

Tres procedimientos de análisis epidemiológico en palma de aceite e incorporación de atributos del paisaje

Three epidemiological analysis procedures in oil palm and incorporation of landscape attributes

AUTORES



Enrique Torres

Profesor asociado emérito,
Universidad Nacional de Colombia

Juan Pablo Tovar

Consultor independiente

Luz Adriana Ceballos

Consultora independiente

Palabras CLAVE

ecología del paisaje, marchitez letal,
análisis epidemiológico en
palma de aceite

Landscape ecology, lethal wilt,
epidemiological analysis in oil palm

Resumen

Los fundamentos matemáticos de la epidemiología se remontan a los razonamientos de Kermack y McKendrick publicados en 1927. Su aplicación al análisis de las epidemias de los cultivos genera parámetros estadísticos que permiten comparar el efecto de diferentes ambientes en los patrones espaciales y en el progreso temporal de las enfermedades. Estos modelos asumen homogeneidad en las condiciones de desarrollo de las epidemias y no exploran las causas de las diferencias entre parámetros, por lo que son insuficientes para un análisis realista de las epidemias. Explorando alternativas al análisis espacial, en este informe se documenta la factibilidad de usar los procedimientos de análisis de supervivencia (as) que compara variables por su efecto sobre el tiempo transcurrido hasta que ocurre un evento (infección, defoliación, recuperación, muerte, etc.), de análisis y dinámica de focos (Adef) aplicado en Brasil para describir el patrón espaciotemporal de enfermedades de cítricos (incluso de etiología incierta), y el análisis espacial por índices de distancia (Sadie) usado para estudiar la distribución de objetos de interés (por ejemplo, plantas enfermas) en un paisaje. El caso estudiado es la marchitez letal (ml), presente en algunas plantaciones del piedemonte llanero, en la Zona Oriental palmera de Colombia. El siguiente paso lógico en la evolución del estudio de la dinámica espacial de las enfermedades es incorporar atributos del paisaje en cultivos que, como la palma de aceite, conforman nuevos paisajes estables en extensiones considerables. Para esto, la presentación examina algunos de los desarrollos recientes más pertinentes.

Abstract

The mathematical basis of epidemiology can be traced back to the Kermack and McKendrick arguments published in 1927. Its application to the analysis of crop epidemics creates statistical parameters to compare the effect of different environments on spatial



patterns and temporal progression of the disease. These models assume homogeneity in the development conditions of epidemics, but do not explore the causes of differences between parameters, so they are insufficient for a realistic analysis of epidemics. Exploring alternatives to spatial analysis, this report documents the feasibility of using survival analysis procedures, comparing variables for their effect on the time for an event to occur (infection, defoliation, recovery, death, etc.), analysis and dynamics of outbreaks applied in Brazil to describe the spatiotemporal pattern of citrus diseases (including uncertain cause), and spatial analysis by distance indices (Sadie) used to study the distribution of objects of interest (i.e., diseased plants) in a landscape. The case studied is lethal wilt (LW), present in some piedmont plantations in the Eastern Plains of Colombia. The next logical step in the evolution of spatial dynamics study of diseases is to incorporate landscape attributes in crops that, like the oil palm, form new stable landscapes in large areas of land. To this end, this presentation examines some of the most relevant recent developments



Introducción

En un análisis pionero para la epidemiología, Kermack y McKendrick (1927) se propusieron explorar las causas de la magnitud variable de las epidemias, en el contexto de enfermedades contagiosas de humanos o animales. Para ello razonaron así: 1) en una población susceptible a una enfermedad, se registra la presencia de uno o más individuos infectados; 2) cada individuo infectado sufre el curso de la enfermedad y finalmente sale del grupo de los enfermos, porque se recupera o porque se muere; 3) los enfermos pueden contagiar a otros individuos sanos de la población; 4) para cada enfermo, sus probabilidades de recuperación o de muerte, y de que contagie a un individuo sano, varían durante el curso de su enfermedad; 5) con la expansión de la enfermedad hay cada vez menos individuos sanos; 6) como el curso de la enfermedad es generalmente corto comparado con la duración de la vida de los individuos, la población se puede considerar constante, excepto por las muertes asociadas con la enfermedad, lo que resulta en la eventual terminación de la epidemia.

Tal razonamiento implica que los miembros de una población pueden pasar sucesivamente por cuatro estados vinculados epidemiológicamente, a saber: cuando están sanos (S), cuando quedan expuestos a la enfermedad (E), cuando son capaces de infectar a otros miembros de la población (I), y cuando se retiran del proceso epidemiológico por recuperación o muerte (R). Este modelo epidemiológico se conoce como la cadena S-E-I-R. El análisis de Kermack y

McKendrick dio lugar a un sistema de ecuaciones diferenciales vinculadas que representan la velocidad con que ocurre la transición de un estado al siguiente; este sistema permite un análisis matemático riguroso de las epidemias (Madden *et al.*, 2007; Segarra *et al.*, 2001).

Vanderplank (1963) reconoció la validez de la cadena S-E-I-R para enfermedades sistémicas de plantas, y observó que el progreso temporal de las epidemias en plantas cultivadas depende del período de generación o latencia del patógeno, comprendido entre el momento de la infección (cuando comienza el estado E) y el inicio de la producción de inóculo (estado I), y de la duración de la producción de inóculo o período infectivo, que se inicia al llegar al estado I y termina al llegar al estado R. Esta incorporación de los períodos de latencia y de infectividad permite describir el aumento de la enfermedad en función de la tasa de transmisión del inóculo y de las proporciones de individuos en estado infeccioso y en estado sano susceptibles (Vanderplank, 1963; Segarra *et al.*, 2001).

Por otra parte, ver el espacio geográfico como un conjunto de sitios ocupados por plantas que pueden ser sucesivamente sanas, expuestas, infecciosas o removidas, permite aplicar las formulaciones de Kermack y McKendrick, y de Vanderplank, y la cadena S-E-I-R al estudio de la dinámica espacial de las enfermedades (Madden *et al.*, 2007).

Los planteamientos anteriores muestran que el análisis epidemiológico de las enfermedades de las plantas tiene un sólido fundamento conceptual y procedimen-



tal. Una abundante literatura confirma la aplicabilidad de modelos derivados de Kermack y McKendrick, y de Vanderplank al estudio de la dinámica espacial y temporal de estas epidemias. Tales modelos generan parámetros que permiten comparar el efecto de diferentes ambientes o variables agronómicas sobre las epidemias. Tanto el modelo original (Kermack y McKendrick, 1927) como sus derivaciones tienen supuestos simplificados: homogeneidad en las condiciones temporales y espaciales y en la respuesta de los individuos de una población, o de los sitios en una plantación, al patógeno, sincronía en la transición de los individuos entre estados consecutivos de la cadena y tiempos constantes de latencia y de infectividad, por lo que no siempre son adecuados para un análisis realista de las epidemias.

