

Simulação do Número Ideal de Repetições para Avaliação de Parâmetros Biológicos da Lagarta-do-Cartucho em Bioensaios de Resistência de Milho.

Paulo E. de O. Guimarães¹, José W. da Silva², Marcus R. Sena³, Paulo A. Viana⁴, Lígia P. Costa⁵, Cleso A. P. Pacheco⁶

^{1,4,6}Pesquisadores, Embrapa Milho e Sorgo, CP. 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas - MG.
¹evaristo@cnpms.embrapa.br, ⁴pviana@cnpms.embrapa.br, ⁶cleso@cpatc.embrapa.br
^{2,3}Doutorandos UFLA ²jwsgenetica@bol.com.br e ³mreissena@yahoo.com.br ⁵Bióloga ligia_cm@yahoo.com.br

Palavras-chave: Coeficiente de Variação, Bootstrap, *Zea mays* L., *Spodoptera frugiperda*, insecta.

No planejamento de experimentos é necessário definir adequadamente o número de repetições, visando aumentar a eficiência, mediante a redução do erro experimental e melhorando as condições para testar as hipóteses formuladas. Uma das opções para melhoria da precisão das estimativas é o aumento do tamanho da amostra, pois, quanto maior o número de repetições, melhor a estimativa das médias, pois o erro padrão das médias é fornecido por s/\sqrt{r} , em que s é o desvio padrão do erro experimental e r o número de repetições.

Embora se considere que quanto maior o número de repetições maior a precisão do experimento, essa relação não é linear. Contudo, estimativas a partir de amostras grandes demandam muito tempo, trabalho e recursos. Por isso, a importância de métodos de determinação do tamanho ideal de repetições. Aliás, em alguns casos, limitações técnicas impedem o uso de grandes amostras.

Por outro lado, também se sabe que, a partir de certo tamanho da amostra, aumentos adicionais não trazem ganhos compensatórios na precisão. No caso da avaliação de resistência de cultivares de milho ao ataque da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) citadas na literatura, são utilizadas de 15 a 50 repetições (Silveira et al., 1997; Wiseman, 1999; Lima et al., 2005; Davis et al., 1999; Viana e Potenza, 2000), não havendo uma padronização ou uma avaliação do número ideal de repetições a serem utilizadas.

Dentro deste contexto, as técnicas de reamostragem com reposição têm adquirido espaço no meio científico, em especial a técnica de Bootstrap. Esta consiste basicamente de retirar amostras com reposição em uma amostra original. Geralmente são retiradas de 100 a 2000 amostras. Com essas amostras é possível estimar erros-padrão e CV's (Coeficiente de variação) dos estimadores, determinando sua precisão (Efron & Tibshirani, 1993). Além disso, pode-se utilizá-la em diversas situações para estimação de parâmetros, obtenção de intervalos de confiança para os parâmetros analisados, obtenção de distribuição empírica dos estimadores e determinação do tamanho da amostra (Manly, 1997).

Diante dessas considerações, o objetivo do presente trabalho foi determinar o número ideal de repetições ou de lagartas para avaliação de parâmetros biológicos da lagarta-do-cartucho em bioensaios de resistência de milho.

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Resistência de Plantas e Manejo de Pragas da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas (MG). Foram avaliados 15 genótipos selecionados, anteriormente em casa de vegetação, para resistência, utilizando-se nota de dano foliar. As condições do laboratório foram: 16 horas de fotoperíodo e temperatura média de 28 °C. Os insetos utilizados foram obtidos da criação-estoque mantida em dieta artificial, de acordo com Burton (1967). Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 25 repetições. Cada repetição se constituiu de uma lagarta individualizada em copos de 50 ml. Segundo Videla et al. (1992), esta fase aproxima-se da que promove maior discriminação em testes de resistência.. As lagartas foram alimentadas diariamente com quatro a cinco folhas extraídas da região do cartucho das plantas no estágio V8.

