Season 2008/2009	
	Estimates ^a	p-valor	Estimates	p-valor
	$\log(y_0)$		$\log(y_0)$	
	OF - Orchard with fungicides ^b			
Upper/Middle	-12.44/-12.62	0.1200	-16.67/-17.60	<0.0001
Upper/Lower	-12.44/-13.06	<0.0001	-16.67/-18.37	<0.0001
Middle/Lower	-12.62/-13.06	<0.0001	-17.60/-18.37	<0.0001
	$r_E = 0.04$		$r_E = 0.11$	
	OWF - Orchard without fungicides			
Upper/Middle	-10.46/-10.73	0.0250	-9.05/-9.23	0.1300
Upper/Lower	-10.46/-11.52	<0.0001	-9.05/-10.03	<0.0001
Middle/Lower	-10.73/-11.52	<0.0001	-9.23/-10.03	<0.0001
	$r_E = 0.07$		$r_E = 0.05$	

^a Parameter estimates for the transformed data $\log(y) = \log(y_0) + r_E t$, where y = severity as a ratio 0-1 in the time t , y_0 = initial level of disease and r_E = disease increase rate for the exponential model. ^b Orchard handled in accordance with the standards of integrated production for the peach system.

Rust lesions on stems

Rust lesions from urediniospores of *T. discolor* were not detected on the stems from the canopy assessed during the spring of 2008, the first evaluation season. Rust lesions were observed on 38.8% and 31.6% of the stems in the springs of 2009 and 2010, respectively, in the OF, and on 32.7% of the stems from the OWF during the 2010/2011 season. The rust on stems from the OF were not assessed during the previous seasons (2008/2009 and 2009/2010).

Urediniospore detection in the air

Urediniospores were not detected in the air during the 2008/2009 season, until December, 2008, in the OF (Table 4.6). The first detection of urediniospores was at the beginning of February, extending until May, 2009, inside the orchard (at the 1.5 m height trap). Outside the orchard, the urediniospores were detected during the second fortnight of February, 2009, and in April, 2009, and during the first fortnight of May, 2009. During the 2009/2010 season, no urediniospores were observed from June to August. The first urediniospores in the air were detected in September, 2009 (at the 1.5 m and 2.8 m height traps), inside the orchard. From October until the end of December, 2009, no detection occurred, but the urediniospores appeared again in January, 2010. Outside the peach orchard (1.5 m* height trap), no detection was observed until January, 2010. Beginning in January, the urediniospores were present during all the intervening months until June, 2010. The urediniospores peaked from January, 2010 to March, 2010, inside the orchard. Outside the orchard, they were detected in January, February and March, 2010. The number of urediniospores was higher, and they were detected more frequently from February, 2010, to May, 2010, as well as in the upper trap inside the orchard. In June and July, 2010 (resting time), there was no detection of urediniospores outside the orchard and the number of spores was higher in the trap in the central part of the tree canopy (1.5 m from the soil) then in the trap in the upper part (2.8 m from the soil).

TABELA 4.6 Evaluation of the presence of urediniospores in wind-driven traps installed in the orchard using fungicides^a. Growing seasons 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011.

Season	Height (m) ^b	Month/Fortnight															
		J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M				
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
2008/2009	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2,8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1,5*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2009/2010 ^c	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2,8	0	0	0	0	0	0	0	0	6	2	7	52	2	6	21	0
	1,5*	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	15	0	0
2010/2011	1,5	33	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2,8	5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1,5*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^aOrchard handled in accordance with the protocols of integrated production for the peach system. ^bWind-driven traps installed on the centreline of the experiment, 1.5 m and 2.8 m above the soil and installed 300 m from the experiment and 1.5 m above the soil (1.5 m^{*}). '+' indicates urediniospores detected. ^cUrediniospore number per 4.84cm².

4.4 DISCUSSION

This study characterised the first onset of peach rust infection and its temporal progress on three height strata in peach orchard canopies with or without the use of fungicides, assessing the predominance of autoinfection or alloinfection. Based on our results, peach rust severity is higher in the upper portion of the canopy and autoinfection is predominant.

The lower intensity of disease in the OF and the late onset the epidemic are attributed to phytosanitary treatment. Studies performed by Carvalho et al. (2002) and Citadin et al. (2005) evidenced an effect from management techniques in the control of peach rust. Alves et al. (2008) and Alves and May-De Mio (2008) highlighted the benefits of chemical control in retarding the beginning of the epidemic and early defoliation.

The high disease severity recorded in the 2008/2009 season can be attributed to environmental conditions. Severity values observed in the OWF during 2008/2009 are emphasised because they reached magnitudes above the maximum proposed by the diagrammatic scale which was used (13.7%). Martins and Amorim (1999) reported defoliation when the severity reached 10%, using a scale developed for different cultivars and environmental conditions. Additionally, we can hypothesise that plants from this study region tolerate a higher severity than the maximum allowed by the scale, without early defoliation. A severity of approximately 20% and 40% of leaf area was observed in Assman et al. (2010) and Citadin (2010), respectively, in studies carried out in the southeast of Paraná State (Brazil), with many cultivars, using the same diagrammatic scale as a reference. However, this variability could be related to environmental conditions because these latter two studies were carried out in regions with hot summers. Alves et al. (2013) found differences in susceptibility between cultivars, and also differences when comparing tolerance to defoliation, which led to the conclusion that the level of severity can vary in relation to leaf abscission. Kowata (2009), in studying management systems for controlling peach rust, observed some interference with the defoliation and a positive relationship between the initial inoculum and the severity. Carvalho et al. (2002), Citadin et al. (2005) and Alves et al. (2011) found the highest AUDPC incidence for orchards without peach rust control, compared with treated ones. In the absence of rust control, there is an increase in infections during secondary cycles because the diseased plant serves as an inoculum source for further infections inside its own plant canopy (Agrios 2005). Although this disease is economically significant, causing early plant defoliation in Brazil, the main causes of defoliation are complex and not well understood for this pathosystem.

During this study, optimal conditions for pathogen development were observed during both seasons and in both orchards. Goldsworthy and Smith (1931) found the optimum temperature to lie between 13° and 26° C, and the best growth of the germ tubes was observed at approximately 22° C. Soto-Estrada and Adaskaveg (2004) concluded that the presence of sporulating stem lesions in the spring, combined with frequent precipitation and cool temperatures, were likely to be the optimal conditions for disease development. According to these authors, when disease incidence increased early in the season, total precipitation ranged from 163.4 to 184.5 mm during the spring, but when late-season epidemics occurred or when no epidemics were observed, total precipitation ranged from 36.6 to 88.3 mm. Additionally, average and maximum temperatures were 20.4 and 28.0° C, respectively, when disease incidence was high during the early part of the growing season, while when these temperatures were higher (21.3 and 30.8°C), the disease incidence was low during the early part of the season.

When considering models for the data, the exponential model for severity best fit the low value (approximately 5%) severity progress data and may be useful for representing the early part of polycyclic epidemics (Madden et al. 2007). Stem position did not show differences in estimated incidence and severity progress rates, thus appearing to be an intrinsic characteristic of the disease related to the environmental conditions. Same was shown for watermelon gummy stem blight epidemics, where disease progressed at similar rates, irrespective of the disease onset (Café-Filho et al. 2010). Alves et al. (2011), studying the same pathosystem for a fungicide efficiency trial in two experimental areas owned by the principal peach producers in the State of Paraná, concluded that the estimated progress rate was similar between the two areas.

The higher values for incidence and severity in the upper and middle parts of the canopy can be explained by the longer period of leaf wetness that resulted from rain and dew. Zambenedetti et al. (2007) studied of Asian rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybean plants and observed severe symptoms in the lower areas of the canopy, attributing this to longer wetness. For peach rust, there is a rise in infection frequency with an increase of in the length of the leaf wetness period, with a minimum period of four hours of leaf wetness required for an infection to occur (Martins and Amorim, 1999). On the leaves of plants that experience multiple disease cycles of peach rust during the growing season, urediniospores germinated after four hours of wetness (Soto-Estrada et al. 2005). On apple trees, Sentelhas et al. (2005) and Batzer et al. (2008) observed a longer duration of wetness in the upper portion of the canopy (over two hours), in part because of the additional moisture from dew. Sentelhas et al. (2005) associate this observation with the shape of the canopy because they verified an opposite behaviour during leaf wetness periods in young coffee trees due to their cone-shaped canopies. In the present experiment, a plant with a “Y” shape similarly to what Sentelhas et al. (2005) reported for apple

trees, with a moisture gradient occurring between 1 m and 3.3 m of canopy height. In an experiment carried out in the State of São Paulo, Brazil, using plants without any fungicide treatment, Rodrigues et al. (2008) reported a mean rust incidence of approximately 1.6% on shaded stems and of 1.3% on un-shaded stems. They hypothesised that a longer period of wetness occurred on the shaded stems, but they did not assess the spatial distribution within the canopy nor the environmental conditions.