Además, cuando se trata de estudiar la dinámica de las enfermedades, su representación más apropiada es la cantidad de tejido infeccioso, porque es lo que contribuye al progreso de la enfermedad (Segarra *et al.*, 2001). La literatura fitopatológica presenta numerosos ejemplos de enfermedades de plantas cultivadas para las cuales hay incertidumbre acerca del agente causal, la naturaleza del inóculo, los mecanismos de diseminación y la duración de los tiempos de latencia y de infectividad. Ejemplos de estas enfermedades son la muerte súbita de los cítricos (MSC) en Brasil y la marchitez letal (ML) de la palma de aceite, la cual se ha venido presentando en algunas plantaciones de la Zona Oriental palmera en Colombia. En tales casos, no es posible establecer con certeza la naturaleza monocíclica o policíclica de la enfermedad (Vanderplank, 1963) para escoger el modelo epidemiológico apropiado, ni aplicar la cadena S-E-I-R al estudio de su dinámica espacial y temporal.

Con miras a explorar alternativas viables a procedimientos estadísticos para el análisis espacial, se documenta aquí la factibilidad de usar tres procedimientos desarrollados recientemente. Estos son el análisis de supervivencia (AS), el cual compara variables por su efecto sobre el tiempo transcurrido hasta que ocurre un evento (infección, defoliación, recuperación, muerte, etc.), el análisis de dinámica y estructura de focos (ADEF) aplicado en Brasil para describir el patrón espaciotemporal de enfermedades de cítricos (incluso la MSC, de etiología incierta), y el análisis espacial por índices de distancia (Sadie) usado

para estudiar la distribución de objetos de interés (por ejemplo, plantas enfermas) en un paisaje. El estudio de la dinámica espacial de las enfermedades también debe incluir como variables los atributos del paisaje, particularmente en cultivos que, como la palma de aceite, conforman nuevos paisajes estables en extensiones considerables. A este respecto, se mencionan algunos desarrollos recientes.

Justificación de los procedimientos de análisis

La ML y el ejercicio propuesto

La ML se ha venido presentando desde fines del siglo pasado en la cuenca del río Upía, al sur del departamento de Casanare (Colombia). En el contexto del manejo sanitario que han implementado las plantaciones, el diagnóstico confirmado de una palma con ML acarrea su erradicación inmediata, por lo que la incidencia equivale a mortalidad. Las plantaciones afectadas por ML han venido colectando información precisa de la ubicación y fecha de muerte de cada una de las palmas sacrificadas a partir de 1999. El ejercicio de aplicar los procedimientos AS, ADEF y Sadie a los registros de incidencia de la ML se realizó entre noviembre de 2007 y febrero de 2008, para tres lotes en dos plantaciones. A la fecha del ejercicio no se tenía confirmación de la identidad de algún patógeno o de sus posibles vectores.

Análisis de supervivencia (AS)

Justificación para su inclusión en el ejercicio

La cadena S-E-I-R, enriquecida por Vanderplank (1963) con los períodos de latencia e infectividad, se implementa como una tabla, cuyos renglones representan observaciones sucesivas en el tiempo y cuyas columnas son los cuatro estados. Con el paso del tiempo, las cantidades registradas en la columna S pasan a la columna E, luego a la columna I, y finalmente, a la columna R.

Para el estudio práctico de la dinámica espacial o temporal de una enfermedad, la cantidad de individuos Infecciosos es la más importante como opción de avance de la enfermedad, siempre y cuando se cumpla el supuesto de que todo nuevo caso proviene del contagio por los individuos infecciosos mediante los pro-

cesos de reproducción y dispersión del agente causal (Madden *et al.*, 2007). La incertidumbre biológica que rodea la ML, en especial acerca de los periodos de latencia y de infectividad, y la erradicación inmediata de la palma de aceite después del diagnóstico confirmado hacen infructuoso el intento de usar esta cadena. Una variable de mayor interés práctico es el tiempo que transcurre bajo diferentes prácticas agronómicas hasta la detección de ML, pues permite comparar el efecto de variables independientes (materiales genéticos, tipos de suelo, manejos agronómicos, etc.). Esta variable resulta precisamente del AS (Scherin y Ojiambo, 2004), por lo que se incluyó este procedimiento.

Fundamentos operacionales

El análisis de supervivencia se fundamenta en las funciones de sobreviviente $S(t)$ y de riesgo $h(t)$. La función de sobreviviente describe la probabilidad de que un individuo presente en el momento 0 sobreviva más allá del momento t , mientras que la función de riesgo describe la probabilidad de que su muerte ocurra entre los momentos t y $t + Dt$ (Dungan *et al.*, 2003). Ambas funciones se pueden estimar por el método Kaplan-Meier y por el de tablas de vida, disponibles en SAS y otros paquetes estadísticos (Scherin y Ojiambo, 2004).

Los resultados de un AS se representan gráficamente como una escalera descendente con peldaños irregulares, que describe la proporción decreciente de sobrevivientes dentro de un grupo de individuos a lo largo de intervalos en el tiempo. Esta irregularidad se debe a que la proporción de sobrevivientes solo cambia cuando hay muertes, y la proporción de muertes en un intervalo dado determina la altura del siguiente peldaño. En la aplicación del AS a la medicina experimental, el retiro o la deserción de uno o más miembros del grupo o su muerte por causas diferentes a la enfermedad se denominan datos "censurados", y se representan con una barra vertical en el peldaño correspondiente al intervalo en que ocurrió el retiro o la muerte.

Cuando ocurren datos censurados en un intervalo, la escalera no desciende pues no hubo muertes atribuibles a la enfermedad bajo estudio; sin embargo, como la población se ha reducido, cada muerte posterior a un peldaño con datos censurados representa una disminución proporcionalmente mayor de sobrevivientes,

y el descenso será más pronunciado. Esta situación se puede presentar cuando una palma muere o es erradicada por causas diferentes a la ML.

El análisis de supervivencia permite estudiar el efecto de covariables en el tiempo de supervivencia de una población. Scherim y Ojiambo (2004) usaron covariables discretas y continuas para demostrar la aplicabilidad del análisis de supervivencia a estudios epidemiológicos en plantas cultivadas. Gottwald y Taylor (2004) examinaron en un huerto de cítricos el efecto de la distancia entre árboles sanos y un árbol con *tristeza* sobre el tiempo transcurrido hasta que aquellos manifestaron los síntomas de la enfermedad; aunque hubo diferencias entre parcelas, los árboles permanecieron sanos más tiempo cuando la distancia fue máxima (32 m).

Para comparar la distribución de supervivencia en dos grupos expuestos a sendos tratamientos se usa la prueba Mantel-Cox. El estadístico se construye computando el número de eventos en uno de los dos grupos, convencionalmente identificado como grupo 1, en cada momento en que ocurre el evento, y sumándolos para obtener un resumen general a lo largo del estudio. En las condiciones de la ML, estos momentos serían los intervalos de revisión. Sean $j = 1, 2, \dots, J$ las fechas de revisión en cada grupo. En cada fecha de revisión j , hay N_{1j} y N_{2j} individuos en riesgo (o sea palmas en pie). $N_j = N_{1j} + N_{2j}$ es el total de individuos en riesgo a la fecha de revisión j . El número de palmas diagnosticadas con ML en la fecha j serán O_{1j} y O_{2j} , y el total de eventos para esa fecha será $O_j = O_{1j} + O_{2j}$. Como las muertes por ML tuvieron lugar en el mismo intervalo para ambos grupos, el valor esperado de la variable O_{1j} (palmas con ML en el grupo 1) se estima como:

$$E_j = O_j (N_{1j}/N_j)$$

y su varianza como:

$$V_j = O_j (N_{1j}/N_j) (1 - N_{1j}/N_j) (N_j - O_j) / N_j - 1$$

El estadístico log rank compara cada O_{1j} con su valor esperado E_j , y se define como:

$$Z = \sum_{j=1}^J (O_{1j} - E_j) / \{ \sum_{j=1}^J V_j \}^{-1/2}$$

Ilustración del procedimiento

La Tabla 1 contiene los elementos de la prueba Mantel-Cox para dos situaciones, A y B, cada una con cinco