Devido à alta temperatura, houve um aceleração no desenvolvimento das lagartas, assim, ao final de 10 dias, elas foram avaliadas quanto a largura da cápsula cefálica, comprimento e biomassa. Por ocasião da coleta dos dados, todos os tratamentos apresentavam pelo menos 15 lagartas vivas, passíveis de serem mensuradas. Portanto, foi feita análise estatística dos dados considerando um modelo balanceado, ou seja, 15 repetições por tratamento.

Foi utilizada a técnica de Bootstrap para estimar o tamanho da amostra. Neste método, foram retiradas sub-amostras para determinação do tamanho da amostra (Krebbs, 1989). Para isso, iniciou-se com sub-amostras de 5 lagartas. O aumento do tamanho das sub-amostras ou incremento, em cada teste, foi de uma lagarta. O número foi sucessivamente aumentado até se atingir o total da amostra retirada (15 lagartas).

Para cada tamanho de sub-amostra foram feitas 1.000 simulações com reposição. Em cada sub-amostra foram estimadas a média, variância e o CV (%).

Os valores do coeficiente de variação (CV) em função do número de repetições, para os três parâmetros avaliados, pelo método Bootstrap estão na Tabela 1. Em geral a cápsula cefálica e o comprimento foi estimado com maior precisão que a biomassa. Nas análises consideradas, os valores médios obtidos para o CV foram de respectivamente, 10,57;12,76 e 16,51%.

Constatou-se que o número de repetições estimado pelo método Bootstrap apresentou uma pequena variação em relação ao aumento do número de lagartas amostradas, uma vez que aproximadamente o número ideal concentrou-se na faixa entre 8 e 10 lagartas.

O aumento do tamanho da amostra não afetou expressivamente a diminuição do coeficiente de variação (Tabela 1), como é esperado normalmente em função da diminuição do erro experimental. Assim, parcelas com elevada variação (dados discrepantes) podem ter seu CV aumentado em razão de uma média baixa e alto desvio padrão.

A Tabela 1 mostra ainda que para os três parâmetros avaliados, o valor do CV tendeu a decrescer, com o aumento do número de repetições. Os decréscimos parecem ter sido menor para a cápsula cefálica e comprimento.

Com relação à biomassa nota-se que houve uma variação acentuada com o aumento do número de repetições. Esta variação do CV foi ocasionada pela existência de valores discrepantes nesta característica, devido ao real efeito da cultivar sobre a biologia do inseto, ou então pela tomada de dado em si, que pode levar a um maior erro devido a forma que é feita, pois as lagartas são mortas e conservadas em álcool passando por uma leve secagem antes de serem pesadas, o que propicia uma certa variação em sua massa real.

Tabela 1 Coeficientes de variação da cápsula cefálica, comprimento e biomassa em relação a diferentes números de repetições.

Número de repetições	Cápsula cefálica (mm)		Comprimento (mm)		Biomassa (mg)	
	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média
5	10,57	2,77	12,76	31,69	20,34	323,56
6	10,53	2,71	12,76	31,68	19,23	456,45
7	10,57	2,75	12,74	31,71	13,56	423,78
8	10,59	2,77	12,75	31,69	18,09	456,65
9	10,56	2,77	12,77	31,69	13,36	422,87
10	10,55	2,76	12,93	31,70	13,32	423,89
11	10,57	2,77	12,74	31,69	14,21	426,75
12	10,58	2,76	12,72	31,69	13,49	425,02
13	10,57	2,75	12,71	31,70	17,01	445,34
14	10,57	2,76	12,75	31,69	21,01	319,56
15	10,58	2,77	12,77	31,70	18,04	412,67
Média	10,57	2,76	12,76	31,69	16,51	412,41

Verificou-se no gráfico 1 a estabilização das estimativas da variância para a cápsula cefálica e comprimento a partir de 8 lagartas. A partir desse ponto, o aumento do número de lagartas nas sub-amostras não provocava mudanças significativas nas estimativas dos parâmetros.

