Comparando duração da fase larval em insetos via análise de sobrevivência semiparamétrica

Aline de H. N. Maia¹, Kátia Kaelly A. Sousa², Ranyse Barbosa Querino³, Rafael Vivian⁴

Introdução

Os métodos de análise de sobrevivência, que incluem modelos paramétricos e semi-paramétricos, foram desenvolvidos para a análise de dados medidos em escala temporal, com presença de censura (KALBFLEISCH & PRENTICE, 1980). Em estudos de ciclo de vida de insetos, onde é quantificada a duração de cada fase de desenvolvimento (ovo, larva, pupa, adulto), a censura pode ocorrer de dois modos: quando a variável de interesse é o tempo de vida e os insetos não morrem até o final do experimento ou quando a resposta estudada é a duração de uma determinada fase e o inseto morre antes de atingir a fase seguinte. Neste trabalho, demonstramos a adequação e utilidade do modelo de riscos proporcionais de Cox (COX, 1976) para avaliar o efeito de tratamentos qualitativos como tipos de dietas, espécies de plantas hospedeiras, tipos de inibidores de crescimento ou de inseticidas não letais sobre duração de fases de desenvolvimento de insetos. Como estudo de caso, apresentamos a análise de um experimento para avaliar o efeito de plantas hospedeiras sobre a duração da fase larval (DFL) da lagarta-falsa-medideira, importante praga das culturas da soja, feijão-caupi, algodão e girassol (ANDRADE,2014; SOUSA et al, 2016). A DFL é uma variável medida geralmente em dias e representa o intervalo de tempo entre a eclosão do ovo e o início da fase de pupa. Um dado de DFL é censurado quando o inseto morre ainda na fase larval.

Material & Métodos

Os dados foram obtidos num experimento realizado para trabalho de conclusão da aluna Katia Sousa, do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da UFPI (SOUSA et al, 2016). Nesse experimento, foi avaliado o efeito de plantas hospedeiras sobre duração da fase larval (DFL) da lagarta-falsa-medideira, *Chrysodeixis includens* (Walker, [1858]) (Lepidóptera: Noctuidae).

As espécies testadas foram a soja (*Glycine max*) e o feijão-caupi (*Vigna unguiculata*), hospedeiros naturais da praga e as plantas daninhas picão-preto (*Bidens pilosa*) e eufórbia (*Euphorbia hirta*). Foi usado o delineamento inteiramente casualizado, com 100 ovos para cada espécie. A variável-resposta de interesse é a duração da fase larval do inseto, medida em dias após a eclosão do ovo até o início da fase de pupa.

¹ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, SP. e-mail: <u>aline.maia@embrapa.br</u>

² Mestranda em Proteção de Plantas, UNESP, Botucatu-SP. e-mail: <u>katiakaelly@gmail.com</u>

³ Embrapa Meio Norte, Teresina, PI. e-mail: <u>ranyse.silva@embrapa.br</u>

⁴ Secretaria de Inovação e Negócios, EMBRAPA, Brasília-DF, e-mail: rafael.vivian@embrapa.br

Para análise exploratória dos dados, foram construídas curvas do padrão temporal de mudança de fase para cada espécie hospedeira, representadas pelas respectivas distribuições acumuladas (F[t]) da variável DFL. As F[t] foram obtidas a partir das curvas de sobrevivência (S[t]) ajustadas pelo método Kaplan-Meier, usando a relação F[t]=1- S[t]. As F[t] para cada espécie foram inicialmente comparadas pelo teste Log-Rank com ajustamento de Sidàk para comparações múltiplas.

Posteriormente, foi utilizado o modelo de risco proporcionais de Cox (COX, 1976) no qual as espécies hospedeiras são preditores qualitativos. A partir do modelo ajustado, foram estimadas S[t]) e F[t] para cada espécie e testados contrastes entre elas, definidos *a priori*. As análises foram realizadas utilizando os procedimentos LIFETEST e PHREG e do software estatístico SAS/STAT® (SAS, 2013).

Resultados & Discussão

Os valores medianos da duração da fase larval (DFL) de *C. includens*, calculados usando os dados observados sem ajuste de nenhum modelo, mostram uma tendência de maior precocidade nos insetos que se alimentaram de feijão-caupi e picão-preto, com valores medianos da DFL de 10 e 11 respectivamente (Tabela 1). Como há uma fração razoável de dados censurados em todos os tratamentos (Tabela 1), as médias e erros padrão são subestimados, o que torna inviável o uso dos procedimentos tradicionais de análise de variância e comparação de médias para análise da DFL.