In this present study, it is evident that the peach rust inoculum surviving on the stems could be related to early symptoms on the leaves. Goldsworthy and Smith (1931), and Adaskaveg et al. (2000) observations confirmed that cankers on twigs were an important inoculum source during the beginning of the season (Soto-Estrada et al. 2005; Horsfield and Wicks 2010). Moreover, this reinforces the importance of the initial inoculum inside the orchard in the form of urediniospores present in the air, increasing in number year after year. The urediniospore detection in the orchard agrees with the Mundt (2009) study, who reviewed studies of many pathosystems and attributed the greater proportion of rust infections on peach trees to the inoculum from the infected plant itself (autoinfection) when compared with inoculum from other host units (alloinfections).

4.5 CONCLUSIONS

From the present results, we conclude that peach rust caused by *T. discolor* is more severe on the leaves of stems located in the upper portion of the plant canopy when compared with the lower portion. Another relevant finding was that, under the experimental conditions, autoinfection predominates. Sanitation measures must be taken to reduce the inoculum that survives on the plant from one season to another. The results obtained in this study can serve as the basis for fungicide application technology because the severity gradient in the canopy show a need for careful fungicide distribution, with fungicide deposition being placed in the upper parts of the canopy where existing inoculum is more likely to result in the appearance of new lesions.

REFERENCES

Adaskaveg, J.E.; Soto-Estrada, A.; Forster, H.; Thompson, D.; Hasey, J.; Manji, B.T.; Teviotdale, B. **Peach rust caused by *Tranzschelia discolor* in California**. University of California: Oakland, CA, 2000.

Agrios, G.N. **Plant pathology**. Burlington, MA: Elsevier Academic. 922p., 2005.

Alves, G. **Características fitotécnicas e comportamento de cultivares de pessegueiro em relação à podridão parda e à ferrugem na Lapa/PR**. 105 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

Alves, G.; Ferreira, G.M.; May-De Mio, L.L. Temporal progress of peach rust and fungicides to control the foliar diseases of peach tree. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 33(n.spe1): 436-440, 2011.

Alves, G.; May-De Mio, L.L. Effect of leaf fall caused by rust on peach tree flowering and yield. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 30:907-912, 2008.

Alves, G.; May-De Mio, L.L.; Zanette, F.; Oliveira, M.C. Peach rust and its effect on the defoliation and carbohydrate concentration in branches and buds. **Tropical Plant Pathology**, 33:347-353, 2008.

Alves, G.; Nesi, C.N.; May-De Mio, L.L. Detection of surviving fungi on peach tree twigs. In: XLIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA. **Tropical Plant Pathology**, 35(S173), 2010.

Alves, G.; Spolti, P.; Nesi, C.N.; Del Ponte, E.M.; May-De Mio, L.L. Susceptibility levels and grouping of peach cultivars in relation to peach rust under field conditions. **Acta Scientiarum Agronomy**. No prelo. 2013.

Assmann, A.P.; Citadin, I.; Santos, I.; Wagner Junior, A. Peach genotypes reaction to leaf rust. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 45:32-40, 2010.

Bates, D.; Maechler, M.; Bolker, B. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and syntax. **R package version 0.999375-4.2**. <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>. 2011

Batzer, J.C.; Gleason, M.L.; Taylor, S.E.; Koehler, K.J.; Monteiro, J.E.B.A. Spatial heterogeneity of leaf wetness duration in apple trees and its influence on performance of warning system for sooty blotch and flyspeck. **Plant Disease**, 92:164-170, 2008.

Café-Filho A.C.; Santos, G.R.; Laranjeira F.F. Temporal and spatial dynamics of watermelon gummy stem blight epidemics. **European Journal of Plant Pathology**, 128: 473-482, 2010.

Campbell, C.L.; Madden, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley. 532p, 1990.

Carvalho, V.L.; Gonçalves-Gervásio, R.C.R.; Santa-Cecília, L.V.C.; Kato, C.M.; Foureaux, L.V.; Campelo, M.G. Peach rust [*Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel & Litvinov] control alternatives. **Ciência e Agrotecnologia**, 26:227-231, 2002.

Casa, R.T.; Reis, E.M.; Zambolim, L. Vertical and horizontal dispersion of conidia of *Stenocarpella macrospora* and *Stenocarpella maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, 29:141-147, 2004.

Citadin, I.; Bertuol, O.; Bassani, M.H.; Sousa, R.N.; Pinotti, L.C.A.; Soletti, T. Peach leaf rust control with diferents fungicides sprays. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 27:317-319, 2005.

Citadin, I.; Mazaro, S.M.; Danner, M.A.; Raseira, M.C.B.; Malagi, G. Variability in leaf rust susceptibility among peach cultivars. **Revista Ceres**, 57:185-193, 2010.

Everhart, S.E.; Askew, A.; Seymour, L.; Holb, I.J.; Scherm, H. Characterization of three-dimensional spatial aggregation and association patterns of brown rot symptoms within intensively mapped sour cherry trees. **Annals of Botany**, 1-8, 2011.

Fachinello, J.C. Avanços com a produção integrada de pêssegos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, 22:61-66, 2001.

Goldsworthy, M.C.; Smith, R.E. Studies on rust of clingstone peaches in California. **Phytopathology**, 21:133-168, 1931.

Horsfield, A.; Wicks, T. Sources of primary inoculum of *Tranzschelia discolor*. **Aus-**

traliasian Plant Pathology, 39:350–357, 2010.

Kowata, L.S. **Avaliação da produção integrada de pêssegos no Paraná e do progresso da ferrugem em diferentes sistemas de manejo**. 90 f., Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

Kowata, L.S.; Amorim, L.; Fachinello, J.C.; May-De Mio, L.L. Adoption of integrated production of peach system in Paraná State. **Bragantia**, 70(2):325-333, 2011.

Madden, L.V.; Hughes, G.; Bosh, F.V.D. **The study of plant disease epidemics**. Minnesota: The American Phytopathological Society, 421p, 2007.

Madden, L.V.; Paul, P.A. Assessing heterogeneity in the relationship between wheat yield and fusarium head blight intensity using random-coefficient mixed models. **Phytopathology**, 99:850-860, 2009.

Madden, L.V.; Paul, P.A. An assessment of mixed-modeling approaches for characterizing profiles of time- varying response and predictor variables. **Phytopathology**, 100:1015-1029, 2010.

Martins, M.C.; Amorim, L. Effect of leaf wetness periods on the monocyclic components of peach rust. **Fitopatologia Brasileira**, 24:552-555, 1999.

Mundt, C.C. Importance of autoinfection to the epidemiology of polycyclic foliar disease. **Phytopathology**, 99(10):1116-1119, 2009.

Pawitan, I. **In all likelihood: statistical modelling and inference using likelihood**. 1^a Ed. New York, Oxford University Press, 527p, 2001.

Peretto, A.J.; Silva, C.L. **Guia de avaliação de ensaios**: Escalas diagramáticas e chaves descritivas. Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento Hokko do Brasil Indústria Química e Agropecuária Ltda. 25p., 2002.

Pinheiro, J.C.; Bates, D.M. **Mixed-Effects models in S and S-Plus**. New York: Springer, 528p, 2000.

Pires, P.C.; Fernandes, J.M.C.; Nicolau, M. Using lesion density to characterize wheat leaf rust epidemics. **Tropical Plant Pathology**, 34(2):97-107, 2009.

R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011. URL <http://www.R-project.org/>.

Rodrigues, A.; Scarpore Filho, J.A.; Araújo, J.P.C.; Girardi, E.A.; Scarpar, F.V. Rust *Tranzschelia discolor* (Fuckel) Tranzschel & Litvinov control by green pruning in peach. **Revista Brasileira de Fruticultura** 30:634-638, 2008.

Sadravi, M.; Ono, Y.; Pei, M.; Rahnama, K. Fourteen rusts from northeast Iran. **Journal of Plant Pathology**, 89:191-202, 2007.

Sentelhas, P.C.; Gillespie, T.J.; Batzer, J.C.; Gleason, M.L.; Monteiro, J.E.B.A.; Pezopane, J.R.; Pedro Junior, M.J. Spatial variability of leaf wetness duration in different crop canopies. **International Journal of Biometeorology**, 49:363-370, 2005.

Soto-Estrada, A.; Adaskaveg, J.E. Temporal and Quantitative Analyses of Stem Lesion Development and Foliar Disease Progression of Peach Rust in California. **Phytopathology**, 94:52-60, 2004.

Soto-Estrada, A.; Forster, H.; Demanson, D.A.; Adaskaveg, J.E. Initial Infection and Colonization of Leaves and Stems of Cling Peach by *Tranzschelia discolor*. **Phytopathology**, 95:943-950, 2005.

Zambenedetti, E.B.; Alves, E.; Pozza, E.A.; Araújo, D.V.; Godoy, C.V. Evaluation of monocyclic parameters and intensity of the Asian soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in both several soybean genotypes and canopy position. **Summa Phytopathologica**, 33(2):178-181, 2007.

