

KATARZYNA AMBROŹY
EWA BAKINOWSKA
JAN BOCIANOWSKI
ANNA BUDKA
WIESŁAW PILARCZYK
BOGNA ZAWIEJA

Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Statystyczne wspomaganie decyzji selekcyjnych na wczesnych etapach hodowli zbóż*

Część I. Metody oceny efektów obiektowych

Statistical support of selection decisions at early stage of cereal breeding Part I. Methods of estimation of treatment effects

Hodowlane doświadczenia polowe w początkowej ich fazie prowadzone są z wykorzystaniem bardzo dużej liczby linii, często większej od 1000. Wśród tych linii są zarówno genotypy charakteryzujące się znacznymi wartościami obserwowanej cechy, genotypy przeciętne, jak i te o wartościach cechy mniejszych od wartości przeciętnej. Ze względu na dużą liczbę badanych linii oraz z powodu małej ilości dostępnego materiału nasiennego, doświadczenia te są z reguły zakładane w jednym powtórzeniu z użyciem kilku obiektów wzorcowych powtarzanych wielokrotnie. Do następnego etapu badań przyjmuje się zazwyczaj około 20% do 30% badanych genotypów. Zatem po pierwszym roku badań, dysponując tylko jednym pomiarem, dokonuje się bardzo ostrej selekcji genotypów. Postępowanie na tym etapie powinno zatem być niezwykle ostrożne. W pracy przedstawiono osiem metod stosowanych do opracowania wyników doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcem. Podano również cztery kryteria pozwalające wybrać metodę obiektywnie lepszą. Jedno z tych kryteriów polega na porównaniu efektów badanych genotypów obliczonych przy pomocy rozważanych metod z efektami tych samych linii dostarczonymi przez klasyczną analizę wariancji doświadczenia wielopowtórzeniowego. Jest to możliwe, gdy na tym samym polu doświadczalnym, obok doświadczeń jednopowtórzeniowych, przeprowadzone są klasyczne doświadczenia wielopowtórzeniowe z wylosowanym (spośród wszystkich badanych) podzbiorem linii. Drugie kryterium polega na porównaniu równomierności rozkładu genotypów wybranych do dalszych badań na polu doświadczalnym. Metoda, która wybiera genotypy skupione w jednym rejonie pola doświadczalnego jest metodą złą, bo może nie wybierać najlepszych genotypów, tylko te genotypy, które rosły na najwydajniejszym rejonie pola. Natomiast metoda, która wybiera genotypy równomiernie, pod względem danej cechy, z całego obszaru doświadczenia jest metodą lepszą, gdyż

* Praca wykonana w ramach projektu finansowanego przez Agencję Nieruchomości Rolnych w Warszawie i koordynowanego przez Sp. z o.o. Hodowla Roślin Szelejewo pt. „Statystyczne wspomaganie decyzji selekcyjnych na wczesnych etapach hodowli zbóż”

każde poletko może być obsiane zarówno genotypem najlepszym, najgorszym, jak i każdym innym. Wynika to z przeprowadzonej randomizacji polegającej na losowym przypisaniu badanych linii do poletek doświadczalnych.

Słowa kluczowe: decyzje selekcyjne, indeks środowiskowy, jednopowtórzeniowe doświadczenie hodowlane, średnia ruchoma

At early stages of plant breeding the field trials are usually performed with use of very high number of lines. Often the number of such lines exceeds 1000. Among them, there are genotypes with high values of an observed trait, genotypes with medium values and genotypes characterized by low values of the trait. For various reasons such trials are usually laid down in one replicate with use of one or several standard varieties repeated many times and systematically placed in experimental field among tested lines. After one year of trials, a breeder has just single observations for the tested lines and is forced (by economy) to make very severe reduction of experimental material making selection of the best lines. In the paper, eight methods are presented that can be used for statistical elaboration of one-replicate trials with standards. Additionally, four criteria are given for selection of the best method of statistical elaboration of such data. One of these criteria relies on comparisons of genotype effects obtained by the classical analysis of variance for random subset of lines with effects of the same lines received when particular methods for elaboration of one replicate trials with standards were used. It is possible when, at the same experimental field, such additional replicated trials with (randomly chosen) subset of lines is performed. The other criterion relies on comparisons of uniformity of distributions of plots with the best (chosen for further research) lines in experimental field. As a consequence of randomization the best lines should be evenly distributed in a total area of trial.

