

ZYGMUNT KACZMAREK ¹
LAURENCJA SZALA ²
ELŻBIETA ADAMSKA ¹
TERESA CEGIELSKA-TARAS ²

¹ Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań

² Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Oddział w Poznaniu

Statystyczna i genetyczna ocena linii DH rzepaku ozimego na podstawie wyników doświadczenia jednopowtórzeniowego z wzorcami

Statistical and genetic evaluation of winter oilseed rape DH lines based on the results of an unreplicated experiment with standards

W pracy przedstawiono propozycję metodyki analizowania zmienności fenotypowej i genetycznej cech linii podwojonych haploidów rzepaku ozimego obserwowanych w doświadczeniu jednopowtórzeniowym z wzorcem. Metody zastosowania analiz statystycznych omówiono na przykładzie danych z doświadczenia jednopowtórzeniowego. W doświadczeniu tym dwie formy wzorcowe, będące jednocześnie genotypami rodzicielskimi, odmiana Californium i linia DH W-15, porównywano z 116 liniami DH uzyskanymi z mieszańców F₁ Californium × DH W-15 oraz z 94 liniami DH otrzymanymi z mieszańców F₁ DH W-15 × Californium. Dla dwu wybranych cech sporządzono charakterystyki statystyczne populacji linii DH i populacji rodzicielskich, znaleziono oceny efektów transgresji linii oraz zweryfikowano istotność tych efektów, a także wyznaczono oceny parametrów genetycznych.

Słowa kluczowe: doświadczenie jednopowtórzeniowe z wzorcem, efekt transgresji, linie DH, rzepak ozimy

In the paper, a method for phenotypic and genetic analyses of winter oilseed rape DH lines, evaluated in an unreplicated experiment with a standard, is proposed. The methods of statistical analyses are described based on the example of data from the unreplicated experiment including two standards: cultivar Californium and W-15 DH line. In the experiment, 116 DH lines from F₁ hybrids of Californium × W-15 and 94 DH lines from F₁ hybrids of W-15 × Californium were compared with the standards. Statistical characteristics of DH line populations and of parental populations have been performed. Moreover, the estimates of transgression effects for the DH lines and the estimates of genetic parameters for two chosen traits were determined.

Key words: unreplicated experiment with standard, transgression effect, DH lines, winter oilseed rape

WSTĘP

Właściwa ocena wielu nowych rodów hodowlanych lub linii podwojonych haploidów (linii DH) wymaga przeprowadzenia odpowiednich doświadczeń porównawczych. Ponieważ liczba nowych genotypów wymagających zbadania jest zwykle duża a jednocześnie liczba nasion dla tych genotypów jest z reguły niewielka, zakładanie tradycyjnych doświadczeń w kilku powtórzeniach jest praktycznie niemożliwe. Często więc jedyną możliwością porównania nowych genotypów jest przeprowadzenie doświadczenia jednopowtórzeniowego uzupełnianego o dodatkowe poletka (tzw. poletka wzorcowe), na których wysiewany jest jeden bądź więcej wzorców.

W literaturze można spotkać wiele propozycji zakładania i analizy doświadczeń z wzorcami, żeby wymienić najwcześniejsze prace autorów polskich: Załęskiego (1927), Barbackiego (1935), Przyborowskiego i Wileńskiego (1937) oraz Brykczyńskiej (1947). Do najstarszych i najczęściej stosowanych należy tzw. metoda wzorcowa wykorzystująca wzorce do poprawienia obserwacji ze względu na trend żyzności glebowej. Polega ona na odtworzeniu za pomocą interpolacji liniowej hipotetycznych wartości danej cechy dla obiektów jednopowtórzeniowych znajdujących się między systematycznie wysiewanymi wzorcami. Porównanie obiektów odbywa się na podstawie oceny różnic między tymi obiektami a sąsiadującymi wzorcami. Na poprawionych wartościach przeprowadzana jest analiza wariancji mająca na celu zweryfikowanie hipotezy o braku różnic między porównywanymi obiektami pod względem badanej cechy. Jednakże z punktu widzenia metodologii doświadczeń metoda ta wymaga przyjęcia nie zawsze realnego założenia mówiącego, że zmienność glebowa między dwoma wzorcami ma charakter liniowy. Tym samym prawdziwość założenia, że obserwacje są wartościami zmiennej losowej, może budzić pewne zastrzeżenia.