Tabela 1. Estatísticas descritivas da duração da fase larval de *Chrysodeixis includens* alimentado em plantas das espécies daninhas picão preto, eufórbia, em nos hospedeiros naturais soja e feijãocaupi.

Tratamento	N° de insetos	Nº de dados	Média	Erro padrão	Mediana	
(Espécie)	por tratamento	censurados	(dias)			
Picão-preto	100	42	11.06	0.38	11	
Eufórbia	100	13	11.84	0.36	13	
Soja	100	27	11.36	0.48	14	
Feijão-caupi	100	22	9.81	0.33	10	

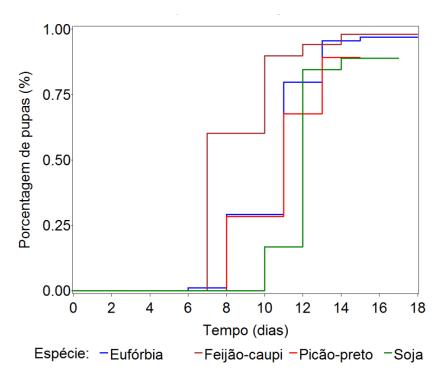


Figura 1. Padrão temporal da mudança de fase de larvas de *Chrysodeixis includens* alimentadas em plantas das espécies daninhas picão-preto (*Bidens pilosa*) e eufórbia (*Euphorbia hirta*) ou nas espécies hospedeiras soja (*Glycine max*) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). Curvas estimadas pelo método de Kaplan-Meier.

Tabela 2. Contrastes entre os padrões temporais de mudança de fase de larvas de *Chrysodeixis includens* alimentadas em plantas das espécies daninhas picão preto, eufórbia, em nos hospedeiros naturais soja e feijão-caupi. Padrões temporais estimados pelo método Kaplan-Meier.

Contrastes entre as F[t]* das espécies hospedeiras	Estatística χ ²	Valor p**
Picão-preto x Eufórbia	1.39	0.8035
Picão-preto x Soja	4.79	0.1595
Picão-preto x Feijão-caupi	47.13	< 0.0001
Eufórbia x Soja	10.21	0.0084
Eufórbia x Feijão-caupi	26.40	< 0.0001
Soja x Feijão-caupi	83.32	< 0.0001

^{*}F[t] = P[T≤t]), distribuição acumulada da duração da fase larval em cada espécie hospedeira.

^{**}Nível de significância nominal do teste Qui-quadrado (χ^2) com correção de Sidàk para comparações múltiplas.

Os valores negativos das estimativas dos parâmetros do modelo de Cox (Tabela 3) indicam redução na probabilidade de mudança de fase antes de um tempo t ($P[T \le t]$), para insetos criados em picãopreto, eufórbia e soja quando comparados a insetos criados em feijão-caupi.

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros do modelo de Cox ajustado para avaliar o efeito das espécies hospedeiras picão-preto, eufórbia, soja e feijão-caupi sobre os padrões temporais de mudança de fase de larvas da lagarta-falsa-medideira, representados pelas distribuições acumulada da duração da fase larval para cada espécie.

Espécie	Estimativa do parâmetro	Erro padrão	Razão riscos	de	Estatística χ^2	Valor p*
Picão-preto	-1,1282	0,1788	0,324		39,80	<0,0001
Eufórbia	-0,9468	0,1627	0,388		33,85	<0,0001
Soja	-1,4198	0,1779	0,242		63,71	<0,0001

^{*}Nível de significância nominal do teste Qui-quadrado (χ^2).

Tabela 3. Contrastes entre os padrões temporais de mudança de fase de larvas da lagarta falsamedideira alimentadas em plantas das espécies daninhas picão preto e eufórbia ou nos hospedeiros naturais soja e feijão-caupi. Padrões temporais estimados pelo modelo de Cox.

Contrastes entre as F[t]* das espécies hospedeiras	Estatística χ ²	Valor p
Picão-preto x Eufórbia	1,14	0,2858
Picão-preto x Soja	2,45	0,1175
Picão-preto x Feijão-caupi	39,80	<0,0001
Eufórbia x Soja	7,75	0,0054
Eufórbia x Feijão-caupi	33,86	<0,0001
Soja x Feijão-caupi	63,71	<0,0001

 $[*]F[t] = P[T \le t]$), distribuição acumulada da duração da fase larval em cada espécie hospedeira.