**Tabla 1.** Ilustración del cómputo del estadístico Z para la prueba log rank del AS

A. Situación en la que el grupo 1 exhibe menos supervivencia relativa al grupo 2								
t	O_1/N_1	O_2/N_2	$(O_1+O_2)/(N_1+N_2)$	E_j grupo 1	O-E grupo 1	Numerador de varianza	Varianza	Zeta
1	10/300	15/600	25/900	8.3	1.66	4861.11	5.41	
2	80/290	100/585	180/875	59.66	20.34	27720.11	31.71	
3	20/210	50/485	70/695	21.15	-1.15	9225.06	13.29	
4	30/190	20/435	50/625	15.2	14.8	6083.04	9.74	
5	50/160	30/415	80/575	22.26	27.74	7952.93	13.85	
						suma	= 74.02	
				suma de desviaciones	= 63.39	raíz cuadrada	= 8.6	63.39/8.6 = 7.37
B. Situación en la que el grupo 1 exhibe más supervivencia relativa al grupo 2								
t	O_1/N_1	O_2/N_2	$(O_1+O_2)/(N_1+N_2)$	E_j grupo 1	O-E grupo 1	Numerador de varianza	Varianza	Zeta
1	20/500	40/500	60/1000	30	-10	14100	14.11	
2	80/480	100/460	180/940	91.91	-11.91	34184.52	36.4	
3	20/400	50/360	70/760	36.84	-16.84	12041.55	15.86	
4	30/380	20/310	50/690	27.53	2.46	7917.66	11.49	
5	50/350	30/290	80/640	43.75	6.25	11101.56	17.37	
						suma	= 95.24	-30.04/9.75 = -3.08
				suma de desviaciones	= -30.04	raíz cuadrada	= 9.75	

intervalos de muestreo. En el caso A, el grupo 1 inicia con 300 palmas, y en sendos muestreos se diagnostican con ML 10, 80, 20, 30 y 50 palmas para un total de 190 palmas muertas, mientras que el grupo 2 se inicia con 600 palmas y en los sucesivos muestreos se diagnostican con ML 25, 180, 70, 50 y 80 palmas para un total de 405 palmas muertas. En el caso B, ambos grupos inician con 500 palmas; el grupo 1 pierde 20, 80, 20, 30 y 50 palmas en cada uno de los cinco muestreos para un total de 200 palmas muertas, mientras que el grupo 2 pierde 40, 100, 50, 20 y 30 palmas para un total de 240 palmas.

En ambos casos, E_j representa el número esperado de muertes para el grupo 1, y el resto de columnas

presenta los elementos para el cómputo del estadístico Z. Los valores de Z de 7.37 para el caso A y -3.08 para el caso B indican que el tratamiento recibido por el grupo 1 mejoró su supervivencia relativa al grupo 2 solo en el caso B. La Tabla 2 y la Figura 1 representan el análisis de supervivencia a datos hipotéticos de mortalidad por ML y la correspondiente escalera de supervivencia.

Análisis de dinámica y estructura de focos (ADEF)

Justificación para su inclusión en el ejercicio

La definición de foco de infección como una planta enferma y las plantas enfermas en su inmediata vecin-

Tabla 2. Datos hipotéticos de un análisis de supervivencia por marchitez letal

Trim.	Sanas total	Sanas de ML	Casos de ML	Otras muertes ^a	Total de muertes	Sobreviven a ML (número)	Sobreviven a ML (%)
1	3247	3247	200	47	247	3.047	93.84
2	3000	3047	156	12	168	2.891	89.03
3	2832	2891	345	34	379	2.546	78.41
4	2453	2546	15	0	15	2.531	77.94
5	2438	2531	134	21	155	2.397	73.00

^a Se manejan como datos censurados.

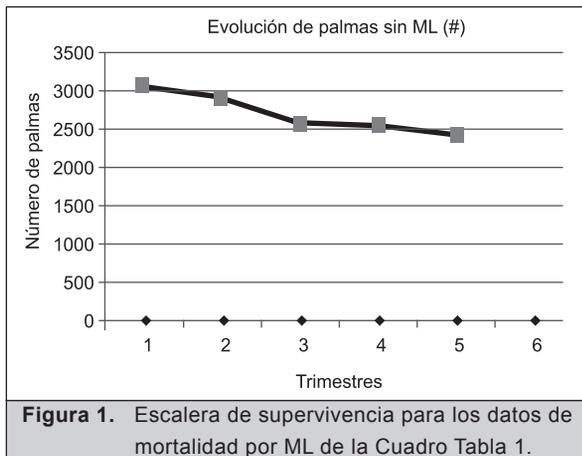


Figura 1. Escalera de supervivencia para los datos de mortalidad por ML de la Cuadro Tabla 1.

dad (Nelson, 1996) y su interpretación epidemiológica como el área donde (presumiblemente) ocurrieron los primeros casos de la enfermedad y subsecuentemente se ha observado agregación de plantas enfermas, son concepciones intrínsecas a la epidemiología vegetal (Zadoks y van den Bosch, 1994). La idea de foco connota que el estado sano o enfermo de una o más plantas afecta la probabilidad de que una planta en su vecindad se enferme o permanezca sana, lo cual resulta finalmente en que el patrón espacial de la población de plantas enfermas sea agregado, aleatorio o uniforme.

La novedad del ADEF es hacer la distinción entre focos unitarios, constituidos por una planta infectada aislada, y focos múltiples que constan de dos o más plantas enfermas inmediatamente vecinas (Jesús Junior y Bassanezi, 2004; Laranjeira, 2002; Laranjeira *et al.*, 2004). El criterio de vecindad es flexible y se puede ajustar al conocimiento de que se disponga sobre los mecanismos de diseminación del patógeno.

El ADEF se ha usado para estudiar el patrón espacial de la clorosis variegada de los cítricos (CVC) causada por la bacteria *Xylella fastidiosa* y transmitida por cicadélidos (Laranjeira, 2002; Laranjeira *et al.*, 2004) y de la muerte súbita de los cítricos (MSC) de etiología incierta (Jesús Junior y Bassanezi, 2004). La condición perenne de los cítricos y el carácter letal de estas dos enfermedades las hacen afines al caso de la ML, por lo que se incluyó el ADEF en este ejercicio.

Fundamentos operacionales

En la fase inicial de las epidemias vegetales, los focos tienden a ser unitarios. A medida que aumenta

la incidencia se empiezan a formar focos múltiples con diferente rapidez según la naturaleza de la diseminación de la enfermedad. Si la diseminación es predominantemente local por contagio entre plantas vecinas, los focos unitarios son efímeros y escasos tanto en número como en la proporción que representan dentro del total de focos. En cambio, cuando intervienen fuentes externas en la diseminación de la enfermedad, la cantidad de focos unitarios (FU) y la proporción de focos totales que son unitarios (FU/FT) sigue en aumento. En cuanto mayor sea la influencia externa, tanto más se prolongarán el aumento de focos unitarios y la alta proporción de focos totales que son unitarios, hasta que ambas variables disminuyan al agotarse los sitios disponibles para nuevas infecciones. En este sentido, el ADEF es idóneo para enfermedades en cultivos de plantación por sus amplias extensiones y su condición perenne.