Key words: environmental index, moving average, selection decisions, unreplicated breeding trials

WSTĘP

Badania doświadczalne, z nowymi obiektami (liniami wsobnymi, rodami, mieszańcami), prowadzone są na wszystkich etapach hodowli roślin, a wyniki przeprowadzonych doświadczeń stanowią istotne uzasadnienie podejmowanych decyzji selekcyjnych. Doświadczenia polowe (szklarniowe) w początkowej ich fazie prowadzone są dla bardzo dużej liczby genotypów (często liczba ta przekracza 1000). Wśród nich są zarówno linie charakteryzujące się znacznymi wartościami obserwowanej cechy, genotypy przeciętne, jak i te o wartościach cechy mniejszej od wartości przeciętnej. Ze względu na dużą liczbę badanych linii, a także z powodu ograniczonej ilości materiału nasiennego, doświadczenia te są z reguły zakładane w jednym powtórzeniu z użyciem od jednego do pięciu obiektów wzorcowych powtarzanych wielokrotnie i występujących co piąte (lub np. co siódme, lub co dziesiąte) poletko. Do następnego etapu badań przyjmuje się zazwyczaj około 20% do 30% badanych genotypów. Zatem po pierwszym roku badań, dysponując jednym pomiarem, dokonuje się bardzo ostrej selekcji odrzucając od 70% do 80% badanych genotypów. O tym, jak ryzykowne jest takie postępowanie świadczą wyniki zamieszczone w tabeli 1. Podane są w niej oczekiwane, maksymalne wartości rozważanej cechy w sytuacji, gdy porównywane genotypy nie różnią się od siebie wartością przeciętną (w tabeli 1 wyniki są tak przeliczone, jak gdyby przeciętna wartość cechy wynosiła zero, czyli od każdej wartości odjęto wartość średnią). Można zauważyć, że już przy badaniu 100 identycznych genotypów, jedynie na skutek losowych fluktuacji warunków środowiskowych, należy oczekiwać maksymalnej wartości cechy 2,51 zamiast zero. Zatem, podejmowanie decyzji selekcyjnych na podstawie wartości zaobserwowanych,

może skutkować wybieraniem do dalszych badań genotypów nie różniących się przeciętną, czyli genotypową, wartością cechy. Postępowanie na tym etapie powinno być bardzo rozważne, bo dysponując po jednym pomiarze dla genotypów dokonuje się bardzo ostrej selekcji. Na dalszych etapach badań, gdy hodowca dysponuje wynikami doświadczeń wielopowtórzeniowych, lub wynikami z wielu miejscowości, nie dokonuje się już tak ostrej selekcji.

Tabela 1

Oczekiwana maksymalna wartość cechy dla N identycznych obiektów Expected maximum value of an analysed trait for N identical objects	
Liczba genotypów N Number of genotypes	Maksymalna wartość cechy Maximum value of trait
2	0,56
4	1,03
10	1,53
30	2,04
100	2,51
500	3,04
3000	3,54
20000	4,02

W literaturze przedmiotu istnieje wiele metod poświęconych opracowaniu wyników doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcami. Wiele z nich opisanych jest m.in. w monografii pod redakcją Kemptona i Foxa (1997). Metody te polegają na różnych sposobach „poprawiania” wartości wyników otrzymanych dla badanych linii. Ponieważ selekcji genotypów do dalszych badań dokonuje się na podstawie poprawionych wyników, zatem wybór metody poprawiania, adekwatnej do występującej na polu doświadczalnym zmienności środowiskowej (glebowej), ma kluczowe znaczenie przy wnioskowaniu.

