

Comparação de blocos casualizados e testemunhas intercalares na estimação de parâmetros genéticos em feijoeiro⁽¹⁾

Fábio Gelape Faleiro⁽²⁾, Cosme Damião Cruz⁽³⁾, Charles de Castro⁽³⁾,
Maurílio Alves Moreira⁽⁴⁾ e Everaldo Gonçalves de Barros⁽⁵⁾

Resumo – O objetivo deste trabalho foi comparar dois delineamentos experimentais para estimar parâmetros genéticos obtidos a partir da avaliação de 154 linhagens recombinantes endogâmicas de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.). Um dos delineamentos utilizados foi em blocos casualizados (DBC), o outro consistiu em um ensaio comparativo no qual as linhagens foram representadas por parcelas únicas avaliadas com testemunhas intercalares (DTI). As linhagens na geração F₇ foram obtidas pelo método do descendente de uma única semente, a partir do cruzamento inicial entre as cultivares Ouro Negro e Rudá, utilizadas como testemunhas. Foram avaliadas oito características quantitativas e estimados sete parâmetros genéticos em cada característica. A média das características e a precisão experimental foi semelhante nos dois delineamentos. O DBC teve maior capacidade de detecção de variabilidade genética e maior acurácia do que o DTI. Coeficientes de coincidência entre as linhagens selecionadas nos dois experimentos ficaram entre 32% e 78%, e os menores foram obtidos em características de baixa herdabilidade.

Termos para indexação: herdabilidade, variação genética, método de melhoramento.

Matching of random blocks and intercalated checks for genetic parameters estimation in common bean

Abstract – The main goal of this work was to compare two experimental designs to estimate different genetic parameters based on the evaluation of 154 recombinant inbred lines (RIL) of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Random blocks (RB) and another design, in which, each line was represented by only one plot and compared with intercalated checks (IC) were the designs used. Lines at the F₇ generation were obtained by the single seed descent method from a cross between Ouro Negro and Rudá cultivars used as checks in the IC design. Eight quantitative characteristics were evaluated and seven genetic parameters were estimated for each characteristic. The mean values for the characteristics and the experimental precision in both designs were similar. The RB design was better suited to detect genetic variability and was also more accurate than the IC design. Coincidence coefficients between the lines selected in both experimental designs were between 32% and 78% and the smallest values were obtained for traits with low heritabilities.

Index terms: heritability, genetic variation, breeding methods.

Introdução

O trabalho de melhoramento exige do melhorista contínua avaliação do material genético que está sendo gerado no programa. Diferentes delineamentos experimentais são utilizados na avaliação de características quantitativas importantes na comparação entre famílias segregantes ou entre linhagens já melhoradas (Pimentel-Gomes, 1985).

Os blocos casualizados constituem o mais frequente delineamento experimental utilizado nas avaliações genéticas. Nesse delineamento cada família

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 2 de agosto de 2002.

Extraído da tese de doutorado apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG. Financiado pelo PADCT/Finep, Fapemig e Capes.

⁽²⁾ Embrapa-Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina, DF. E-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

⁽³⁾ UFV, Dep. de Biologia Geral, Avenida P. H. Rolfs, s/nº, CEP 36571-000 Viçosa, MG. E-mail: cdcruz@mail.ufv.br

⁽⁴⁾ UFV, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (Bioagro), Dep. de Bioquímica e Biologia Molecular. E-mail: moreira@mail.ufv.br

⁽⁵⁾ UFV, Bioagro, Dep. de Biologia Geral. E-mail: ebarros@ufv.br

ou linhagem é representada no ensaio r vezes, de modo que as repetições fornecem estimativas das variações ambientais, as quais são extrapoladas como componente da variação fenotípica entre as famílias ou linhagens, permitindo, assim, a estimativa de diferentes parâmetros genéticos úteis para o melhoramento (Cruz & Regazzi, 1997).