5 CAPÍTULO III - ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA COMO FERRAMENTA NO ESTUDO DE DOENÇA NA PÓS-COLHEITA DE PÊSSEGOS

RESUMO

A análise de sobrevivência é aplicada quando o tempo até a ocorrência de um evento for o objeto de interesse. Em doenças de plantas, dados dessa natureza são rotineiramente coletados, embora aplicações do método sejam pouco comuns. O objetivo deste trabalho foi utilizar dois estudos de caso de doenças em pós-colheita de pêssegos considerando safras conjuntamente e a existência de efeito aleatório compartilhado por frutos de uma mesma árvore para descrever as principais técnicas em análise de sobrevivência. Aplicou-se a técnica não paramétrica de Kaplan-Meier e a estatística log-rank, além do modelo semiparamétrico de riscos proporcionais de Cox para estimar o efeito de cultivares e do número de dias após a floração plena sobre a sobrevivência ao sintoma de podridão parda (*Monilinia fructicola*) e sobre o risco instantâneo de expressá-lo em duas safras consecutivas. A análise conjunta com efeito basal variando entre safras e a verificação do efeito de árvore como fator de agrupamento com efeito aleatório mostraram-se adequados para interpretar o fenômeno avaliado (doença) e podem ser ferramentas importantes para substituir ou complementar às análises convencionais respeitando a natureza da variável e do fenômeno.

Palavras-chave: Tempo-ocorrência. Kaplan-Meier. Regressão de Cox.

SURVIVAL ANALYSIS AS A TOOL IN THE STUDY OF DISEASE IN POST-HARVEST OF PEACHES

ABSTRACT

Survival analysis is applied when the time until the occurrence of an event is the object of interest. In plants diseases, such data are routinely collected, although application is uncommon. The objective of this study was to use two cases of brown rot in post harvest peaches, considering jointly two seasons and the existence of random effect shared by fruits of the same tree to describe the main techniques in survival analysis. We used Kaplan-Meier methods, log-rank test, and Cox proportional hazards to estimate the effect of cultivars and the number of days after full bloom on the survival of brown rot (*Monilinia fructicola*) symptoms and on the instantaneous risk of expressing. The joint analysis with varying baseline effect between crops and verification of the effect of tree as grouping factor with random effect proved to be suitable to interpret the phenomenon evaluated (disease) and can be important tools for replace or complement to conventional analyzes respecting the nature of variable and the phenomenon.

Key-words: Time-occurrence. Kaplan-Meier. Cox regression.

5.1 INTRODUÇÃO

A análise da ocorrência de um evento e do tempo para sua ocorrência em uma população de indivíduos é um problema estatístico comum. Neste contexto, um evento é definido como uma mudança qualitativa do indivíduo observado que ocorre em um ponto particular no tempo (Scherm e Ojiambo, 2004). Na área médica, frequentemente o evento de interesse é o tempo até a cura ou morte do indivíduo, medido a partir de um particular tratamento ou do início da doença (McGilchrist e Aisbett, 1991; Goel et al., 2010). Para situações como estas foi desenvolvida uma técnica de análise estatística denominada análise de sobrevivência, aplicada quando o tempo até a ocorrência de um evento (variável dependente) for o objeto de interesse (Carvalho et al., 2011). Técnicas de análise estatística convencionais não são apropriadas para este tipo de dados, pois o tempo de observação raramente tem distribuição normal e os dados podem ser censurados, ou seja, o estudo pode terminar antes que todos os indivíduos avaliados sofram o evento de interesse (censura à direita), observando-se parcialmente a resposta (Bewick et al., 2004). Frequentemente, dados desta natureza são submetidos à análise estatística convencional, o que limita a capacidade de inferência.

Para dados de sobrevivência muitos pesquisadores utilizam análises convencionais, como regressão logística e regressão por mínimos quadrados ordinários para quantificar a importância de covariáveis na ocorrência de um evento (Scherm e Ojiambo, 2004). Na regressão logística faz-se a classificação de indivíduos em dois grupos, aqueles que sofreram e aqueles que não sofreram o evento durante o período de observação, o que acarreta perda de informação, pois as diferenças nos tempos de ocorrência não são consideradas. Com análise de regressão por mínimos quadrados as observações em que não se conhece o tempo exato em que o evento ocorreu (observações censuradas) são descartadas, embora carreguem informações importantes para a compreensão do fenômeno (Scherm e Ojiambo, 2004; Lima Junior et al., 2012). Descartar observações censuradas reduz o poder dos testes estatísticos devido à perda de graus de liberdade e introduz viés nas funções de sobrevivência (Colosimo e Giolo, 2006), além de superestimar o risco, pois o tempo até a ocorrência do evento é desconhecido (Carvalho et al., 2011). Neste sentido, a análise de sobrevivência utiliza o método da verossimilhança para estimação de parâmetros e efetivamente extrair informações relevantes e estimativas confiáveis mesmo em situações com censura (Colosimo e Giolo, 2006). Apesar do termo ter origem em estudos na área da saúde humana, a metodologia de análise de sobrevivência é aplicada em muitas áreas do conhecimento, como em demografia (Oliveira et al., 2006), economia (Oliveira e Rios-Neto, 2007), entomologia (Krüger et al., 2008), agronomia (Couto et al., 2009), educação (Lima Junior et al., 2012) entre outros.

No estudo de doenças de plantas, apesar de dados sobre ocorrência e tempo serem rotineiramente coletados em laboratórios ou campos experimentais, a análise de sobrevivência é ainda pouco comum. Aplicações desta técnica em doenças de plantas podem ser observadas em Dallot et al. (2004), que identificaram fatores de risco na infecção de pessegueiros por *Plum pox virus* no tempo e, como resultado, afetar a persistência da doença. Ojiambo e Scherm (2004) empregaram a técnica no estudo do tempo para abscisão de folhas de mirtilo em função da severidade da mancha foliar causada por *Septoria albopunctata*, considerando conjuntamente a idade e a localização da folha na copa. Copes e Thomson (2008) utilizaram essa análise para determinar o período de incubação da ferrugem causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em ramos de camélia. O período latente de *Mycosphaerella pinodes* em ervilhas foi estimado utilizando análise de sobrevivência, considerando-se como variáveis explicativas a agressividade do isolado, a duração do molhamento foliar, a concentração do inóculo, a idade da planta e a susceptibilidade do hospedeiro no trabalho de Setti et al. (2010).

Nos trabalhos expostos, a utilização de análise de sobrevivência para dados em doenças de plantas não abordam situações comuns como a possibilidade de acomodar a variação entre safras numa análise conjunta ou agrupamentos naturais como frutos de uma mesma árvore o que pode influenciar o tempo para ocorrência do evento (Gorfine et al., 2006) e invalidar a suposição de independência dos tempos entre os indivíduos (Colosimo e Giolo, 2006). Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi utilizar dois estudos de caso de doenças em pós-colheita de frutos de pêssegos considerando safras conjuntamente e a existência de efeito aleatório compartilhado por frutos de uma mesma árvore para descrever as principais técnicas não paramétricas e semiparamétricas em análise de sobrevivência.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Descrição dos dados

Neste estudo foram utilizados dois conjuntos de dados provenientes de experimentos sobre podridão parda causada por *Monilinia fructicola* em pêssegos na pós-colheita. O objetivo foi quantificar o efeito de covariáveis relacionadas aos frutos sobre o tempo para expressão dos sintomas. Nos exemplos, há observações censuradas à direita, pois as avaliações encerram-se antes que todos os frutos em estudo apresentem o sintoma da doença.

Exemplo 1:

Nas safras 2009/2010 e 2010/2011, pêssegos no estágio de endurecimento do caroço de cinco cultivares foram envolvidos com sacos de papel manteiga para evitar o contato do fruto com o patógeno ou com fungicidas. Após colhidos, os frutos foram levados ao laboratório e aqueles sem qualquer dano aparente foram dispostos em embalagens plásticas desinfestadas, inoculados com suspensão de conídios de *M. fructicola* e mantidos em temperatura e umidade controladas. Avaliações visuais de podridão parda em cada fruto foram realizadas a cada 12 horas durante cinco dias. Neste experimento, o objetivo da análise de sobrevivência foi quantificar o efeito de cultivar (covariável) na sobrevivência dos frutos (permanecer sem sintomas) e no risco de expressar sintomas da doença. Há frutos que não expressaram sintomas até o fim do período de observação, além de se considerar um risco de base para expressão dos sintomas que pode variar entre as safras na análise conjunta.

