

**UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

DISSERTAÇÃO

**METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DA REQUEIMA E SELEÇÃO DE
GENÓTIPOS DE TOMATE RESISTENTES A *Phytophthora infestans*
(Mont) de Bary**

FÁBIO MATHIAS CORRÊA

2008



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**METODOLOGIA DE AVALIAÇÃO DA REQUEIMA E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE
TOMATE RESISTENTES A *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary**

FÁBIO MATHIAS CORRÊA

Sob a Orientação da Professora
Margarida Goréte Ferreira do Carmo

e Co-orientação dos Professores
Carlos Pimentel
Júlio Silvio de Souza Bueno Filho

Dissertação submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**,
no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia,
Área de Concentração em Produção Vegetal.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2008

635.642
C824m
T

Corrêa, Fábio Mathias, 1982-
Metodologia de avaliação da requeima e
seleção de genótipos de tomate resistentes
a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary /
Fábio Mathias Corrêa - 2008.
62f. : il.

Orientador: Margarida Goréte Ferreira do
Carmo.

Dissertação (Mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto
de Agronomia.

Bibliografia: f. 49-55.

1. Tomate - Doenças e pragas - Controle
- Teses. 2. Pragas agrícolas - Teses. 3.
Phytophthora infestans - Teses. I. Rocha,
Mariella Camargo, 1963- . II. Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto
de Agronomia. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

FÁBIO MATHIAS CORRÊA

Dissertação/Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, área de Concentração em Produção vegetal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/02/2008

Margarida Gorété Ferreira do Carmo (Dra.) UFRRJ
Orientador

Janaína Ribeiro Costa (Dra.) EMBRAPA

Luiz Antônio Iseafea (Ph.D.)

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Goréte, pela orientação, atenção e paciência ao longo desses sete anos de convivência.

A todos os funcionários do Setor de Horticultura pela ajuda sempre presente nos trabalhos de campo.

Ao Jairo e à Ellen pela atenção e gentileza com os trabalhos burocráticos.

Aos professores Aldir e Carlos Pimentel, pois contribuíram para a minha formação.

Ao professor Maurício Ballesteiro, pela amizade e também pelas longas horas de estudo.

Aos estagiários, que sempre me ajudaram e que sem eles o trabalho de campo não poderia ser realizado.

Ao professor Julio (UFLA), pela paciência e por ter acreditado em mim.

A BB, vulgarmente conhecida como Mariella Camargo Rocha, pela amizade e também pela força, nos trabalhos de campo.

Aos colegas da turma de mestrado.

Aos meus pais, por sempre me apoiarem nos meus estudos.

A Raquel, pela amizade, companheirismo e compreensão.

A todas as pessoas que com suas contribuições, tornaram possível a conclusão dessa dissertação, pois as conquistas nunca são individuais e sim coletivas.

RESUMO GERAL

CORRÊA, Fábio Mathias. **Metodologia de avaliação da requeima e seleção de genótipos de tomate resistentes a *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary**. 2008. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

A requeima, causada por *Phytophthora infestans*, é uma das principais doenças do tomateiro. Para quantificar a severidade da doença, não há um método padrão, o que pode interferir na comparação de resultados entre e dentro de experimentos, uma vez que a escala de avaliação da doença deve ser padronizada. Uma escala diagramática deve representar toda a variação da severidade no campo e possibilitar avaliações precisas e acuradas, independente das diferenças entre avaliadores. Outro fator importante no estudo epidemiológico é a correta aplicação das metodologias de avaliação de tratamentos ou genótipos. Portanto, o presente trabalho objetivou: 1) desenvolver e validar uma escala diagramática para quantificação da severidade da requeima em folhas de tomateiro e 2) comparar a utilização de valores de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) com a utilização de modelos mistos e modelos lineares mistos generalizados na seleção de genótipos de tomateiro resistentes a requeima. Três escalas diagramáticas foram propostas para avaliar a requeima em folhas de tomateiro. A primeira, denominada escala-detalhada, foi composta por nove valores de intensidade de severidade (0, 3, 6, 12, 22, 40, 60, 77 e 90%), segunda escala, chamada de escala-simplificada, foi composta por sete valores de severidade (0, 3, 12, 22, 40, 60 e 77%) e a terceira, de James-modificada, foi composta por sete valores de severidade (0, 1, 5, 10, 16, 32 e 50%). Para a validação das escalas, 24 avaliadores realizaram duas avaliações em 50 folhas de tomateiro com diferentes níveis de severidade, e a precisão, acurácia e a repetibilidade dos avaliadores foram avaliados através de regressão linear simples, análise de variância dos erros e coeficiente de correlação de Pearson. Dentre as escalas propostas, duas (escala detalhada e escala simplificada) apresentaram uma boa precisão e acurácia para a avaliação da severidade da requeima em folhas de tomateiro. Quanto aos métodos de análise, constatou-se que o uso direto da AACPD, obtido pela soma de Riemann, não conseguiu descrever toda variação existente na amostra, provavelmente pelo grande número de tratamentos. O uso de modelos mistos generalizados, que considera a distribuição de Poisson, foi mais adequado para descrever o progresso da doença, sendo mais indicado na seleção de genótipos de tomate resistentes a doença.

Palavras-chaves: Escala diagramática; epidemiologia; AACPD; modelos generalizados.

GENERAL ABSTRACT

CORREA, Fabio Mathias. **Methodology for evaluation and selection of a tomato (*Solanum* sp.) resistant to the late blight caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.** 2008. 55p Dissertation (Master in Fitotecnia). Agronomy Institute, Fitotecnia Department, Rural Federal University of Rio de Janeiro, Seropedica, RJ, 2008.

The late blight of the tomato, caused by *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, is one of the main diseases of the tomato. However, there is no standard method to quantify the severity of the disease, and this can interfere with the comparison of results among and inside experiments since the scale of evaluation of the disease should be standardized. A diagrammatic scale should represent every variation of the existent disease in the field and facilitate accurate evaluations notwithstanding the different evaluators. Another important factor in epidemiological studies is the correct application of methodologies for evaluating treatments or genotypes. Therefore, the present work has as objectives: 1) to develop and to validate a diagrammatic scale for quantification of the severity of the late blight in tomato leaves and 2) to compare the use of AUDPC (area under disease progress curve, Shanner & Finney, 1977) with the use of mixed models and generalized mixed lineal models in the selection of resistant to late blight tomato genotypes. Three diagrammatic scales were proposed for the evaluation of the late blight in tomato leaves. The first scale, denominated detailed scale, was composed by nine values of severity intensity (0, 3, 6, 12, 22, 40, 60, 77 and 90%), the second scale, called simplified scale, was composed by seven severity values (0, 3, 12, 22, 40, 60 and 77%) and the third, the James modified scale, composed by seven severity values (0, 1, 5, 10, 16, 32 and 50%). For the validation of those scales, 24 evaluators accomplished two evaluations in 50 tomato leaves with different severity levels, where the precision, accuracy and repeatability of the evaluators were appraised through simple lineal regression, analysis of variance of errors, and Pearson correlation coefficient. Among the proposed scales, two came out as tools that allow a good precision and accuracy in the evaluation of the severity of the late blight in tomato leaves – the detailed scale and the simplified scale. As to the methods of analysis, the direct use of AUDPC, calculated by the Riemann sum, was not able to describe every existent variation in the sample, probably due to the great number of treatments. The use of generalized mixed models, which considers the Poisson distribution, proved to be more appropriate to describe the epidemic caused by late blight in tomato, thus being more suitable in the selection of late blight resistant tomato genotypes.

Keywords: diagrammatic scale; epidemiology; AUDPC; generalized models.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO GERAL	1
2	REVISAO BIBLIOGRÁFICA	2
	CAPÍTULO I	8
	ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA REQUEIMA EM FOLHAS DE TOMATEIRO	8
3	RESUMO	9
4	ABSTRACT	10
5	INTRODUÇÃO	11
5.1	MATERIAL E MÉTODOS	12
5.1.1	Elaboração da escala diagramatica	12
5.1.2	Validação da escala diagramatica	12
5.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5.2.1	Elaboração de escalas diagramáticas para quantificação da severidade da requeima em tomateiro	14
4.3	CONCLUSÕES	24
	CAPÍTULO II	25
	MODELOS LINEARES MISTOS E GENERALIZADOS MISTOS NA AVALIAÇÃO DA SEVERIDADE DA REQUEIMA EM TOMATEIRO	25
6	RESUMO	26
7	ABSTRACT	27
8	INTRODUÇÃO	28
8.1	MATERIAL E MÉTODOS	28
8.1.1	Aplicação direta da AACPD	29
8.1.2	Modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição normal	29
8.1.3	Modelo considerando uma estrutura de correlação AR(1)	30
8.1.4	Modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição de Poisson	30
8.1.5	Modelo logístico	30
8.2	RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
8.2.1	Ajuste do modelo com aplicação direta da AACPD	32
8.2.2	Ajuste do modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição normal	36
8.2.3	Modelo incorporando uma matriz de correlação	40
8.2.4	Ajuste do modelo em parcelas subdivididas considerando a aproximação para Poisson	42
8.2.5	Modelo logístico	45
9	CONCLUSÕES	47
10	CONCLUSÕES GERAIS	48

1 INTRODUÇÃO GERAL

O tomate (*Solanum lycopersicon* L. = *Lycopersicon esculentum* Mill) (Peralta & Spooner, 2000) é a segunda hortaliça mais produzida no Brasil, com cerca de 3.431.428 toneladas. A produção concentra-se, principalmente, na região Sudeste, responsável por quase 50% do total nacional. O Estado do Rio de Janeiro ocupa uma posição de destaque na produtividade nacional, com média de 73.654 kg ha⁻¹ no ano de 2006 (IBGE, 2006). Contudo, a produção de tomate na maioria das áreas produtoras é baseada no uso indiscriminado de defensivos agrícolas, para o controle de diferentes pragas e doenças. Dentre as doenças que ocorrem nas lavouras comerciais de tomate, a requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, é considerada a mais destrutiva.

A requeima ocorre em praticamente todas as regiões produtoras de tomate do país e estima-se que 15% a 20% dos custos de produção são utilizados no controle da doença. Existe também a necessidade da mudança constante de fungicidas, decorrente do surgimento e/ou predominância de variantes de *P. infestans* resistentes aos princípios ativos utilizados no seu controle. O uso de variedades resistentes à doença, pode contribuir para redução dos custos com os defensivos agrícolas. As principais fontes de resistência estão nas espécies selvagens de *S. hirsutum* e *S. chilense*. No entanto, o cruzamento destas espécies com *S. lycopersicom*, é difícil, o que reforça a importância de se encontrarem genótipos de *S. lycopersicon* resistentes à requeima (Mizubuti, 2001).

Para a seleção de variedades resistentes e desenvolvimento de estratégias de controle de determinada doença, é necessário a utilização de métodos de quantificação. Várias técnicas podem ser utilizadas para avaliar a severidade de doenças, como: imagens de vídeo, fotografia infravermelha, reflectância espectral e escalas diagramáticas.

O uso de escalas diagramáticas é um método simples e direto, sendo considerado o método de menor custo na avaliação de doenças. Este método consiste na obtenção de uma estimativa de área foliar lesionada, que é obtida através de uma série de representações ilustradas de plantas ou partes de plantas com diferentes níveis de severidade. As estimativas de severidade devem ser precisas e acuradas para se poder avaliar corretamente a eficiência de estratégias de manejo, quantificar e modelar o progresso da doença no tempo e no espaço, para prever quantidades de doenças e elucidar a relação entre injúria e dano.

Tendo em vista a importância da requeima nas áreas produtoras de tomate no Brasil e no mundo, a elaboração e validação de uma escala diagramática para a avaliação da severidade da doença em folhas de tomateiro se faz necessária, uma vez que não se tem um padrão de escalas para avaliação da doença na cultura.

A curva de progresso é a melhor representação de uma epidemia e, por meio destas interações entre patógeno, hospedeiro e ambiente podem ser caracterizadas e, estratégias de controle desenvolvidas. As curvas de progresso podem ser modeladas utilizando-se desde modelos lineares simples até os modelos não lineares. Atualmente, com o avanço da computação, descrever epidemias através de modelos lineares e não lineares se tornou uma atividade de fácil aplicação. Contudo, o ajuste do modelo que melhor explica o fenômeno observado ainda é uma tarefa que exige maiores estudos, pois o uso do modelo adequado poderá permitir a escolha da melhor estratégia de controle da doença ou a seleção de genótipos mais resistente à doença. Em vista do exposto, esta dissertação tem como objetivos:

- Elaborar escalas diagramáticas para a quantificação da requeima em folhas de tomateiro;
- Avaliar o ajuste de modelos lineares mistos, lineares generalizados mistos e um modelo não-linear na descrição do progresso da requeima, para a seleção de genótipos de tomateiro resistentes à requeima.

2 REVISAO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O tomateiro e a requeima

Diversos autores procuraram identificar os principais fatores responsáveis pelas perdas na produção de tomate. Entre os principais fatores freqüentemente relatados, estão as anomalias fisiológicas com a podridão apical e rachadura dos frutos, e doenças como a pinta-preta (*Alternaria solani* (Ellis & Martin) L.R. Jones & Grout), podridão-mole (*Pectobacterium carotovorum* subsp; *carotovorum*), requeima (*Phytophthora infestans* (Mont) de Bary) e TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus), o ataque de pragas como a broca pequena do fruto (*Neuleucinoides elegantalis*), traça do tomateiro (*Tuta absoluta*), pássaros e tamanho não comercial dos frutos (Picanço et. al. 1998; Paula, 1997; Loss et. al. 2004).

Independente do sistema de cultivo, o uso de cultivares com resistência genética a pragas e doenças é uma das principais formas de se aumentar a produtividade e, conseqüentemente reduzir o uso de defensivos agrícolas. O alto potencial destruidor de pragas e doenças que atacam o tomate tem preocupado os produtores de tomate de mesa, pois na ausência de métodos alternativos de controle, o uso de defensivos torna-se contínuo. Como fator agravante pode-se citar as grandes extensões de lavouras com uso contínuo da área e as aplicações de defensivos. Atualmente, o custo com defensivos agrícolas corresponde a 35% do custo total de produção (Melo, 2003).

A requeima é uma das doenças mais importantes da cultura e ocorre em praticamente todas as regiões onde se cultiva tomate. A doença é mais severa em locais úmidos e com temperatura amena (15-25 °C) por favorecerem a germinação e sobrevivência dos esporângios/zoósporos e aumento do número de infecções (Sing et. al. 2004; Turkensteen et. al. 2000).

As espécies de *Phytophthora* são classificadas no reino Stramenopila e filo Oomycota. São diplóides e contém celulose na parede celular, diferentemente dos fungos em geral que apresentam quitina na parede celular. É um organismo heterotálico, e sua reprodução sexuada ocorre quando há cruzamentos de isolados dos grupos de compatibilidade AI e A2 (Goodwin, 1997). A ocorrência de isolados dos dois grupos numa mesma região, sobre a mesma cultura, aumenta as chances de reprodução sexuada e o surgimento de recombinantes (Fry et. al. 1993; Reis et. al. 2002; Reis, et. al. 2006), os quais podem apresentar características superiores de adaptabilidade, tais como: maior agressividade e virulência (Lee et. al., 2002), e tolerância ou resistência a fungicidas (Hanson. & Shattock, 1998; Fontem, et. al. 2005) dificultando ainda mais o manejo da doença (Goodwin, 1997). As espécies de *Phytophthora* apresentam estruturas com motilidade, os zoósporos e os processos de dispersão espacial são, em maioria, observados em campo e globalmente. Dentre as diversas espécies de *Phytophthora*, os oósporos constituem o inóculo primário no desenvolvimento da epidemia e muitos destes, residem no solo. Entretanto, outras espécies de *Phytophthora* possuem clamidósporos residentes no solo e a sobrevivência do patógeno ocorre através da presença de micélio ou esporângios tubérculos ou raízes no solo. A expansão secundária das lesões é originária a partir da repetição do ciclo assexuado, onde ocorre a formação de esporângios (Ristaino & Gumpertz, 2000).

A requeima ataca toda a parte aérea da planta. Os sintomas mais típicos da doença são observados nas folhas, apesar de incidirem também nos frutos, pecíolos e ramos. Iniciam-se como lesões aquosas, que ficam necrosadas e com coloração verde clara dos bordos foliares. Sob condições de alta umidade, na face inferior das lesões surge um mofo esbranquiçado formado por esporangióforos e esporângios. A esporulação do fitopatógeno é mais freqüente nas bordas das lesões, onde se encontra o tecido afetado, porém ainda vivo (Reis & Lopes, 2002).

O controle da doença no campo é bastante difícil, uma vez que o período de latência da doença está entre 4 e 10 dias (Singh *et. al.* 2004). Portanto, novas lesões podem surgir semanalmente. A aplicação de fungicidas para seu controle, em geral, ocorre em intervalos entre quatro e seis dias (Duarte, *et. al.* 2002). Não são raros os isolados de *P. infestans* resistentes a produtos químicos (Hanson & Shattock, 1998; Gisi & Cohen, 1996). Portanto, outras medidas de controle associadas ao controle químico devem ser adotadas, como por exemplo, o controle cultural, biológico e genético (Mizubuti, 2001). A medida de controle mais eficiente seria o uso de variedades resistentes à doença. No caso do tomate, são conhecidos três genes de resistência para *P. infestans*, denominados *Ph-1* e *Ph-2* e *Ph-3*, sendo que o primeiro está localizado no cromossomo 7, o segundo é locus simples, conferindo resistência parcial ao patógeno e está localizado no cromossomo 10 e o terceiro está localizado no cromossomo 9 (Perirce, 1971; Chunwongse *et. al.* 1998; Morear *et. al.* 1998).

Estratégia de melhoramento visando a obtenção de cultivares resistentes é relativamente simples quando se objetiva a introdução de genes que conferem resistência do tipo vertical. O procedimento mais indicado é o uso de retrocruzamentos combinado com a inoculação artificial para seleção de indivíduos resistentes. No entanto, dada à fácil e rápida seleção de isolados do patógeno virulentos às novas variedades com genes R, este tipo de resistência pode ser facilmente “quebrada” tornando-se ineficiente para o controle da requeima, ainda, durante os procedimentos de seleção para a resistência à doença. Variedades altamente produtivas, avaliadas em experimentos conduzidos com alta incidência de doenças para serem utilizadas como genitores, podem impedir a seleção de indivíduos portadores de resistência tipo horizontal (Van der Plank, 1976). As mais importantes fontes de resistência a doenças são as espécies selvagens de *S. hirsutum* e *S. chilense*, no entanto estas espécies são difíceis de serem cruzadas com *S. lycopersicum* (Prestes & Goulart, 1995).

2.2 Escalas diagramáticas na quantificação da severidade de doenças de plantas

A quantificação da doença é uma etapa importante em pesquisas voltadas para o estabelecimento de um programa de manejo de doenças de plantas. O desenvolvimento e/ou a comparação de métodos de quantificação podem prevenir sérios erros na obtenção dos dados, tanto para o estudo de medidas de controle, como na construção de curvas de progresso de doenças e estimativas de danos por ela causados (Nutter, *et. al.* 2006).

Várias técnicas podem ser utilizadas para avaliar a severidade da doença, como: imagens de vídeo, fotografia infravermelha e reflectância espectral. Tais técnicas requerem equipamentos sofisticados e caros, o que faz com que na maioria das vezes, a severidade de doenças foliares seja avaliada por escalas diagramáticas (Nilsson, 1995).

A elaboração de uma escala diagramática deve levar em consideração a lei de acuidade visual de Weber-Fechner, que diz: “a acuidade visual é proporcional ao logaritmo da intensidade de estímulo”. Entretanto, a lei de Weber-Fechner, não é uma lei, mas sim duas leis separadas: lei de Weber e lei de Fechner (Nutter Jr. & Esker, 2006).

Weber foi um pioneiro na pesquisa em psicofísica, e desenvolveu o conceito sobre limiar da diferença: que é a diferença mínima entre dois estímulos que pode ser detectada com certa confiança. A lei de Weber pode ser expressa matematicamente como: DMN (diferença mínima notável) = kS , onde k é a constante denominada de fração de Weber e S é o valor do estímulo padrão (Nutter Jr. & Esker, 2006).