Um método alternativo proposto para a estimação das variações ambientais é a utilização de testemunhas intercalares em ensaios de comparação de famílias ou linhagens, no qual cada uma das famílias ou linhagens é representada no ensaio por uma única parcela, enquanto as testemunhas são repetidas r vezes. Este tipo de delineamento tem grande importância no melhoramento de plantas, uma vez que, em muitos casos, a quantidade de sementes disponíveis de cada família é muito pequena, impossibilitando as repetições. Assume grande importância nos casos em que o número de famílias ou linhagens a ser avaliado é muito elevado, o que resulta dificuldades experimentais pela indisponibilidade de área para experimentação com bom controle local ou pela necessidade de redução de custos e de mão-de-obra na avaliação do material genético.

No delineamento experimental com testemunhas intercalares, as análises são realizadas apenas com base nas informações individuais. Os dados das testemunhas são utilizados nas análises de variâncias mais apuradas. Desse modo, diferentemente do delineamento em blocos casualizados, as estimativas das variações ambientais são baseadas apenas nas testemunhas e, conseqüentemente, a utilização desse delineamento pode levar a diferentes estimativas dos parâmetros genéticos.

O objetivo deste trabalho foi comparar blocos casualizados com testemunhas intercalares para estimar parâmetros genéticos obtidos a partir da avaliação de 154 linhagens endogâmicas recombinantes de feijoeiro-comum.

Material e Métodos

Os ensaios foram realizados no período de abril a julho de 1999, na estação experimental de Coimbra da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Foram utilizadas 154 linhagens endogâmicas recombinantes (LER) de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com os genitores Rudá e Ouro Negro, utilizados como testemunhas. Na obtenção da população

segregante, a cultivar Rudá foi cruzada com a Ouro Negro, em casa de vegetação. A confirmação dos cruzamentos foi feita com base na cor de flor como gene marcador. Foram obtidas, aproximadamente, 40 sementes F_1 , as quais foram semeadas em casa de vegetação. Uma amostra de 160 sementes F_2 foi avançada até a geração F_7 pelo método do descendente de uma única semente ou SSD (Single Seed Descent), sem nenhum tipo de seleção durante o processo. Esse método é realizado tomando-se uma única semente de cada indivíduo de uma geração para estabelecer a geração subsequente (Brim, 1966). Conforme sugerido por Brim (1966), foram semeadas três sementes de cada planta F_2 para assegurar a germinação. Após a emergência, uma única planta foi preservada. Tal procedimento foi repetido nas gerações seguintes até a geração F_7 , quando um elevado nível de homozigose foi obtido. Cada planta F_7 obtida a partir de uma planta F_2 foi considerada uma linhagem endogâmica recombinante (LER) e suas sementes foram multiplicadas em casa de vegetação para o ensaio no campo.

Foram conduzidos dois ensaios simultaneamente: um com o delineamento em blocos casualizados com três repetições, e outro com as linhagens representadas por parcelas únicas avaliadas com testemunhas intercalares. Neste caso, os genitores Rudá e Ouro Negro foram utilizados como testemunhas intercalares, sendo repetidos 27 vezes ao longo do experimento, intercalando seis linhagens em parcelas únicas. Cada parcela experimental foi formada por 10 sementes distribuídas em uma fileira de 1,0 m de comprimento espaçadas de 0,5 m entre si. Foi utilizada uma bordadura, contornando todo o experimento. Os tratos culturais foram os normalmente recomendados para a cultura do feijoeiro, sendo utilizada a irrigação quando necessária.

Foram avaliados os seguintes caracteres: número de dias até o florescimento (FLOR), contados a partir do plantio até que, pelo menos, 50% das plantas apresentassem uma flor aberta; número de dias até a maturação (MAT), decorridos do plantio até quando 90% das vagens estivessem secas; estande final (ESTFI), correspondente ao número total de plantas presentes na parcela, na data da colheita; número de vagens por parcela (VAPAR); peso de 100 sementes (P100), amostradas em cada parcela; produção de grãos (PRTOT); número médio de vagens por planta (VAPLA); número médio de sementes por planta (SEPLA) obtido pela razão $(PRTOT \times 100)/(P100 \times ESTFI)$; número médio de sementes por vagem (SEVAG); produção média por planta (PRPLA); produção média por vagem (PRVAG).