Inne podejście analizowania doświadczeń z wzorcem, metodycznie bardziej poprawne, stosowane jest dzięki wykorzystaniu ogólnej teorii układów o blokach niekompletnych. Teoria ta została zaadaptowana do analizy doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcami między innymi przez Peska (1974), Calińskiego i Cerankę (1976), Cerankę i Chudzik (1977), Kiełczewską (1983), Kaczmarka i wsp. (1984; 1985) oraz Dobek i wsp. (1987).

Wiarygodność ocen obiektów porównywanych w doświadczeniach jednopowtórzeniowych z wzorcem może być znacznie zwiększona poprzez możliwość analizy statystycznej serii takich doświadczeń, przeprowadzonych w różnych środowiskach (Adamski i in., 1992).

Spośród innych metod analizy doświadczeń jednopowtórzeniowych warto odnotowania są także metody oparte na analizie najbliższego sąsiedztwa proponowane przez Cullisa i wsp. (1989) oraz na analizie autoregresji zaproponowane przez Dobek i Kalę (1995). Wydaje się też, że w analizie doświadczeń jednopowtórzeniowych przydatne mogą się okazać metody statystyki przestrzennej, w szczególności metody geostatystyczne wykorzystywane przy szacowaniu tej zmienności (Gołaszewski, 1997, 2000).

Przegląd różnych metod analizy danych z doświadczeń niereplikowanych można znaleźć w pracy Kemptona (1984), a także w niepublikowanej jeszcze pracy autorów Bakinowska i wsp. (2009).

W niniejszej pracy omówimy wyniki analizy statystycznej doświadczenia jednopowtórzeniowego, którego obiektami są linie podwojonych haploidów rzepaku ozimego oraz ich formy rodzicielskie traktowane jako wzorce. Pokażemy możliwość uzyskania informacji hodowlanych i genetycznych w wyniku przeprowadzenia analizy tego doświadczenia opartej na teorii układów o blokach niekompletnych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny

Materiał do badań obejmował 210 linii podwojonych haploidów (linii DH) rzepaku ozimego otrzymanych z mieszańców F_1 uzyskanych ze skrzyżowania odmiany Californium z linią DH W-15 (linie te w liczbie 116 oznaczać będziemy symbolem CW) oraz z mieszańców F_1 otrzymanych z krzyżówki odwrotnej DH W-15 \times Californium (linie te w liczbie 94 oznaczać będziemy symbolem WC). Linie podwojonych haploidów otrzymano w Pracowni Kultur Tkankowych Zakładu Roślin Oleistych IHAR w Poznaniu metodą izolowanych mikrospor (Cegielska i Szała, 1997).

Linie DH oraz formy rodzicielskie Californium (CAL) i DH W-15 (W-15) badano w doświadczeniu jednopowtórzeniowym z wzorcami przeprowadzonym na polu doświadczalnym Instytutu Genetyki Roślin PAN w Cerekwicy k. Poznania. Doświadczenie to obejmowało 5 pasów o pojemności 58 poletek każdy. Wzorce rozmieszczone zostały w sposób regularny na 16 poletkach, natomiast na pozostałych 42 poletkach rozlosowano linie DH w taki sposób, że między poletkami wzorcowymi znajdowały się zawsze 3 poletka z liniami DH. Z przeprowadzonych obserwacji cech struktury plonu do ilustracji prezentowanych w pracy metod statystyki matematycznej i genetyki ilościowej, wzięto masę 1000 nasion (MTN) i zawartość tłuszczu w nasionach uzyskane z 3 próbek nieizolowanych nasion.

Metody statystyczne

Analiza wariancji linii DH

Wykonana zgodnie z teorią układu o blokach niekompletnych (pasy zostały traktowane jako bloki niekompletne), analiza wariancji umożliwiła zweryfikowanie hipotezy o braku różnic między poszczególnymi liniami DH a średnimi obu wzorców w bloku. Ocena kontrastu linia DH — „lepszy” z wzorców była równocześnie oceną efektu transgresji tej linii. Wartości statystyki F dla powyższych porównań były podstawą utworzenia rankingu badanych linii ze względu na daną cechę.

Analiza populacji linii DH i populacji linii rodzicielskich

Analiza wariancji umożliwiła także wyznaczenie charakterystyk statystycznych dla każdej z obu populacji linii DH i populacji rodzicielskich oraz zbadanie istotności różnic między tymi populacjami. W szczególności porównanie populacji linii CW tj. linii utworzonych z mieszańców F_1 Californium \times W-15 z populacją linii WC, czyli linii

uzyskanych z mieszańców F₁ krzyżówki odwrotnej było równoznaczne z uzyskaniem odpowiedzi dotyczącej wpływu efektów macecznych na linii DH.