A lei de Fechner é derivada da relação entre intensidade de estímulo e a magnitude percebida. A partir desta relação, Fechner, fez duas importantes suposições: 1) A DMN da lei de Weber é uma fração constante do estímulo, e 2) A DMN é uma unidade básica da magnitude percebida, de forma que um percentual da DMN se iguala ao outra DMN. Contudo, a leis de Weber e Fechner, nunca foram testadas para se ter a certeza de que a estimativa da severidade da doença é percebida pelo logaritmo da intensidade de estímulo, uma vez que nem todas as percepções

humanas obedecem a uma escala logarítma (Nutter Jr. & Esker, 2006).

A primeira escala para quantificação de doenças produzida com o auxílio da lei de Weber-Fechner, foi à escala de Horsfall & Barratt (1945). Nesta, os autores propuseram uma escala de avaliação com 12 classes de severidade, sendo: 0 a 3; 3 a 6; 6 a 12; 12 a 25; 25 a 50; 50 a 75; 75 a 88; 88 a 94; 94 a 97; 97 a 100 e 100% de área foliar lesionada. Após o trabalho pioneiro de Horsfall & Barratt (1945), inúmeros trabalhos foram desenvolvidos com o objetivo de se desenvolver escalas para quantificar a severidade de diversas doenças em diferentes hospedeiros (James, 1971; Slopek, 1989; Leite & Amorim, 2002; Noronha, 2002; Nita *et. al.* 2003; Gomes *et. al.* 2004; Martins *et. al.* 2004; Spósio, *et. al.* 2004; Andrade, *et. al.* 2005; Halfeld-Vieira & Nechet, 2005; Godoy *et. al.* 2006; Mazaro *et. al.* 2006a; Mazaro *et. al.* 2006b). James (1971) propôs uma escala para a avaliação da requeima em folhas de batata com quatro níveis de severidade (1, 10, 25 e 50%). Já Cruickshank *et. al.* (1981) apresentaram uma escala para avaliação da requeima em batata, considerando planta inteira, tendo a escala oito níveis de severidade (≤ 10 , 11-25, 26-40, 41-60, 61-70, 71-80, 81-90, $>90\%$). Contudo, escalas diagramáticas podem não representar a severidade real, mesmo que a escala seja praticamente perfeita. Um erro que deve ser considerado é o erro de avaliação, que é inerente ao avaliador, onde o avaliador deve ser preciso e acurado. A acurácia descreve o quanto a média de uma estimativa é próxima do valor real da quantidade de doença avaliada. Já a precisão, por sua vez, é a repetibilidade ou variações associadas com uma estimativa, desconsiderando a média do valor avaliado (Nutter *et al.* 2006).

A quantificação da intensidade da doença requer uma alta precisão e acurácia nas medidas (Nutter *et. al.* 2006). Os erros associados aos avaliadores devem ser analisados com cautela, para que desvios sistemáticos possam ser encontrados e corrigidos por treinamento ou equações de calibração (Shaw & Royle, 1989; Nutter *et. al.* 1995). Diversos métodos são propostos para avaliar a precisão e a acurácia dos avaliadores. Shokes *et. al.* (1987) propõem o uso de correlação linear para avaliar a repetibilidade dos avaliadores e verificar a precisão das avaliações. Nutter *et. al.* (1993) utilizaram o coeficiente de variação para verificar a precisão dos avaliadores. Entretanto, o uso do coeficiente de correlação linear e do coeficiente de variação não avalia a diferença entre avaliadores quanto à precisão, mas o uso de regressão linear simples pode quantificar o grau de erro cada avaliador ou do método de avaliação (Nutter, *et al.* 2006). A análise de variância também pode ser utilizada para identificar diferenças significativas entre avaliadores e métodos de avaliação (Shokes *et. al.* 1987).

A proposta de se estabelecer um sistema padronizado para orientar na avaliação da severidade de determinada doença é de grande importância, porém, caso o sistema seja deficiente, a sua utilização poderá comprometer a qualidade dos dados (Leite & Amorim, 2002). No entanto, a padronização é altamente desejável, pois a uniformização da metodologia de avaliação de doenças permite comparações entre resultados obtidos em diferentes instituições e localidades (Bergamim Filho & Amorim, 1996).

2.3 Modelos epidemiológicos para o estudo do progresso de doenças de plantas

A epidemiologia envolve o estudo temporal, espacial e espaço-temporal da dinâmica das doenças em populações e a utilização dos resultados experimentais serve para descrever, entender e comparar as epidemias. Um importante aspecto da análise temporal de epidemias é a descrição apropriada do modelo de progresso da doença. A seleção do modelo é importante, pois a estimação correta dos parâmetros é a base para a comparação das curvas de progresso de doença (van Maanen & Xu, 2003; Madden, 2006).

A curva de progresso da doença, usualmente expressa pela plotagem da proporção de doença *versus* tempo, é a melhor representação de uma epidemia. Através desta interações entre patógeno, hospedeiro e ambiente podem ser caracterizadas. As curvas de progresso de doença podem ser construídas para qualquer hospedeiro (cultura anual ou perene), onde o patógeno pode ser um fungo, vírus, bactéria e outros. Os parâmetros de maior importância na análise da curva de

progresso da doença são: época do início da epidemia, quantidade de doença inicial (x_0), taxa de aumento da doença (r), a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), as quantidades máxima ($Y_{mt.}$) e final (Y_0 de doença e a duração da epidemia (Bergamin Filho & Amorim, 1996; Campbell & Madden, 1990).

Dentre os modelos utilizados para avaliar o progresso da doença, tem-se os modelos lineares e os modelos não-lineares, como: modelo exponencial (Malthus, 1798), logístico (Vanderplank, 1963), Gompertz (Gompertz, 1825), monomolecular (Gregory, 1948) e Richards (Richards, 1959; Campbell & Madden, 1990). Estes modelos, apesar de apropriados para descrever epidemias, podem apresentar flutuações irregulares nas taxas de crescimento. Nestes casos, é necessária a utilização de medidas que resumam a curva de progresso da doença e que permitam a comparação de epidemias. Esta medida é conhecida como a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), tendo a variação existente ao longo do tempo incluída na AACPD (Shanner & Finney, 1977; Campbell & Madden, 1990; Jeger & Viljanen-Rollinson, 2001).

A AACPD é obtida pela integração entre dois tempos, e pode ser aproximada utilizando-se o método da soma de Riemann, que pode ser definido na forma:

$$\sum_{i=1}^n f(z_i)\Delta x = f(z_1)\Delta x + \dots + f(z_n)\Delta x \quad (1)$$

em que, $\Delta x = \frac{b-a}{n}$ e z_1 pertence ao primeiro subintervalo, z_2 ao segundo subintervalo e assim sucessivamente.

Tem-se que a soma inferior de uma função f sobre um intervalo $a \leq b$ com n subdivisões é a soma de termos $f(z_i)\Delta x$, em que z_i é escolhido como o extremo inferior de cada subintervalo. A soma superior é calculada da mesma forma, porém z_i é tomado como o extremo superior do subintervalo (Ferreira, 1999). Portanto, neste contexto existem duas estratégias de análise dos dados, sendo que a primeira envolve a observação da variável resposta (AACPD), para uma amostra (genótipos) de cada uma das populações ou tratamentos. A segunda envolve a observação da variável resposta (severidade) para os elementos de uma mesma amostra de cada uma das populações em cada momento de avaliação (Jeger & Viljanen-Rollinson, 2000). No primeiro caso pode-se dizer que o estudo é transversal ("cross-sectional") e no segundo caso, dizemos que o estudo é longitudinal (Singer & Andrade, 1986).

Estudos longitudinais são de particular interesse quando o objetivo é avaliar variações globais ou individuais ao longo do tempo. Este tipo de análise tem especial interesse quando a variabilidade inter-unidades amostrais (entre tratamentos) é maior que a variabilidade intra-unidades amostrais (dentro dos tratamentos). Os estudos longitudinais podem dar subsídios para a avaliação de padrões individuais de variação dos níveis da variável resposta. Portanto, alguns parâmetros de interesse podem ser estimados de forma mais eficiente sob planejamentos longitudinais do que sob os planejamentos transversais. O esforço empregado na análise longitudinal está concentrado na modelagem da estrutura de dependência que existe entre uma avaliação e outra ao longo do tempo (Laird & Ware, 1982 e Zeger *et. al.* 1988).

O modelo mais simples, empregado na análise longitudinal, é o modelo linear clássico que pode ser definido como:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\epsilon} \quad (2)$$

em que, y representa o vetor de dimensões $n \times 1$, de dados observados; \mathbf{X} , com dimensões de $n \times p$, é a matriz de delineamento; β , de dimensões $p \times 1$, é um vetor de parâmetros desconhecidos de efeitos fixos e ϵ é o vetor de dimensões $n \times 1$, de erros aleatórios.

Quando se utiliza um modelo linear clássico, tem-se o objetivo de modelar a média de y , usando-se o vetor de parâmetros de efeitos fixos de β . Os componentes do vetor ϵ são variáveis aleatórias independentes e identicamente distribuídas com média 0 e variância σ^2 . Portanto, assumimos que $\epsilon \sim N(0, \sigma^2)$, e $y \sim N(\mathbf{X}\beta, \sigma^2)$ (Searle, 1971).

Teoricamente, todo modelo linear que contenha a média geral ou uma constante tomada como fixa, e um termo referente ao erro, assumindo como aleatório, é um modelo misto. Contudo, o termo “modelo misto” é reservado a modelos lineares que contenham efeitos fixos, além de e qualquer outro termo aleatório, além do erro (Martins, et. al. 1998). Dessa forma, podemos considerar o seguinte modelo misto:

$$y = \mathbf{X}\beta + \mathbf{Z}b + \epsilon \quad (3)$$

em que y é o vetor de observações e assume-se que β é um vetor de parâmetros de efeitos fixos desconhecidos, com matriz de delineamento conhecida \mathbf{X} , b , é um vetor de parâmetros de efeitos aleatórios desconhecidos, com matriz de delineamento conhecida \mathbf{Z} e ϵ um vetor de erros aleatórios desconhecidos.

Os modelos mistos são utilizados para modelar a parte aleatória através da inclusão de uma matriz de variâncias-covariâncias (Costa, 2004; Pan & Mackenzie, 2006). O sucesso do procedimento de modelagem está fortemente associado à possibilidade de se introduzir, no modelo, estruturas de variâncias e covariâncias das variáveis aleatórias, que para o modelo linear misto, podem estar inseridas no resíduo e, também, na parte aleatória associada ao fator aleatório conhecido. Assim, no uso de modelos fixos, deve-se estimar os próprios efeitos fixos, enquanto que os modelos aleatórios prestam-se para estimar os componentes de variância (das variáveis aleatórias), bem como para a predição das próprias variáveis aleatórias (White & Hodge, 1989). Dessa forma, os modelos mistos podem servir para a estimação das médias de um modo mais preciso, uma vez que se deve levar em conta à influência dos componentes de variância que podem ser estimados pelo modelo, ou ainda para a predição, servindo de base para o processo de seleção de modelos (Camarinha Filho, 2002). Uma das principais características que distinguem a metodologia de modelos mistos de modelos lineares convencionais é a possibilidade de se estimarem efeitos aleatórios específicos ou funções lineares de efeitos aleatórios (Garcia, 2004).

Entretanto a severidade da doença, que indica o percentual de área lesionada, muitas vezes não apresenta uma distribuição normal (Madden & Hughes, 1999; Piepho, 1999; Madden *et. al.* (2002); Garrett, *et. al.* (2004). Para estas situações, uma alternativa de análise é apresentada por Nelder & Wedderburn (1972). A idéia básica é estimar os parâmetros de um modelo linear usando-se o método da máxima verossimilhança baseado na distribuição dos dados.

Esses modelos envolvem uma variável resposta univariada, variáveis explicativas e uma amostra aleatória de n observações, sendo que a variável resposta, componente aleatório do modelo, tem uma distribuição pertencente à família exponencial na forma canônica (distribuição normal, gama e normal inversa para dados contínuos; binomial para proporções; Poisson e binomial negativa para contagens). As variáveis explicativas entram na forma de um modelo linear (componente sistemático) e a ligação entre os componentes aleatório e sistemático é realizada através de uma função. Portanto, uma decisão importante na escolha do modelo linear generalizado é a escolha do trinômio: distribuição da variável resposta, matriz do modelo e a função de ligação (Demetrio, 2001). As funções canônicas para as respectivas distribuições estão apresentadas na tabela 4.

Tabela 4 – Funções de ligações canônicas

Distribuição	Ligação canônica
Normal	Identidade: $\eta = \mu$
Poisson	Logarítmica: $\eta = \ln(\mu)$
Binomial	Logística: $\eta = \ln\left(\frac{\pi}{1-\pi}\right) = \ln\left(\frac{\pi}{m-\pi}\right)$

Para o modelo linear clássico a função de ligação é chamada identidade, pois o preditor linear é igual à média. Essa função é adequada no sentido em que ambos, η e μ , podem assumir valores na linha real. Entretanto, em estudos de progresso de doenças de plantas a distribuição a ser assumida na variável resposta, nem sempre apresenta uma distribuição normal, uma vez que esta variável é originada a partir de um percentual de área lesionada com incremento logarítmico ao longo do tempo, sendo mais apropriado o uso de uma função de ligação que linearize a variável observada, então o uso de uma distribuição Poisson ou binomial seria mais adequado (Demétrio, 2001).

O ajuste de um modelo linear generalizado é determinado pelo vetor (3 de estimativas dos parâmetros. O método usado na estimação dos frs é o método da máxima verossimilhança. O logaritmo da função de verossimilhança para um conjunto de observações independentes y_1, y_2, \dots, y_n é dado pela soma das contribuições individuais (Demétrio, 2001).

Gabriel *et al.* (2007) ao avaliarem 36 cultivares de batata quanto à resistência a *P. infestans* utilizaram os valores de AACPD como medida de resistência. No entanto, adotaram um modelo com parâmetros de efeitos fixos. Gopal & Singh (2003) ao determinarem a resistência de 270 genótipos de batata, para a requeima, também utilizaram a AACPD como medida de resistência, porém adotaram um modelo com os parâmetros de efeitos fixos e classificaram os genótipos através das médias como altamente resistentes, resistentes, moderadamente resistentes, suscetíveis e altamente suscetíveis. Já Ojiambo *et al.* (2000) ao compararem quatro modelos não-lineares para descrição curva de progresso da requeima de 31 genótipos de batata, utilizaram os valores de AACPD, determinada conforme Shaner & Finney (1977), como medida padrão de comparação e adotaram um modelo de efeitos fixos.

Piepho (1999) utilizou um modelo generalizado misto para avaliar a incidência de míldio em videira. Madden *et al.* (2002), ao avaliarem o efeito de fungicidas no controle da mancha de Phomopsis em folhas de morango, também utilizaram um modelo generalizado misto, porém os autores não realizaram avaliações da severidade das doenças ao longo do tempo.

Costa *et al.* (2004), ao utilizarem modelos generalizados mistos em dados longitudinais, demonstraram que, quando a variável resposta é observada ao longo do tempo, há necessidade de se levar em consideração a correlação existente entre as observações. Geneville (2002) indicam que não considerar a estrutura hierárquica no tempo, pode implicar na superestimação dos coeficientes do modelo em estudo.

CAPÍTULO I

ESCALA DIAGRAMÁTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DA REQUEIMA EM FOLHAS DE TOMATEIRO

3 RESUMO

Três escalas diagramáticas foram desenvolvidas para quantificar a severidade da requeima, causada por *Phytophthora infestans* em folhas de tomateiro. Considerando os limites de severidade mínima e máxima da doença no campo, foram construídas duas escalas, uma com seis níveis de severidade, (3, 12, 22, 40, 60 e 77%), denominada de escala simplificada e uma outra com oito níveis de severidade (3, 6, 12, 22, 40, 60, 77 e 90%), denominada de escala detalhada. Para a terceira, adaptou-se a escala proposta por James (1971), que é utilizada para quantificação da requeima em folhas de batata, para seis níveis de de severidade (1, 5, 10, 16, 32 e 50%). A validação das três escalas foi realizada por 24 avaliadores, sem experiência na quantificação de doenças, em duas avaliações com intervalo de sete dias, utilizando-se 50 folhas com diferentes níveis de. A comparação dos erros entre os avaliadores foi realizada através de um modelo misto, considerando o efeito dos avaliadores como aleatório e os efeitos de escala e de avaliação como fixos. Gráficos de box-plot foram construídos para a avaliação dos erros dos avaliadores. Regressões lineares entre a severidade real e a estimada foram realizadas para determinar a acurácia e a precisão dos avaliadores. A repetibilidade dos avaliadores foi avaliada através do coeficiente de correlação. Os avaliadores apresentaram variação significativa ($p \leq 0,001$), contudo a variação dos avaliadores dentro das escalas e dentro das avaliações não foi significativa, indicando que os avaliadores apresentaram o mesmo comportamento ao utilizarem a mesma escala para avaliação da requeima. Os avaliadores, ao utilizarem a escala detalhada e simplificada apresentaram boa precisão e acurácia, com R^2 de 0,96 e 0,93 respectivamente, na avaliação da severidade da requeima. Contudo, ao utilizarem a escala de James-modificada, os avaliadores apresentaram menor precisão e acurácia ($R^2 = 0,83$), com uma tendência de subestimar os valores de severidade real. Quanto à repetibilidade, observaram-se altos valores médios de coeficientes de correlação para as três escalas, sendo de 0,91, 0,91 e 0,90 para a escala detalhada, simplificada e de James-modificada, respectivamente. A escala simplificada e a escala detalhada proporcionaram avaliações da severidade mais precisas e acuradas, indicando que podem ser utilizadas em trabalhos de rotina para avaliar a severidade da requeima em folhas de tomateiro. A escala-simplificada se apresenta como uma ferramenta de fácil utilização, por apresentar menor número de níveis de severidade.

4 ABSTRACT

Three diagrammatic scales were developed for quantifying the late blight in tomato leaves, caused by *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Considering the limits of minimum and maximum severity of the disease in the field, two scales were built. One, with six severity levels (3, 12, 22, 40, 60 and 77%), denominated simplified scale, and another, with eight severity levels (3, 6, 12, 22, 40, 60, 77 and 90%), denominated detailed scale. The third scale was an adaptation of the scale proposed by James (1971), containing six severity levels (1, 5, 10, 16, 32 and 50%). The validation of the scales was accomplished, in two evaluations with a seven-day interval, by 24 evaluators without experience in the quantification of diseases. They evaluated 50 leaves with different severity levels with the aid of the three diagrammatic scales. The comparison of errors among the evaluators was accomplished through a mixed model, by considering the evaluators' effect as random and the effects of the scale and of the evaluation as fixed. Box-plot graphs were built for calculating the evaluators' mistakes. Linear regressions between the real severity and the estimated one were accomplished to determine the evaluators' accuracy and precision. The evaluators' repeatability was calculated through the correlation coefficient. The evaluators presented a significant variation ($p \leq 0,001$), however, the evaluators' variation inside the scales and inside the evaluations was not significant, indicating that the evaluators presented the same behavior when using the same scale for the evaluation of the late blight. The evaluators presented good precision and accuracy, with R^2 of 0,96 and 0,93 respectively, when using the detailed scale and the simplified one, to evaluate the severity of the late blight. However, when the James-modified scale was used, the evaluators presented low precision and accuracy ($R^2 = 0,83$), in a tendency for underestimating the values of real severity. As to the repeatability, high correlation coefficients were observed for all scales, being 0,91, 0,91 and 0,90 for the detailed, simplified and James-modified scales, respectively. The simplified scale and the detailed scale provided more accurate and precise evaluations of the severity, indicating that they can be used in routine work to evaluate the severity of late blight in tomato leaves. The simplified scale is seen as a user-friendly tool for presenting a lesser number of severity levels.

5 INTRODUÇÃO

A severidade de doenças é, geralmente, estimada visualmente. Para auxiliar o avaliador e minimizar a subjetividade da estimativa, escalas diagramáticas tem sido uma ferramenta bastante útil. Uma escala diagramática é a representação ilustrada de uma série de plantas, ou partes de plantas, com sintomas em diferentes níveis de severidade da doença. As escalas diagramáticas são de fácil utilização, aplicáveis a uma ampla gama de condições diferentes com resultados reproduzíveis e permitem uma avaliação rápida (Bergamin Filho & Amorim, 1996). No preparo dessas escalas, alguns aspectos devem ser considerados: a) os limites inferior e superior da escala devem corresponder, respectivamente, às quantidades mínimas e máximas encontradas no campo; b) a representação dos sintomas deve ser próxima do observado nas folhas; c) os níveis intermediários devem seguir as limitações da acuidade visual humana, definidas pelas leis de estímulo resposta de Weber e Fechner (Horsfall & Barratt, 1945; James, 1974; Nutter Jr. & Schultz, 1995).