Exemplo 2:

Em pessegueiros de uma mesma cultivar, dez frutos verdes por planta (24 plantas) foram inoculados com suspensão de *M. fructicola* em cinco diferentes momentos: 17, 24, 49, 64, e 67 dias após a plena floração. Imediatamente após a inoculação, os frutos foram envolvidos com sacos de papel parafinado e assim se mantiveram até o momento da colheita. Após colhidos, os frutos sem sintomas ou injúrias foram incubados a temperatura constante com luminosidade contínua durante 10 dias. O ensaio foi conduzido em duas safras consecutivas (2008/2009 e 2009/2010). Para cada fruto, avaliou-se o tempo desde o momento da colheita até o aparecimento dos sintomas em pós-colheita. O objetivo da análise de sobrevivência foi avaliar o efeito do momento da inoculação (número de dias após a plena floração), na sobrevivência e no risco de expressar sintomas de podridão parda em pós-colheita. Considerou-se que o risco de base pode variar entre as safras e avaliou-se a existência de um efeito comum compartilhado por frutos de uma mesma árvore.

5.2.2 Técnicas de análise

Funções de sobrevivência e de risco

Estimou-se a distribuição do tempo sem sintomas de podridão parda (tempo de sobrevivência) nas duas situações experimentais. Entre outras coisas, isto permite calcular quantidades derivadas como o tempo de sobrevivência mediano, que neste caso significa o tempo em que 50% dos frutos permaneceram sem sintomas e comparar distribuições do tempo de sobrevivência entre covariáveis (Carvalho et al., 2011), como cultivares e momento de inoculação dos frutos.

Em análise de sobrevivência são fundamentais as funções matemáticas de sobrevivência, $S(t)$, e de risco instantâneo, $\lambda(t)$ (Bewick et al., 2004). A função de sobrevivência $S(t)$ descreve a probabilidade de que um indivíduo possua tempo de vida maior que t , neste caso, a probabilidade de que, decorrido um tempo t , o fruto não apresente sintomas. Isto é definido como $S(t) = Pr(T > t)$, em que T é o tempo até a expressão do sintoma para o fruto observado. De maneira semelhante, a distribuição acumulada do tempo de vida $F(t)$ é a probabilidade de que o sintoma se expresse antes do tempo t . Em amostras numerosas, a função de sobrevivência $S(t)$ pode ser pensada como uma fração de frutos sem sintomas em função do tempo (Lima Junior et al., 2012). A função $\lambda(t)$ expressa o risco instantâneo de um fruto apresentar sintomas no tempo t , condicional à permanecer sem sintomas até o tempo t :

$$\lambda(t) = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{Pr(t \leq T < t + \Delta t \mid T \geq t)}{\Delta t}.$$

A função de risco pode ser relacionada com a função de sobrevivência de várias formas, entre elas

$$\lambda(t) = \frac{f(t)}{S(t)},$$

em que $f(t)$ é a função densidade de probabilidade do fruto apresentar sintoma e $S(t)$ é a probabilidade de um fruto permanecer sem sintoma por mais que um determinado tempo (Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011).

De maneira geral, a análise de sobrevivência visa obter estimadores das funções usadas para especificar o tempo de vida, testando a dependência dessas funções com covariáveis. Neste estudo, foram utilizadas técnicas de análise de sobrevivência não paramétri-

cas e semi-paramétricas.

Técnicas não paramétricas

A principal técnica não paramétrica em análise de sobrevivência é o estimador de Kaplan-Meier, proposto por Kaplan e Meier (1958). Neste método, a função de sobrevivência é recalculada após cada fruto observado expressar sintomas. A ideia básica é que a probabilidade de um fruto permanecer sem sintomas por k ou mais períodos a partir do momento em que entrou no estudo é um produto de k taxas de sobrevivência observadas para cada período (Akbar et al., 2009; Goel et al., 2010). Assume-se que as ocorrências dos eventos (expressão dos sintomas) são independentes entre os frutos e, conseqüentemente, a função de sobrevivência é estimada pelo produto das probabilidades de permanecer sem sintomas até o tempo t . A função de sobrevivência $S(t)$ é estimada empiricamente por

$$\widehat{S}(t) = \prod_{i=1}^n \left(1 - \frac{d_i}{n_i}\right),$$

em que d_i é o número de frutos que apresentaram sintoma em um dado tempo t_i , ($i = 1, \dots, k$) e n_i é o número de frutos sob risco no tempo t_i , ou seja, os frutos que não apresentaram sintomas e não foram removidos do estudo (censurados) até o instante imediatamente anterior a t_i . O gráfico de $S(t)$ em função do tempo (t) é chamado curva de sobrevivência. O método de Kaplan-Meier estima esta curva a partir dos tempos de sobrevivência sem que seja necessário pressupor uma distribuição de probabilidades mesmo quando há censura à direita no conjunto de observações (Akbar et al., 2009). Por convenção, os gráficos de Kaplan-Meier são representados com degraus para indicar os instantes do tempo em que ocorrem eventos terminais (sintomas) e sinais (+) para indicar observações censuradas (Carvalho et al., 2011). A abordagem não paramétrica da análise de sobrevivência, utilizando o estimador de Kaplan-Meier, permite realizar testes de significância estatística para comparar tratamentos (Akbar et al., 2009; Goel et al., 2010), como as cultivares e momentos de inoculação dos frutos abordados neste estudo. Neste contexto, o teste log-rank é o mais usado em análise de sobrevivência, mas deve ser aplicado apenas para comparar grupos definidos por variáveis categóricas (Akbar et al., 2009) e quando a razão das funções de risco dos tratamentos a serem comparados é aproximadamente constante, característica denominada de riscos proporcionais (Colosimo e Giolo, 2006). Com o teste log-rank (LR), testa-se a hipótese nula de que não há diferença entre as curvas de sobrevivência de cada cultivar ou diâmetro do fruto, isto é, a probabilidade de um fruto apresentar sintoma em qualquer ponto no tempo é a mesma

em todas as cultivares ou momentos de inoculação. A estatística do teste é calculada por

$$LR = \sum_{i=1}^n \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i},$$

em que O e E são, respectivamente, os números observados e esperados de frutos com sintomas em cada tratamento, em que os esperados são obtidos supondo que a hipótese nula é verdadeira (Carvalho et al., 2011). Para comparação de apenas dois tratamentos, o valor da estatística log-rank tem distribuição de qui-quadrado com um grau de liberdade (Akbar et al., 2009). O teste log-rank pode ser estendido para mais de dois tratamentos, embora em várias situações, seja necessário estudar a relação entre o tempo de vida e diversas variáveis explicativas simultaneamente. Para contornar estes inconvenientes e tornar a análise mais explicativa, utilizam-se os modelos de regressão semiparamétricos.

Técnicas semi-paramétricas

A regressão de Cox é um modelo de riscos proporcionais definido em McGilchrist e Aisbett (1991) pelo produto dos componentes não paramétricos e paramétricos

$$\lambda(t) = \lambda_0(t)g(x^\top \beta),$$

em que $\lambda(t)$ descreve o risco de expressar sintomas nos frutos sobre o tempo t , $\lambda_0(t)$ é o risco basal no tempo t e $g(x^\top \beta)$ é uma função das variáveis explicativas combinadas na função. O componente não paramétrico $\lambda_0(t)$ não é especificado e é uma função não-negativa do tempo, usualmente chamado função de risco de base ou basal, pois $\lambda(t) = \lambda_0(t)$ quando todas as covariáveis assumem valor zero ($x = 0$). O componente paramétrico é frequentemente expresso na forma

$$g(x^\top \beta) = \exp(x^\top \beta) = \exp(\beta_1 x_1 + \dots + \beta_p x_p),$$

em que x é o vetor de variáveis explicativas e β é o vetor de parâmetros a ser estimado. O modelo de Cox é dito de riscos proporcionais porque as razões entre as taxas de risco para frutos em diferentes variáveis explicativas são assumidas constantes no tempo de acompanhamento do estudo (Carvalho et al., 2011).

O modelo de regressão de Cox é caracterizado pelos coeficientes β' s que medem os efeitos das covariáveis sobre a função de risco. Estas quantidades devem ser estimadas a partir das observações amostrais para que o modelo fique determinado. O procedimento

de regressão usado para ajustar o modelo de Cox consiste em maximizar a função de verossimilhança parcial $L(\beta)$ para o vetor de parâmetros (β) ,

$$L(\beta) = \prod_{i=1}^n \left\{ \frac{\exp(x^{\top} \beta)}{\sum \exp(x^{\top} \beta)} \right\}^{\delta_i},$$

em que δ_i é uma variável aleatória que indica a ocorrência ($\delta = 1$) ou censura ($\delta = 0$) do evento (Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011).