Analiza genetyczna

Od strony genetycznej opisany wyżej zestaw linii DH i form rodzicielskich umożliwił wyznaczenie ocen efektów addytywnego działania genów oraz efektów współdziałania *loci* homozygotycznych, a także pozwolił oszacować liczbę czynników efektywnych (liczbę genów) na podstawie populacji linii CW i linii WC.

Analiza interakcji genotyp × środowisko

Doświadczenie jednopowtórzeniowe z wzorcami założone w jednej miejscowości nie pozwoliło oczywiście zbadać interakcji linii DH ze środowiskiem. Mając na uwadze fakt, że w wyniku selekcji linii na podstawie tego doświadczenia (a dokładnie na podstawie jednej obserwacji) zostaje bezpowrotnie utraconych ponad 80% badanych linii DH, należałoby się zastanowić czy nie byłoby wskazane równoległe założenie co najmniej jeszcze jednego doświadczenia z tymi samymi obiektami ograniczając być może w obu doświadczeniach obserwacje mniej ważnych cech. W wyniku przeprowadzenia co najmniej trzech doświadczeń jednopowtórzeniowych z tymi samymi obiektami procent „nietrafnie” odrzuconych linii byłby znacznie mniejszy.

WYNIKI

W pierwszym etapie obliczeń przeprowadzone zostały dla badanych cech analizy wariancji z doświadczenia obejmującego wszystkie 210 niereplikowanych linii DH oraz 2 wzorce obserwowane na 40 poletkach każdy. Analizy te umożliwiły dokonanie, pośrednio, porównań poszczególnych linii DH między sobą poprzez ocenę różnic między nimi a jednym i drugim wzorcem niezależnie. Istotność tych różnic była weryfikowana za pomocą statystyki F porównywanej z wartością krytyczną F_{α} odczytaną z tablic rozkładu F na poziomie istotności α dla 1 i v_e stopni swobody dla błędu w analizie wariancji.

Podstawowe rezultaty analizy statystycznej doświadczenia jednopowtórzeniowego z liniami DH rzepaku ozimego zostały zawarte w tabelach 1 i 2.

W tabelach 1 a i 1 b zamieszczone zostały kolejno: oznaczenia wybranych (najlepszych) linii DH, ich obserwacje dla danej cechy, oceny efektów transgresji tych linii oraz wyniki testowania ich istotności na poziomie $\alpha = 0,05$ (zaznaczone jedną gwiazdką) i na poziomie $\alpha = 0,01$ (zaznaczone dwiema gwiazdkami przy wartościach statystyki F). Kolejna kolumna zawiera procenty średnich cech linii DH w odniesieniu do średniej ogólnej wzorca „lepszego”, czyli procenty średnich linii DH względem tej formy rodzicielskiej, która odznaczała się wyższą średnią ogólną danej cechy. Wreszcie w ostatniej kolumnie omawianych tabel podane są pozycje wybranych linii w rankingu wszystkich badanych linii DH. Należy zaznaczyć, że ocena efektu transgresji jest równoznaczna z oceną kontrastu linii DH z danego bloku (pasa) ze średnią „lepszego” wzorca wyliczoną z obserwacji przeprowadzonych na 8 poletkach tego samego bloku.

Analizując tabele 1 a i 1 b łatwo zauważyć większą liczbę linii DH przewyższających „lepszego” wzorzec oraz wyższe wartości statystyki F dla masy tysiąca nasion aniżeli w przypadku zawartości tłuszczu w nasionach. Również procent wzorca ogólnego u istotnie

najlepszych linii DH wahał się od 134,3% do 109,3% dla masy tysiąca nasion, podczas gdy dla zawartości tłuszczu od 108,7% do 104,2% W rankingach dotyczących wymienionych wyżej cech żadna z linii nie wystąpiła dwukrotnie.