Os resultados dos contrastes obtidos pelo teste qui-quadrado de Wald, após ajuste das F[t] pelo método Kaplan-Meier são similares aos obtidos via contrastes entre as F[t] estimadas pelo modelo de Cox (Tabelas 1 e 3), no que tange à significância aos níveis de 5 ou 10%, apesar de apresentarem diferentes níveis de significância nominais.

^{**}Nível de significância nominal do teste Qui-quadrado (χ^2).

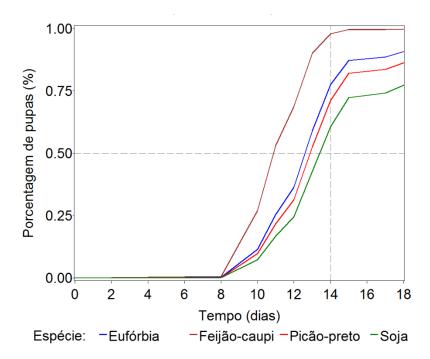


Figura 2. Padrão temporal da mudança de fase de larvas de *Chrysodeixis includens* alimentadas em plantas das espécies daninhas *Bidens pilosa*, *Euphorbia hirta*, em plantas de soja (*Glycine max*) e feijão-caupi (*Vigna unguiculata*). Curvas estimadas pelo modelo de Cox com preditores qualitativos.

A evolução temporal da mudança de fase para cada espécie hospedeira, representada pela distribuição acumulada (F[t]) da DFL (Figuras 1 e 2) também indica maior precocidade das larvas criadas em plantas de feijão-caupi. De acordo com as F[t] estimadas pelo modelo de Cox, nesse tratamento, aos 11 dias após a eclosão dos ovos da lagarta, 50% dos indivíduos já haviam atingido a fase de pupa; nos demais tratamentos, a porcentagem de pupas nessa data estava em torno de 25%.

Os valores negativos das estimativas dos parâmetros referentes aos efeitos diferenciais das espécies picão-preto, eufórbia e soja em relação à espécie de referência no modelo de Cox, o feijão caupi, indicam que S[t] desta espécie é multiplicada por valores menores que a unidade (razões de risco, Tabela 2). Assim, S[t] para as três espécies anteriormente citadas é menor que S[t] para todo t; consequentemente, as F[t]=1-S(t) para picão-preto, eufórbia e soja são maiores que a F[t] da variável DFL para o feijão caupi, para todo t, confirmando a tendência de precocidade das larvas criadas nesta espécie, expressa por maiores probabilidades de mudança antecipada da fase de larval para a fase de pupa.

Os contrastes entre as F[t] da DFL de cada tratamento indicam que as F[t] para insetos criados nas plantas daninhas são similares (Tabela 3, p=0,2858), bem como as dos insetos criados em picão-preto ou soja (Tabela 3; p=0,1175). Os demais contrastes foram significativos (Tabela 3, p < 0,0054) evidenciando diferenças entre o padrão de evolução temporal da mudança de fase para os insetos alimentados com feijão-caupi, quando comparado aos padrões para as demais espécies, com maior probabilidade de mudança precoce para esse hospedeiro natural da lagarta-falsa-medideira.

Referências bibliográficas

ANDRADE, K. **Aspectos bioecológicos de Chrysodeixis includens (Walker, [1858])** (**Lepidoptera: Noctuidae**) em diferentes hospedeiros. 2014. 48p. (Dissertação de Mestrado em Agronomia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014).

COX, D.R. Regression Models and Life-Tables (with Discussion). **Journal** of the Royal Statistical Society, Series B, 1972. v.34, pp187–220.

KALBFLEISCH, J.D.; PRENTICE, R. L. **The Statistical Analysis of Failure Time Data**, New York: John Wiley & Sons, Inc.1980.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT® 9.3 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2011.

SOUSA, K.K.A.; QUERINO, R. B.; PARANHOS, J. D. N.; FONTES, L. S. **Desenvolvimento** Larval de Chrysodeixis includens (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) e Preferência de Oviposição em Plantas Daninhas e Hospedeiras Naturais. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Piauí (não publicado).