Para considerar a possível existência de associação entre os tempos para expressar sintomas em frutos de uma mesma árvore, avaliou-se um modelo com efeito aleatório não observável e compartilhado pelos indivíduos, denominado modelo de fragilidade (Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011). Partindo do modelo de Cox clássico, a inclusão de efeitos aleatórios foi feita a partir de uma variável aleatória desconhecida (Z), que reflete a heterogeneidade individual ou fragilidade de cada árvore (McGilchrist e Aisbett, 1991; Sargent, 1998) atuando multiplicativamente sobre o risco de base. Assim, para um indivíduo com covariáveis representadas pelo vetor x e efeito aleatório $Z = z$, o modelo de riscos proporcionais passa a ser

$$\lambda(t) = z\lambda_0(t)g(x^{\top} \beta).$$

Assume-se que os valores das fragilidades são uma amostra independente da variável aleatória Z com distribuição de probabilidade conhecida de média 1 e variância desconhecida (Kosorok et al., 2004; Gorfine et al., 2006). Para estimar a variância do efeito aleatório é necessário escolher uma distribuição estatística para a variável aleatória Z . Assumiu-se distribuição gama e estimou-se a variância da fragilidade utilizando-se a verossimilhança perfilhada (método EM) e o critério de informação de Akaike (AIC). Como alternativa, assumiu-se fragilidade com distribuição log-normal, em que o método padrão de estimação da variância é o da máxima verossimilhança restrita aproximada (REML) e também o critério AIC. A suposição básica para o modelo de Cox é a dos riscos proporcionais (Carvalho et al., 2011), que neste trabalho (Exemplo 2) foi avaliada pela visualização gráfica dos resíduos de Schoenfeld e pela significância do coeficiente de correlação linear simples entre os resíduos padronizados de Schoenfeld e o tempo para cada uma das covariáveis.

Todas as análises foram realizadas com o sistema estatístico R, versão 2.15.0 (R Development Core Team, 2012), utilizando-se o pacote `survival`, versão 2.36-12 (Therneau, 2012). Os comandos utilizados nas análises são apresentados no Apêndice.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de sobrevivência estimadas por Kaplan-Meier nos dois exemplos são apresentadas por safra e conjuntamente (FIGURA 5.1). Nos dois exemplos e safras, a probabilidade dos frutos permanecerem sem sintomas de podridão parda reduz com o tempo em todos os tratamentos, mas tem comportamento diferente para cultivares entre os anos. A distinção no efeito de cultivar não é clara na primeira safra (FIGURA 5.1a) com probabilidade de os frutos permanecerem sem sintomas inferior a 50% a partir de 60h da inoculação. Na segunda safra (FIGURA 5.1b), observa-se formação de dois grupos, um deles com probabilidade de permanecer sem sintomas acima de 80% até o final do estudo (120h). No exemplo 2, a probabilidade de observar fruto sadio se mantém acima de 85% na primeira safra (FIGURA 5.2d) e de 75% na segunda (FIGURA 5.2e).

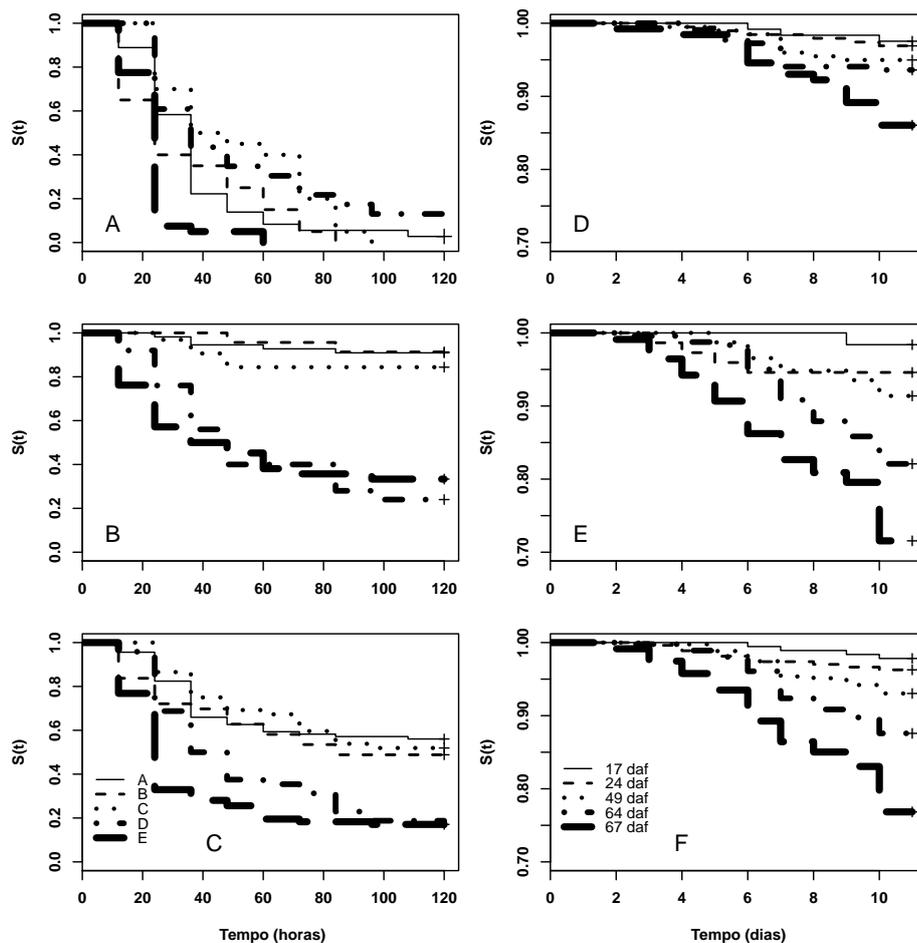


FIGURA 5.1 Estimativas das curvas de Kaplan-Meier das funções de sobrevivência $S(t)$ descrevendo os tempos para expressão dos sintomas de *Monilinia fructicola* em pêsegos inoculados. **a**, **b** e **c**: cultivares avaliadas nas safras 2009/2010, 2010/2011 e conjunta entre as safras, respectivamente; **d**, **e** e **f**: momento em que os frutos foram inoculados em dias após o florescimento pleno, avaliados nas safras 2008/2009, 2009/2010 e conjunta entre as safras, respectivamente.

O tempo mediano para expressão de sintomas (TABELA 5.1) não pode ser estimado para algumas cultivares (exemplo 1) na safra 2010/11 e conjuntamente entre as safras e em nenhum momento de inoculação no exemplo 2, pois menos de 50% dos frutos apresentaram sintomas. O baixo número de frutos com sintomas para as cultivares A, B e C explica o grupo de cultivares com menor risco na safra 2010/2011 (FIGURA 5.1b).

TABELA 5.1 Número de frutos observados (n), número de frutos com sintomas de *Monilinia fructicola* (e), seguidos do respectivo tempo mediano para expressão dos sintomas (t) em função da cultivar (Exemplo 1) ou momento de inoculação do fruto (Exemplo 2)

Covariável	Safrá 1			Safrá 2			Conjunta		
	n	e	t	n	e	t	n	e	t
Cultivar	Exemplo 1								
A	36	35	36	55	5	-	91	40	-
B	20	20	24	23	2	-	43	22	84
C	20	20	42	32	5	-	52	25	-
D	23	21	36	25	19	48	48	40	42
E	40	40	24	42	28	42	82	68	24
log-rank	34,1			78,2			60,4		
p-valor	$7,05 \cdot 10^{-7}$			$4,44 \cdot 10^{-16}$			$2,34 \cdot 10^{-12}$		
DAF	Exemplo 2								
17	122	3	-	65	1	-	184	4	-
24	194	6	-	74	4	-	268	10	-
49	199	10	-	232	20	-	431	30	-
64	219	14	-	240	43	-	459	57	-
67	129	18	-	225	64	-	354	82	-
log-rank	20,9			53,1			72,7		
p-valor	$3,36 \cdot 10^{-4}$			$8,05 \cdot 10^{-11}$			$6,00 \cdot 10^{-15}$		

Safrá 1: 2009/2010 e 2008/2009 para os exemplos 1 e 2, respectivamente; Safrá 2: 2010/2011 e 2009/2010 para os exemplos 1 e 2, respectivamente; t: tempo mediano para expressão dos sintomas, medido em horas no exemplo 1 e em dias no exemplo 2; - não foi possível estimar o tempo mediano; log-rank: teste log-rank de associação; DAF: dias após pleno florescimento.

Nos dois exemplos, o valor da estatística log-rank para comparar as curvas de Kaplan-Meier resultou em valores significativos ($p\text{-valor} < 0,05$) em todas as safras e conjuntamente, indicando diferenças na função de sobrevivência entre as cultivares ou momentos de inoculação em algum instante do tempo. Embora a técnica não paramétrica de Kaplan-Meier e o teste log-rank não façam quase nenhuma restrição sobre a distribuição dos tempos de vida, os métodos são limitados pois não permitem testar o efeito de diferentes covariáveis ao mesmo tempo (Colosimo e Giolo, 2006; Carvalho et al., 2011). Como exemplo desta limitação, Setti et al. (2010) determinaram o período latente de *Mycosphaerella pinodes* em ervilhas, com níveis dos fatores idade da planta, cultivar, isolado, concentração do inóculo e duração do molhamento foliar comparados separada-

mente utilizando-se o teste log-rank. Este mesmo trabalho utilizou a regressão de Cox para acomodar as variáveis explicativas em um mesmo modelo. O efeito de cultivares e do momento de ensacamento do fruto pode ser quantificado pela interpretação das estimativas dos parâmetros do modelo de Cox transformados em razão de riscos. A função de risco $\lambda(t)$ fornece o inverso da informação dada pela função de sobrevivência $S(t)$, de forma que quanto maior $S(t)$ para um dado tempo, menor é $\lambda(t)$ (Oliveira e Rios-Neto, 2007).