Celem niniejszej pracy jest przedstawienie ośmiu metod stosowanych do opracowania wyników doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcami oraz podanie czterech kryteriów pozwalających wybrać metodę obiektywnie lepszą w lokalnych warunkach doświadczalnych. Rozważania prowadzone są przy upraszczającym założeniu, że decyzje selekcyjne podejmowane są na podstawie wyników dla jednej cechy.

METODY STOSOWANE DO OPRACOWYWANIA WYNIKÓW DOŚWIADCZEŃ HODOWLANYCH

Metody opracowania wyników doświadczeń jednopowtórzeniowych z wzorcami opisali m.in. Cullis i Gleeson (1989) oraz Kempton i Fox (1997). W większości tych metod poprawianie średnich wartości obserwowanej cechy dla badanych genotypów wykonuje się na podstawie informacji o zmienności środowiska doświadczalnego uzyskane na podstawie obserwacji analizowanej cechy dla obiektów wzorcowych. Poprawione wartości, uzyskane dla poszczególnych genotypów, stanowią podstawę decyzji o wykluczeniu z dalszych badań genotypów o niższych wartościach obserwowanej cechy. Najczęściej do dalszych etapów badań przechodzą genotypy o największych wartościach

efektów. Przy stosowaniu więcej niż jednej odmiany wzorcowej, badane linie mogą sąsiadować bądź to z lepszym, bądź gorszym wzorcem. W celu wyeliminowania wpływu sąsiedztwa z różnymi wzorcami, przed przystąpieniem do właściwej analizy, wartości linii są standaryzowane poprzez usunięcie efektów obiektowych wzorców. Często stosowanymi w praktyce metodami opracowania wyników, są:

Metoda M0 — nieprzekształcone wyniki pomiarów

W metodzie tej nie poprawia się otrzymanych pomiarów. Do dalszych badań przyjmuje się określoną frakcję (20%–30%) najlepszych linii. Metoda ta byłaby skuteczna w przypadku idealnego wyrównania pola doświadczalnego.

Metoda M1 — Kempton i Fox (1997)

Efekt linii oblicza się jako odchylenie pomiaru dla tej linii od ważonej wartości średniej z dwóch najbliższych obiektów wzorcowych. Do dalszych badań przyjmuje się określoną frakcję linii o największych efektach głównych. Czyli, jeśli każde s poletek z badanymi liniami rozpoczyna się wzorcem W_1 i kończy wzorcem W_2 , to efekt obiektu τ_i występującego na i -tym kolejnym poletku po wzorcu W_1 , dla którego otrzymano obserwację y_i oblicza się stosując wzór

$$\tau_i = y_i - \left[W_1 \left(1 - \frac{i}{s+1} \right) + W_2 \left(\frac{i}{s+1} \right) \right].$$

Metoda M2 — analiza wariancji

W metodzie tej wykonuje się analizę wariancji doświadczenia jednopowtórzeniowego z wzorcami podaną przez Cerankę i Chudzik (1977). Przyjmuje się addytywny model obserwacji postaci:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + e_{ij},$$

gdzie y_{ij} jest obserwacją i -tego obiektu (badanego genotypu lub wzorca) w j -tym bloku, μ jest średnią ogólną, τ_i jest efektem i -tego obiektu, β_j jest efektem j -tego bloku, a e_{ij} jest błędem losowym związanym z obserwacją y_{ij} . Wykonuje się analizę wariancji wraz z estymacją efektów obiektowych i testowaniem istotności różnic. Cała informacja o błędzie doświadczalnym pochodzi od obiektów wzorcowych. Do dalszych badań przyjmuje się określoną frakcję linii o największych efektach głównych.