A requeima, causada por *Phytophthora infestans*, é uma das principais doenças do tomateiro e ataca toda a parte aérea da planta. Os sintomas mais típicos da doença são observados nas folhas, mas incidem também nos frutos, pecíolos e ramos, e iniciam-se com uma lesão aquosa que fica necrosada, apresentando uma coloração verde clara dos bordos foliares (Reis & Lopes, 2002).

A avaliação da severidade da requeima em tomateiro tem sido realizada com diferentes escalas diagramáticas (Jaime-Garcia *et. al.* 2001; Duarte *et. al.* 2007; Duarte *et. al.* 2007), tendo como base a escala de James (1971). Alguns autores utilizam chaves descritivas com escalas arbitrárias na quantificação da requeima (Brouwer, *et. al.* 2004). Apesar do amplo uso destas ferramentas de avaliação da requeima, elas apresentam deficiências, pois não há padronização para a descrição dos níveis de severidade.

Assim, verifica-se a necessidade de se estabelecer uma escala que oriente a avaliação da severidade da requeima em folhas de tomateiro, de modo a padronizar as avaliações e facilitar as comparações entre resultados de diferentes autores. Para isso, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma escala diagramática para a avaliação da requeima em folhas de tomateiro.

5.1 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Horticultura do Departamento de Fitotecnia do Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no período de maio a setembro de 2006. As sementes foram semeadas em bandejas de 128 células com substrato comercial 'Tropstrato' e os canteiros foram adubados com esterco, 3 kg m⁻² canteiro⁻¹ e 0,5 kg de cinza m⁻² canteiro⁻¹ e cobertos com cobertura morta. Utilizou-se sistema de irrigação por gotejamento em todos os canteiros. As mudas foram transplantadas aos 30 dias após o semeio, adotando o espaçamento de 1,5m entre canteiros e 0,4m entre plantas. Foram utilizados 66 genótipos de tomateiro, sendo um genótipo comercial, o híbrido 'Super Sweet', suscetível à requeima e dois genótipos resistentes à requeima, ENAS 1177 e ENAS 1178 (Azevedo, 2006). Os demais 63 genótipos são acessos em teste na UFRRJ. O plantio foi realizado em área com histórico de ocorrência da doença e o início da epidemia ocorreu a partir de infecção natural. O delineamento adotado foi de blocos incompletos, sendo 33 genótipos por bloco com uma planta por parcela. Foram utilizados 20 blocos, totalizando 10 repetições por genótipo.

5.1.1 Elaboração da escala diagramática

As escalas diagramáticas foram elaboradas a partir de 200 folhas de tomate com diferentes níveis de severidade da doença, que foram retiradas da porção apical, mediana e basal da planta. Em seguida as folhas foram digitalizadas em imagens de 600 dpi e a área lesionada foi medida com o auxílio do software SIARCS (Jorge & Crestana, 1996). Os níveis máximos e mínimos foram determinados pelos níveis reais de severidade ocorridos no campo.

Uma primeira escala foi proposta, tendo como base a escala proposta por James (1971) para avaliação da severidade da requeima em folhas de batata e que apresenta quatro níveis de severidade (1, 10, 25, e 50%). Outras duas escalas foram propostas, considerando os níveis de severidade observados no campo e os princípios das leis de Weber e Fechner (Horsfall & Barratt, 1945).

Como padrão, adotou-se a escala proposta James (1971), desenvolvida para avaliação em folhas de batata (*Solanum tuberosum*), que apresenta quatro níveis de severidade da requeima, 1, 10, 25, e 50% de área foliar lesionada. A estes níveis foi adicionado o nível de 5%.

5.1.2 Validação da escala diagramática

A validação das escalas diagramáticas foi constituída por duas avaliações, com intervalo de sete dias entre as avaliações, sendo que 24 avaliadores, sem experiência na quantificação de doenças de plantas, estimaram a severidade de 50 folhas de tomate, apresentadas em slides, com o auxílio das escalas diagramáticas propostas, totalizando 1200 avaliações por escala.

A comparação entre os erros dos avaliadores foi realizada através da análise de variância dos erros absolutos (severidade estimada — severidade real) utilizando o modelo misto, descrito abaixo.

$$E[Y_{ijk}] = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + \left(\frac{\delta}{\alpha}\right)_{ik} + \left(\frac{\delta}{\beta}\right)_{jk} \quad (1)$$

Sendo $s = 1, 2, \dots, n$, μ o efeito associado à média geral, α_i o efeito associado a i -ésima escala, $i = 1, 2$ e β_j , sendo considerado fixo, β_j o efeito associado a j -ésima avaliação, $j = 1$ e 2 , sendo considerado fixo, δ_k o efeito associado ao k -ésimo avaliador, $k = 1, 2, \dots, 24$, sendo considerado aleatório com $N(0, \sigma^2)$, $(\delta/\alpha)_{ik}$ é o efeito associado ao k -ésimo avaliador dentro da i -ésima escala,

sendo considerado aleatório com $N(0, \sigma^2)$, $(\delta/\alpha)_{jk}$ é o efeito associado ao k -ésimo avaliador dentro da j -ésima avaliação, sendo considerado aleatório com $N(0, \sigma^2)$. A notação utilizada é conforme Wilkinson & Rogers (1973).

A acurácia dos avaliadores foi determinada através de regressão linear simples, conforme modelo (2) e a precisão foi estimada pelo coeficiente de determinação (R^2) da regressão (Nutter & Schultz, 1995).

$$Y = \alpha + \beta X \quad (2)$$

Os valores de α e β são parâmetros a serem estimados da equação.

As estimativas das equações de regressão foram avaliadas pelo teste t aplicado à interseção da regressão linear (α), para verificar se foi significativamente diferente de zero, e ao coeficiente angular da reta (β), para testar se foi significativamente diferente de um (Parker *et. al.*, 1995). Já a repetibilidade dos avaliadores ao utilizarem as escalas propostas foi determinada por meio do coeficiente de correlação entre as duas avaliações (Nutter & Schultz, 1995).

As análises foram realizadas utilizando o software R.2.5.0. (2007).

5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.2.1 Elaboração de escalas diagramáticas para quantificação da severidade da requeima em tomateiro

Os valores de severidade para as escalas propostas foram estabelecidos em função do histograma da distribuição dos valores de severidade, encontrados nas folhas de tomate (Figural). O histograma indica que a requeima pode atingir, aproximadamente 100% de área foliar lesionada. As maiores freqüências de valores de severidade encontradas situaram-se entre 6,5% e 19,7% (Figura 1).

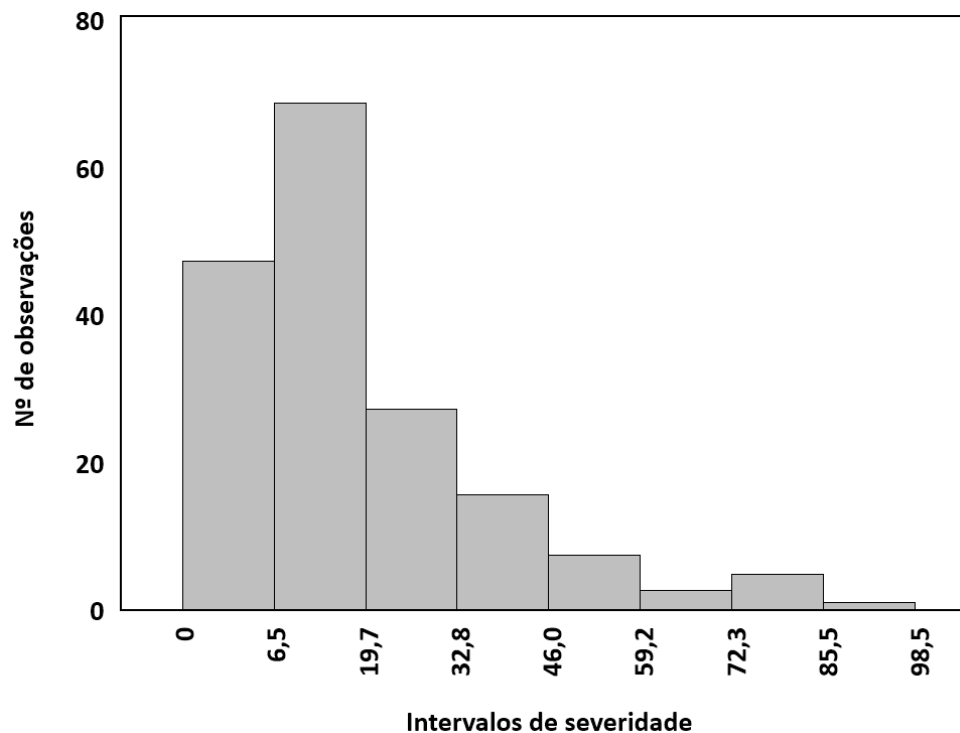


Figura 1. Histograma para a distribuição dos valores de severidade real encontrados em folhas de tomate.

Com os valores de severidade foram propostas duas escalas diagramáticas, sendo uma com seis valores de severidade, denominada de escala simplificada e outra com oito valores de severidade, denominada de escala detalhada (Figuras 2 e 3). Os intervalos das severidades para as escalas propostas seguiram os incrementos logarítmicos, conforme as leis de Weber & Fecher (Nutter & Esker, 2006).

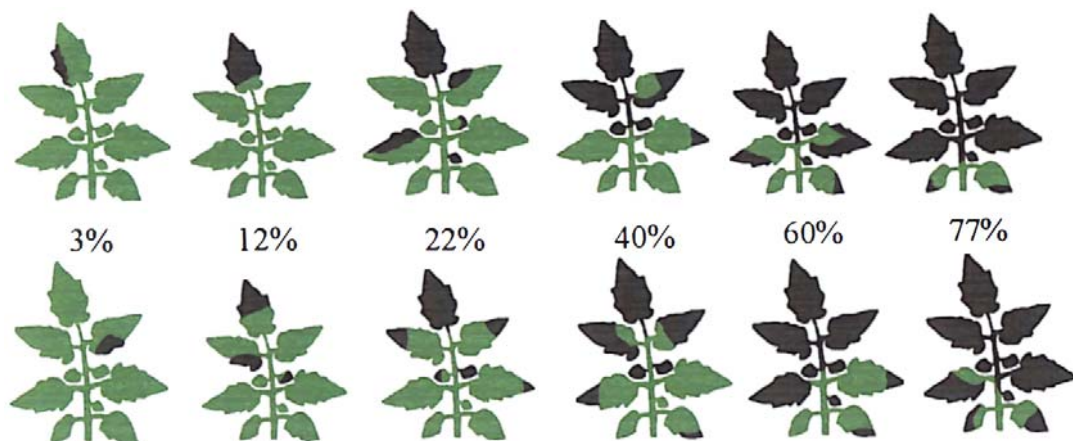


Figura 2. Escala diagramática com seis valores de severidade para avaliação da requeima em folhas de tomate (Escala-simplificada).

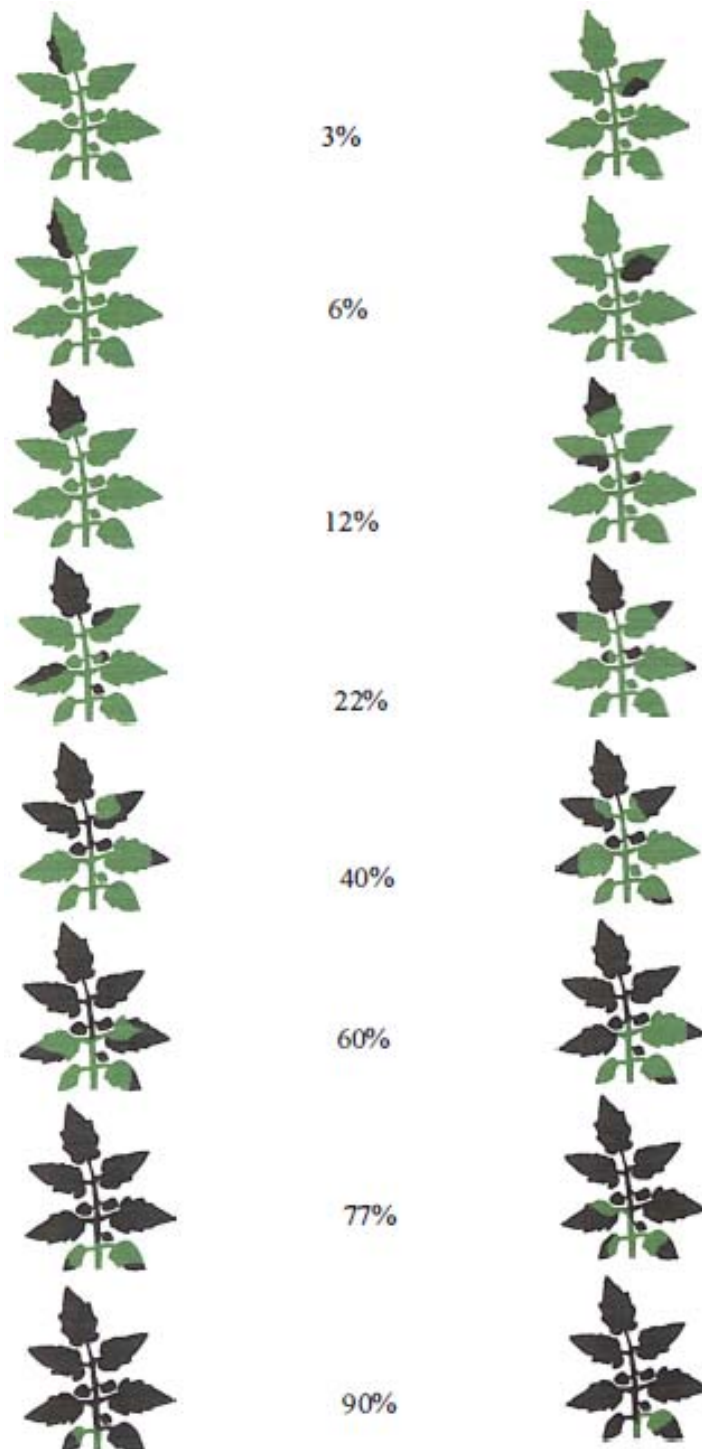


Figura 3. Escala diagramática com oito valores de severidade para avaliação da requeima em folhas de tomate (Escala-detalhada).

A escala produzida tendo como referência a escala proposta por James (1971), utilizada para quantificar a requeima em folhas de batata, apresentou seis valores de severidade: 1, 5, 10, 16, 32 e 50% (Figura 4).

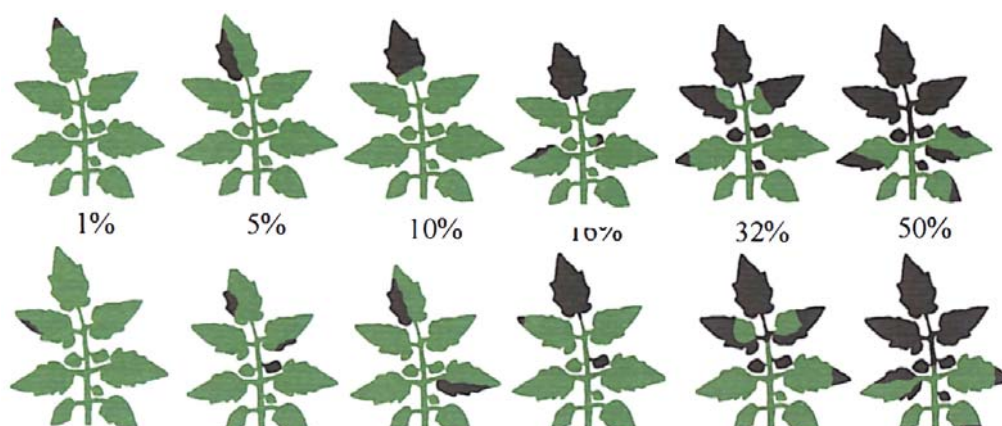


Figura 4 - Escala diagramática com seis valores de severidade para avaliação da requeima em folhas de tomate, baseada em James (1971) (James-modificada).

A análise de variância para os erros-absolutos indicou que as escalas diferem entre si quanto aos erros. Os avaliadores apresentaram variações significativas quanto aos erros, porém, a variância dos avaliadores não foi significativa dentro das escalas e dentro das avaliações (Tabela 1). A diferença entre os avaliadores na mensuração da requeima em tomateiro confirma as observações de Nutter & Schultz (1995) quanto à variação na habilidade entre indivíduos para discriminar níveis de doenças.

Tabela 1 – Análise de variância para os erros absolutos de 24 avaliadores ao utilizarem três escalas diagramáticas diferentes para a avaliação da requeima em folhas de tomateiro.

F.V.	G.L.	Quadrado médio	Prob.
Escala	2	86663,5	< 0,0001
Avaliador	23	455,739	< 0,0001
Avaliação	1	28,0000	0,5577
Avaliador/Escala	46	214,891	0,9850
Avaliador/Avaliação	23	323,217	0,7919
Resíduo	7104	81,4769	

$\sigma^2_{avaliador} = 0,018 \pm 0,135$
 $\sigma^2_{escala/avaliador} = 1,365 \pm 1,168$
 $\sigma^2_{avaliação/avaliador} = 1,163 \pm 0,135$

A escala de James-modificada apresentou o maior percentual de erros, quando comparada às demais escalas nas duas avaliações realizadas (Figura 5).

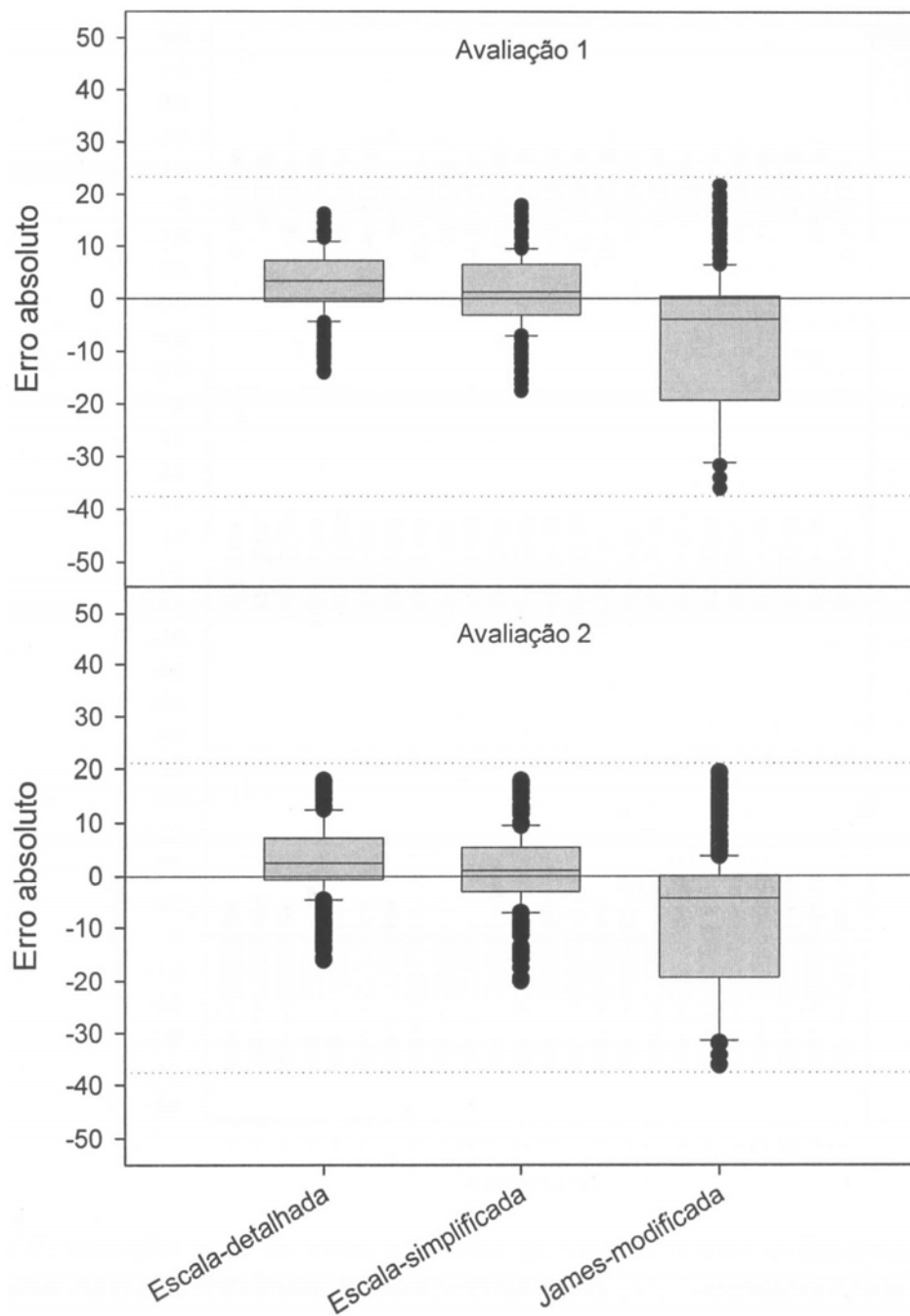


Figura 5. Box-plot dos erros absolutos para as três escalas propostas nas duas avaliações realizadas para validação de escalas diagramáticas.