Tabela 1

Oceny i wyniki testowania efektów transgresji linii DH i ich ranking dla masy tysiąca nasion i zawartości tłuszczu w nasionach
Estimates and results of testing the transgression effects of DH lines and their rank for 1000 seeds weight and oil content in seeds

a/ Masa tysiąca nasion (MTN) 1000 seeds weight (TSW)					
Linia DH DH line	Średnia Mean (g)	Efekt transgresji Effect of transgression		% wzorca % of standard	Ranking Rank
		Ocena Estimate	Test F F-test		
WC 19	5,75	1,60	70,66**	134,3	1
CW 55	5,15	0,91	22,67**	120,3	2
CW 32	4,97	0,77	16,47**	116,1	3
WC 29	4,96	0,76	16,05**	115,9	4
WC 3	4,91	0,76	15,94**	114,7	5
CW 102	5,04	0,71	14,06**	117,8	6
CW 31	4,89	0,69	13,24**	114,3	7
WC 34	4,86	0,66	12,12**	113,6	8
CW 116	4,90	0,57	9,09**	114,5	9
CW 34	4,77	0,57	9,05**	111,4	10
WC 46	4,68	0,42	4,78*	109,3	11
CW 111	4,74	0,41	4,73*	110,7	12
WC 63	4,65	0,41	4,56*	108,6	13
CAL	4,28				
W15(standard)	4,26				
b/ Zawartość tłuszczu w nasionach Oil content in seeds					
CW 109	51,2	4,5	14,23**	108,7	1
WC 68	49,8	3,3	7,81**	105,7	2
WC 66	49,5	3,0	6,47**	105,1	3
CW 89	49,4	2,7	5,11*	104,9	4
WC 3	50,3	2,7	5,01*	106,8	5
CW 105	49,1	2,4	4,03*	104,2	6
CW 69	48,8	2,3	3,82	103,6	7
CW 50	50,0	2,3	3,78	106,2	8
CW 47	49,4	1,7	2,07	104,9	9
CAL	46,6				
W15(standard)	47,1				

* Istotność na poziomie $\alpha = 0,05$; * Significant at $\alpha = 0.05$

** Istotność na poziomie $\alpha = 0,01$; ** Significant at $\alpha = 0.01$

Jak już zaznaczyliśmy w paragrafie Materiał doświadczalny, występujące w doświadczeniach linie DH oraz formy rodzicielskie można zaklasyfikować do jednej z czterech populacji: populacji linii DH uzyskanych mieszańców F_1 krzyżówek Californium \times W-15 oznaczanych symbolem CW, populacji linii DH otrzymanych z mieszańców krzyżówki W-15 \times Californium oznaczanych symbolem WC oraz dwu populacji rodzicielskich CAL i W-15.

W tabelach 2 a i 2 b przedstawiono charakterystyki statystyczne dotyczące wszystkich czterech populacji. Oprócz średnich wartości omawianych wyżej cech, minimalnych i maksymalnych wartości tych cech dla każdej populacji wyznaczono odchylenia standardowe oraz współczynniki zmienności. Przeprowadzony niezależnie dla każdej cechy podział populacji na grupy jednorodnie istotnie różniące się między sobą pozwolił wyróżnić dwie grupy (CAL, W-15) ze średnią 46,8 oraz (CW, WC) ze średnią 46,1 jedynie dla zawartości tłuszczu w nasionach.

Tabela 2

Charakterystyki statystyczne populacji linii DH oraz populacji rodzicielskich rzepaku ozimego dla masy tysiąca nasion oraz zawartości tłuszczu w nasionach
Statistical characteristics of DH line populations and parental populations of winter oilseed rape for 1000 seeds weight and oil content in seeds

a/ Masa tysiąca nasion (MTN) 1000 seeds weight (TSW)						
Populacje Population	Liczebność Number	Średnia Mean (g)	Odchylenie standardowe Standard deviation	Współczynnik zmienności w % Coefficient of variation in %	Min Min	Max Max
Linie DH DH lines						
CW	116	4,26	0,33	7,72	3,30	5,15
WC	94	4,21	0,38	9,15	3,39	5,75
Rodzice Parents						
CAL	40	4,28	0,20	4,74	3,92	4,71
W-15	40	4,26	0,15	3,63	3,98	4,58
b/ Zawartość tłuszczu w nasionach Oil content in seeds						
Linie DH DH Lines						
CW	116	46,1	1,73	3,76	40,6	51,2
WC	94	46,2	1,93	4,19	41,3	50,3
Rodzice Parents						
CAL	40	46,6	1,10	2,36	44,5	48,5
W-15	40	47,1	1,18	2,51	44,6	49,4

Porównanie populacji linii DH i form rodzicielskich między sobą zawiera tabela 3.