Metoda M3 — Kempton i Fox (1997)

Efekt linii oblicza się tu jako odchylenie obserwacji dla tej linii od wartości średniej dla odmian wzorcowych występujących w tym samym pasie (kolumnie) co analizowana linia.

Metoda M4 — ważony indeks środowiskowy (Kempton i Fox, 1997)

W metodzie tej efekty obiektowe badanych linii oblicza się jako odchylenia od „indeksu środowiska” obliczanego jako średnia ważona z najbliższych obiektów wzorcowych W według poniższego schematu:

$$\begin{array}{cc} 1/8W & 1/8W \\ 1/4W & g \ g \ g \ g \ g \ 1/4W \\ 1/8W & 1/8W \end{array}$$

Metoda M5 — linear variance model (Williams, 1986)

W metodzie eliminuje się nie tylko efekty blokowe (efekty pasów), ale także liniowy trend zmienności glebowej w obrębie bloku. W wersji „reduced” metoda ta jest równoważna z metodą „first difference” (Besag i Kempton, 1986).

Metoda M6 — check plots (Utz, 1997)

W tej metodzie oblicza się kolejno:

- efekty przestrzenne jako odchylenia wartości dla wzorców od ich odpowiednich wartości średnich,
- średnią wartość tak obliczonych efektów przestrzennych (obliczoną w narożnikach prostokąta otaczającego rozważane poletko) wykorzystuje się jako zmienną towarzyszącą w analizie kowariancji.

Ilustruje to schemat:

<i>W</i>	<i>W</i>	<i>W</i>
<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g</i>
<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g</i>
...
<i>g</i>	<i>g</i>	<i>g</i>
<i>W</i>	<i>W</i>	<i>W</i>

W specjalny sposób traktowane są genotypy występujące na obrzeżach obszaru.

Metoda M7 — moving average (Utz, 1997)

W metodzie tej porównuje się wartość badanego genotypu z wartością średnią z pewnej ustalonej liczby ($2k$) genotypów występujących na k poletkach poprzedzających poletko z badanym genotypem i k występujących za tym poletkiem w danym pasie. Przykładowo, dla sytuacji $k = 3$, czyli dla sytuacji

$$\dots x_{i-4} x_{i-3} x_{i-2} x_{i-1} x_i x_{i+1} x_{i+2} x_{i+3} x_{i+4} \dots,$$

efekt genotypu występującego na poletku x_i oblicza się jako

$$\tau_i = x_i - (x_{i-3} + x_{i-2} + x_{i-1} + x_{i+1} + x_{i+2} + x_{i+3}) / 6,$$

a dla genotypu x_{i+1} , według wzoru

$$\tau_{i+1} = x_{i+1} - (x_{i-2} + x_{i-1} + x_i + x_{i+2} + x_{i+3} + x_{i+4}) / 6 \text{ itd.}$$

W specjalny sposób oblicza się efekty dla obiektów występujących na początku (i na końcu) rozważanego szeregu wartości.

KRYTERIA WYBORU METODY NAJSKUTECZNIEJSZEJ

Kryterium 1

Tradycyjnie, przy klasycznych metodach analizy wyników w doświadczeniach o wielu powtórzeniach, jako miary skuteczności metody używa się stosunku średniej wariancji porównań międzyobiektowych w układzie bloków losowanych kompletnych do tej samej średniej wariancji w rozważanej metodzie. Metoda, która gwarantuje mniejszą wariancję jest najskuteczniejsza. Kryterium to ma jednak ograniczone zastosowanie przy analizie doświadczeń jednopowtórzeniowych z jednym lub kilkoma wzorcami. Cała bowiem informacja o wielkości wariancji błędu pochodzi od obiektów powtórzonych, czyli od wzorców. Zależy zatem od doboru odmian wzorcowych, a nie od badanych genotypów.