As diferenças entre os erros dos avaliadores e as semelhanças dos erros referentes aos avaliadores dentro das escalas podem ser observadas na figura 6.

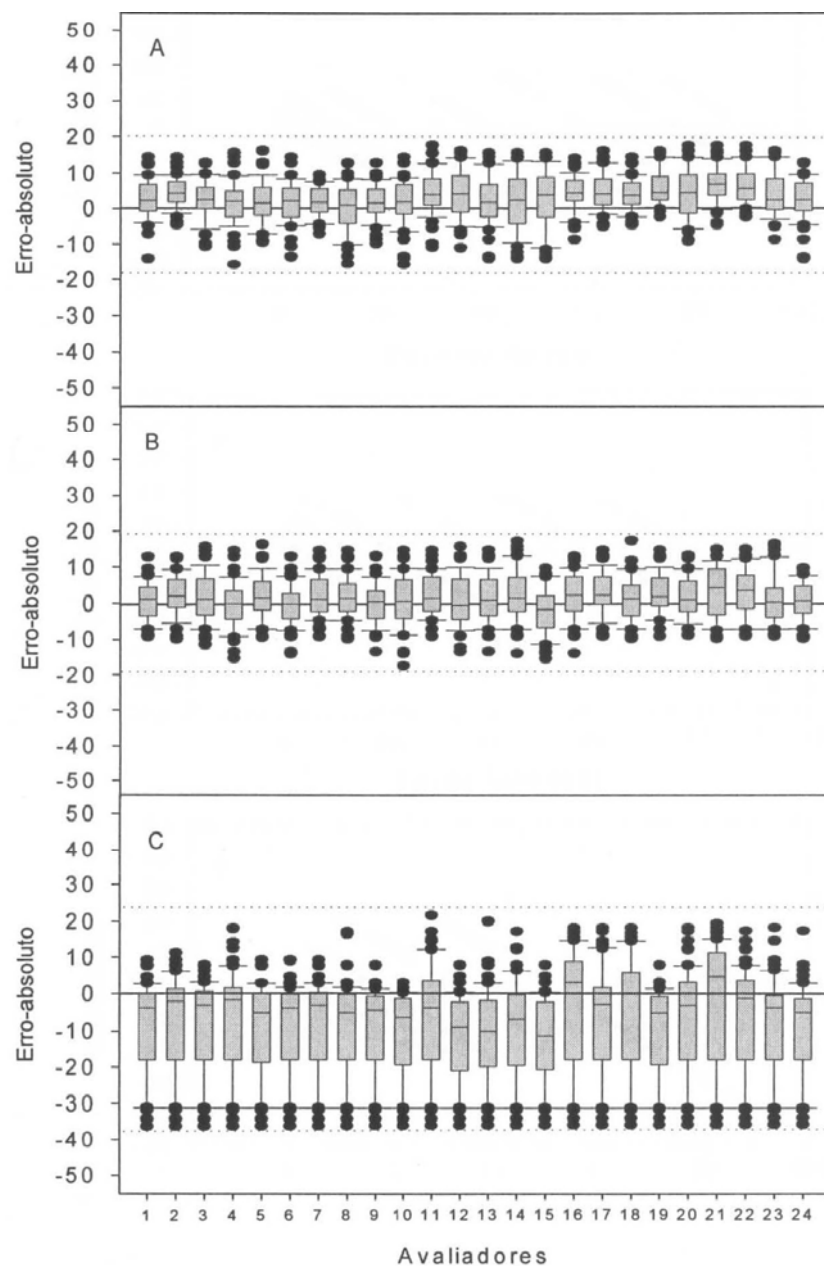


Figura 6. Box-plot para os erros absolutos de vinte e quatro avaliadores para as escalas propostas: A) escala-detalhada; B) escala-simplificada; C) James-modificada.

Os avaliadores ao utilizarem a escala de James-modificada subestimaram a severidade em aproximadamente 40%. Os valores subestimados pela escala de James-modificada podem ser encontrados principalmente quando os valores de severidade estão acima de 50% de área foliar lesionada (Figura 7).

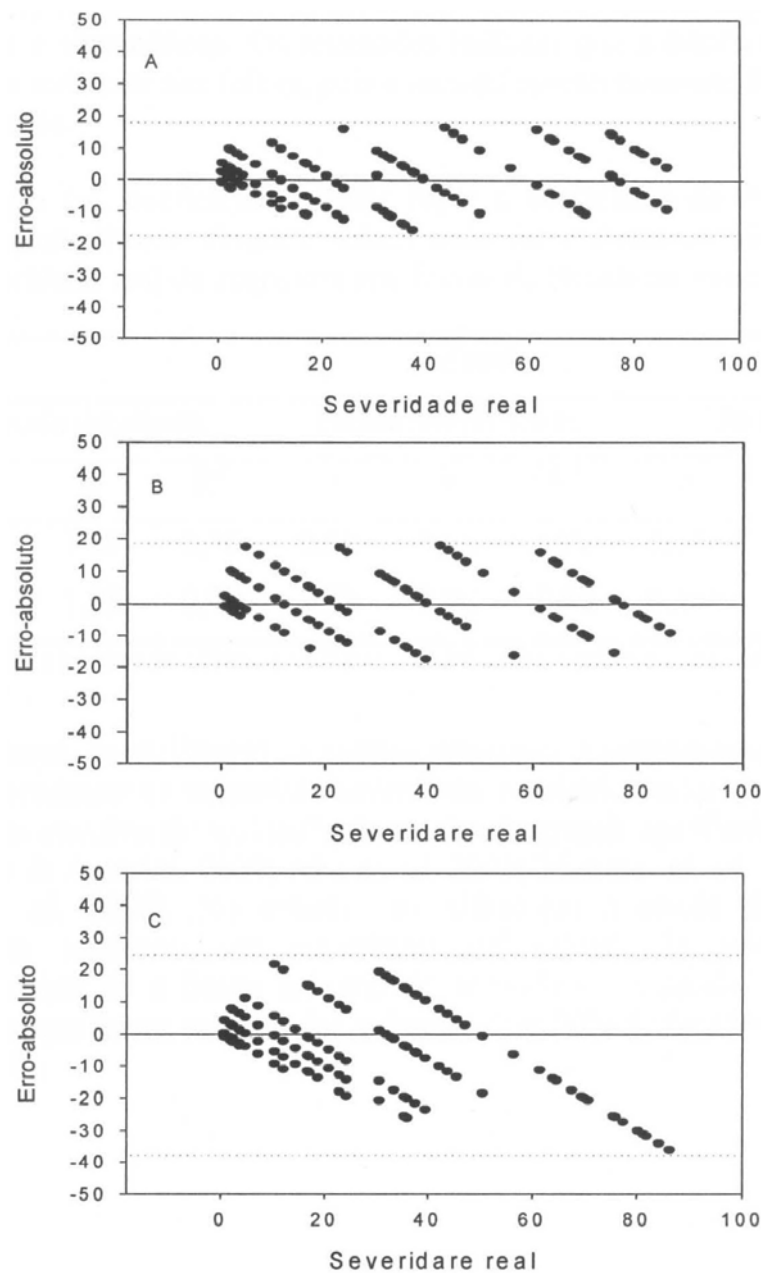


Figura 7. Erro absoluto dos avaliadores em relação a severidade real para a escala detalhada (A), escala simplificada (B) e escala de James-modificada (C).

A escala simplificada e a escala detalhada apresentaram menor percentual de erro, com estimativas de erro próximas a 10%, sendo que poucas vezes ultrapassaram o valor de 15%. Estes valores estão de acordo com os resultados obtidos por diversos autores (Nutter & Schultz, 1995; Leite & Amorim, 2006; Nita, *et. al.* 2003; Gomes *et. al.* 2004; Martins *et. al.* 2004; Spósito *et. al.* 2004; Godoy *et. al.* 2006; Halfeld-Vieira & Nechet, 2006). Os valores subestimados da severidade pelos avaliadores com a utilização da escala de James-modificada, devem-se ao limite máximo de severidade da escala, 50%.

Os valores do intercepto para as duas avaliações, quando os avaliadores utilizaram a escala detalhada e a escala simplificada foram próximos de zero, indicando ausência de desvios constantes. Os valores dos coeficientes angulares das retas para as equações obtidas com os dados das estimativas utilizando a escala detalhada e a simplificada, nas duas avaliações, não diferiram de 1, indicando a ausência de desvios sistemáticos (Tabela 2). Para a escala de James-modificado os valores dos interceptos e dos coeficientes angulares das retas diferiram de 0 e 1, respectivamente (Tabela 2). Estes resultados indicam a presença de desvios constantes e sistemáticos. Os resultados indicam que a escala não contempla toda variação da doença existente nas folhas, pois a mesma apresenta como limite superior apenas 50% de área lesionada.

Tabela 2. Intercepto (*a*), coeficiente angular (*b*) e o coeficiente de determinação (R^2) de equações de regressão linear simples, relacionado às estimativas visuais efetuadas por avaliadores à severidade real da requeima em folhas de tomateiro, com uso das três escalas propostas

Avaliação	Escala								
	Escala detalhada			Escala simplificada			James-modificada		
	<i>a</i>	<i>b</i>	R^2	<i>a</i>	<i>b</i>	R^2	<i>a</i>	<i>b</i>	R^2
1	1,06	1,05	0,96	2,78	0,96	0,91	7,14*	0,61*	0,80
2	1,01	1,05	0,96	2,72	0,96	0,93	6,39*	0,62*	0,83

* Situações onde a hipótese de nulidade ($a = 0$ ou $b = 1$) foi rejeitada pelo teste t ($P < 0,05$).

Os avaliadores, ao utilizarem as escalas detalhada e simplificada, apresentaram uma tendência em superestimar os valores de severidade, resultados estes que corroboram com a maioria dos estudos envolvendo validação de escalas diagramáticas (Parker *et. al.* 1995; Díaz *et. al.* 2001; Leite & Amorim, 2002; Nita *et. al.* 2003; Martins *et. al.* 2004; Spósito *et. al.* 2004; Godoy *et. al.* 2006). No entanto, ao utilizarem a escala de James-modificada apresentaram uma tendência em subestimar os valores de severidade, decorrente principalmente do fato de o limite máximo da severidade da escala ser de 50% de área lesionada, uma vez que foram encontrados valores de até 90% de área lesionada em folhas de tomateiro (Figura 8).

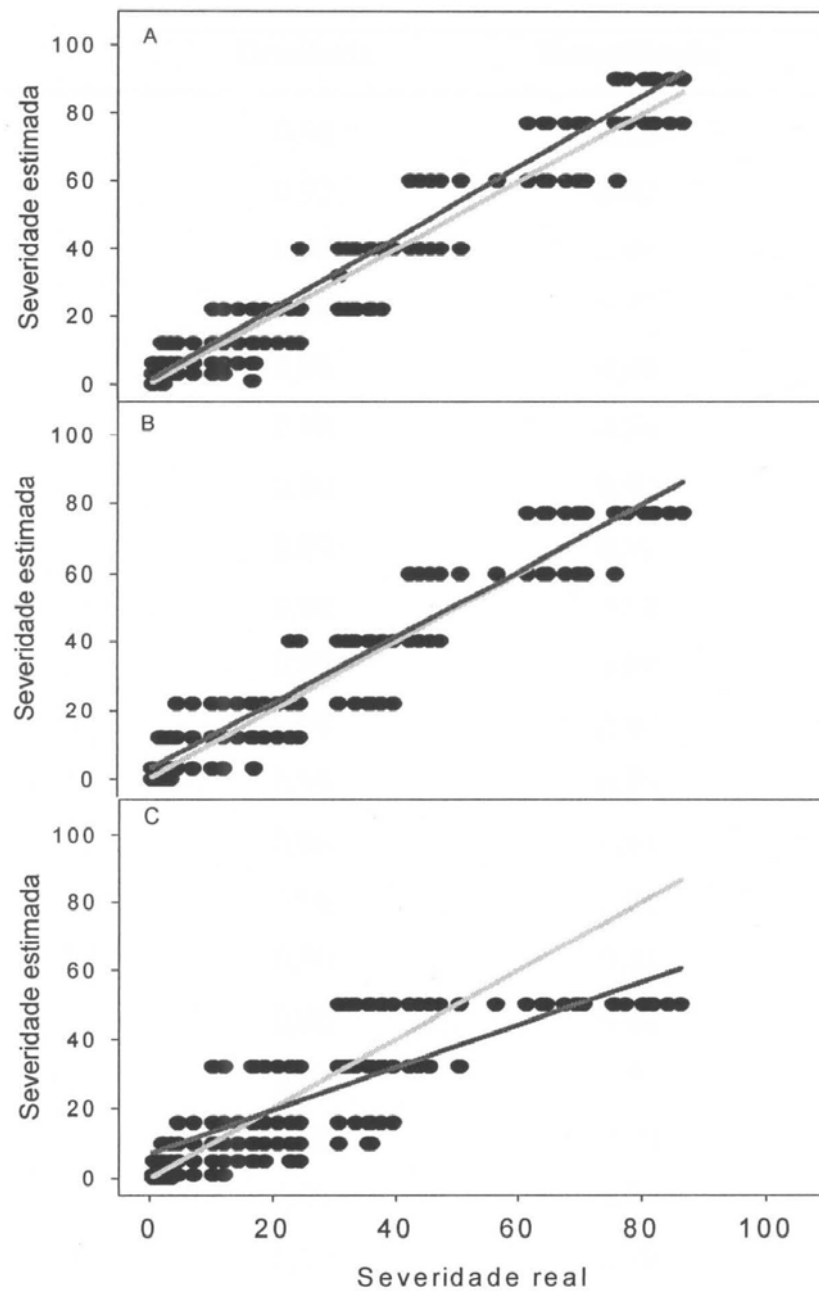


Figura 8. Regressões lineares entre a severidade real e severidade estimada para as três escalas propostas, em duas avaliações. Os pontos representam as 100 estimativas dos 24 avaliadores. A linha vermelha representa a reta de regressão entre a severidade real e a severidade estimada. A linha cinza representa a situação ideal, com estimativas idênticas a real. a) Escala-detalhada; b) Escala-simplificada; c) James-modificada

Em geral, os avaliadores apresentaram alta repetibilidade nas estimativas, pois os coeficientes de correlação entre as duas avaliações foram de 91%, 91% e 90%, para a escala detalhada, simplificada e a escala de James-modificada, respectivamente (Tabela 3). Estes resultados evidenciam a reprodutibilidade dos avaliadores ao utilizarem a mesma escala para quantificar a severidade da requeima em folhas de tomateiro.

Tabela 3. Coeficientes de correlação de Pearson para a repetibilidade dos avaliadores nas três escalas propostas.

Avaliador	Escala		
	Detalhada	Simplificada	James-modificada
1	0,96	0,96	0,96
2	0,92	0,92	0,96
3	0,94	0,96	0,94
4	0,90	0,77	0,96
5	0,96	0,94	0,96
6	0,92	0,94	0,90
7	0,90	0,92	0,92
8	0,90	0,92	0,96
9	0,92	0,92	0,92
10	0,86	0,94	0,74
11	0,94	0,96	0,94
12	0,90	0,79	0,96
13	0,96	0,94	0,79
14	0,92	0,94	0,90
15	0,90	0,92	0,94
16	0,90	0,92	0,96
17	0,92	0,92	0,92
18	0,86	0,90	0,74
19	0,92	0,94	0,83
20	0,90	0,79	0,90
21	0,90	0,92	0,96
22	0,92	0,92	0,86
23	0,86	0,94	0,92
24	0,86	0,94	0,92
Média	0,91	0,91	0,90

4.3. CONCLUSÕES

- A escala detalhada e a escala simplificada para quantificação da requeima em folhas de tomateiro mostrou ser de fácil utilização, capaz de fornecer uma rápida estimativa da doença, aplicável a uma ampla gama de situações e proporcionar boa acurácia e precisão das estimativas;
- Apesar dos avaliadores terem percepções diferentes da severidade da requeima nas folhas de tomateiro, o uso das escalas diagramáticas pode fornecer uma estimativa próxima da real, ocorrida no campo, e ser utilizada como modelo para comparação de epidemias em diferentes locais;
- O uso da escala de James-modificada proporciona estimativas com baixa precisão e pouco acuradas. Estes resultados deixam evidente a necessidade de se ter escalas de avaliação apropriadas para cada patossistema e que as escalas devem ser construídas a partir dos limites mínimos e máximos da doença encontrada no campo;
- Apesar da escala-detalhada ter apresentado resultados semelhantes quanto a precisão e a acurácia das estimativas quando comparada à escala-simplificada, pode-se recomendar o uso da escala-simplificada para estimativas da severidade da requeima em folhas de tomateiro, por apresentar menor número de níveis de severidade e assim ser de mais fácil utilização.

CAPÍTULO II

MODELOS LINEARES MISTOS E GENERALIZADOS MISTOS NA ANÁLISE DE DADOS DE SEVERIDADE DA REQUEIMA EM TOMATEIRO

6 RESUMO

A requeima, causada por *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, é a principal doença da cultura do tomate. A doença ataca as folhas e os frutos, ocasionando perdas na produção pela redução de área fotossintética e má formação ou ocorrência de manchas nos frutos. O controle da requeima é realizado através de aplicações semanais de defensivos, tornando-se necessário o uso de variedades com resistência genética. Para os casos de seleção de tratamentos (genótipos), em ensaios de campo, o uso da AACPD (área abaixo da curva de progresso) é frequentemente utilizado por fitopatologistas. No entanto, a AACPD pode não captar toda variação existente nos dados de severidade, uma vez que o fator tempo está incluído na própria AACPD, tendo-se a necessidade do uso de um modelo que inclua o tempo como fonte de variação nos dados. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar 66 genótipos de tomate do grupo cereja quanto à resistência a requeima e comparar o uso da AACPD (área abaixo da curva de progresso da doença) com os modelos mistos considerando a distribuição Normal, modelos mistos generalizados considerando a distribuição de Poisson e Binomial. O modelo com o uso da AACPD, calculada a partir da soma de Riemann, apresentou um ajuste adequado, atendendo a normalidade dos erros e homogeneidade das variâncias. Contudo, o modelo não conseguiu captar toda variação existente nos dados, sendo as médias genotípicas superestimadas. Já os modelos mistos generalizados, considerando a função de ligação logit e log apresentaram um ajuste adequado aos dados, com uma menor variância nas estimativas. O modelo misto, considerando a distribuição Normal, permitiu o adequado ajuste dos dados e foi superior ao modelo com o uso direto da AACPD, porém, apresentou estimativas menos precisas das médias genotípicas que os modelos generalizados. Os resultados indicam que o uso de um modelo que aproxime melhor a distribuição de probabilidade da variável analisada e inclua o tempo como fonte de variação, resulta em estimativas mais precisas das médias genotípicas. Os genótipos ENAS 1177 e ENAS 1178 são fontes promissoras de resistência a requeima, podendo ser utilizados em trabalhos de melhoramento genético.