Adaptación al caso de la ML

Ajustando el principio de vecindad propuesto por Nelson (1996) y Laranjeira (2002) al sistema de siembra en triángulo usado en las plantaciones estudiadas, se definieron como palmas inmediatamente vecinas a una palma enferma las que están ubicadas delante y detrás sobre la misma línea, y a las cuatro palmas vecinas en diagonal sobre las dos líneas adyacentes. Sin embargo, el criterio de vecindad se puede amoldar a juicio de los investigadores.

Se debe disponer de mapas de los lotes con los registros de ML actualizados y consolidados por trimestres o semestres. Sobre esos mapas se cuenta el número de focos unitarios y el número y el tamaño de los focos múltiples en el tiempo de evolución de la enfermedad, como se indica en la Figura 2. Con esta información se calcula la incidencia y la proporción de focos totales que son unitarios (ejemplo, Tabla 3) y se elaboran gráficos de estas variables en función del tiempo o de la incidencia (ejemplo, Figura 3).

Ejercicios de análisis

El procedimiento ADEF se aplicó a los registros de ML entre 1999 y 2004 para el lote 9B de Palmeras Santana, entre 2001 y 2006 para el lote 9A de Palmeras Santana y entre 2003 y 2007 para el lote G18B de Palmas de Casanare. Las poblaciones iniciales fueron 1.382 palmas para el lote 9B, 1.318 para el lote 9A y 764 para el lote G18B.

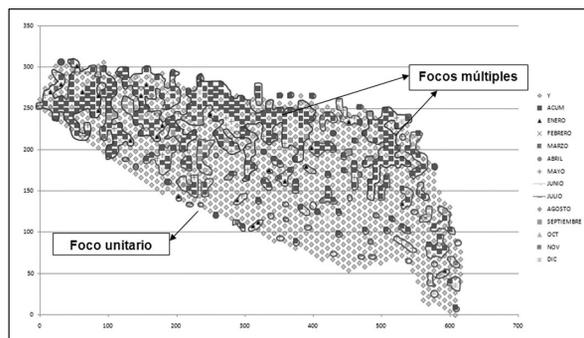


Figura 2. Para trabajar con ADEF se marcan y cuentan los focos unitarios y los focos múltiples y se determina el tamaño de cada foco múltiple contando las palmas erradicadas por ML.

Tabla 3. Ejemplo de una tabla sinóptica con información secundaria derivada del conteo de los focos unitarios y múltiples de marchitez letal en un lote durante cinco años como elemento para aplicar el procedimiento ADEF

Lote y año	Incidencia (%)	Focos totales (FT)	Focos unitarios (FU)	Proporción FU/FT
G2003	1,3	10	10	1
G2004	7,72	45	35	0,77
G2005	16,09	72	47	0,65
G2006	41,23	51	22	0,43
G2007	52,61	29	6	0,2

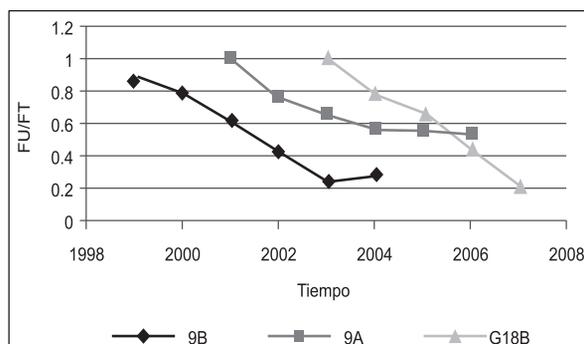


Figura 3. Proporción de focos unitarios sobre el total de focos de ML para tres lotes estudiados con el procedimiento ADEF.

El comportamiento de los focos unitarios y totales para cada uno de los tres lotes en función de la incidencia se presenta en las figuras 4-6. Los focos unitarios mostraron un comportamiento similar en los tres lotes, aumentando gradualmente hasta alcanzar el máximo al 20% de incidencia, con 100 focos unitarios en el lote 9A, 110 en el 9B y 70 en el G18B. Estas diferencias son atribuibles al tamaño de los lotes, ya que los espacios

disponibles para focos unitarios se saturan más pronto en lotes más pequeños como el G18B.

La proporción de focos unitarios sobre el total de focos (FU/FT) fue similar para los tres lotes (alrededor de 70%) hasta el 10% de incidencia, pero su evolución posterior fue diferente. En el lote 9A esta proporción se estabilizó en 50% hasta niveles de incidencia de más del 40% (Figura 4-B); en el lote 9B mostró una declinación constante, cayendo al 50% cuando la incidencia estaba por encima del 20%, y recuperándose alrededor del 50% de incidencia (Figura 5-B); en el lote G18B se mantuvo al 50% hasta niveles de incidencia del 40%, y declinó de ahí en adelante (Figura 6-B).

La aplicación del procedimiento ADEF al examen epidemiológico de la CVC (Laranjeira *et al*, 2004) y de la MSC (Jesús Junior y Bassanezi, 2004) mostró para ambas enfermedades que el número de focos unitarios alcanzó su máximo cuando los valores de incidencia eran inferiores al 15% sin presentar una fase de incremento acelerado, y descendió rápidamente, y que la proporción FU/FT al nivel del 10% de incidencia estaba entre 60 y 65%. Estos investigadores interpretaron sus resultados como indicación de que la aparición de nuevas plantas enfermas no ocurre al azar, con numerosos focos unitarios, sino por contagio rápido de las plantas enfermas a las plantas vecinas sanas, atribuible al comportamiento de movilidad de cicadélidos para la CVC y de posibles insectos vectores para la MSC.

En contraste con estos resultados, los valores máximos del número de focos unitarios de ML se alcanzaron a mayores niveles de incidencia (más o menos de 20%) y la FU/FT al nivel del 10% de incidencia llegó al 70%, lo que representa una pendiente más elevada que la observada para la CVC y la MSC. La persistencia en el aporte de focos unitarios a la expansión de la ML, expresada como su cantidad y su elevada proporción sobre el total de focos para los tres lotes estudiados, indica una mayor aleatoriedad geográfica en la aparición de palmas enfermas, atribuible a una alta participación de fuentes externas a los lotes.

Las diferencias observadas entre lotes en el comportamiento de la proporción FU/FT merecen consideración aparte. En los lotes 9A y G18B de Palmas de Casanare, esta proporción se mantuvo más elevada que en el lote 9B de Palmeras Santana. Los dos primeros lotes tienen

en común su cercanía con lotes de alta incidencia (el 9A está próximo al 9B en Palmeras Santana, y el G18B a varios lotes en Palmas de Casanare), condición que favorece la migración de posibles agentes asociados con la ML. El lote 9B, en cambio, carecía inicialmente de fuentes externas, así que la expansión de la enfer-

medad se debió dar únicamente por contagio local, con predominancia de focos múltiples.