Para o ajuste do modelo de Cox nos dois exemplos, os dados das duas safras foram agrupados considerando safra como fator de estratificação, o que equivale afirmar que o risco de base ($\lambda_0(t)$) não é o mesmo nos dois anos, como se pode suspeitar observando-se as curvas de Kaplan-Meier (FIGURAS 5.1a, 5.1b, 5.1d e 5.1e). Neste caso, a mudança no risco basal entre as safras pode estar relacionada com diferentes condições no campo.

A suposição de riscos proporcionais pode ser avaliada de forma aproximada nas curvas de sobrevivência de Kaplan-Meier (FIGURA 5.1), cuja distância entre elas deve ser aproximadamente constante em todo o tempo. O coeficiente de correlação entre os resíduos padronizados de Schoenfeld e o tempo para cada um dos tratamentos e para o modelo global (TABELA 5.2) são todos próximos de zero e não significativos, o que indica não haver evidências para a rejeição da suposição de riscos proporcionais. Para que a suposição seja válida, o gráfico dos resíduos padronizados de Schoenfeld em função do tempo para cada um dos níveis de tratamento (FIGURA 5.2) deve ser uma linha horizontal, pois a inclinação zero não indica evidências contra a proporcionalidade de riscos (Colosimo e Giolo, 2006). Isto posto, observa-se que nenhum tratamento apresenta tendência acentuada ao longo do tempo, corroborando a suposição de proporcionalidade de riscos necessária para o modelo de Cox.

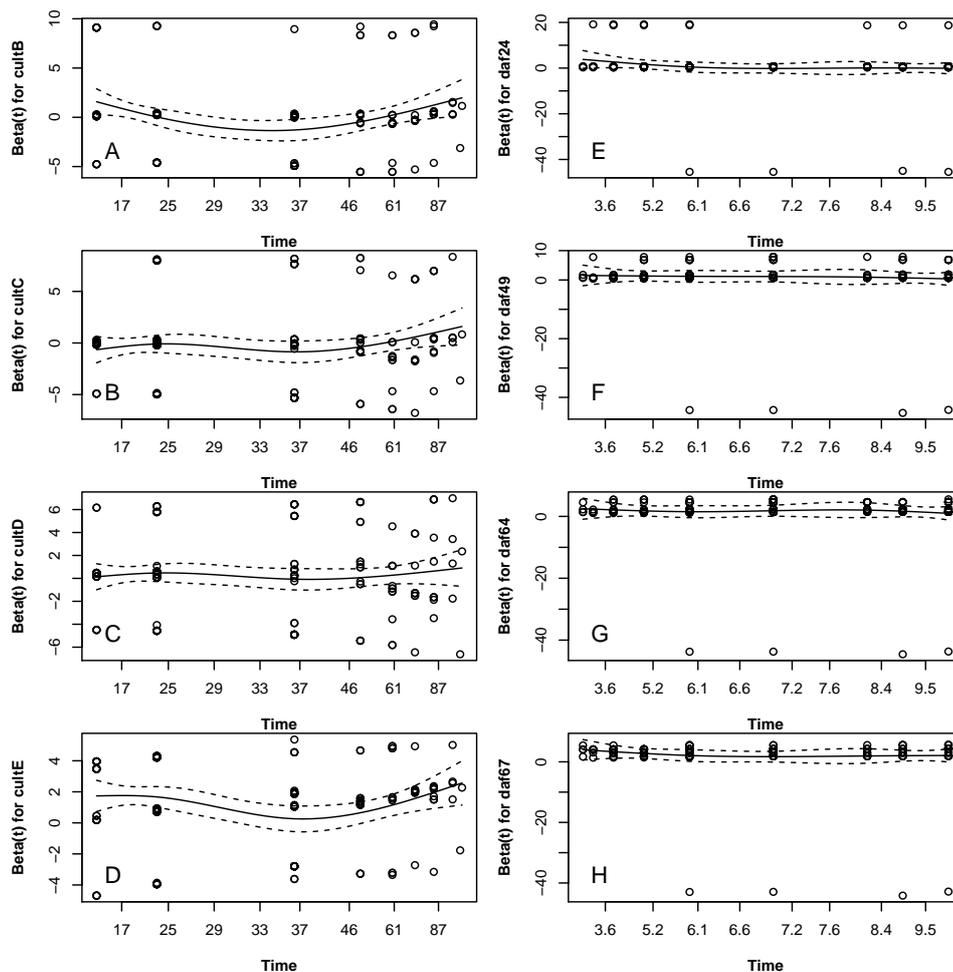


FIGURA 5.2 Resíduos padronizados de Schoenfeld estimados para o modelo semi-paramétrico de Cox em função dos tempos para cada covariável no estudo. Gráficos **A**, **B**, **C** e **D** para avaliação do efeito de cultivares (Exemplo 1) e gráficos **E**, **F**, **G** e **H** para avaliação do efeito do momento em que os frutos foram inoculados e protegidos (Exemplo 2).

No exemplo 2, os frutos observados têm a árvore como agrupamento natural, o que pode levar a tempos para expressão dos sintomas não independentes. A introdução de um efeito aleatório para cada árvore (fragilidade) torna as estimativas dos efeitos das covariáveis mais consistentes e aumenta a confiança nas estimativas (Carvalho et al., 2011). Para nenhum método de estimação e distribuição da fragilidade a variância do efeito aleatório de árvore foi significativa (FIGURA 5.3), sugerindo que observações de diferentes frutos provenientes de uma mesma árvore podem ser considerados independentes para o tempo de expressão dos sintomas. A hipótese nula de que os efeitos dos momentos de inoculação são iguais a zero foi rejeitada pelo teste de Wald nos quatro modelos, além de proporcionarem estimativas semelhantes para os parâmetros.

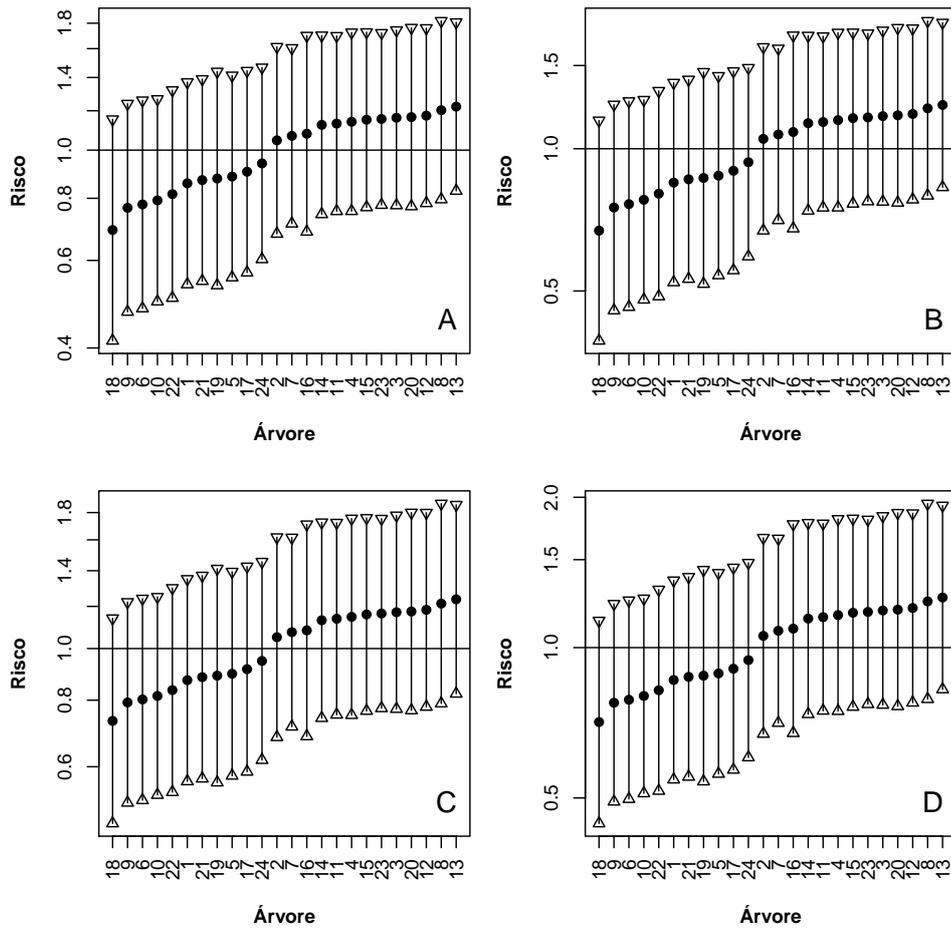


FIGURA 5.3 Estimativas pontuais de fragilidade e respectivos intervalos com 95% de confiança, utilizando diferentes distribuições para o efeito de fragilidade (Gama e Lognormal) e algoritmos de estimação (EM, AIC e REML): (A) Gama-EM com variância do efeito aleatório de 0,078 ($p=0,14$), (B) Gama-AIC com variância do efeito aleatório de 0,087 ($p=0,14$), (C) Gauss-REML com variância do efeito aleatório de 0,074 ($p=0,14$), (D) Gauss-AIC com variância do efeito aleatório de 0,085 ($p=0,13$).