7 ABSTRACT

The late blight, caused by *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary, is the main disease of the culture of the tomato. The disease attacks the leaves and the fruits, causing losses in the production because of reduction of the photosynthetic area, and of bad formation or occurrence of stains in the fruits. The control of the late blight is accomplished through weekly applications of defensive, thus making necessary the use of varieties with genetic resistance. For the cases of selection of treatments (genotypes), in field conditions, the AUDPC (area under disease curve progress) is frequently used by phytopathologists. However, since the AUDPC may not capture all existent variation in the severity data as the time factor is included in the AUDPC itself, there is need for using a model that includes time as source of variation in the data. Therefore, the present work has as objective to evaluate 66 cherry type tomato genotypes regarding their resistance to the late blight and to compare the use of AUDPC with the mixed models, which consider the Normal distribution, and with the generalized mixed models, which consider the Poisson distribution and the binomial distribution. The model which used the AUDPC, calculated from the sum of Riemann, presented an appropriate adjustment, observing the normality of errors and the homogeneity of variances. However, the model did not capture all existent variation in the data, overestimating the genotypic averages. Now, the generalized mixed models, which consider logit and log links function, presented an appropriate adjustment to the data, with a smaller variance in the estimates. The mixed model, which considers the Normal distribution, allowed the appropriate adjustment of data, and was superior to the model with the direct use of AUDPC. However, it presented less accurate estimates of the genotypic averages than the generalized models. The results indicate that the use of a model which better approximates the probability distribution of the variable analyzed, and which includes time as source of variation, results in more accurate estimates of the genotypic averages. The ENAS 1177 and ENAS 1178 genotypes are promising sources of resistance to the late blight and could be used towards genetic improvement.

8 INTRODUÇÃO

O procedimento estatístico mais utilizado para avaliar a eficiência de estratégias de controle de doenças de plantas é a análise de variância (ANAVA). Contudo, a ANAVA exige pressupostos como a aditividade, homogeneidade das variâncias e normalidade dos erros. Para atender aos pressupostos da análise de variância, que muitas vezes são rejeitados, o pesquisador tem que recorrer a transformações da variável resposta, que nem sempre são suficientes para o atendimento do referidos pressupostos da ANAVA.

Para o caso de curvas de progresso de doenças, que são obtidas a partir de escalas que apresentam uma característica discreta em sua distribuição de probabilidade, normalmente os pressupostos da ANAVA não são atendidos. Por estes e outros motivos, o pesquisador acaba optando por utilizar uma medida que resume toda a curva de progresso da doença ou a “área abaixo da curva de progresso da doença” (AACPD) (Shanner e Finney, 1977). Como toda a variação que ocorre no tempo está incluída nos valores de AACPD o uso da ANAVA torna-se mais eficiente. Outra opção de análise é o uso de modelos não-lineares. Nestes, ajustes a um modelo não-linear para cada tratamento são utilizados e os valores das estimativas dos parâmetros comparados (Campbell & Madden, 1990). No entanto, quando se tem um grande número de tratamentos, esta metodologia torna-se inviável.

Para o caso de variáveis que não apresentam uma distribuição de probabilidade normal com média μ e variância σ^2 , que é o caso de dados oriundos de contagens ou proporções, Nelder & Wedderburn (1972) propuseram a classe dos modelos generalizados. Este tipo de análise também envolve uma transformação (não dos dados, mas da esperança condicional) utilizando uma função de ligação. Para o caso de dados de severidade de doenças de plantas, que provém de medidas observadas no mesmo indivíduo ao longo do tempo, onde a variável resposta é o percentual de área foliar lesionada, poderia ser indicado o uso de um modelo generalizado misto, que considere a distribuição de probabilidade da variável estudada e modele a dependência do que ocorre ao longo do tempo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o uso da AACPD, de modelos lineares mistos, lineares mistos generalizados e do modelo logístico na descrição da epidemia causada por requeima em tomateiro, a fim de se obter estimativas mais precisas das médias genotípicas e assim poder identificar possíveis fontes de resistência à doença.

8.1 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de horticultura da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. A condução do experimento foi realizada conforme descrito no item 5.4. Foram utilizados 66 genótipos de tomateiro, sendo um genótipo comercial, o híbrido 'Super Sweet', suscetível à requeima e de alta produtividade e dois genótipos resistentes à requeima, ENAS 1177 e ENAS 1178 (Azevedo, 2006). Os demais 63 genótipos são acessos em teste na UFRRJ. O plantio foi realizado em área com histórico de ocorrência da doença e a doença desenvolveu-se a partir de infecção natural. O delineamento adotado foi de blocos incompletos, sendo 33 genótipos por bloco com uma planta por parcela. Foram utilizados 20 blocos, totalizando 10 repetições por genótipo.

As avaliações da severidade da requeima foram realizadas semanalmente, a partir do início da ocorrência da requeima. A escala utilizada nas avaliações foi a escala de James-modificada (conforme Capítulo I), considerando-se as folhas número 4, 5 e 6, contadas a partir do ápice da planta. Os dados de temperatura máxima e mínima, umidade relativa do ar e precipitação máxima, foram coletados diariamente e cedidos pela Estação Experimental de Seropédica da PESAGRO-RJ.

O software utilizado para o ajuste dos modelos foi o R 2.5.1, através dos procedimentos LM (modelos lineares), LMER (modelos lineares generalizados mistos), LME (modelos lineares mistos) e NLME (modelos não-lineares mistos). Os gráficos de probabilidade normal (qq-plot) foram construídos conforme Chamber *et. al.* (1983). As estimativas obtidas pelos modelos utilizados nas análises foram correlacionadas entre si, pelo teste de correlação de Pearson. Os valores dos coeficientes de correlação foram testados utilizando-se o teste t para coeficiente de correlação. Os modelos utilizados na seleção dos genótipos são apresentados a seguir.

8.1.1 Aplicação direta da AACPD

A AACPD foi determinada conforme Shanner & Finney (1977), sendo,

$$\sum_{i=1}^n [(Y_{i+n} + Y_i)/2][X_{i+1} - X_i]$$

onde, Y_i = severidade (por unidade) na i -ésima observação, X_i = tempo (dias) na i -ésima observação e n = número total de observações. Assume-se a distribuição normal, com média μ e variância σ^2 , isto é,

$$Y \sim N(0, \sigma^2)$$

O delineamento adotado foi o de blocos incompletos, sendo 33 genótipos por bloco com 10 repetições e uma planta por parcela, isto é,

$$E[Y | \alpha] = \mu + \alpha_i + \beta_j$$

sendo, μ o efeito associado à média geral, α_i o efeito associado ao i -ésimo genótipo, $i = 1, 2, \dots, 66$ sendo considerado aleatório, β_j o efeito associado ao j -ésimo bloco, $j = 1, \dots, 10$, sendo considerado aleatório.

8.1.2 Modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição normal

Para este modelo, foi adotado a distribuição normal, com média μ e variância σ^2 , assumindo independência entre as observações e função de ligação identidade. Tem-se o esquema em parcelas subdivididas no tempo, onde as parcelas estão no delineamento em blocos incompletos casualizados com 10 repetições e uma planta por parcela, e as subparcelas são as observações no tempo (6 tempos), isto é,

$$E[Y | \alpha, \beta, \eta] = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \eta_{ik}$$

sendo $s = 1, \dots, n$, μ o efeito associado à média geral, α_i o efeito associado ao i -ésimo genótipo, $i = 1, 2, \dots, 66$ sendo considerado aleatório, β_j o efeito associado ao j -ésimo bloco, $j = 1, \dots, 10$, sendo considerado aleatório, τ_k o efeito associado ao k -ésimo tempo em dias, $k = 1, \dots, 6$ e η_{ik} é o efeito associado à interação genótipo x tempo.

8.1.3 Modelo considerando uma estrutura de correlação AR(1)

Para este modelo, foi adotado a distribuição normal, com média μ e variância σ^2 , com função de ligação identidade e assumindo que as observações no tempo são correlacionadas. Adotando-se uma estrutura de correlação AR(1) para o efeito de tempo. Tem-se o esquema em blocos incompletos com 10 repetições e uma planta por parcela, sendo,

$$E[Y | \alpha, \beta] = \mu + \alpha_i + \beta_j$$

sendo, μ o efeito associado à média geral, α_i o efeito associado ao i -ésimo genótipo, $i = 1, 2, \dots, 66$ sendo considerado aleatório, β_j o efeito associado ao j -ésimo bloco, $j = 1, \dots, 10$, sendo considerado aleatório.

8.1.4 Modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição de Poisson

A distribuição padrão a ser assumida, neste caso, é a Poisson, de parâmetro λ ou seja,

$$Y_{ijk} \sim Poi(\lambda) = \frac{\lambda^y e^{-\lambda}}{y!}$$

Assume-se a função de ligação logarítmica e independência das observações. Tem-se o esquema em parcelas subdivididas no tempo, onde as parcelas estão no delineamento em blocos incompletos casualizados com 10 repetições e uma planta por parcela, e as subparcelas são as observações no tempo (6 tempos), isto é,

$$\log [E(Y | \alpha, \beta, \eta)] = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \eta_{ik}$$

sendo $s = 1, \dots, n$, μ o efeito associado à média geral, α_i o efeito associado ao i -ésimo genótipo, $i = 1, 2, \dots, 66$ sendo considerado aleatório, β_j o efeito associado ao j -ésimo bloco, $j = 1, \dots, 10$, sendo considerado aleatório, τ_k o efeito associado ao k -ésimo tempo em dias, $k = 1, \dots, 6$ e η_{ik} é o efeito associado a interação genótipo x tempo.

8.1.5 Modelo logístico

A distribuição padrão assumida, neste caso, é a Binomial, de parâmetro π , ou seja,

$$Y_{ijk} \sim \text{Binomial}(\pi)$$

Assume-se a função de ligação Logit e independência das observações. As parcelas estão no delineamento em blocos incompletos casualizados com 10 repetições e uma planta por parcela, e as subparcelas são as observações no tempo (6 tempos), isto é,

$$\text{logit} [E(Y | \alpha, \beta, \eta)] = \mu + \alpha_i + \beta_j + \tau_k + \eta_{ik}$$

sendo $s = 1, \dots, n$, μ o efeito associado à média geral, α_i o efeito associado ao i -ésimo genótipo, $i = 1, 2, \dots, 66$ sendo considerado aleatório, β_j o efeito associado ao j -ésimo bloco, $j = 1, \dots, 10$, sendo considerado aleatório, τ_k o efeito associado ao k -ésimo tempo em dias, $k = 1, \dots, 6$ e η_{ik} é o efeito associado a interação genótipo x tempo.

8.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As avaliações da severidade da requeima iniciaram-se aos 60 dias após o transplântio e prosseguiu até 114 dias com o final da colheita. A média da temperatura máxima entre o período de transplântio e a primeira avaliação da severidade da requeima foi de $26,7^{\circ}\text{C}$, com a média da temperatura mínima de $16,4^{\circ}\text{C}$ e a média da umidade relativa foi de $74,4\%$ (Figura 8). Os valores de umidade relativa e temperatura noturna foram ideais para a ocorrência da epidemia de requeima (Singh *et al.* 2004). Foram constatados valores médios de severidade por planta de até 50% (Figura 9).

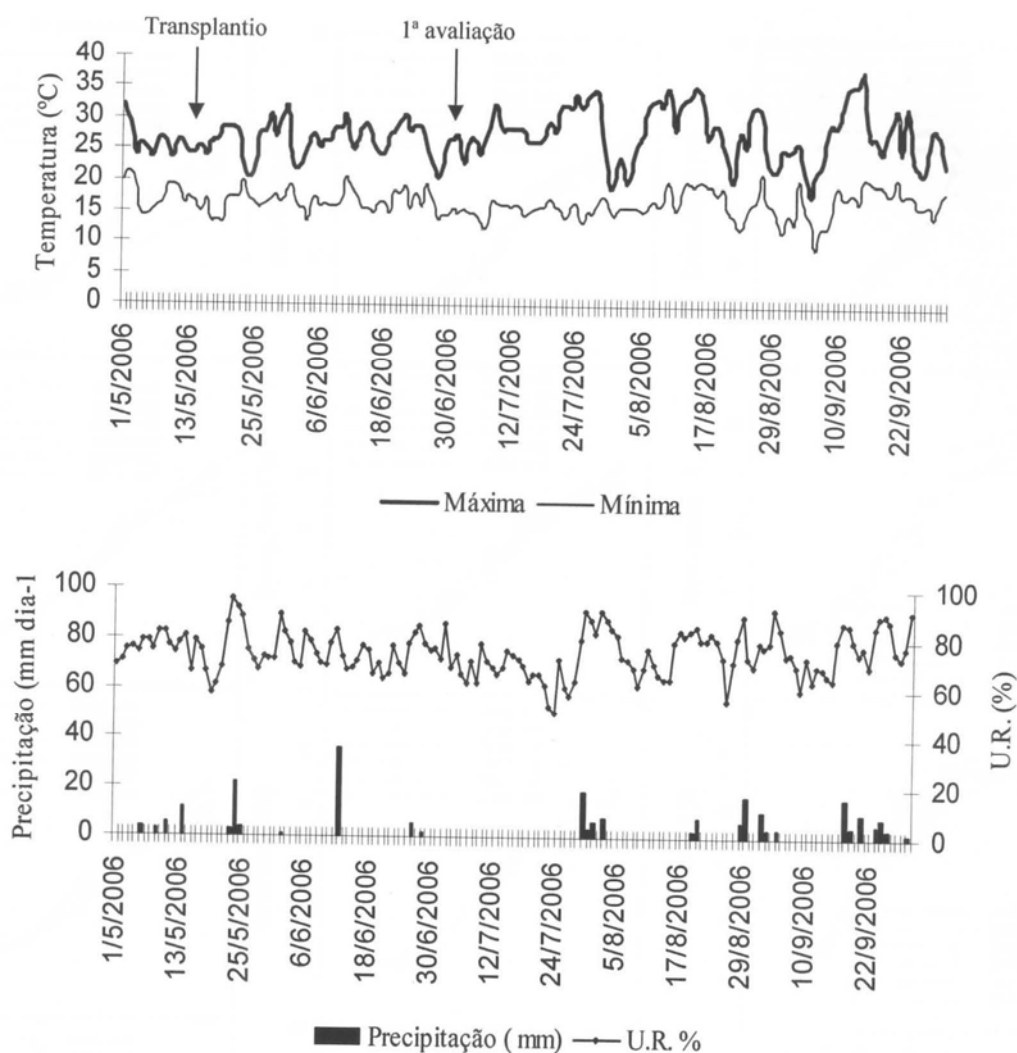


Figura 8. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), precipitação (mm dia^{-1}) e umidade relativa (U.R. %), registrados na Estação Experimental da PESAGRO, no município de Seropédica. Fonte: EES-PESAGRO, Seropédica-RJ. 2006.

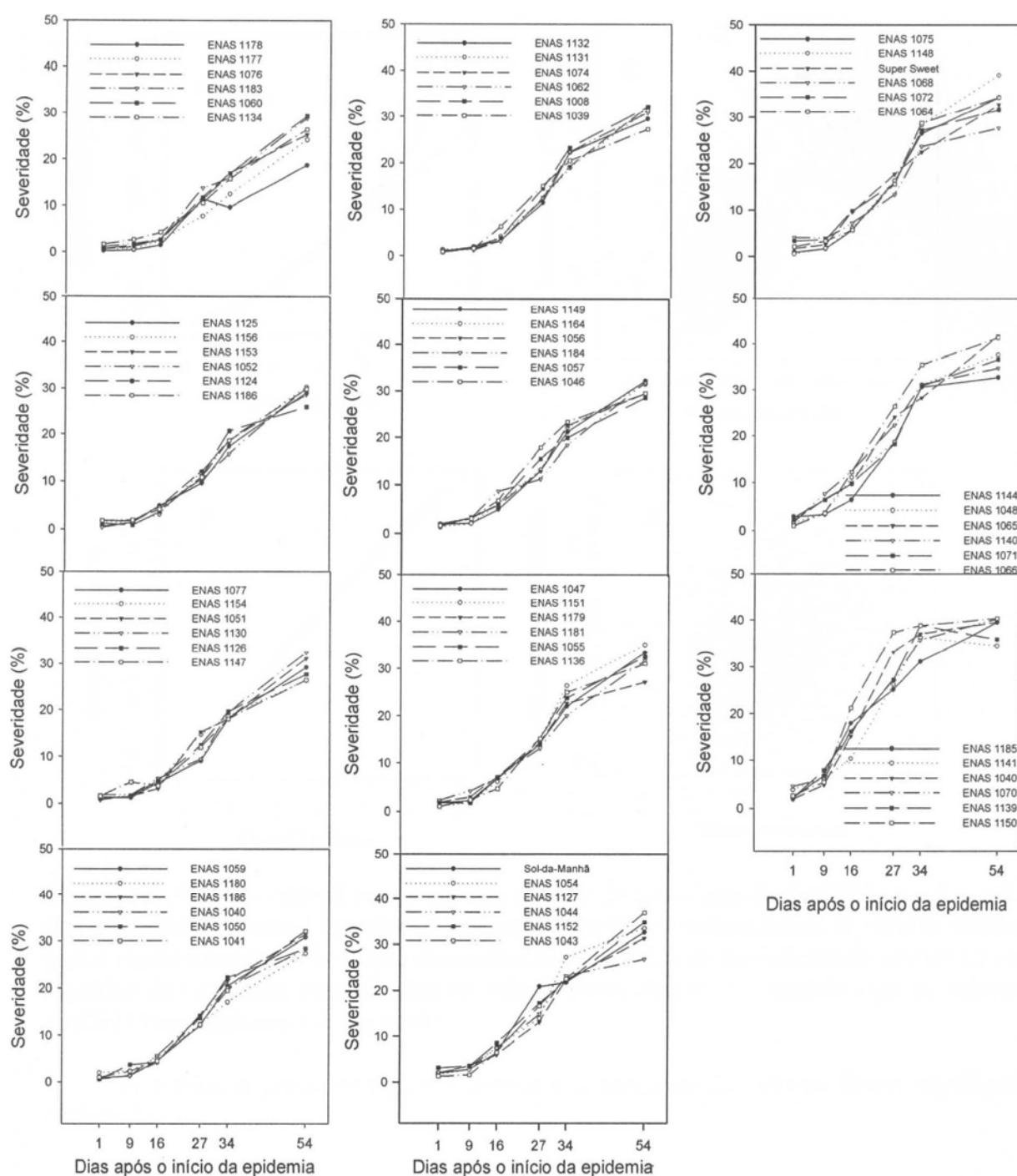


Figura 9. Curvas de progresso da requeima, causada por *Phytophthora infestans*, em 66 genótipos de tomate do grupo cereja.

8.2.1 Ajuste do modelo com aplicação direta da AACPD

O modelo utilizando a área abaixo da curva de progresso da doença, determinada conforme Shanner & Finney (1977), indicou que os dados devem ser transformados, pois a análise residual apresentou uma superdispersão dos resíduos e uma fraca distribuição residual em torno dos valores estimados (Figura 10 A e C). Para transformação da variável resposta, adotou-se o log (AACPD).

A análise residual para o modelo com os dados transformados apresentou um ajuste adequado do modelo, com distribuição normal dos resíduos e uma adequada distribuição dos resíduos em torno da variável resposta (Figura 10 B e D).