No delineamento em blocos completos casualizados, a análise de variância foi feita para cada uma das características e o modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \epsilon_{ij},$$

em que Y_{ij} é o valor da característica da i -ésima LER no j -ésimo bloco; μ é a média geral; G_i é o efeito da i -ésima LER ($i = 1, 2, \dots, g$); B_j é o efeito do j -ésimo bloco ($j = 1, 2, \dots, r$); ε_{ij} é o erro aleatório, $\varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

No delineamento com testemunhas intercalares, a análise de variância também foi feita para cada uma das características. O modelo estatístico adotado foi o seguinte:

Para as testemunhas, $Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$,

em que Y_{ij} é o valor da característica da i -ésima testemunha na j -ésima repetição; μ é a média geral das testemunhas; T_i é o efeito da i -ésima testemunha ($i = 1, 2$); ε_{ij} é o erro aleatório que incide sobre as testemunhas, $\varepsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

Para as LER, $Y_i = \mu + G_i + \varepsilon_i$,

em que Y_i é o valor da característica da i -ésima LER; μ é a média geral das LER; G_i é o efeito da i -ésima LER ($i = 1, 2, \dots, g$); ε_i é o erro aleatório que incide sobre as LER, $\varepsilon_i \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

Na Tabela 1 encontra-se o esquema das análises de variância dos dois modelos.

Foram analisados os seguintes parâmetros genéticos e seus estimadores: média: considerando-se apenas os valores das características das 154 LER; valor $F = QM_g/QM_e$; variabilidade genética: $\hat{\sigma}_g^2 = (QM_g - QM_e)/r$ (blocos completos casualizados) e $\hat{\sigma}_g^2 = QM_g - QM_e$ (testemunhas intercalares); coeficiente de variação experimental: $CV_e(\%) = 100(\sqrt{QM_e}/\bar{x})$; herdabilidades: $h^2(\%) = 100[\hat{\sigma}_g^2/(QM_g/r)]$ (blocos completos casualizados) e $h^2(\%) = 100(\hat{\sigma}_g^2/QM_g)$ (testemunhas intercalares); coeficiente de variação genética: $CV_g(\%) = 100(\sqrt{\hat{\sigma}_g^2}/\bar{x})$; relação $CV_g/CV_e = CV_g(\%)/CV_e(\%)$; coeficiente de coincidência entre as LER superiores e inferiores nos dois delineamentos avaliados:

Tabela 1. Esquema da análise de variância do modelo em blocos completos casualizados e com a utilização de testemunhas intercalares⁽¹⁾.

Fonte de variação	GL	QM	E(Q.M.)	F
Blocos casualizados				
Blocos	$r - 1$			
Genótipos	$g - 1$	QM_g	$\sigma^2 + r\sigma_g^2$	QM_g/QM_e
Erro	$(r - 1)(g - 1)$	QM_e	σ^2	
Testemunhas intercalares				
Genótipos	$g - 1$	QM_g	$\sigma^2 + \sigma_g^2$	QM_g/QM_e
Testemunhas	$t - 1$	QM_t	$\sigma^2 + r\phi_t$	
Erro	$t(r - 1)$	QM_e	σ^2	

⁽¹⁾ $\phi_t = \sum_i T_i^2/(t - 1)$.

CC(%) (20% superiores) = $100(N^o \text{ de LER coincidentes entre as 31 superiores}/31)$;

CC(%) (20% inferiores) = $100(N^o \text{ de LER coincidentes entre as 31 inferiores}/31)$.

A análise de variância e a estimação dos parâmetros genéticos foram feitas com o auxílio do Programa Genes (Cruz, 1997).

Resultados e Discussão

Os parâmetros genéticos das oito características avaliadas em 154 linhagens endogâmicas recombinantes (LER) de feijoeiro-comum, utilizando o delineamento em blocos casualizados com três repetições (DBC) e o delineamento com testemunhas intercalares (DTI) são apresentados na Tabela 2.