Dane opisane w rozdziale Materiał i Metody doświadczenia jednopowtórzeniowego z wzorcami, dotyczące populacji linii DH będących pełnymi homozygotami oraz populacji form rodzicielskich, zostały także wykorzystane do oceny niektórych parametrów genetycznych dla badanych cech (tab. 4). Średnia dla linii ekstremalnych oraz średnia wartość wszystkich linii DH populacji CW i niezależnie populacji WC stanowiły podstawę oceny efektów addytywnego działania genów [d_L] oraz efektów współdziałania *loci* homozygotycznych [i] (Surma i in., 1984). Ocenę efektów addytywnego działania genów znaleziono także na podstawie średnich wartości populacji średnich rodzicielskich (parametr [d_P], Mather i Jinks (1982). Porównanie ocen efektów addytywnego działania

genów obiema metodami pozwala wnioskować o stopniu asocjacji alleli w populacji linii DH w stosunku do form rodzicielskich.

Tabela 3

Oceny i wyniki testowania kontrastów między średnimi populacji linii DH (CW i WC) oraz populacji rodzicielskich (CAL i W-15)
Estimates and results of testing the contrast between means for populations of DH lines (CW and WC) and parental populations (CAL and W-15)

Kontrast Contrast	Ocena dla: Estimate for:	
	masy tysiąca nasion — 1000 seeds weight	zawartości tłuszczu w nasionach — oil content in seeds
CW — WC	0,043	-0,09
CW — CAL	-0,020	-0,50
CW — W-15	-0,004	-0,99**
WC — CAL	-0,064	-0,41
WC — W-15	0,047	-0,90**
CAL — W-15	0,017	-0,49

* Istotność na poziomie $\alpha = 0,05$; * Significant at $\alpha = 0.05$

** Istotność na poziomie $\alpha = 0,01$; **Significant at $\alpha = 0.01$

Tabela 4

Oceny parametrów genetycznych wyznaczone na podstawie populacji rodzicielskich oraz populacji linii DH rzepaku ozimego
Estimates of genetic parameters obtained on the basis of parental populations and DH line populations of winter oilseed rape

Cecha Trait	Mieszańce F ₁ F ₁ hybrids	Ocena efektu addytywnego [d _L] Estimate of additive effect [d _L]	Ocena efektów współdziałania homozygotycznych loci [i] Estimate of non- allelic interaction effect homozygous loci [i]	Ocena parametru [d _p] Estimate of parameter [d _p]	Ocena liczby genów (czynników efektywnych) Number of genes (effective factors)
Masa tysiąca nasion 1000 seeds weight	CAL × W-15 W-15 ×x CAL	0,92 1,18	-0,04 0,36	0,39 0,30	9 9
Zawartość tłuszczu w nasionach Oil content in seeds	CAL × W-15 W-15 × CAL	5,30 4,50	-0,20 -0,39	2,00 2,40	6 5

Ponadto dla obu populacji linii podwojonych haploidów i dla wszystkich badanych cech wyznaczono liczby czynników efektywnych (liczby genów) zgodnie ze wzorem zaproponowanym przez Kaczmarka i wsp. (1998). Wyliczone wartości zamieszczono w tabeli 4. Uwagę zwracają niemal identyczne oceny liczby genów dla populacji linii DH pochodzących z krzyżowania form rodzicielskich w jednym i drugim kierunku.

PODSUMOWANIE

Opracowano metodykę analizy statystycznej doświadczenia jednopowtórzeniowego z wzorcami prowadzonego we wczesnym etapie hodowli. W doświadczeniu tym, obok populacji linii DH, występowały populacje obu form rodzicielskich traktowane jako

wzorcowe. Metody analizy oparte na teorii układów o blokach niekompletnych umożliwiły uzyskanie szeregu informacji, które mogą być wykorzystane w dalszych etapach hodowli twórczej. W szczególności interesujące mogą się okazać takie informacje jak:

- oceny kontrastów linii DH — „lepszy” wzorzec będące równocześnie ocenami efektów transgresji badanych linii,
- wyniki testowania istotności porównań linii DH z wzorcami,
- procentowe odniesienie wartości cechy badanych linii do „lepszego” wzorca,
- rankingi linii DH dla badanych cech,
- charakterystyki statystyczne populacji linii DH i populacji form rodzicielskich,
- oceny i wyniki testowania kontrastów między tymi populacjami,
- podział wymienionych populacji na grupy jednorodne,
- określenie wpływu efektów matecznych na linii DH poprzez zbadanie istotności różnic między średnimi populacji linii DH uzyskanych z mieszańców F_1 z krzyżowania w jednym i w drugim kierunku,
- oceny niektórych parametrów genetycznych, tj. efektów addytywnego działania genów, efektów współdziałania *loci* w stanie homozygotycznym oraz liczby czynników efektywnych (liczby genów).