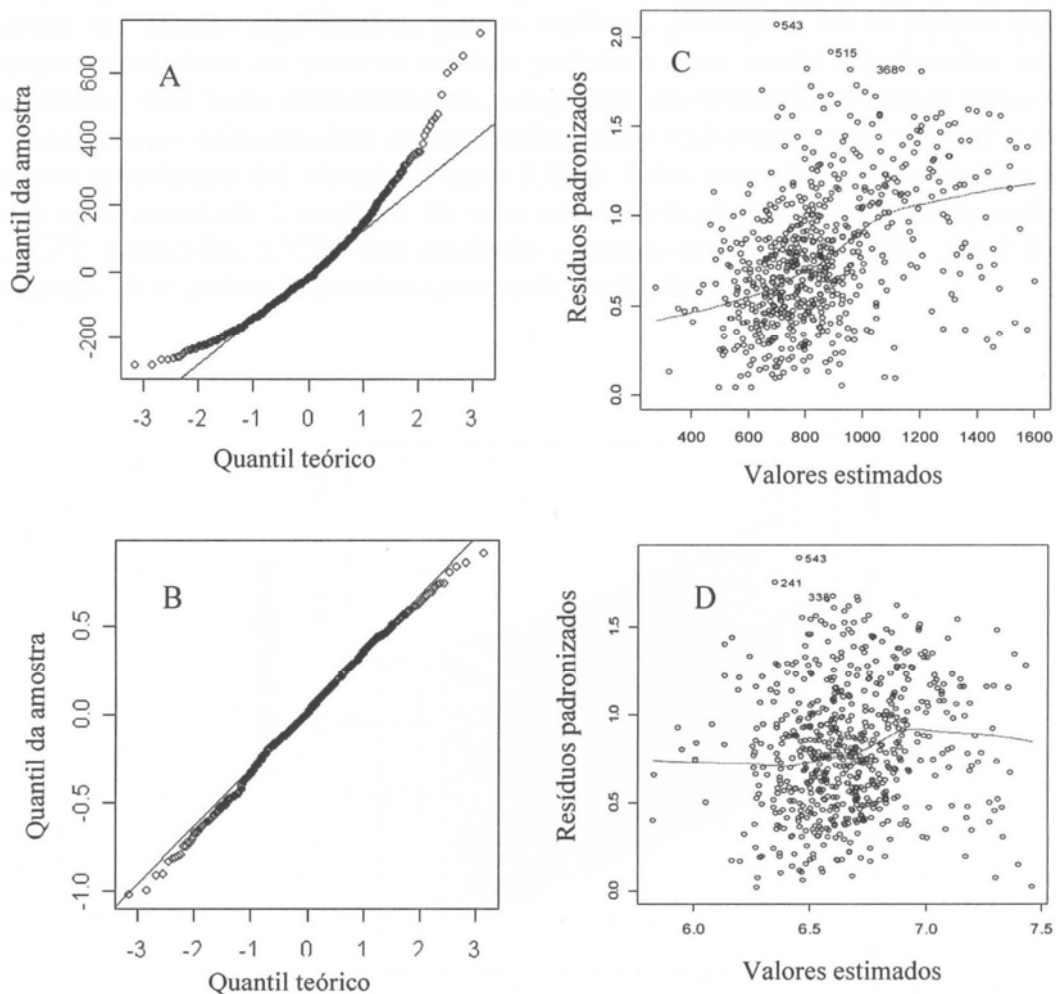


Figura 10. Análise residual para o modelo a partir do uso direto da AACPD. A e C — gráfico de probabilidade normal (qq-plot) e gráfico dos resíduos padronizados vs valores estimados para o modelo sem transformação dos dados; B e D gráfico de probabilidade normal (qq-plot) e gráfico dos resíduos padronizados vs valores estimados para o modelo com os valores de AACPD transformados em $\log(x+1)$.

A variância genotípica para a doença e a variância dos blocos foram significativas (Tabela 5).

Tabela 5. Tabela da análise de variância para os dados de AACPD transformados em $\log(x+1)$.

F.V.	G.L.	Quadrado médio	Valor de p
Genótipo	65	0,178	0,03225
Bloco	19	0,209	0,04711
Resíduo	558	0,129	

$\hat{\sigma}^2_{genotípica} = 0,0045 \pm 0,067$ $\hat{\sigma}^2_{blocos} = 0,003 \pm 0,055$

Utilizando-se o presente modelo poderiam ser selecionados 27 genótipos, pois os mesmo apresentaram média genotípica abaixo da média zero (Figura 11). Os genótipos ENAS 1178 e ENAS 1177 que são citados como resistentes à requeima situaram-se na r e 13' posição quanto à ordenação dos genótipos com base nos valores de AACPD (Tabela 6). Apesar dos valores significativos para a variância genotípica, ao se utilizar as médias dos valores genotípicos do presente modelo poderiam estar sendo selecionados genótipos que apresentam uma baixa resistência para a requeima, ou serem classificados como suscetíveis à doença aqueles originalmente caracterizados como resistentes, uma vez que a variação dos valores genotípicos foi elevada (Figura 11). A baixa precisão nas estimativas genotípicas, pode estar associada à ausência de uma estrutura hierárquica, cujo tempo está contido na AACPD (Geneville, 2002). Este resultado contrasta com a observação visual das curvas de progresso da requeima construídas para cada genótipo (Figura 9).

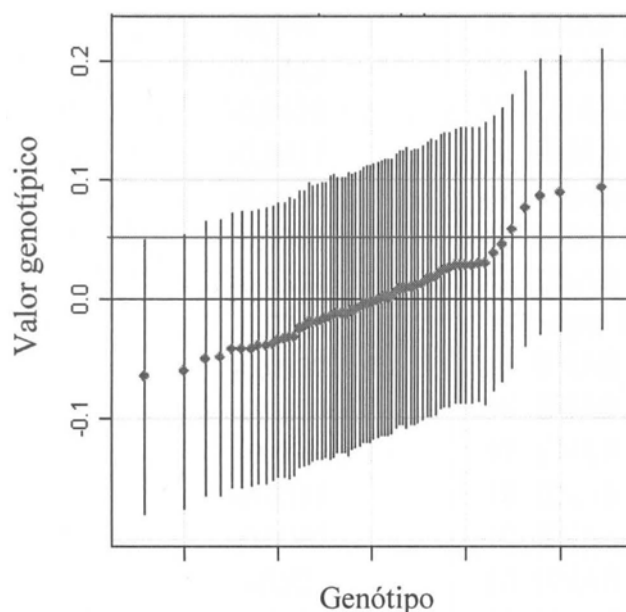


Figura 11. Estimativas de máxima verossimilhança de 66 genótipos de tomate do grupo cereja, para a área abaixo da curva de progresso da requeima e seu intervalo de confiança. Linha preta indica a média populacional. Linha vermelha indica a possibilidade de igualdade entre as médias genotípicas.

Tabela 6 - Valores genotípicos médios de 66 genótipos de tomate do grupo cereja a partir da estimativa de máxima verossimilhança, para os dados transformados em $\log(x+1)$

Genótipo	Valor genotípico	Genótipo	Valor genotípico
1 ENAS 1076	-0,0646	34 ENAS 1055	-0,0023
2 ENAS 1134	-0,0604	35 ENAS 1064	-0,0005
3 ENAS 1068	-0,0501	36 ENAS 1161	0,00053
4 ENAS 1154	-0,049	37 ENAS 1066	0,00148
5 ENAS 1179	-0,0425	38 ENAS 1041	0,00149
6 ENAS 1180	-0,0419	39 ENAS 1059	0,00221
7 ENAS 1177	-0,0417	40 ENAS 1148	0,00602
8 ENAS 10	-0,0396	41 Sol-da-manhã	0,00886
9 ENAS 1072	-0,0391	42 ENAS 1130	0,00903
10 ENAS 1056	-0,0371	43 ENAS 1149	0,0092
11 ENAS 1147	-0,0344	44 Super Sweet	0,00935
12 ENAS 1077	-0,0337	45 ENAS 1144	0,01015
13 ENAS 1178	-0,0327	46 ENAS 1052	0,01079
14 ENAS 1153	-0,032	47 ENAS 1051	0,01352
15 ENAS 1046	-0,0251	48 ENAS 1074	0,01659
16 ENAS 1151	-0,0242	49 ENAS 1136	0,0173
17 ENAS 1054	-0,02	50 ENAS 1062	0,01783
18 ENAS 1126	-0,0196	51 ENAS 1186	0,02321
19 ENAS 1060	-0,0192	52 ENAS 1152	0,02471
20 ENAS 1140	-0,0179	53 ENAS 1156	0,02502
21 ENAS 1057	-0,0169	54 ENAS 1185	0,02803
22 ENAS 1040	-0,0153	55 ENAS 1039	0,02823
23 ENAS 1044	-0,0137	56 ENAS 1131	0,02829
24 ENAS 1127	-0,0131	57 ENAS 1132	0,02835
25 ENAS 10	-0,013	58 ENAS 1184	0,02924
26 ENAS 1047	-0,0127	59 ENAS 1070	0,02948
27 ENAS 1075	-0,0123	60 ENAS 1043	0,03812
28 ENAS 1181	-0,0099	61 ENAS 1008	0,04552
29 ENAS 1182	-0,0092	62 ENAS 1048	0,05749
30 ENAS 1125	-0,0073	63 ENAS 1141	0,07616
31 ENAS 1050	-0,0044	64 ENAS 1057	0,08593
32 ENAS 1183	-0,0041	65 ENAS 1065	0,0887
33 ENAS 1071	-0,0039	66 ENAS 1150	0,09248

As variações existentes para a AACPD dentro de cada genótipo podem ser observadas na Figura 12. A alta variação dentro dos genótipos explica a sobreposição dos intervalos de confiança para as estimativas genotípicas.

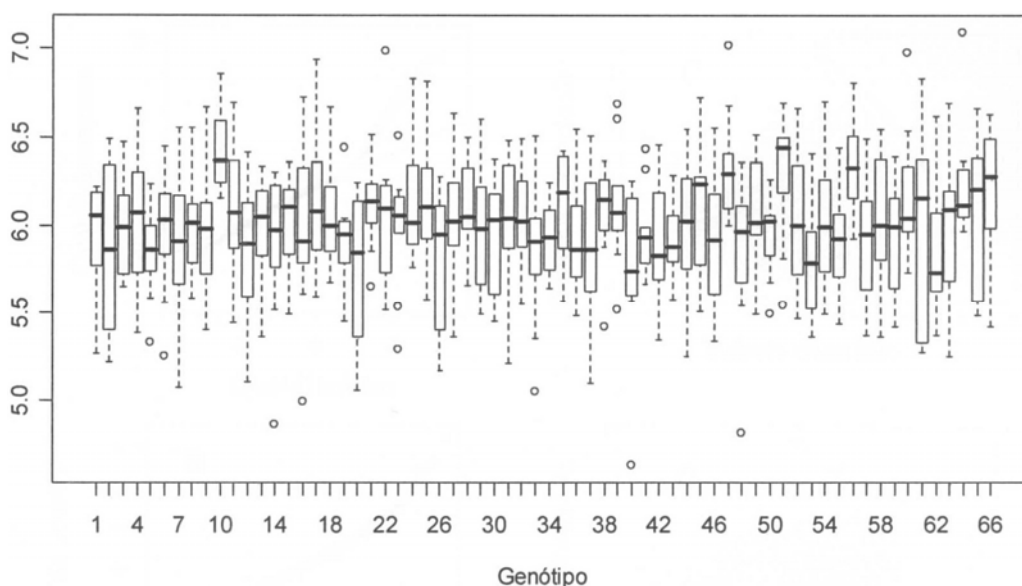


Figura 12. Gráficos de caixa para a área abaixo da curva de progresso da requieima de 66 genótipos de tomate do grupo cereja.

8.2.2 Ajuste do modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição normal

A análise do modelo para os dados não transformados apresentou uma superdispersão dos resíduos, indicando a necessidade de transformação dos dados (Figura 13 A e C). Adotou-se a transformação dos valores de severidade para $\text{raiz}(x+1)$. Os resultados do ajuste do modelo para os dados transformados apresentaram uma distribuição normal e nenhuma tendência quanto a distribuição residual para os valores estimados, ou seja, as variâncias são homogêneas (Figura 13 B e D).

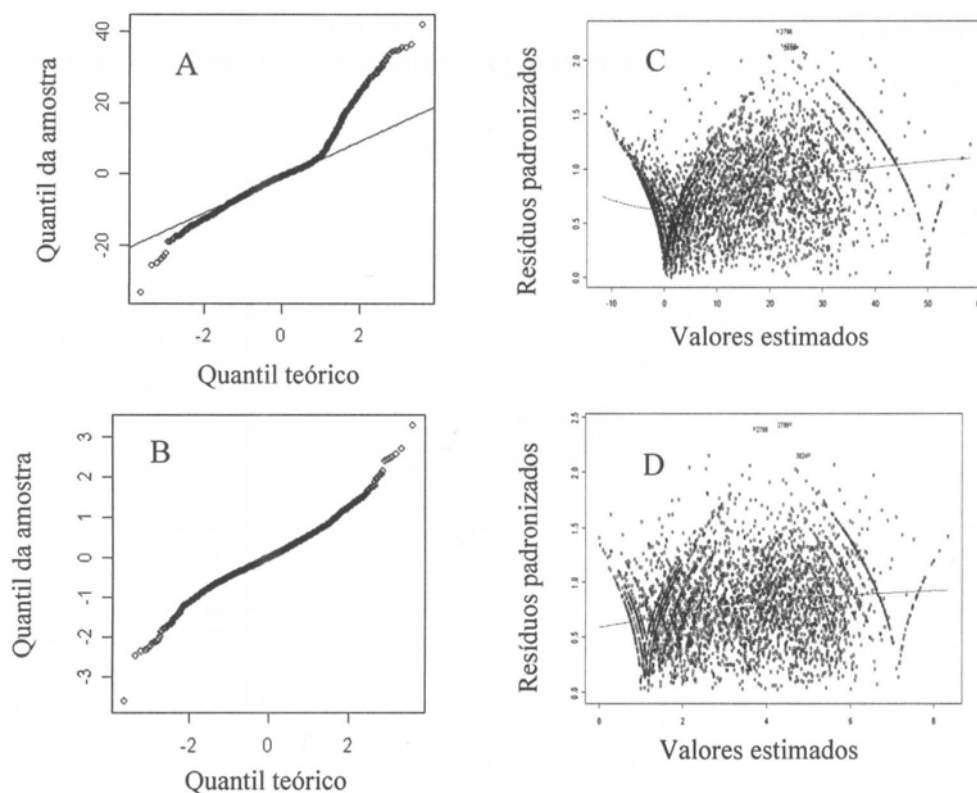


Figura 13. Análise residual para o modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição normal. A e C) gráfico de probabilidade normal (qq-plot) e, resíduos padronizados vs valores estimados para o modelo sem transformação dos dados; B e D) gráfico de probabilidade normal (qq-plot) e resíduos padronizados vs valores estimados para o modelo com os valores de severidade transformados em raiz ($x + 1$)

Os resultados obtidos através do modelo em parcelas subdivididas com os dados transformados estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 – Análise de variância para os valores de severidade transformados em raiz ($x+1$) de 66 genótipos de tomate do grupo cereja.

F.V.	G.L.	Quadrado médio	Valor de p
Genótipo	65	9,5	< 0,0001
Bloco	19	10,2	< 0,0001
Resíduo (A)	567	2,3	
Tempo	5	1817,9	< 0,0001
Genótipo x Tempo	325	0,7	< 0,0001
Resíduo (B)	2930	0,5	
$\hat{\sigma}^2_{genotípica} = 0,179 \pm 0,424$		$\hat{\sigma}^2_{blocos} = 0,064 \pm 0,253$	

A análise de variância do modelo em parcelas subdivididas indicou efeito significativo para a variância genotípica e efeito da interação entre genótipo e tempo. O efeito significativo da interação genótipo x tempo indica que cada genótipo possui uma curva característica de progresso da doença e que existe diferença entre as curvas de progresso da doença. Ao se utilizar o presente modelo poderia-se indicar 37 genótipos como resistentes à requeima, pois os mesmo apresentaram uma média genotípica abaixo da média populacional (Figura 14).

Três genótipos se destacaram quanto à resistência a requeima, sendo: ENAS 1178, ENAS 1177 e ENAS 1076 (Figura 14).

Para este caso, os valores genotípicos estão apresentados na tabela 8.

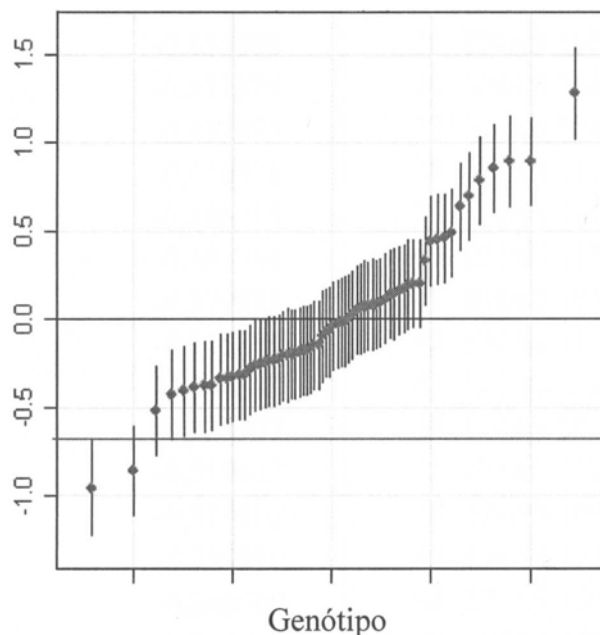


Figura 14. Valores genotípicos e seus respectivos intervalos de confiança para o modelo de parcelas subdividida no tempo considerando a distribuição normal. Linha preta indica a média populacional. Linha vermelha indica a possibilidade de igualdade entre as médias genotípicas.

Tabela 8. Valores genotípicos médios de 66 genótipos de tomate do grupo cereja, a partir da estimativa de máxima verossimilhança, para os dados transformados em ram ($x + 1$).

Genótipo	Valor genotípico	Genótipo	Valor genotípico
1 ENAS 1178	-0,954522	34 ENAS 1184	-0,039451
2 ENAS 1177	-0,856668	35 ENAS 1057	-0,035187
3 ENAS 1076	-0,521375	36 ENAS 1046	-0,022085
4 ENAS 1183	-0,432373	37 ENAS 1047	-0,017709
5 ENAS 1060	-0,410321	38 ENAS 1151	0,000028
6 ENAS 1134	-0,386715	39 ENAS 1179	0,020196
7 ENAS 1125	-0,385314	40 ENAS 1181	0,047459
8 ENAS 1008	-0,379225	41 ENAS 1055	0,052481
9 ENAS 1153	-0,345885	42 ENAS 1136	0,063732
10 ENAS 1052	-0,344887	43 Sol-da-manhã	0,069787
11 ENAS 10	-0,333977	44 ENAS 1054	0,074080
12 ENAS 1186	-0,319627	45 ENAS 1127	0,078073
13 ENAS 1077	-0,319102	46 ENAS 1044	0,089183
14 ENAS 1154	-0,289710	47 ENAS 1152	0,111895
15 ENAS 1051	-0,266969	48 ENAS 1043	0,137072
16 ENAS 1130	-0,264066	49 ENAS 1075	0,139026
17 ENAS 1126	-0,251538	50 ENAS 1148	0,153629
18 ENAS 1147	-0,242768	51 Super Sweet	0,170871
19 ENAS 1059	-0,237909	52 ENAS 1068	0,190939
20 ENAS 1180	-0,227478	53 ENAS 1072	0,198415
21 ENAS 1182	-0,211351	54 ENAS 1064	0,200055
22 ENAS 1040	-0,207613	55 ENAS 1144	0,326515
23 ENAS 1050	-0,198751	56 ENAS 1048	0,440142
24 ENAS 1041	-0,198687	57 ENAS 1065	0,450447
25 ENAS 1132	-0,188962	58 ENAS 1140	0,453855
26 ENAS 1131	-0,183370	59 ENAS 1071	0,489510
27 ENAS 1074	-0,182909	60 ENAS 1066	0,637921
28 ENAS 1062	-0,173435	61 ENAS 1185	0,692743
29 ENAS 1008	-0,155522	62 ENAS 1141	0,783809
30 ENAS 1039	-0,153822	63 ENAS 1161	0,851479
31 ENAS 1149	-0,100571	64 ENAS 1070	0,894511
32 ES-16	-0,084290	65 ENAS 1057	0,897250
33 ENAS 1056	-0,076534	66 ENAS 1150	1,285571

Ao se observar os valores genotípicos, pode-se identificar a alteração da posição dos genótipos em relação à análise obtida pelos valores de AACPD, com os genótipos ENAS 1178 e ENAS 1177 ocupando a primeira e a segunda posição quanto à resistência a requeima. A alteração

na posição dos genótipos deve-se ao fato de uma maior precisão nas estimativas das médias, pois a redução da variância em torno das médias estimadas indica uma maior precisão nas estimativas das mesmas (Figura 14).

8.2.3 Modelo incorporando uma matriz de correlação

A inclusão de uma matriz de correlação que melhor represente a dependência das observações ao longo do tempo é uma alternativa de análise, desde que os efeitos no tempo sejam correlacionados (Liang & Zeger, 1986). A tabela 9 indica que os efeitos no tempo são correlacionados, com correlação decrescente ao longo do tempo, apresentando indícios de que uma estrutura de correlação adequada seja a AR(1).

Tabela 9 – Matriz de correlação observada, sem os efeitos de genótipos e blocos.