Os valores da média de cada característica em cada um dos delineamentos foram calculados com o objetivo de verificar se os ambientes onde foram instalados os dois experimentos eram equivalentes. Tal verificação é possível uma vez que foi utilizada a mesma população de 154 LER de feijoeiro-comum nos dois experimentos. Houve pequenas diferenças entre as estimativas das médias de cada característica avaliada no DBC e no DTI, indicando uma equivalência do efeito médio dos ambientes de ambos os experimentos. Essa equivalência ambiental não é total se considerarmos possíveis efeitos da interação genótipo por ambiente. Para reduzir os efeitos de tal interação, os experimentos foram montados simultaneamente em uma pequena área de 500 m² com condições edáficas uniformes, considerando que a equivalência ambiental é importante para a comparação mais precisa entre os parâmetros genéticos estimados.

Com relação aos valores F, as estimativas a partir do DBC foram superiores às estimativas a partir do DTI, ou seja, o DBC teve maior capacidade de detecção da variabilidade genética do que o DTI. O teste dos valores F a 1% de probabilidade mostrou variabilidade significativa entre as LER quanto a sete e cinco características utilizando o DBC e o DTI, respectivamente. As características que não apresentaram variância genética significativa entre as LER apresentaram menores herdabilidades. Como a detecção da variabilidade genética é um requisito

básico para a eficiência da seleção no melhoramento (Allard, 1971), a utilização do DTI pode comprometer o processo seletivo em relação às características de baixa herdabilidade e assim tornar inviável um programa de melhoramento visando a essas características.

Na avaliação da precisão experimental de cada delineamento, foram comparadas as estimativas do coeficiente de variação ambiental (CV_e) de cada característica nos experimentos utilizando o DBC e o DTI. Esses experimentos foram equivalentes quanto à precisão, uma vez que foram observadas apenas pequenas diferenças entre os CV_e de cada característica avaliada nos dois experimentos. A classificação dos CV_e de cada característica, segundo Pimentel-Gomes (1985), foi a mesma nos dois experimentos, com cinco e três características apresentando CV_e baixo e alto, respectivamente. As características com CV_e alto foram as de menor herdabilidade, indicando, nesse caso, que a baixa precisão experimental levou a uma baixa acurácia nas avaliações.

Na avaliação da acurácia experimental de cada delineamento, foram comparadas as estimativas de herdabilidade de cada característica utilizando o DBC e o DTI. Houve diferenças expressivas nas estimati-

vas de herdabilidade nos dois tipos de delineamentos experimentais analisados. De modo geral, as estimativas de herdabilidade a partir de dados do DBC foram maiores que as obtidas dos dados do DTI. As diferenças entre as estimativas de herdabilidade obtidas no DBC e no DTI foram maiores em relação às características de baixa herdabilidade. Assim, quanto à característica número de dias até o florescimento, a diferença foi de 5,32%, enquanto em relação ao número médio de sementes por planta, a diferença foi de 80,98% (Tabela 2). No caso da característica produção média por planta, não foi possível a obtenção de estimativas da herdabilidade a partir dos dados do DTI. Esse resultado revela que o DBC tem maior acurácia do que o DTI; a menor acurácia do DTI é mais problemática em características de baixa herdabilidade.

Além da herdabilidade, o coeficiente de variação genético (CV_g) e a relação CV_g/CV_e também são parâmetros utilizados na quantificação da variabilidade genética disponível na população, quando se deseja determinar o potencial desta para fins de melhoramento (Santos, 1985). O CV_g dá idéia sobre a proporcionalidade do ganho em relação à média no caso de seleção, e a relação $CV_g/CV_e > 1$ indica situa-

Tabela 2. Estimativas de parâmetros genéticos de oito características de 154 linhagens recombinantes endogâmicas de feijoeiro, com base em dados provenientes do delineamento em blocos casualizados com três repetições e do delineamento com uso de testemunhas intercalares⁽¹⁾.