LITERATURA

- Adamski T., Kaczmarek Z., Madajewski R., Surma M. 1992. Struktura interakcji linii autodiploidalnych i rodów jęczmienia ze środowiskiem na podstawie serii doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcem. W zbiorze: Dwudzieste drugie Colloquium Metodologiczne z Agrobiometrii, PAN: 250 — 261.
- Bakinowska E., Bocianowski J., Budka A., Pilarczyk W., Zawieja B., Ambroży K. 2009. Estymacja wariancji błędu w hodowlanych doświadczeniach jednopowtórzeniowych z replikowanymi obiektami wzorcowymi. Nauka dla Hodowli Roślin, Zakopane 2009: 139.
- Barbacki S. 1935. Ogólna metodyka doświadczeń polowych w zarysie. Puławy.
- Brykczyńska W. 1947. Wskazówki do przeprowadzenia doświadczeń polowych. Warszawa.
- Caliński T., Ceranka B. 1976. Układy zrównoważone o blokach niekompletnych rozszerzone obiektami wzorcowymi. W zbiorze: Szóste Colloquium Metodologiczne z Agrobiometrii. PAN, Warszawa: 189 — 205.
- Cegielska T., Szała Ł. 1997. Regeneracja roślin z mikrospоровych zarodków rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) Rośliny Oleiste XVIII: 21 — 30.
- Ceranka B., Chudzik H., 1977. Doświadczenia jednopowtórzeniowe z wzorcem. W zbiorze: Siódme Colloquium Metodologiczne z Agrobiometrii. PAN, Warszawa: 318 — 331.
- Cullis B. R., Warwick J. L., Fisher J. A., Read B.J., Gleeson A. C. 1989. A new procedure for the analysis of early generation variety trials. Appl. Statist. 38: 361 — 375.
- Dobek A., Kaczmarek Z., Kielczewska H., Łuczkiwicz T. 1987. Analiza krzyżówek typu linia \times tester porównywanych w doświadczeniach jednopowtórzeniowych. Algorytmy biometryczne i statystyczne. ABS-122: 29 — 46.
- Dobek A., Kala R. 1995. On the analysis of experiments with unreplicated varieties. Biuletyn Oceny Odmian, z. 26-27: 73 — 82.
- Gołaszewski J. 1997. Zastosowanie metod geostatystyki w doświadczalnictwie polowym. Listy Biometryczne — Biometrical Letters. Vol. 34 Nr 2: 63 — 85.
- Gołaszewski J. 2000. Analiza zmienności przestrzennej w doświadczeniach polowych. Fragmenta Agronomica Nr 4 (68). Puławy.

- Kaczmarek Z., Kielczewska H., Łuczkiwicz T. 1984. Analiza potomstwa otrzymanego z krzyżówek typu linia \times tester porównywanego w doświadczeniu jedno-powtórzeniowym z wzorcami. *Listy Biometryczne* vol. 21 (2): 35 — 55.
- Kaczmarek Z., Kielczewska H., Łuczkiwicz T. 1985. Analiza statystyczno-genetyczna doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcem na przykładzie doświadczenia z rodami pszenicy jarej. W zbiorze: Piętnaste Colloquium Metodologiczne z Agrobiometrii, PAN, Warszawa: 183 — 194.
- Kaczmarek Z., Surma M., Adamski T., 1988. Epistatic effects in estimation of the number of genes on the basis of doubled haploid lines. *Genet. Pol.* 29: 353 — 359.
- Kempton R., 1984. The design and analysis of unreplicated field experiments. *Vtr. Pflanzenchtg.* 7: 219 — 242.
- Mather K., Jinks J. L. 1982. *Biometrical Genetics* (3ed.) Chapman and Hall, London.
- Pesek J. 1974. The efficiency of controls in balanced incomplete block design. *Biometrical Zeitschrift* 15, 21 — 26.
- Przyborowski J., Wileński H. 1937. *Metoda przeprowadzania doświadczeń z zastosowaniem poletek wzorcowych*. Kraków.
- Surma M., Adamski T., Kaczmarek Z. 1984. The use of doubled haploid lines for estimation of genetic parameters. *Genet. Pol.* 25: 27 — 32.
- Załęski E. 1927. *Metodyka doświadczeń rolniczych*. Lwów.