Las epidemias de marchitez letal no fueron contemporáneas en los tres lotes estudiados: en el lote 9B se inició en 1999 y terminó por erradicación o consunción en 2004; en el lote 9A duró de 2001 a 2006 y en el

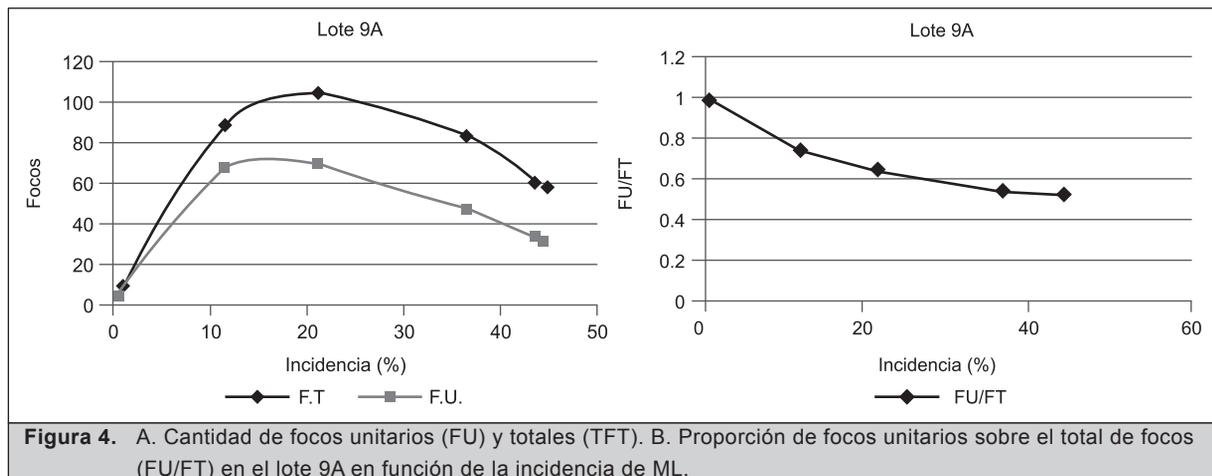


Figura 4. A. Cantidad de focos unitarios (FU) y totales (TFT). B. Proporción de focos unitarios sobre el total de focos (FU/FT) en el lote 9A en función de la incidencia de ML.

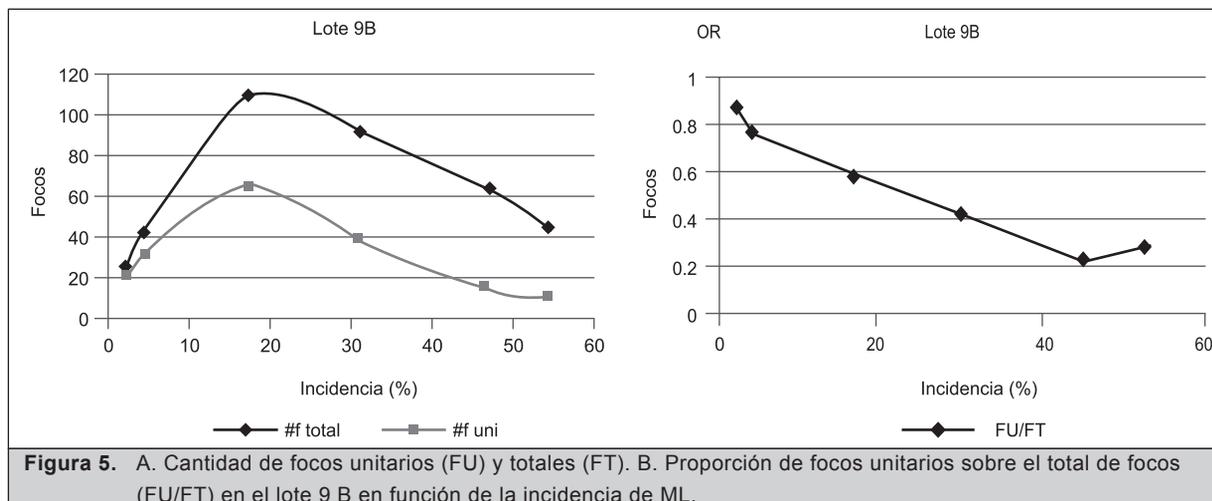


Figura 5. A. Cantidad de focos unitarios (FU) y totales (FT) en el lote 9B en función de la incidencia de ML. B. Proporción de focos unitarios sobre el total de focos (FU/FT) en el lote 9B en función de la incidencia de ML.

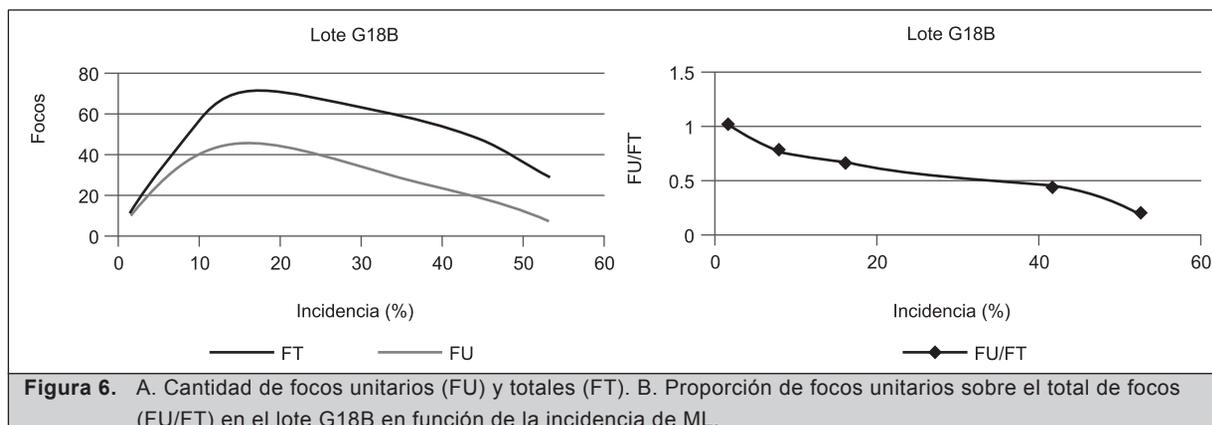


Figura 6. A. Cantidad de focos unitarios (FU) y totales (FT) en el lote G18B en función de la incidencia de ML. B. Proporción de focos unitarios sobre el total de focos (FU/FT) en el lote G18B en función de la incidencia de ML.



lote G18B de 2003 a 2007. Para evaluar la posibilidad de que las diferencias entre los lotes 9A y 9B en FU/FT y en la curva de incidencia para los tres lotes fueran causadas por cambios en el clima, se presentan las curvas de comportamiento de la proporción FU/FT (Figura 7A) y de incidencia (Figura 7B) de estos lotes a lo largo de la epidemia. Nótese que la proporción FU/FT en los lotes adyacentes 9A y 9B tiene tendencias opuestas, atribuibles a las diferentes dinámicas descritas en el párrafo anterior, pese a desarrollarse bajo las mismas condiciones de clima. Esta representación ofrece además una explicación plausible al incremento de FU/FT en el lote 9B al final de la epidemia: para cuando se observa la inflexión en la curva del lote 9B en 2003, la incidencia de marchitez letal en el lote 9A alcanzaba alrededor de 30% (Figura 7A/B) y constituía una fuente externa con la posibilidad de contribuir a focos unitarios en el lote 9B.