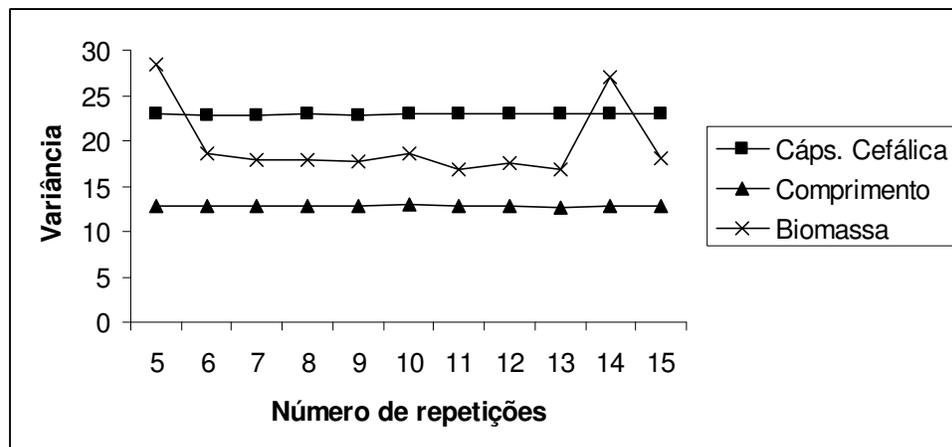


Figura 1. Variância da cápsula cefálica, comprimento e biomassa em função do aumento do número de repetições.

A distribuição do peso foi influenciada por valores extremos, podendo ter sido ocasionado pelo aumento da inclusão de valores extremos ou discrepantes. Pela metodologia do Bootstrap quanto maior o número de repetições maior é a chance de se amostrar os valores extremos o que irá influenciar a média, desvio padrão e conseqüentemente o CV.

Desta forma, recomenda-se uma amostra de 8 lagartas para as características cápsula cefálica e comprimento e 12 para característica peso com base no CV. No entanto, com o

objetivo de padronização da avaliação das três características, pelo menos 10 lagartas devem ser avaliadas.

Referências bibliográficas

BURTON, R.L. Mass rearing of the fall armyworm in the laboratory. Washington U.S. Department of Agriculture, 1967, 33-117p.

DAVIS, F.M., WILLIAMS, W.P., CHANG, Y.M., BAKER, G.T., HEDIN, P.A. Differential growth of fall armyworm larvae (Lepdoptera: noctuidae) reared on three phenotypic regions of worl leaves from a resistant and a susceptible maize hybrid. **Florida Entomologist**, 248-254p., 82 (2) 1999.

EFRON, B.; TIBSHIRANI, R.J. **An Introduction to the Bootstrap** . New York: Chapman & Hall, 1993. 436p.

KREBBS, C.J. **Ecological methodology**. NewYork: Harper Collin, 1989. 653 p.

LIMA, F.W.N. de, OHASHI, O. S., BARROS, P.L.C de. Efeito de 25 genótipos de milho no desenvolvimento larval de Spodoptera frugiperda em condições de laboratório. **Rev. Ciênc. Agrár.**, Belém, n. 43, 63-75p., 2005.

MANLY, B.F.J. **Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in biology**. 2. ed. New York: Chapman & Hall, 1997. 399p

SILVEIRA, L.C.P., VENDRAMIM, J.D., ROSSETTO, C.J. Efeito de genótipos de milho no desenvolvimento de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith). **An. Soc. Entomol. Brasil** 26(2), 291-298p., 1997.

VIANA, P.A., POTENZA, M.R. Avaliação de antibiose e não preferência em cultivares de milho selecionados com resistência à lagarta do cartucho. **Bragantia**, Campinas, 59(1), 27-33, 2000.

VIDELA. G.W.; DAVIES, F.M.; WILLIAMS, W.P.; NG, S.S. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae)_ larval growth and survivorship on susceptible and resistant corn at different vegetative growth stages. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, 85(6):2485-2491, 1992.

WISEMAN, B.R. Cumulative effects of antibiosis on five biological parameters of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, 82(2), 277-283p.1999.