Kryterium 2

Prawdopodobieństwo sukcesu w selekcji (wyboru najlepszych genotypów) jest tym większe, im większa jest wariancja w populacji badanych genotypów w stosunku do wariancji błędu. Ta metoda opracowania wyników, która daje większe zróżnicowanie estymatorów efektów obiektowych (większa wariancja ocen efektów obiektowych), daje większą szansę na wykrycie i wybranie lepszych genotypów. Łatwiej wybiera się przecież obiekty lepsze ze zbioru bardziej zróżnicowanego. Zatem, w celu porównania metod, oblicza się dla każdej z nich wariancję efektów genotypowych. Należy jednak ten wskaźnik traktować z pewną dozą ostrożności, gdyż przy liczeniu wariancji genotypowej nie uwzględnia się występujących korelacji między efektami (korelacje te są spowodowane między innymi porównaniami genotypów z tymi samymi obiektami wzorcowymi).

Kryterium 3

Dobrym kryterium porównania różnych metod estymacji efektów w doświadczeniach jednopowtórzeniowych jest porównanie równomierności rozkładu linii wybranych do dalszych badań na polu doświadczalnym. Metoda, która wybiera linie skupione w jednym rejonie pola doświadczalnego jest metodą złą, bo może nie wybierać pod względem danej cechy najlepszych linii, tylko te linie, które rosły na najwydajniejszym rejonie pola. Natomiast metoda, która wybiera linie równomiernie z całego obszaru doświadczenia jest metodą lepszą, bo przecież każde poletko niezależnie od położenia na polu może być obsiane zarówno genotypem najlepszym, najgorszym, jak i każdym innym. Wynika to z przeprowadzonej randomizacji obiektów.

Kryterium 4

Po przeprowadzeniu doświadczenia jednopowtórzeniowego z wzorcami podejmuje się bardzo radykalne decyzje selekcyjne wybierając do dalszych badań frakcję (zazwyczaj nie większą od 30%) najlepszych genotypów. Bezpieczniej byłoby przeprowadzać tak ostrą selekcję wykorzystując wyniki doświadczenia o wielu powtórzeniach. W celu sprawdzenia, która z metod analizy doświadczenia jednopowtórzeniowego dostarcza estymatorów efektów obiektowych najbliższych estymatorom z doświadczenia wielopowtórzeniowego, oblicza się sumę kwadratów różnic między ocenami efektów obiektowych uzyskanych za pomocą jednej z testowanych metod i zwykłej analizy wariancji danych z doświadczenia wielopowtórzeniowego, stosując wzór:

$$d_j = \sum_{i=1}^v (\tau_i^j - \tau_i^w)^2,$$

gdzie τ_i^j oznacza ocenę efektu i -tego obiektu w j -tej metodzie, a τ_i^w oznacza ocenę efektu i -tego obiektu w doświadczeniu wielopowtórzeniowym (z analizy z odzyskiwaniem informacji międzyblokowej), v oznacza liczbę obiektów wylosowanych z doświadczenia jednopowtórzeniowego i zastosowanych w doświadczeniu wielopowtórzeniowym. Stąd d_j oznacza sumę kwadratów różnic między ocenami efektów obiektowych uzyskanych j -tą metodą a ocenami uzyskanymi z analizy wariancji danych w doświadczeniu wielopowtórzeniowym. Im mniejsza wartość d_j tym wyniki j -tej metody są bliższe wynikom uzyskanym z doświadczenia wielopowtórzeniowego.

DYSKUSJA

Analiza publikowanych przez Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych materiałów dotyczących zarejestrowanych w Polsce odmian różnych gatunków roślin uprawnych (w szczególności odmian zbóż) wskazuje, że ciągle wzrasta liczba odmian zagranicznych, a liczba odmian krajowych maleje. Jedną z przyczyn tego niekorzystnego zjawiska jest otwarcie polskiego rynku odmian po wstąpieniu Polski do struktur europejskich. Drugą z przyczyn jest przegrywanie przez polskie odmiany konkurencji z odmianami zagranicznymi. Źródłem tego zjawiska mogą być nieoptymalne metody badania i selekcji genotypów na wczesnych etapach hodowli. Niniejsze opracowanie jest próbą znalezienia lepszych rozwiązań.