Las curvas de progreso de la incidencia de la marchitez letal (Figura 7B) ilustran otro aspecto epidemiológico con implicaciones para estimar el riesgo: la curva del lote 9B es la única que presenta un inicio lento, explicable porque entre 1998 y 2000 no había lotes cercanos afectados por ML; las pendientes de las curvas de incidencia para los lotes 9A y G18B, en cambio, no muestran diferencias entre los primeros años, cuando ya había áreas vecinas afectadas por la enfermedad.

Sadie

Justificación para su inclusión en el ejercicio

El registro minucioso de las palmas afectadas por ML permite aplicar métodos estadísticos convencionales como autocorrelación y semivarianza para evaluar las hipótesis de agregación, aleatoriedad o uniformidad.

El procedimiento Sadie, desarrollado en Gran Bretaña (Perry *et al.*, 1996), examina el grado de heterogeneidad en la distribución espacial de objetos de interés (por ejemplo palmas enfermas en una plantación), para lo cual divide el área en subunidades, llamadas unidades de muestreo, que se califican como parches cuando hay abundancia de palmas enfermas, o como vacíos cuando hay escasez (Quero, 2006).

Sadie se incluyó en este ejercicio, en vista de que es considerada como una opción viable para evaluar las hipótesis mencionadas (Madden *et al.*, 2007). Con Sadie se ha estudiado el patrón geográfico de la pudrición de la raíz del abeto Frasier por *Phytophthora* (Benson *et al.*, 2006). Sadie contiene subrutinas para medir la asociación entre dos poblaciones coexistentes examinando sus densidades en las unidades de muestreo. Esta aplicación se ha usado para examinar la asociación entre las frecuencias observadas del virus de la leprosis de los cítricos (CiLV) y de su vector, *Brevipalpus phoenicis* [Acari: Tenuipalpidae] (Bassanezi y Laranjeira, 2007), entre las incidencias de dos enfermedades foliares de fresa (Turechek y Madden, 2000), y entre tres virus que afectan al lúpulo en Australia (Pethybridge y Turechek, 2003).

Conceptos fundamentales

La información básica para este análisis es la cantidad de unos "objetos de interés" dentro de las unidades de muestreo en un área de estudio con coordenadas espaciales, que pueden ser los surcos o líneas, y las palmas en cada línea. Mediante un ingenioso algoritmo de transporte virtual de los objetos, Sadie determina el grado de agregación o dispersión de esos objetos e identifica patrones de parches y vacíos. Hay *agregación* cuando unidades de muestreo cercanas

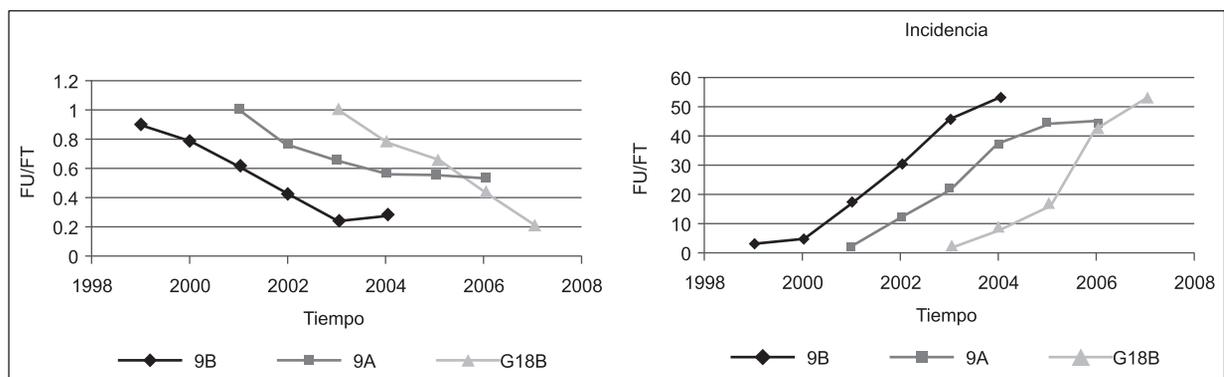


Figura 7. Comportamiento de dos variables de ML entre 1999 y 2007 en tres lotes estudiados. A. proporción de focos unitarios sobre el total de focos. B: Incidencia de ML.

acumulan una alta proporción de los objetos, lo que conduce a la formación de *clusters* de parches y de vacíos; *regularidad* cuando las unidades de muestreo tienen una densidad similar de objetos; y *aleatoriedad* cuando la variación en la cantidad de objetos por unidad de muestreo no exhibe una tendencia clara. La hipótesis operativa de Sadie es que el patrón de vecindad es aleatorio, y examina los datos observados para confirmar o negar esa hipótesis. La naturaleza de los objetos de interés y el tamaño del área de estudio pueden ser tan diversos como cabezas de ganado o termiteros en una sabana, colonias de musgos o líquenes en unas rocas o de insectos en una fronda, o palmas de aceite afectadas por ML en una plantación.

Los requisitos para la utilización de Sadie son los siguientes: haber establecido ejes de coordenadas para el área de estudio, demarcar unidades de muestreo con coordenadas conocidas y contar los objetos de interés en cada unidad de muestreo. Los patrones de siembra y la información espaciotemporal de la ML disponible en la zona estudiada satisfacen plenamente estos requisitos.

Procedimiento computacional

Sadie ejecuta el software desarrollado por el grupo de Joe N. Perry, el cual se puede descargar gratuitamente, junto con una abundante colección de artículos relacionados, de la siguiente dirección: http://www.rothamsted.ac.uk/pie/sadie/SADIE_downloads_software_page_5_2.htm. Este paquete incluye instrucciones detalladas y un programa tutorial. Quero (2006) trae información comparable y muy explícita en español. El núcleo de Sadie es el archivo ejecutable *sadieshell* que se debe descomprimir y guardar en el archivo de programas. Para el funcionamiento correcto de *sadieshell* hay que seguir estrictamente las instrucciones del software.

Procedimiento de análisis

Al ingresar la cantidad de objetos observados por unidad de muestreo, Sadie permuta la ubicación de los objetos entre unidades de muestreo hasta lograr la máxima regularidad y calcula la distancia total recorrida, denominada D_a . Por ejemplo, si el total de objetos es 36 y se trabaja con 9 unidades de muestreo, la máxima regularidad ocurre cuando cada unidad de

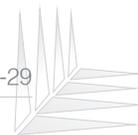
muestreo contiene 4 objetos. Cuando la condición observada es de 4 objetos por unidad de muestreo, $D_a = 0$ porque no se necesita mover ningún objeto. D_a será máxima cuando los 36 objetos se concentran en una unidad de muestreo o en unas pocas de ellas. Para sustentar estadísticamente los análisis, Sadie permuta la localización de los objetos por unidades de muestreo, calcula las distancias para cada permutación, computa la distancia promedio denominada $D_{\text{permutaciones}}$, y obtiene el índice de agregación definido como $I_a = D_a / D_{\text{permutaciones}}$. Además determina el número de permutaciones cuya distancia es mayor o menor que D_a .