Nos gráficos dos intervalos de confiança das fragilidades para cada árvore, ordenadas pela estimativa pontual da variância (FIGURA 5.3), não há alteração na ordem das fragilidades entre os modelos e todos os intervalos de confiança contêm o valor um, o que indica não haver árvore com efeito diferenciado sobre a doença. Destaca-se que árvores com fragilidades acima de um tendem a expressar sintomas nos frutos com taxa mais rápida que sob o modelo de Cox clássico e aquelas com fragilidades menores que um teriam tempos maiores até os sintomas. Diante disso, considerou-se que os modelos com fragilidade são equivalentes ao modelo de Cox clássico utilizado na estimativa do efeito

do momento da inoculação do fruto na incidência de podridão parda.

Para o risco relativo apresentado na TABELA 5.2, se o valor 1 estiver entre os limites do intervalo de confiança (IC) indica não haver evidências de que os riscos de expressar sintomas diferem entre os tratamentos e aquele utilizado como padrão, neste caso a cultivar A (exemplo 1) por ter maior número de frutos e o 17 daf (exemplo 2) por ser o menor valor na escala. Assim, o risco relativo de expressar sintomas na cultivar B ou 24 daf não diferem significativamente dos padrões. Entretanto, os frutos da cultivar E e momento de inoculação 67 daf têm, respectivamente, 3,82 e 9,60 vezes o risco de expressar sintomas em relação aos padrões. Destaca-se a boa precisão das estimativas associadas as razões de riscos para o exemplo 1, observada a pequena amplitude dos intervalos de confiança, o que não ocorre para o exemplo 2.

TABELA 5.2 Estimativas do risco relativo de expressão de sintomas de *Monilinia fructicola* estimados pelo modelo semiparamétrico de Cox, seguidos dos intervalos com 95% de confiança e coeficiente de correlação linear simples (r_{H_0}) entre os resíduos padronizados de Schoenfeld e o tempo, para cultivares (Exemplo 1) e momento de inoculação do fruto (Exemplo 2).

Covariável	Estimativas dos Parâmetros			Qualidade do Ajuste	
	Risco Relativo	IC (95%)		r_{H_0}	p-valor
		LI	LS		
Cultivar	Exemplo 1				
A	-	-	-	-	-
B	0,82 ^{ns}	0,496	1,362	0,0741	0,300
C	1,19 ^{ns}	0,703	2,000	-0,0508	0,476
D	1,34 ^{ns}	0,851	2,100	0,0010	0,988
E	3,82*	2,559	5,706	-0,0716	0,327
Global	-	-	-	-	0,368
DAF	Exemplo 2				
17	-	-	-	-	-
24	1,86 ^{ns}	0,582	5,930	-0,1060	0,151
49	2,77 ^{ns}	0,972	7,880	-0,0512	0,490
64	5,20*	1,883	14,370	-0,0401	0,589
67	9,60*	3,501	26,310	-0,0530	0,0476
Global	-	-	-	-	0,514

- não se aplica; LI e LS correspondem, respectivamente, aos limites inferior e superior do intervalo de confiança para o risco relativo; DAF: dias após pleno florescimento.

Muitos trabalhos apresentados na literatura utilizam data única de avaliação para comparar tratamentos avaliados no controle de doenças em frutos na pós-colheita. Geralmente, os dados são submetidos a análise de variância após transformação da variável original para atender às pressuposições da análise como observado em alguns trabalhos discutidos a seguir. Moreira e May-De Mio (2006) avaliaram o efeito de fungos antagonistas e produtos químicos no controle de podridão parda de pêssegos em pós-colheita, considerando apenas a incidência média aos três dias de incubação. O efeito da irradiação UV-C e o intervalo entre tratamento e inoculação sobre a incidência de podridão parda em pêssegos foi avaliado separadamente aos três e quatro dias de armazenamento, considerando o esquema fatorial na análise de variância e teste de comparação de médias no trabalho de Bassetto et al. (2007). Sestari et al. (2008) avaliaram o efeito de tratamentos físicos e químicos sobre o percentual de pêssegos podres em avaliações diárias por nove dias, com análise de variância para comparação dos tratamentos em cada dia. A incidência de podridão parda em pós-colheita foi avaliada aos sete dias de incubação em pêssegos provenientes de três pomares e em três safras consecutivas, em amostras coletadas em 10 árvores (10 frutos por árvore) no trabalho de Villarino et al. (2010), apresentando-se somente a incidência aos sete dias sem comparar pomares, safras ou considerar possível efeito de árvore. Da mesma forma, Pinho et al. (2010) avaliaram a incidência de *Colletotrichum musae* em bananas de nove genótipos inoculados com seis concentrações de inóculo em duas datas de avaliação considerando-se o esquema fatorial na análise de variância.

As técnicas de análise de sobrevivência apresentadas têm extensões ou diferentes abordagens para problemas mais complexos. A ocorrência do evento antes da observação no indivíduo (dados com censura à esquerda) ou a ocorrência em um intervalo de tempo (censura intervalar) necessitam de abordagens diferentes das apresentadas (Scherm e Ojiambo, 2004; Carvalho et al., 2011). Além disso, quando o pressuposto de riscos proporcionais no modelo de Cox não é atendido, pode-se utilizar modelos cujas covariáveis são tempo-dependentes, denominados de modelos de tempo de vida acelerados (Raman e Venkatesan, 2012). Em casos de covariáveis contínuas, como o número de dias após o florescimento no exemplo 2, a relação entre covariável e os riscos associados podem ser estimados respeitando a forma funcional da covariável (Gray, 1994) com funções não paramétricas, como regressão linear local (lowess) e as funções spline (Carvalho et al., 2011).

5.4 CONCLUSÕES

A apresentação das técnicas mais usuais em análise de sobrevivência aliada à aplicação em dois problemas reais permitiram ilustrar uma primeira abordagem para dados de tempo-ocorrência. Nos exemplos apresentados, a análise conjunta com efeito basal variando entre safras, a verificação de um fator de agrupamento (árvores) como efeito aleatório além do pressuposto de riscos proporcionais para o modelo de Cox, são procedimentos padrões em problemas convencionais e permitem análise respeitando a natureza da variável.

REFERÊNCIAS

Akbar, A.; Pasha, G.R.; Naqvi, S.F.H. Properties of Kaplan-Meier estimator: group comparison of survival curves. **European Journal of Scientific Research**, 32(3):391-397, 2009.

Bassetto, E.; Amorim, L.; Benato, E.A.; Gonçalves, F.P.; Lourenço, S.A. Efeito da radiação UV-C no controle da podridão parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pós-colheita de pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, 32(5): 393-399, 2007.

Bewick, V.; Cheek, L.; Ball, J. Statistics review 12: Survival analysis. **Critical Care**, 8(5):389-394, 2004.

Carvalho, M.S.; Andreozzi, V.L.; Codeço, C.T.; Campos, D.P.; Barbosa, M.T.S.; Shimakura, S.E. **Análise de Sobrevivência: teoria e aplicações em saúde**, 2^a.Ed. Rio de Janeiro RJ. FIOCRUZ 432p, 2011.

Carvalho, V.L.; Cunha, R.L.; Chalfun, N.N.J.; Moura, P.H.A. Alternativas de controle pós-colheita da podridão-parda e da podridão-mole em frutos de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 31(1):78-83, 2009.

Colosimo, E.A.; Giolo, S.R. **Análise de sobrevivência aplicada**. Editora Edgard Blücher, São Paulo, 2006.

Copes, W.E.; Thomson, J.L. Survival analysis to determine the length of the incubation period of *Camellia twig blight* caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Disease**, 92:1177-1182, 2008.

Couto, M.R.M.; Jacobi, L.F., Dal'Col Lúcio, A.; Lopes, S.J.; Medeiros, S.L.P. Análise de sobrevida da área foliar de meloeiros em sistema hidropônico. **Ciência e Natura**, 31(1):7-16, 2009.

Cox, D.R. Regression models and life tables (with discussion). **Journal Royal Statistical Society**, 34:187-220, 1972.

Dallot, S.; Gottwald, T.; Labonne, G.; Quiot, J.B. Factors affecting the spread of *Plum pox virus* strain M in peach orchards subjected to roguing in France. **Phytopathology**,

94:1390-1398, 2004.

Goel, M.K.; Khanna, P.; Kishore, J. Understanding survival analysis: Kaplan-Meier estimate. **International Journal of Ayurveda Research**, 1(4):274-278, 2010.

Gorfine, M.; Zucker, D.M.; Hsu, L. Prospective survival analysis with a general semiparametric shared frailty model: a pseudo full likelihood approach. **Biometrika**, 93(3):735-741, 2006.