	Tempo 54	Tempo 34	Tempo 27	Tempo 16	Tempo 9	Tempo 1
Tempo 1	0,1699	0,2873	0,1770	0,2841	0,4926	1
Tempo 9	0,3036	0,4753	0,4568	0,5473	1	
Tempo 16	0,4491	0,6334	0,6668	1		
Tempo 27	0,5123	0,7195	1			
Tempo 34	0,6031	1				
Tempo 54	1					

Os resíduos do modelo com a matriz de correlação no tempo estão apresentados na figura 15.

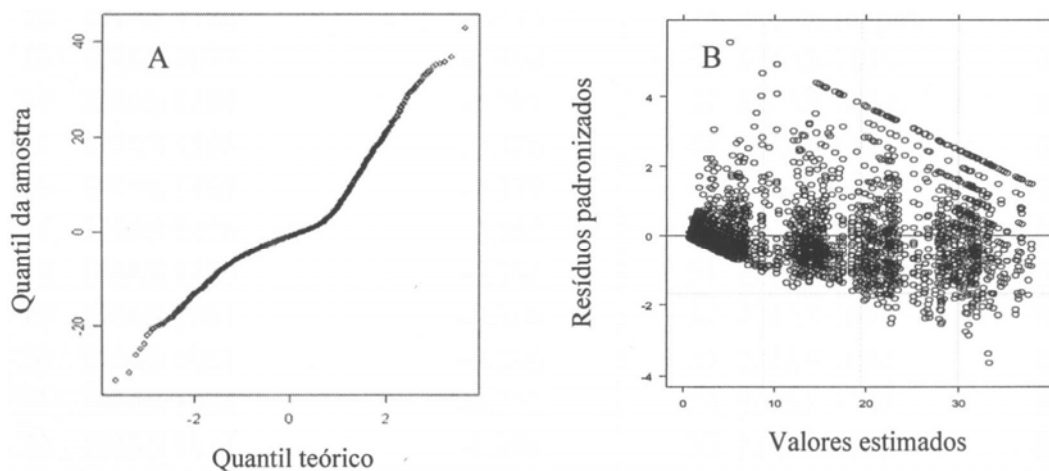


Figura 15. Análise residual para o modelo incorporando uma matriz de correlação. A) gráfico de probabilidade normal (qq-plot); B) resíduos padronizados vs valores estimados.

A análise residual para o modelo com a incorporação de uma matriz de correlação apresentou uma distribuição normal dos resíduos e um decréscimo da variabilidade com o aumento dos valores estimados (Figura 15 A e B).

A análise de variância, baseada na estrutura de correlação AR1 indicou efeito significativo para genótipos e para blocos (Tabela 10).

Tabela 10 – Análise de variância para os efeitos, considerando a estrutura de correlação AR1.

F.V.	G.L.	F calc.	Valor de p
Genótipo	65	522,3707	< 0,0001
Bloco	19	7,8595	< 0,0001
$\Phi = 0,8$			

Por este procedimento de análise, pode-se identificar 37 genótipos como fonte de resistência à requeima, com destaque para ENAS 1178, ENAS 1177 e ENAS 1076, que apresentaram as menores estimativas de severidade.

Tabela 11 – Estimativas genotípicas para 66 genótipos de tomate do grupo cereja, a partir da estimativa de máxima verossimilhança para o modelo incorporando uma matriz de correlação.

Genótipo	Valor genotípico	Genótipo	Valor genotípico
1 ENAS 1178	-0,959	34 ES- 16	-0,124
2 ENAS 1177	-0,860	35 ENAS 1184	-0,119
3 ENAS 1076	-0,606	36 ENAS 1047	-0,108
4 ENAS 1183	-0,540	37 ENAS 1044	-0,101
5 ENAS 1134	-0,514	38 ENAS 1057	-0,099
6 ENAS 1060	-0,508	39 ENAS 1179	-0,095
7 ENAS 1153	-0,477	40 ENAS 1127	-0,085
8 ENAS 1180	-0,453	41 ENAS 1055	-0,023
9 ENAS 1125	-0,435	42 ENAS 1068	-0,008
10 ENAS 10	-0,434	43 ENAS 1046	-0,007
11 ENAS 1052	-0,428	44 ENAS 1151	0,062
12 ENAS 1186	-0,425	45 Sol-da-manhã	0,066
13 ENAS 1077	-0,400	46 ENAS 1136	0,074
14 ENAS 1154	-0,391	47 ENAS 1054	0,138
15 ENAS 1156	-0,386	48 ENAS 1152	0,146
16 ENAS 1147	-0,377	49 Super Sweet	0,165
17 ENAS 1126	-0,367	50 ENAS 1043	0,176
18 ENAS 1130	-0,363	51 ENAS 1075	0,203
19 ENAS 1041	-0,300	52 ENAS 1072	0,223
20 ENAS 1051	-0,296	53 ENAS 1064	0,228
21 ENAS 1074	-0,292	54 ENAS 1144	0,321
22 ENAS 1131	-0,291	55 ENAS 1148	0,354
23 ENAS 1039	-0,283	56 ENAS 1071	0,578
24 ENAS 1182	-0,272	57 ENAS 1048	0,593
25 ENAS 1040	-0,266	58 ENAS 1140	0,744
26 ENAS 1059	-0,247	59 ENAS 1065	0,877
27 ENAS 1050	-0,233	60 ENAS 1141	0,956
28 ENAS 1132	-0,220	61 ENAS 1185	0,971

29 ENAS 1062	-0,198	62 ENAS 1066	1,045
30 ENAS 1056	-0,192	63 ENAS 1057	1,156
31 ENAS 1149	-0,160	64 ENAS 1070	1,180
32 ENAS 1008	-0,154	65 ENAS 1161	1,285
33 ENAS 1181	-0,126	66 ENAS 1150	1,680

8.2.4 Ajuste do modelo em parcelas subdivididas considerando a aproximação para Poisson

A análise residual apresentou indícios de uma pequena superdispersão dos resíduos. O gráfico dos resíduos vs valores estimados indicou um pequeno acréscimo da variabilidade com o aumento dos valores estimados (Figura 16 A e B).

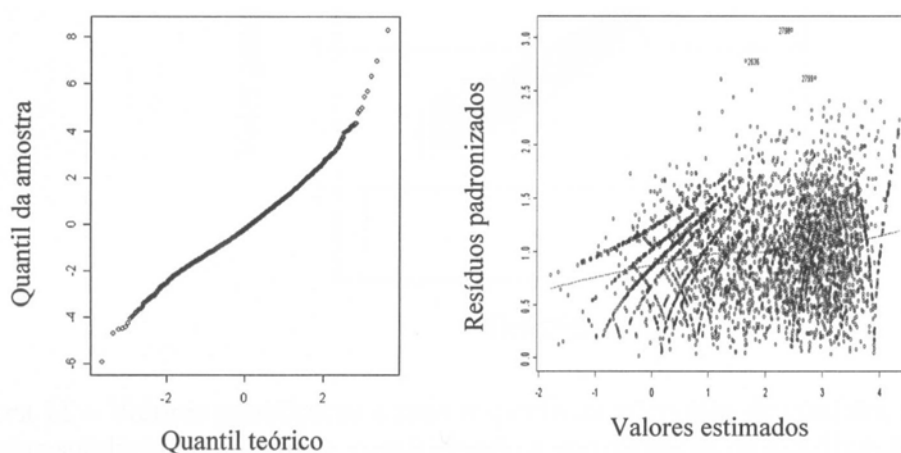


Figura 16 - Análise residual para o modelo de parcelas subdivididas considerando a aproximação Poisson, para a severidade da requeima em tomate do grupo cereja. A) gráfico de probabilidade normal (qq-plot); B) gráfico de densidade.

A análise de *deviance* indica efeito significativo de genótipos, blocos, tempo e interação do genótipo *versus* tempo (Tabela 8).

Tabela 8 - Análise de *deviance* de 66 genótipos de tomate do grupo cereja, avaliados para a resistência a requeima

F.V.	G.L.	<i>Deviance</i>	Valor de p
Genótipo	65	3110	< 0,001
Bloco	19	693	< 0,001
Resíduo (A)	567	6330	
Tempo	5	37265	< 0,001
Genótipo x Tempo	325	1576	< 0,001
Resíduo (B)	2930	0,6743	
$\hat{\sigma}^2_{genotípica} = 0,055 \pm 0,235$	$\hat{\sigma}^2_{blocos} = 0,008 \pm 0,099$		

A análise considerando a distribuição de Poisson apresentou uma baixa variância genotípica, indicando que o modelo consegue acomodar a variação existente. O modelo considerando a distribuição de Poisson indica a seleção de 40 genótipos. Dentre estes 40 genótipos, podem-se destacar dois, o ENAS 1178 e o ENAS 1177 (Figura 11). Os genótipos que se destacaram neste modelo de análise são os mesmos destacados com a utilização da análise de parcelas subdivididas considerando a distribuição normal e com o modelo de correlação AR(1).

No entanto, a variância para as estimativas das médias genótípicas para o presente modelo são inferiores às variâncias apresentadas pelo modelo de parcelas subdivididas com distribuição normal (Figura 11). Por este motivo, não existe a sobreposição dos intervalos de confiança entre os genótipos ENAS 1178, ENAS 1177 e ENAS 1076, fato que ocorre para o modelo em parcelas subdivididas com distribuição normal.

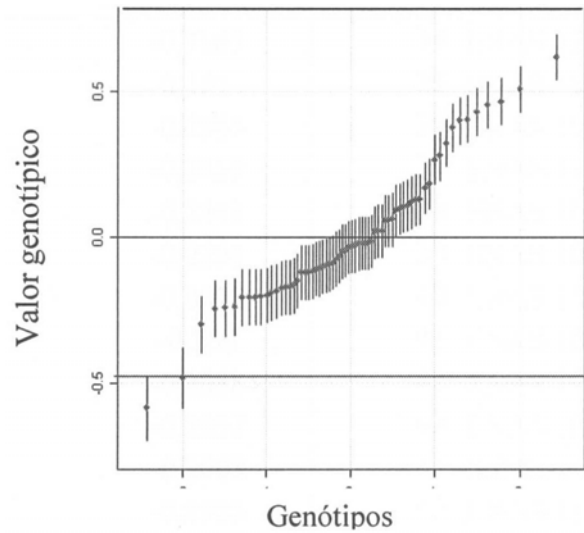


Figura 11 – Valores genotípicos e seus respectivos intervalos de confiança para o modelo de parcelas subdividida no tempo, considerando a aproximação da distribuição de Poisson. Linha preta indica a média populacional. Linha vermelha indica a possibilidade de igualdade entre as médias genotípicas.

As estimativas genotípicas podem ser observadas na tabela 9.

Tabela 9. Médias dos valores genotípicos de 66 genótipos de tomate do grupo cereja, a partir da estimativa de máxima verossimilhança para o modelo em parcelas subdivididas considerando a distribuição Poisson.

Genótipo	Valor genotípico	Genótipo	Valor genotípico
1 ENAS 1178	-0,5865	34 ENAS 1181	-0,0309
2 ENAS 1177	-0,4822	35 ENAS 1184	-0,0301
3 ENAS 1076	-0,2995	36 ENAS 1057	-0,0226
4 ENAS 1134	-0,2456	37 ENAS 1179	-0,0213
5 ENAS 1183	-0,2441	38 ENAS 1044	-0,0213
6 ENAS 1060	-0,2391	39 ENAS 1047	-0,0206
7 ENAS 1125	-0,2076	40 ENAS 1127	-0,0133
8 ENAS 1153	-0,206	41 ENAS 1055	0,01654
9 ENAS 10	-0,2058	42 ENAS 1068	0,02149
10 ENAS 1052	-0,2057	43 ENAS 1046	0,02168
11 ENAS 1080	-0,2008	44 Sol-da-manhã	0,0562
12 ENAS 1177	-0,1925	45 ENAS 1151	0,05679
13 ENAS 1086	-0,1865	46 ENAS 1136	0,05951
14 ENAS 1156	-0,1753	47 ENAS 1054	0,08949
15 ENAS 1154	-0,172	48 ENAS 1152	0,09679
16 ENAS 1147	-0,1711	49 Super Sweet	0,1031
17 ENAS 1126	-0,1658	50 ENAS 1043	0,10834
18 ENAS 1130	-0,1495	51 ENAS 1075	0,11864
19 ENAS 1051	-0,1218	52 ENAS 1064	0,12691
20 ENAS 1131	-0,1216	53 ENAS 1072	0,12726
21 ENAS 1074	-0,1216	54 ENAS 1144	0,16853
22 ENAS 1041	-0,1185	55 ENAS 1148	0,18058
23 ENAS 1039	-0,1099	56 ENAS 1071	0,26547
24 ENAS 1040	-0,1089	57 ENAS 1048	0,27746
25 ENAS 1082	-0,1032	58 ENAS 1140	0,32321
26 ENAS 1059	-0,0981	59 ENAS 1065	0,37612
27 ENAS 1132	-0,0929	60 ENAS 1185	0,39922
28 ENAS 1050	-0,0882	61 ENAS 1141	0,40507
29 ENAS 1062	-0,0755	62 ENAS 1066	0,429
30 ENAS 1056	-0,0662	63 ENAS 1057	0,45326
31 ENAS 1149	-0,0504	64 ENAS 1070	0,46563
32 ENAS 1008	-0,0462	65 ENAS 1161	0,50603
33 ES-16	-0,0368	66 ENAS 1150	0,61862

8.2.5 Modelo logístico

Considerando o modelo logístico, foram obtidos os resultados apresentados na tabela 10.

Tabela 10. Resultado da análise de variância para o modelo logístico

Parâmetro	G.L.	Valor F	Prob.
β'_0	1	95,640	< 0,0001
β'_1	1	5620,264	< 0,0001
β'_2	1	1071,870	< 0,0001
$\hat{\sigma}^2_{genotípica} = 39,81$		$\hat{\sigma}^2_{resíduos} = 65,12$	

Os parâmetros avaliados para o modelo logístico foram altamente significativos, indicando que existe uma diferença entre as curvas de progresso da doença.

A análise residual do modelo logístico apresenta uma distribuição normal dos resíduos, porém existe um decréscimo da variabilidade com o aumento dos valores estimados, indicando que as variâncias não são homogêneas (Figura 12).

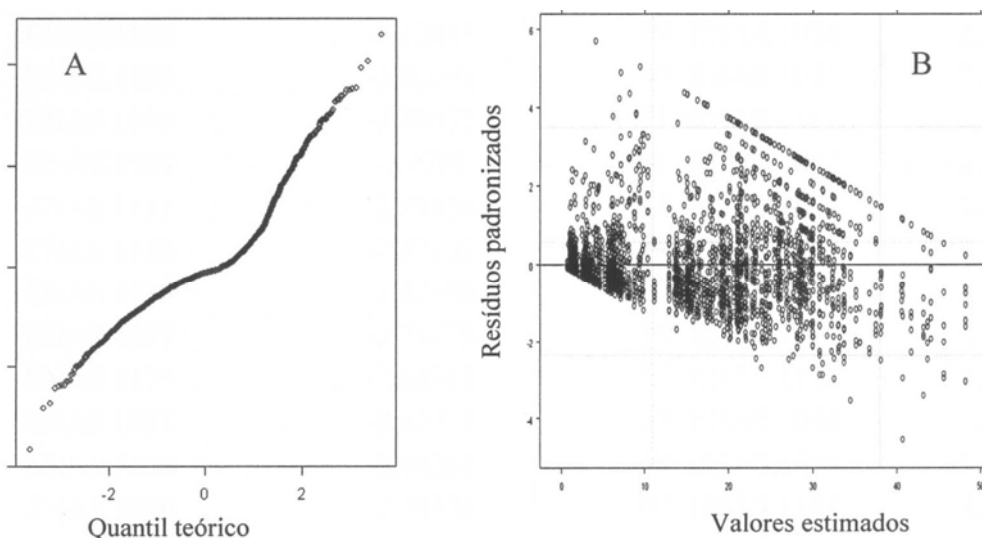


Figura 12. Análise residual para o modelo logístico. A) gráfico de probabilidade normal (qq-plot); B) gráfico de densidade.

As médias dos valores genotípicos para o presente modelo estão apresentadas na tabela 13. O modelo indica a seleção de 39 genótipos. No entanto, dois genótipos se destacaram quanto à resistência a doença, sendo os genótipos ENAS 1178 e ENAS 1177. Estes resultados corroboram com os obtidos através do ajuste dos modelos em parcelas subdivididas considerando as distribuições de Poisson e Normal e com o modelo de correlação AR (1).

Tabela 13. Valores genotípicos mdios para 66 genótipos de tomate do grupo cereja, a partir da estimativa de máxima verossimilhança para o modelo logístico.

Genótipo	Medida resumo	Genótipo	Medida resumo
1 ENAS 1178	-13,1254	34 ENAS 1062	-1,94744
2 ENAS 1177	-10,3785	35 ENAS 1181	-1,59442
3 ENAS 1076	-6,94492	36 ENAS 1182	-1,41531
4 ENAS 1134	-6,88756	37 ENAS 1149	-1,31712
5 ENAS 1147	-5,69259	38 ES-16	-1,16299
6 ENAS 10	-5,42169	39 ENAS 1127	-1,13694
7 ENAS 1180	-5,39508	40 ENAS 1008	-0,3462
8 ENAS 1125	-5,31567	41 ENAS 1046	-0,32429
9 ENAS 1077	-5,18407	42 ENAS 1136	0,042225
10 ENAS 1052	-5,17476	43 ENAS 1047	0,097844
11 ENAS 1060	-5,1153	44 ENAS 1055	0,556228
12 ENAS 1183	-4,95573	45 Super Sweet	1,233142
13 ENAS 1154	-4,87142	46 Sol-da-manhã	1,360987
14 ENAS 1126	-4,45087	47 ENAS 1152	1,924504
15 ENAS 1153	-4,37016	48 ENAS 1072	2,01224
16 ENAS 1186	-4,13445	49 ENAS 1054	2,127808
17 ENAS 1156	-3,85098	50 ENAS 1075	2,516631
18 ENAS 1040	-3,40032	51 ENAS 1151	2,668467
19 ENAS 1039	-3,3785	52 ENAS 1043	2,717846
20 ENAS 1131	-2,88434	53 ENAS 1064	3,421284
21 ENAS 1132	-2,87185	54 ENAS 1144	4,113697
22 ENAS 1130	-2,82196	55 ENAS 1148	5,752541
23 ENAS 1057	-2,73479	56 ENAS 1071	6,561029
24 ENAS 1179	-2,68363	57 ENAS 1140	7,156986
25 ENAS 1051	-2,67773	58 ENAS 1048	7,208271
26 ENAS 1059	-2,66561	59 ENAS 1065	9,721746
27 ENAS 1050	-2,64306	60 ENAS 1141	9,839122
28 ENAS 1184	-2,55161	61 ENAS 1185	10,90035
29 ENAS 1074	-2,41794	62 ENAS 1057	12,44208
30 ENAS 1044	-2,41106	63 ENAS 1066	12,90547
31 ENAS 1041	-2,2 ⁰⁷⁵	64 ENAS 1070	13,30665
32 ENAS 1068	-2,1785 ¹	65 ENAS 1161	14,92271
33 ENAS1056	-2,04107	66 ENAS 1150	17,57343

Os modelos que apresentaram maior correlação entre as estimativas das médias foram os modelos em parcelas subdivididas com distribuição de Poisson (4), considerando uma estrutura de correlação AR1 (3) e o modelo logístico (5). Entretanto, o uso direto da AACPD e o modelo com

a AACPD transformada em $\log(x+1)$ (1), também apresentaram alta correlação entre os resultados (Tabela 14), porém o uso destes modelos não é indicado para a seleção dos genótipos, uma vez que eles captam uma variação pequena nos dados, quando comparados com os demais modelos. Este resultado pode ser observado pelo maior intervalo de confiança das estimativas genotípicas obtidas com o uso do modelo considerando a AACPD.

Tabela 14. Análise de correlação de Pearson para os resultados obtidos dos modelos utilizados na modelagem do progresso da requeima em tomateiro.

	Logístico (5)	Poisson (4)	AR(1) (3)	PS-normal (2)	Log(aacpd+1) (1)	AACPD
AACPD	0,59*	0,56*	0,58*	0,55*	0,97*	1
Log(aacpd+1) (1)	0,60*	0,57*	0,58*	0,55*	1	
PS-Normal (2)	0,96*	0,98*	0,98*	1		
AR(1) (3)	0,98*	0,98*	1			
Poisson (4)	0,98*	1				
Logístico (5)	1					

* indica que o coeficiente de correlação de Pearson é diferente de zero a 5% de probabilidade.