Inną przyczyną mogą też być błędy popełniane na ostatnim etapie hodowli przed zgłoszeniem nowych kreacji hodowlanych do rejestracji. Na tym etapie przeprowadza się serie doświadczeń (najczęściej w trzech do pięciu miejscowościach) z tymi samymi genotypami. W analizie wyników takiej serii pojawiają się dodatkowe problemy (aspekty), które nie występują przy analizie doświadczeń pojedynczych. Wiązą się one z powszechnym występowaniem interakcji badanych genotypów ze środowiskiem reprezentowanym przez miejscowości, w których przeprowadzono doświadczenia. Badania przeprowadzone m.in. przez Talbota (1984), Pattersona i wsp. (1977), a w warunkach polskich przez Pilarczyka (1977) pokazały, że większa jest interakcja odmian z latami niż interakcja odmian z miejscowościami. Znacząca jest też interakcja potrójna. Rozważania dotyczące analizy interakcji genotypów ze środowiskiem doświadczalnym wybiegają poza zakres rozważań w tym opracowaniu.

PODSUMOWANIE

Istniejące i opisane w literaturze metody analizy wyników doświadczeń hodowlanych były opracowane pod kątem eliminacji efektów określonego typu zmienności środowiska doświadczalnego. Przydatność poszczególnych metod w realnych warunkach, w których przeprowadzane są doświadczenia musi być weryfikowana. Prowadzone w tym opracowaniu rozważania mają na celu wyposażenie doświadczalników w narzędzie umożliwiające wybór metody obiektywnie najlepszej spośród kilku możliwych do zastosowania. Szczególnie użyteczne wydają się być kryteria trzecie i czwarte. Pierwsze z nich pozwala wybrać taką metodę analizy wyników, która gwarantuje najbardziej równomierny wybór podzbioru najlepszych genotypów z przestrzeni pola doświadczalnego. Z kolei kryterium czwarte pozwala na wskazanie takiej metody analizy, która gwarantuje otrzymanie estymatorów efektów obiektowych najbliższych estymatorom uzyskanych przy zastosowaniu analizy wariancji w doświadczeniach wielopowtórzeniowych. A przecież te estymatory są najlepsze, tzn. nieobciążone i o minimalnej wariancji.

LITERATURA

- Besag J. E., Kempton R. A. 1986. Statistical analysis of field experiments using neighbouring plots. *Biometrics* 42: 231 — 251.
- Ceranka B., Chudzik H. 1977. Doświadczenia jednopowtórzeniowe z wzorcami. Siódme Colloquium Metodologiczne z Agro-Biometrii, PAN, Warszawa: 318 — 331.
- Cullis B. R., Gleeson A. C. 1989. The efficiency of neighbour analysis for replicated variety trials in Australia. *Journal of Agricultural Science* 113: 223 — 239.
- Kempton R. A., Fox P. N. 1997. Statistical methods for plant variety evaluation. Chapman & Hall.
- Patterson H. D., Silvey V., Talbot B., Weatherup C. 1977. Variability of yields of cereal varieties in U.K. trials. *Journal of Agricultural Science* 89: 238 — 245.
- Pilarczyk W. 1977. Optymalizacja wielkości serii doświadczeń w czasie i przestrzeni. Siódme Colloquium Metodologiczne z Agro-Biometrii, PAN, Warszawa: 272 — 282.
- Talbot M. 1984. Yield variability of crop varieties in the U.K. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 102: 315 — 321.
- Utz H. F. 1997. PLABSTAT. A computer program for statistical analysis of plant breeding experiments. Version 2N. Institute of Plant Breeding, Seed Science and Population Genetics, University of Hohenheim, Germany.
- Williams E. R. 1986. A neighbour model for field experiments. *Biometrika* 73: 279 — 287.