Ejercicio de análisis

Se usaron los datos de incidencia de ML en los lotes G18B de Palmas de Casanare y 9A de Palmeras Santana en diferentes años. Sobre los mapas de estos lotes se marcaron unidades de muestreo que abarcan cinco líneas con cinco palmas cada una. Sadie permite cualquier ubicación de las unidades de muestreo, pero en este ejercicio se marcaron lo más adyacentes que fuera posible. En cada unidad de muestreo se contó el número de casos nuevos de marchitez letal por año y se fue acumulando durante la vida del lote. Las coordenadas X, Y de cada unidad de muestreo fueron las de la palma central de esa unidad. Para el lote G18B se analizaron los datos iniciales en 2004, los casos nuevos en 2005, 2006 y 2007, y los acumulados a finales de 2005, 2006 y 2007, para siete análisis. Para el lote 9A se analizaron los casos nuevos en 2002, 2003, 2004, 2005 y 2006 y los acumulados a finales de estos años, para 10 análisis.

Salidas de Sadie

Sadie calcula la media y la varianza del número de casos de ML por unidad de muestreo, la razón varianza: media conocida como índice de dispersión [I_d] y el índice de agregación mencionado. En la distribución Poisson que describe patrones aleatorios, la varianza es igual a la media, así que los valores calculados del I_d miden el grado de divergencia del patrón observado con respecto al patrón aleatorio. Valores de I_d cercanos a la unidad confirman el patrón aleatorio, valores menores indican regularidad y valores mayores indican agregación. Los I_d calculados para los nuevos casos de marchitez letal en el lote G18B de Palmas de Casanare para 2006 y 2007 son inferiores a 1.0, lo que revela una tendencia



hacia la regularidad, mientras que para el resto de observaciones son mayores que 1.0, lo que sugiere algún grado de agregación; la tendencia gregaria se confirma con los I_a mayores que 1.0, con excepción de los casos nuevos en 2007 (Tabla 4). Los I_d calculados para el lote 9A son mayores que 1.0 para todos los períodos analizados, agregación que se confirma con los valores de I_a superiores a 1.0 (Tabla 5). Los valores de I_d en los análisis de casos nuevos y acumulados por año (tablas 4 y 5) son estables para ambos lotes, aunque los conteos totales son muy variables. Según Madden *et al.* (2007), la estabilidad de los I_d durante observaciones con diferentes conteos sugiere que los datos se ajustan a la distribución Poisson.

Sadie ubica el centro geográfico del lote con base en las coordenadas de las unidades de muestreo y el centroide de la incidencia con base en los conteos de esas unidades. La distancia entre estos dos centros se denomina *delta*. En este ejercicio, *delta* refleja la posición de las unidades de muestreo con alta incidencia de ML relativa al centro del respectivo lote; entre mayor sea *delta*, más periférica es la posición del centroide de la incidencia. Cuando se comparan los valores *delta* para los cinco años de información del lote 9A y cuatro del lote G18B, se observa que disminuyen de 54.31 a 30.04 m para el lote 9A y de 50.41 a 23.0 m para el lote G18B. La localización excéntrica inicial del centroide de la incidencia en el lote 9A refleja la influencia del lote 9B que todavía estaba en pie participando como fuente externa de infección. La localización inicial del centroide de incidencia en

el lote G18B sugiere que la influencia externa más importante está al lado izquierdo del lote.

Sadie también calcula los índices *cluster* de parches o de vacíos para cada unidad de muestreo. Los índices *cluster* de vacío se expresan como valores negativos y los de parches como valores positivos. Para cada año en cada lote, las unidades de muestreo se clasificaron en cuatro grupos según su índice *cluster*, a saber: negativos con valor absoluto superior a 2.0, negativos con valor absoluto inferior a 2.0, positivos con valor inferior a 2.0 y positivos con valor superior a 2.0; sus coordenadas se llevaron a la base de datos de cada lote, y se generó el mapa respectivo. Luego se conectaron los puntos de la misma categoría que estaban en la misma vecindad para obtener líneas isopatas de parches y vacíos. La Figura 8 muestra las líneas isopatas para los lotes 9A y G18B, y su desplazamiento durante los años de análisis.

Conclusiones

Esta investigación demuestra la aplicabilidad de tres procedimientos sencillos e intuitivos para examinar la epidemiología de la ML a partir de los registros de incidencia de que se dispone. ADEF y Sadie ayudan a entender la expansión de la ML y se deben usar en futuros estudios; la subrutina de Sadie para evaluar la asociación entre dos poblaciones puede ser útil para estudiar la conexión entre la ML y gramíneas e invertebrados sospechosos de albergar y diseminar el agente causal.

Tabla 4. Índices de dispersión (s^2 /media) [I_d] y de agregación [I_a] de los casos de marchitez letal (#) en el lote G18B de Palmas de Casanare con siete observaciones en el tiempo

	Inicio en 2004	Nuevos en 2005	Total a 2005	Nuevos en 2006	Total a 2006	Nuevos en 2007	Total a 2007
I_d	2.22	2.06	2.91	.88	1.87	.73	1.59
I_a	1.909	1.783	2.186	1.441	2.326	.972	2.366
#	48	47	95	144	239	42	281

Tabla 5. Índices de dispersión (s^2 /media) [I_d] y de agregación [I_a] de los casos de marchitez letal (#) en el lote 9A de Palmeras Santana con 10 observaciones en el tiempo

	Inicio en 2002	Termina 2002	Nuevos 2003	Total a 2003	Nuevos 2004	Total a 2004	Nuevos 2005	Total a 2005	Nuevos 2006	Total a 2006
I_d	2.175	2.285	1.644	2.647	1.065	2.622	1.579	2.486	1.052	2.360
I_a	1.721	1.793	2.040	2.311	2.365	2.665	1.696	2.127	1.865	2.041
#	92	94	102	196	153	349	62	411	12	423