A menor correlação entre o modelo considerando a AACPD com os demais modelos deve-se ao fato de não se considerar o efeito de tempo nas análises dos valores de AACPD. Este fato pode levar a superestimativas dos coeficientes do modelo em estudo (Geneville, 2002). Contudo, não incluir uma estrutura hierárquica pode apresentar resultados satisfatórios quando o experimento apresenta um pequeno número de genótipos e um grande número de repetições (Jeger & Viljanen-Rollinson 2001). A inclusão de uma matriz que considera as correlações existentes no tempo, apresentou resultados semelhantes aos obtidos com o modelo com distribuição de Poisson e logístico, evidenciando a necessidade de se incluir a correlação existente entre as avaliações, ou considerar a distribuição de probabilidade da variável analisada (Costa et. al. 2004).

9 CONCLUSÕES

- O uso direto da AACPD, pode apresentar valores superestimados das médias genotípicas, alterando o resultado da seleção de genótipos de tomateiro resistentes a requeima;
- O estimador de máxima verossimilhança pode ser uma ferramenta que permite uma acurada predição dos efeitos aleatórios através do uso dos modelos mistos generalizados;
- A função de ligação log se mostrou adequada na análise de dados de severidade da requeima em tomateiro;
- Considerar uma estrutura hierárquica no tempo para dados de severidade pode apresentar resultados mais precisos, quando comparado com a AACPD;
- A natureza da distribuição de probabilidade da variável deve ser considerada na análise dos dados. Desta forma, podem-se obter maiores benefícios metodológicos com o uso de modelos generalizados mistos, como maior poder de discriminação entre genótipos e menor variância das estimativas;
- O software R mostrou-se útil e eficiente para empregar a metodologia de modelos mistos generalizados.
- Os genótipos ENAS 1178 e ENAS 1177 são fontes promissoras de resistência à requeima.

10 CONCLUSÕES GERAIS

- A escala detalhada e a escala simplificada propostas permitem medidas acuradas e precisas na avaliação da severidade da requeima em tomateiro;
- O uso da AACPD, estimada pela soma de Riemann não consegue captar toda variação existente nos dados e resulta em estimativas menos precisas, quando comparadas com modelos que consideram o efeito do tempo em sua estrutura;
- Na avaliação de dados de severidade, a observação da estrutura hierárquica do tempo pode resultar em discriminações mais precisas de genótipos de tomate quanto à resistência à requeima;
- O uso de um modelo misto generalizado com distribuição de Poisson é uma metodologia eficaz e robusta para os dados de severidade em requeima no tomateiro.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ANDRADE, G.C.G., ALFENAS, A.C., MAFIA, R.G., MAFFIA, L.A. & GONÇALVES, R.C. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha foliar do eucalipto causada por *Quambalaria eucalypti*. Fitopatologia Brasileira v.30, p.504-509. 2005.
- BERGAMIN FILHO, A. & AMORIM, L. Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. Sao Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1996. 289p.
- BROUWER, D.J.; JONES, E.S. & CLAIR, D.A.S. QTL analysis of quantitative resistance to *Phytophthora infestans* (late blight) in tomato and comparisons with potato. Genome v.47 p.475-492, 2004.
- CAMARINHA FILHO, J.A. Modelos lineares mistos: estruturas de matrizes de variâncias e covariâncias e seleção de modelos. Tese de Doutorado – Esalq (USP). Piracicaba, 85p, 2002.
- CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. Introduction to plant disease epidemiology. John Wiley & Sons. 1990.
- CHAMBERS, J.; CLEVELAND, W.; KLEINER, B. & TUKEY, P. Graphical methods for data analysis. Wadsworth, 1983.
- CHUNWONGSE, J.; CHUNWONGSE, C.; BLACK, L.; HANSON, P. Mapping of the Ph-3 gene for late blight from *L. pimpinellifolium* L3708. Report of the Tomato Genetics Cooperative v.15 p.7-21. 1998.
- COSTA, S.C.; DEMETRIO, C.G.B.; SUGUINO, E. & GIOLO, S.R. Modelando dados longitudinais de proporções de pegamento de camu-camu. Revista de Matemática e Estatística, v.22 p.113-127, 2004.
- CRUICKSHANK, G; STEWART, H. E. & R. L. WASTIE. An illustrated assessment key for foliage blight of potatoes. Potato Research v.25 p.213-214, 1982.
- DIAZ, C.G.; BASSANEZI, R.B.; BERGAMIM FILHO, A. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. Summa Phytopathologica, v.27 p.35-39, 2001.
- DUARTE, R; ISMAEL, M.M.; OLIVEIRA, C.G.; BEGLIOMINI, E. Eficácia do fungicida metiram no controle da requeima (*Phytophthora infestans*) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill). Fitopatologia Brasileira, vol. 27, suplemento, agosto 2002.
- DUARTE, H. da S. S.; ZAMBOLIM, L; JESUS JUNIOR, W. C. de. Manejo da requeima do tomateiro industrial empregando sistema de previação. Summa Phytopathologica, v.33 p.328-334, 2007.
- DUARTE, H.S.S., ZAMBOLIM, L. & RODRIGUES, F.A. Controle da requeima em tomateiro industrial com fungicidas e silicato de potássio. Fitopatologia Brasileira v.32 p.257-260.2007.
- FERREIRA, R.S. Matemática aplicada as ciências agrárias: análise de dados e modelos – Viçosa: UFV, 333p, 1999.

- FONTEM, D.A.; OLANYA, O.M.; TSOPMBENG, G.R. & OWONA, M.A.P. Pathogenicity and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates obtained from garden huckleberry, potato and tomato in Cameroon. *Crop Protection* v.24 p.449-456, 2005.
- FRY, W.E.; GOODWIN, S.B.; DYER, A.T.; MATUSZAK, J.M.; DRENTH, A.; TOOLEY, P.W.; SUJKOWSKI, L.S. KOH, Y.J. COHEN, B.A.; SPIELMAN, L.J.; DEAHL, K.L.; INGLIS, D.A. & SANDLAN, K.P. Historical and recent migrations of *Phytophthora infestans*: chronology, pathways and implications. *Plant Disease*, v. 77 p.653-660. 1993
- GABRIEL, J; COCA, A.; PLATA, G.; PARLEVLIET, J.E. Characterization of the resistance to *Phytophthora infestans* in local potato cultivars in Bolivia. *Euphytica* v.153 p.321-328 2007
- GARCIA, C.H. Aplicação de equações de modelos mistos em testes clonais de *Eucalyptus* spp. Dissertação de Mestrado – Esalq/USP. Piracicaba, 74p. 2004.
- GARRETT, K.A.; MADDEN, L.V.; HUGHES, G.; PFENDER, W.F. New applications of statistical tools in plant pathology. *Phytopathology*, v. 94 p.999-1003, 2004.
- GENEVILLE, C.B. Aplicação de modelos multiníveis na análise de dados repetidos no tempo. Dissertação (mestrado), USP/Esalq, 70 p. 2002.
- GISI, U & COHEN, Y. Resistance to phenilamide fungicides: A case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. *Annual review of Phytopathology* v.34 p.549-572, 1996.
- GODOY, C.V.; KOGA, L.J.; CANTERI, M.G Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. *Fitopatologia Brasileira* v.31 p.063-068, 2006.
- GOMPERTZ, B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality. *Philosophical Transactions of the Royal society of London*, v.36 p.513-585, 1825.
- GOMES, A.M.A.; MICHEREFF, S.J. MARIANO, RL. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. *Summa Phytopathologica*, v30 p.38-42, 2004.
- GOODWIN, S.B. The population genetics of *Phytophthora*. *Phytopathology* v.87 p.462-473. 1997.
- GOPAL, J. SINGH, B.P. Screening potatoes for resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) under field conditions. *Potato Research* v.46 p.47-56, 2003.
- GREGORY, P.H. The multiple-infection transformation. *Annals Applied Biology* v.35 p.412-417, 1948.
- HALFELD-VIEIRA, B.A. & NECHET, K.L. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da mancha-de-cercospora em melancia. *Fitopatologia Brasileira* v.31 p.046-050. 2006.
- HANSON, K. & SHATTOCK, R.C. Effect of metalaxyl on formation and germination of oospores of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology*, v.47 p.116-122, 1998.
- HORSFALL, J.G. & BARRATT, R.W. An improved grading system for measuring plant disease (Abstract). *Phytopathology*, v.35 p.655, 1945.

IBGE - disponível em: www.sidra.ibge.gov.br. Brasil, 2006. acessado em 23 de março

JAIME-GARCIA, R.; ORUM, T. V.; FELIX-GASTELUM, R.; TRINIDAD-CORREA, R.; VANETTEN, H. D. & NELSON, M. R.. Spatial Analysis of *Phytophthora infestans* Genotypes and Late Blight Severity on Tomato and Potato in the Del Fuerte Valley Using Geostatistics and Geographic Information Systems. *Phytopathology*, v.91 p.1156-1165, 2001.

JAMES, W.C. An illustrated series of assessment keys for plant diseases, their preparation and usage. *Canadian Plant Disease Survive*, v.51 p.39-65, 1971.

JAMES, W.C. Assessment of plant disease and losses. *Annual Review of Phytopathology*, v.12 p.27-48, 1974.

JEGER, M.J. & VILJANEN-ROLLINSON, S.L.H. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical Applied Genetics* v.102 p.32-40, 2001.

JORGE LAC, CRESTANA, S, 1996. SIARCS 3.0: Novo aplicativo para análise de imagens. In: *XIII Congresso Latino Americano de Ciência do Solo*, Aguas de Lindoia., ESALQ/SBCS, 365 - 371.

LAIRD, N.M. & WARE, J.H. Randon effects models for longitudinal data. *Biometrics*, v.38 p.963-974, 1982.

LEE, T.Y.; SIMKO, I.; FRY, W.E. Genetic control of aggressiveness in *Phytophthora infestans* to tomato. *Canadian Journal Plant Pathology* v.24 p.471-480, 2002.

LEITE, R.M.V.B.C.; AMORIM, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. *Summa Phytopathologyca*, v.28 p.14-19, 2002.

LIANG, K.Y.; ZEGER, S.L. Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika*, v.73 p.13-22, 1986.

LOOS, R.A.; SILVA, D.J.H.; FONTES, P.C.R.; PICANÇO, M.C.; GONTIJO, L.M.; SILVA, E.M.; SEMEÃO, A.A. Identificação e quantificação dos componentes de perdas de produção do tomateiro. *Horticultura Brasileira* v.22 p.238-242, 2004.

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

MADDEN, L.V. & HUGHES, G. Sampling for Plant Disease Incidence. *Phytopathology* v.89 p.1088-1103, 1999.

MADDEN, L.V.; TURECHEK, W.W. & NITA, M. Evaluation of generalized linear mixed models for analyzing disease incidence data obtained in design experiments. *Plant Disease* v.86 p.316-325, 2002.

MALTHUS, T. An essay on the principle of population. London, 1798.

MARTINS, E.N.; LOPES, P.S.; SILVA, M.A.; REGAZZI, A.J. Modelo linear misto. Viçosa:UFV, 46p. 1998.

- MARTINS, M.C.; GUERZONI, R.A.; CÂMARA, G.M.S.; MATTIAZI, P.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. *Fitopatologia brasileira* v.29 p.179-184, 2004.
- MAZARO, S.M.; GOUVEA, A.; MIO, L.L.M.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L.A.; CITADIN, I. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-de-micosferela em morangueiro. *Ciência Rural*, v.36 p.648-652, 2006.
- MAZARO, S.M.; GOUVEA, A.; MIO, L.L.M.; DESCHAMPS, C.; BIASI, L.A.; CITADIN, I. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha-de-dendrophoma em morangueiro. *Ciência Rural*, v.336 p.1630-1633, 2006.
- MELO, P.C.T. Desenvolvimento sustentável da cadeia produtiva do tomate para consumo *in natura* no Brasil e os desafios do melhoramento genético. *Horticultura Brasileira*, v.21 2003.
- MIZUBUTI, E.S.G. Requeima ou Mela da Batata e do Tomate. In: Luz EDN, Santos AF, Matsuoka K, Bezerra JL, eds. *Doenças Causadas por Phytophthora no Brasil*. Campinas, Brazil: Livraria Editora Rural, 100-74, 2001.
- MIZUBUTI, E.S.G; AYLOR, D.E. & FRY, W.E. Survival of *Phytophthora infestans* sporangia exposed to solar radiation. *Phytopathology*, v.90 p.78-84, 2000.
- MOREAR, P.; THOQUET, P.; OLIVIER, J.; LATERROT, H; RIMSLEY, N. Genetic mapping of Ph-2, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans* in tomato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v.11 p.59-268, 1998.
- MOUREAU, P; THOUQUET, P.; OLIVIER, J.; LATERROT, H.; & GRIMSLEY, N. Genetic mapping of *Ph-2*, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 11:259-269. 1998.
- MUNDT, C.C. Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. *Annual Review of Phytopathology* v.40 p.381-410, 2002.
- NELDER, J.A.; WEDDERBURN, R.W.M. Generalized linear models. *Journal of the Royal Statistical Society. Series A*, v.135 p.370-384, 1972.
- NILSSON, H.E. Remote sensing and image analysis in plant pathology. *Canadian Journal of Plant Pathology* v.17 p.154-166, 1995.
- NITA, M.; ELLIS, M.A.; MADDEN, L.V. Realibility and accuracy of visual estimation of phomopsis leaf blight of strawberry. *Phytopathology*, v. 93 p.995-1005, 2003.
- NORONHA, M.A. Escala diagramática para avaliação da mancha preta em folhas de citrus e efeito da temperatura e da duração do molhamento na pré-penetração de conídios de *Guignardia citricarpa* Kiely [*Phyllosticta citricarpa* (McAlp.) Van der Aa]. Dissertação de Mestrado USP/Esalq, 67p. 2002.
- NUTTER Jr., F.W.; GLEASON, M.L.; JENCO, J.H. & CHRISTIANS, N.C. Assessing the accuracy, intra-rater repetibility of disease assessment systems. *Phytopathology* v.83 p.806-812, 1993.

- NUTTER Jr, F.W., SCHULTZ P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v.17 p.174-184, 1995.
- NUTTER Jr., F.W. & ESKER, P.D. The role psychophysics in phytopathology: The Weber-fechner law revisited. *European journal of Plant Pathology*, v.114 p.199-213, 2006.
- NUTTER Jr., F.W.; ESKER, P.D. & NETTO, R.A.C. Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. *European Journal of Plant Pathology*, v.115 p.95-103, 2006.
- NUTTER Jr., F.W.; GLEASON, M.L.; JENCO, J.H.; CHRISTIANS, N.C. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. *Phytopathology*, v.83 p.806-812, 1993.
- NUTTER, Jr., F.W. & SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v.17 p.174-184, 1995.
- OJIAMBO, P.S.; NYANAPAH, J.O.; LUNG' AHO, C. KARINGA, J.K. & KIDANEMARIAM, H.M. Comparing different epidemiological models in field evaluations of selected genotypes from *Solanum tuberosum* CIP population A for resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary in Kenya. *Euphytica* v.111 p.211-218, 2000.
- PAN, J. & MACKENZIE, G. Regression models for covariance structures in longitudinal studies. *Statistical Modelling*, v.6 p.43-57, 2006.
- PARKER, S.R.; SHAW, M.W.; ROYLE, D.J. The reliability of visual estimates of disease severity on cereal leaves. *Plant Pathology*, v.43 p.856-865, 1995.
- PAULA, S.V. Incidência de pragas e reflexos na produção do tomateiro em função da adoção de nível de controle e de faixas circundantes. Viçosa: UFV – Dissertação de mestrado, 90p. 1997.
- PERALTA, I.E. & D.M. SPOONER. Classification of wild tomatoes: a review. *Kurtziana* v.28 p.45-54, 2000
- PERIRCE, L.C. Linkage test with Ph conditioning resistance to race 0, *Phytophthora infestans*. Report of the Tomato Genetics Cooperative, v.21 p.30, 1971.
- PICANÇO, M.; LEITE, G.L.D.; GUEDES, R.N.C.; SILVA. E.A. Yield loss in trellised tomato affected by insecticidal sprays and plant spacing. *Crop Protection*, v.17, p.447-452, 1998.
- PIEPHO, H.P. Analysing disease incidence data from designed experiments by generalized linear mixed models. *Plant Pathology* v.48 p.668-674, 1999.
- PRESTES, A.M.; FILHO, L.R.G. Transferência de resistência a doenças de espécies silvestres para espécies cultivadas. In: Review Anual de Patologia de Plantas. v.3 p.315-363, 1995.
- R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

- REIS, A.; LOPES, C.A. Tomates em chamas. Revista Cultivar de Hortaliças e Frutas, nº 15, agosto/setembro, 2002.
- REIS, A.; RIBEIRO, F.H.S. & MIZUBUTI, E.S.G. Caracterização de isolados de *Phytophthora infestans* do Distrito Federal e de Goiás. Fitopatologia Brasileira v.31 p.270-276, 2006.
- REIS, A., SUASSUNA, N.D., ALFENAS, A.C. & MIZUBUTI, E.S.G. Monitoramento da população de *Phytophthora infestans* na Região da Zona da Mata de Minas Gerais de 1998 a 2000. Fitopatologia Brasileira v.27 p.614-620, 2002.
- RISTAINO, J.B. & GUMPERTZ, M.L. New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. Annual Review Phytopathology v.38 p.541-576, 2000.
- RICHARDS, F.J. A flexible growth function for empirical use. Journal Experimental Botany v.10 p.290-300, 1959.
- ROTEM, J. & COHEN, Y. Epidemiological patterns of *Phytophthora infestans* under semiarid conditions. Phytopathology, v.64, p.711-714, 1974.
- SEARLE, S.R. Linear models. New York: John Wiley, 532p. 1971.
- SHANNER, G & FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. Phytopathology, v.70, p.1183-1186, 1977.
- SHAW, M.W. & ROYLE, D.J. Estimation and validation of a function describing the rate at which *Mycosphaerella graminicola* causes yield in winter wheat. Annals of Applied Biology, v.115, p.425-442, 1989.
- SINGER, J.M. & ANDRADE, D.F. Análise de dados longitudinais. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística, 1989.
- SINGH, B.P.; S ROY, J.G.; RANA, D.K. Production of *Phytophthora infestans* oospores in plant and inoculum potential of *in vitro* produced oospores under temperate highlands and subtropical plains of India. Annals Applied Biology v.144 p.363-370, 2004.
- SLOPEK, S.W. An improved method of estimating percent leaf area diseased using a 1 to 5 disease assessment scale. Canadian Journal of Plant Pathology v.11 p.381-387, 1989.
- SOUZA, J.L. de. Agricultura orgânica – Tecnologias para a produção de alimentos saudáveis, v.1. Vitória, ES: EMCAPA, 176p. 1998.
- SOUZA, J.L. de. Tomateiro para mesa em sistema orgânico. Informe Agropecuário, v.24 p. 108-120, 2003.
- SPÓSITO, M.B.; AMORIM, L.; JUNIOR, J.B.; BASSANEZI, R.B.; AQUINO, R. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos. Fitopatologia Brasileira v.29, p.081-085, 2004.
- STANHILL, G. The comparative productivity of organic agriculture. Agriculture, Ecosystems and Environment, v.30 p.1-26, 1990.

TURKENSTEEN, L.J.; FLIER, W.G.; WANNINGEN, R; MULDER, A. Production, survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* v.49, p.688-696, 2000.

VAN DER PLANK, J.E. *Plant disease: epidemics and control*. London Academic Press Inc. Ltd. 349p. 1963.

VAN MAANEN, A & XU, X.M. Modelling plant disease epidemics. *European Journal of Plant Pathology* v.109, p.669-682, 2003.

WAGGONER, P.E. & BERGER, R.D. Defoliation, disease and growth. *Phytopathology* v.77, p.393-398, 1987.

WHITE, T.L.; HODGE, W.G. Prediction breeding values with applications in forest tree improvement. v.33 365p. 1989.

WILKINSON, G.N.; ROGERS, C.E. Symbolic description of factorial models for analysis of variance. *Applied Statistics*, v.22, p.392-99, 1973.

ZEGER, S.L.; LIANG, K.Y. & ALBERT, P.S. Models for longitudinal data: a generalized estimating equation approach. *Biometrics* v.44, p.1049-1060, 1998.