Gray, R.J. Spline-based tests in survival analysis. **Biometrics**, 50:640-652, 1994.

Kaplan, E.L.; Meier, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, 53(282):457-481, 1958.

Kosorok, M.R.; Lee, B.L.; Pine, J.P. Robust inference for univariate proportional hazards frailty regression models. **The Annals of Statistics**, 32(4):1448-1491, 2004.

Krüger, R.F.; Krolow, T.K.; Azevedo, R.R.; Duarte, J.L.P.; Ribeiro, P.B. Sobrevivência e reprodução de *Synthesiomyia nudiseta* (Diptera, Muscidae). **Iheringia**, Série Zoologia 98(1):45-49, 2008.

Lima Junior, P.; Silveira, F.L.; Ostermann, F. Análise de sobrevivência aplicada ao estudo do fluxo escolar nos cursos de graduação em física: um exemplo de uma universidade brasileira. **Revista Brasileira de Ensino de Física** 34(1): 1403.1-1403.10, 2012.

Martins, C.R.; Cantillano, R.F.F.; Treptow, R.; Farias, R.M.; Rombaldi, C.V. Influência do manejo do solo na conservação, qualidade sensorial, teor de nutrientes e incidência de fitopatias e fisiopatias pós-colheita de pêssegos cv. Cerrito. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 24(2):359-363, 2002.

Moreira, L.M.; May-De Mio, L.L. Efeito de fungos antagonistas e produtos químicos no controle da podridão parda em pomares de pessegueiro. **Revista Floresta**, 36(2): 287-293, 2006.

McGilchrist, C.A.; Aisbett, C.W. Regression with frailty in survival analysis. **Biometrics**, 47:461-466, 1991.

Ojiambo, P.S.; Scherm, H. Survival analysis of time to abscission of blueberry leaves affected by Septoria leaf spot. **Phytopathology**, 95:108-113, 2004.

Oliveira, E.L.; Rios-Neto, E.G.; Oliveira, A.M.H.C. Transições dos jovens para o mercado de trabalho, primeiro filho e saída da escola: o caso brasileiro. **Revista Brasileira de Estudo de População**, 23(1):109-127, 2006.

Oliveira, A.M.H.C.; Rios-Neto, E.G. Uma Avaliação Experimental dos Impactos da Política de Qualificação Profissional no Brasil. **Revista Brasileira de Economia**, 61(3):353-378, 2007.

Pinho, D.B.; Mizobutsi, E.H.; Silva, S.O.; Reis, S.T.; Mizobutsi, G.P.; Xavier, A.A.; Ribeiro, R.C.F.; Maia, V.M. Avaliação de genótipos de bananeira à *Colletotrichum musae* em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 32(3):786-790, 2010.

Raman, T.T.; Venkatesan, P. Accelerated failure time frailty model in survival analysis. **International Journal of Science and Technology**, 2(2):65-69, 2012.

R Development Core Team. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2012.

Sargent, D.J. A general framework for random effects survival analysis in the Cox proportional hazards setting. **Biometrics**, 54:1486-1497, 1998.

Scherm, H.; Ojiambo, P.S. Applications of survival analysis in botanical epidemiology. **Phytopathology** 94:1022-1026, 2004.

Sestari, I.; Giehl, R.F.H.; Weber, A.; Brackmann, A. Alternativas para o controle de podridões pós-colheita em pêssegos frigoconservados. **Revista FZVA**, 15(2):11-18, 2008.

Setti, B.; Bencheikh, M.; Henni, J.E.; Claire, N. Survival analysis to determine the length of latent period of *Mycosphaerella pinodes* on peas (*Pisum sativum* L.). **African Journal of Microbiology Research**, 4(18):1897-1903, 2010.

Therneau, T. **A Package for Survival Analysis in S**. R package version 2.36-12, 2012.

Villarino, M.; Melgarejo, P.; Usall, J.; Segarra, J.; De Cal, A. Primary inoculum sources

of *Monilinia spp.* in Spanish peach orchards and their relative importance in brown rot. **Plant Disease**, 94:1048-1054, 2010.

Apêndice

Comandos em R utilizados no artigo “Análise de sobrevivência como ferramenta no estudo de doença na pós-colheita de pêssegos”.

```
require(survival)
source("Rfun.r")

##### Exemplo 1
exemplo1 <- read.csv('dados1.csv', header=T)
# Kaplan-Meier
km1<-survfit(Surv(tempo,status)~ cultivar,data=subset(exemplo1,ano=="1"))
km2<-survfit(Surv(tempo,status)~ cultivar,data=subset(exemplo1,ano=="2"))
km<-survfit(Surv(tempo, status)~ cultivar, data=exemplo1)
plot(km1, conf.int=F, xlab="horas", ylab="S(t)", main="")
plot(km2, conf.int=F, xlab="horas", ylab="S(t)", main="")
plot(km, conf.int=F, xlab="horas", ylab="S(t)", main="")

# Tempo mediano
survdif(Surv(tempo, status)~ cultivar, data=subset(exemplo1, ano=="1"))
survdif(Surv(tempo, status)~ cultivar, data=subset(exemplo1, ano=="2"))
survdif(Surv(tempo, status)~ cultivar + strata(ano), data= exemplo1)

# Regressão de Cox
mod1 <- coxph(Surv(tempo, status) ~ cultivar + strata(ano), data=exemplo1)
summary(mod1)

# Resíduos de Schoenfeld
residuo.mod1 <- cox.zph(mod1)
plot(residuo.mod1, var="cultivarB", main="")
plot(residuo.mod1, var="cultivarC", main="")
plot(residuo.mod1, var="cultivarD", main="")
plot(residuo.mod1, var="cultivarE", main="")

##### Exemplo 2
exemplo2 <- read.csv('dados2.csv', header=T)

# Kaplan-Meier
km1<-survfit(Surv(tempo,status)~ daf, data=subset(exemplo2, ano=="1"))
km2<-survfit(Surv(tempo,status)~ daf, data=subset(exemplo2, ano=="2"))
km<-survfit(Surv(tempo, status)~ daf, data=exemplo2)
plot(km1, conf.int=F, xlab="dias", ylab="S(t)", main="")
plot(km2, conf.int=F, xlab="dias", ylab="S(t)", main="")
plot(km, conf.int=F, xlab="dias", ylab="S(t)", main="")

# Tempo mediano
survdif(Surv(tempo, status)~ daf, data=subset(exemplo2, ano=="1"))
survdif(Surv(tempo, status)~ daf, data=subset(exemplo2, ano=="2"))
survdif(Surv(tempo, status)~ daf + strata(ano), data= exemplo2)

# Regressão de Cox
mod1<- coxph(Surv(tempo, status)~ daf + strata(ano), data=exemplo2)
mod2<- coxph(Surv(tempo, status)~ daf + strata(ano)+ frailty(arvore), data=exemplo2)
mod3<- coxph(Surv(tempo, status) ~ daf + strata(ano)+ frailty(arvore, method="aic"), data=exemplo2)
mod4<- coxph(Surv(tempo, status) ~ daf + strata(ano)+ frailty(arvore, dist="gauss"), data=exemplo2)
mod5<- coxph(Surv(tempo, status) ~ daf + strata(ano)+ frailty(arvore, dist="gauss", method="aic"), data=exemplo2)

# Gráfico de fragilidade
plot.frail(exemplo2$arvore, mod2, xlab="Árvore", main="")
plot.frail(exemplo2$arvore, mod3, xlab="Árvore", main="")
plot.frail(exemplo2$arvore, mod4, xlab="Árvore", main="")
plot.frail(exemplo2$arvore, mod5, xlab="Árvore", main="")

# Resíduos de Schoenfeld para o modelo de Cox sem fragilidade
residuo.mod <- cox.zph(mod)
plot(residuo.mod, var="daf24", main="")
plot(residuo.mod, var="daf49", main="")
plot(residuo.mod, var="daf64", main="")
plot(residuo.mod, var="daf67", main="")
```

6 CONCLUSÕES GERAIS

Diante do exposto sobre modelagem estatística e suas aplicações no estudo das principais doenças do pessegueiro, pode-se concluir:

Há relação entre a parametrização do modelo logístico, suas medidas de curvatura e de vício e o formato da superfície e dos perfis de verossimilhança. Desta forma, a escolha da parametrização afeta sua aproximação linear e o processo de inferência.

A aplicação da técnica de modelos mistos permitiu verificar que a severidade da ferrugem do pessegueiro é mais severa nas folhas dos ramos localizados na parte superior da planta quando comparados aos ramos inferiores.

A análise de sobrevivência aplicada aos dados de incidência de podridão parda de pêssegos proporcionou a análise dos dados respeitando a natureza do fenômeno em estudo. Considerar safras conjuntamente, verificar a existência de um fator de agrupamento como efeito aleatório e do pressuposto de riscos proporcionais são procedimentos que qualificam as análises em problemas convencionais.