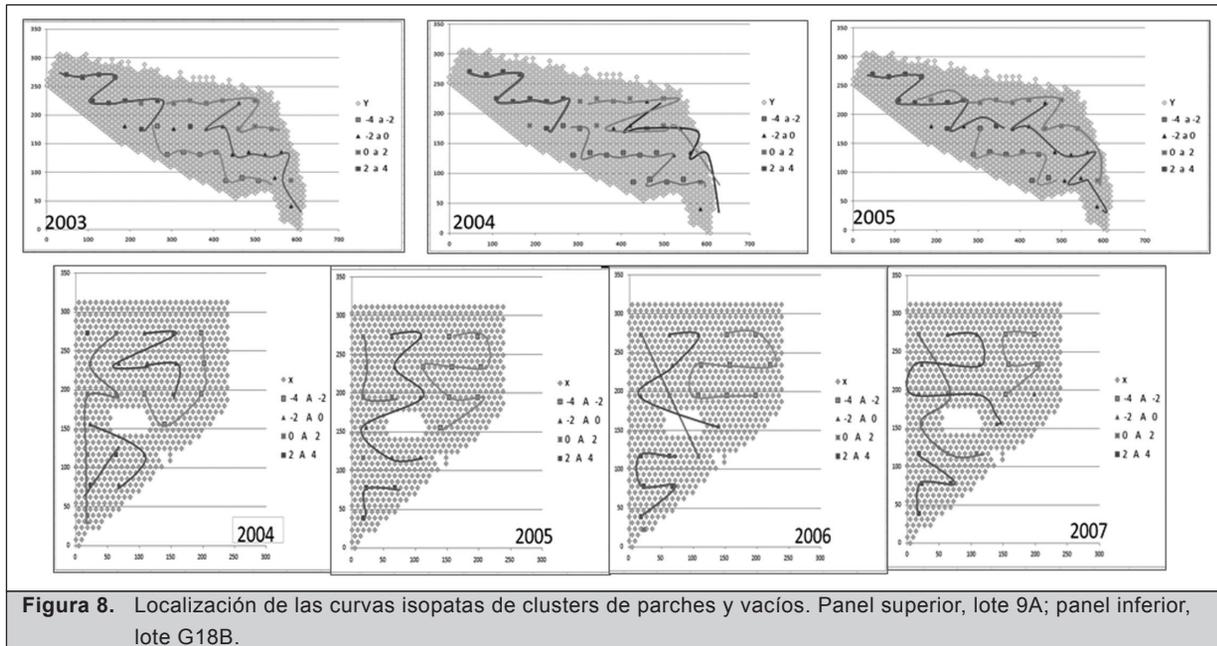


Figura 8. Localización de las curvas isopatas de clusters de parches y vacíos. Panel superior, lote 9A; panel inferior, lote G18B.

El AS ofrece posibilidades interesantes para evaluar la eficacia de prácticas agronómicas y el efecto de variables ambientales. Los resultados señalan una importante fuente de infección externa a los lotes, y confirman las conclusiones de Torres y Tovar (2004), y Tovar y Torres (2004), en el sentido de que la ML es inicialmente aislada y luego forma parches que se agrupan en *clusters*.

Perspectivas

Los cultivos tropicales de plantación ubicados en la frontera agrícola, como el caucho, el banano, el marañón y la palma de aceite, interactúan directamente con paisajes naturales, cuya dinámica poblacional es poco menos que desconocida. Plantegenest *et al.* (2007) consideran oportuno entender los diversos impactos del paisaje en la epidemiología de las enfermedades de las plantas: de su heterogeneidad espacial y temporal sobre la dinámica reproductiva de los patógenos; de su composición en parches, sujeta a la dinámica metapoblacional, sobre la presión de inóculo; de su estructura sobre la diseminación del

patógeno y de sus vectores; y de otras propiedades del paisaje sobre la aparición y evolución de los patógenos. Vanderplank (1963) había identificado precisamente los procesos de reproducción y dispersión como los factores determinantes del desarrollo de las epidemias.

Recientemente ha tomado auge la ecología de las enfermedades, que se interesa por estudiar los mecanismos de aparición, diseminación, persistencia y evolución de las enfermedades infecciosas aplicando técnicas moleculares como marcadores genéticos. Archie *et al.* (2009) identificaron tres aspectos epidemiológicos que se pueden beneficiar de las herramientas bioinformáticas, a saber: deducir los mecanismos de transmisión, reconstruir la historia epidemiológica e identificar factores que favorecen la diseminación. Coincidentalmente, estos tres aspectos son cruciales para comprender la epidemiología de la ML e implementar medidas racionales y sostenibles para su manejo. Con estos antecedentes, el futuro de la epidemiología de las enfermedades de la palma de aceite aparece excitante y promisorio.

Bibliografía

Archie, EA; Luikart, G; Ezenwa, VO. 2009. Infecting epidemiology with genetics: a new frontier in disease ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 24: 21-30.

Bassanezi, RB; Laranjeira, FF. 2007. Spatial patterns of leprosis and its mite vector in commercial citrus groves in Brazil. *Plant Pathology* 56: 97-106.





- Benson, DM; Grand, LF; Vernia, CS; Gottwald, TR. 2006. Temporal and spatial epidemiology of Phytophthora root rot in Fraser fir plantations. *Plant Disease* 90:1171-1180.
- Dungan, RJ; Duncan, RP; Whitehead, D. 2003. Investigating leaf lifespans with interval-censored failure time analysis. *New Phytologist* 158: 593-600.
- Gottwald, TR; Taylor, EL. 2004. Using survival analysis to predict the risk of infection in a citrus tristeza virus epidemic. 16a. Conferencia IOCV. 101-111.
- Jesus Junior, WC de; Bassanezi, RB. 2004. Análise da dinâmica e estrutura de focos da morte súbita dos citros. *Fitopatologia Brasileira* 29: 399-405
- Kermack, WO; McKendrick, AG. 1927. A Contribution to the Mathematical Theory of Epidemics. *Proceedings Royal Society London Serie A* (Londres, Gran Bretaña), 115: 700-721.
- Laranjeira, FF. 2002. Epidemiologia da clorose variegada dos citros no Estado de São Paulo. Disertación doctoral, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil, 169 pp.
- Laranjeira, FF, Bergamin Filho, A; Amorim, L; Gottwald, TR. 2004. Dinâmica espacial da clorose variegada dos citros em três regiões do Estado de São Paulo. *Fitopatologia Brasileira* 29: 056-065.
- Madden, LV; Hughes, G; Van Den Bosch, F. 2007. *The Study of Plant Disease Epidemics*. APS Press, St Paul, MN, Estados Unidos.
- Nelson, SC. 1996. A simple analysis of disease foci. *Phytopathology* 86: 332-339.
- Perry, JN, Bell, ED; Smith, RH; Woiwod, IP. 1996. SADIE: software to measure and model spatial pattern. *Aspects of Applied Biology* 46: 95-112.
- Pethybridge, SJ; Turechek, WW. 2003. Analysis of the association among three viruses infecting hop in Australia. *Plant Pathology* 52: 158-167.
- Plantegenest, M; Lemay, C; Fabre, F. 2007. Landscape epidemiology of plant diseases. *Journal of the Royal Society of London Interface* 4: 963-972.
- Quero, JL. 2006. SADIE como herramienta de cuantificación de la heterogeneidad espacial: casos prácticos en el Parque Nacional de Sierra Nevada (Granada, España). *Ecosistemas* 2006/3.
- Scherm, H; Ojiambo, PS. 2004. Applications of survival analysis in botanical epidemiology. *Phytopathology* 94:1022-1026.
- Segarra, J; Jeger, MJ; Van Den Bosch, F. 2001. Epidemic dynamics and patterns of plant diseases. *Phytopathology* 91:1001-1010.
- Tovar, JP; Torres, E. 2004. Estudio epidemiológico de la enfermedad marchitez letal de la palma de aceite (*Elaeis guineensis* Jacq). *Ceniavances* (Colombia) 112.
- Torres, E; Tovar, JP. 2004. Estudio epidemiológico de la enfermedad marchitez letal de la palma de aceite en plantaciones de Villanueva (Casanare). *Palmas* (Colombia) 25 (Número especial): 210-219.
- Turechek, WW; Madden, LV. 2000. Analysis of the association between the incidence of two spatially aggregated foliar diseases of strawberry. *Phytopathology* 90: 157-170.
- Vanderplank, JE. 1963. *Plant Disease: Epidemics and Control*. Academic Press, New York.
- Zadoks, JC; Van Den Bosch, F. 1994. On the spread of plant disease: A theory on foci. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 503-521.