Parâmetro genético	FLOR	MAT	VAPLA	P100	SEPLA	SEVAG	PRPLA	PRVAG
Blocos casualizados								
Média (1)	42,11	95,73	16,49	19,24	80,98	4,91	15,53	0,94
Valor F (1)	10,09**	5,60**	1,54**	9,38**	1,52**	4,51**	1,23	4,98**
CV_e (%) (1)	2,33	1,60	24,46	5,70	26,50	5,35	29,07	8,27
Herdabilidade (%) (1)	90,09	82,14	35,42	89,34	34,34	77,82	18,91	79,90
CV_g (%) (1)	4,06	1,99	10,45	9,52	11,06	5,78	8,11	9,52
CV_g/CV_e (1)	1,74	1,24	0,43	1,67	0,42	1,08	0,29	1,15
Testemunhas intercalares								
Média (2)	42,43	95,42	16,46	18,62	79,55	4,84	14,76	0,90
Valor F (2)	6,80**	3,31**	1,26	1,99**	1,07	1,68**	0,86	1,69**
CV_e (%) (2)	1,83	1,57	20,00	7,36	22,92	6,57	25,79	9,13
Herdabilidade (%) (2)	85,30	69,80	20,63	49,65	6,53	40,59	- ⁽²⁾	40,87
CV_g (%) (2)	4,42	2,40	10,38	7,36	6,21	5,46	-	7,68
CV_g/CV_e (2)	2,41	1,52	0,51	1,00	0,26	0,83	-	0,83
CC (%) (20% superiores)	67,74	58,06	35,48	77,42	32,26	54,84	32,26	51,61
CC (%) (20% inferiores)	51,61	70,97	35,48	58,06	35,48	48,39	41,94	51,61

⁽¹⁾FLOR: número de dias até o florescimento; MAT: número de dias até a maturação; VAPLA: número médio de vagens por planta; P100: peso de 100 sementes; SEPLA: número médio de sementes por planta; SEVAG: número médio de sementes por vagem; PRPLA: produção média por planta; PRVAG: produção média por vagem. ⁽²⁾Não foi estimado. **Significativo a 1% de probabilidade.

ção favorável à seleção. As estimativas desses parâmetros a partir dos dados do DBC e do DTI são apresentadas na Tabela 2. No caso do CV_g , não foram detectadas grandes diferenças. A maior diferença (56,15%) foi verificada na característica número médio de sementes por planta. A relação CV_g/CV_e mostrou que existe situação favorável à seleção em relação a cinco e três características utilizando o DBC e o DTI, respectivamente. Como seria esperado, situações favoráveis à seleção são observadas quanto às características de maior herdabilidade.

Uma última comparação entre DBC e DTI foi feita analisando o coeficiente de coincidência (CC) entre as LER selecionadas, na qual considerou-se uma porcentagem de seleção de 20% em relação ao aumento e à diminuição do valor de cada característica. Com esse parâmetro pretendeu-se avaliar a equivalência dos dois delineamentos na identificação de genótipos com desempenho superior e inferior. Essa identificação é de grande importância para o melhorista na seleção dos genótipos, na qual é necessária a transferência de alelos desejáveis para a próxima geração e a diminuição da frequência de alelos desfavoráveis. Os CC obtidos entre os dois delineamentos ficaram entre 32% e 78%. Os maiores CC foram obtidos com as características de maiores herdabilidades. Quanto às características número médio de vagens por planta, número médio de sementes por vagem e produção média por planta, as quais apresentaram baixa herdabilidade, os CC, tanto em relação ao aumento quanto à diminuição do valor fenotípico da característica, ficaram entre 32% e 42%. O baixo CC entre os dois delineamentos em relação a essas características é indicativo de que o método seletivo em pelo menos um dos dois delineamentos não seria eficiente.

As estimativas de herdabilidade foram as mais influenciadas pelo delineamento experimental utilizado, tendo sido observadas reduções nas estimativas quando utilizado o DTI, principalmente em relação às características de menores herdabilidades, assim como as diferenças observadas nas estimativas dos outros parâmetros genéticos têm sempre alguma relação com as estimativas de herdabilidade. O uso de repetições, no caso do DBC, foi de grande importância na obtenção de maiores estimativas de herdabilidade e maior acurácia experimental. No caso

do DTI, seria possível aumentar as estimativas de herdabilidade por meio da melhoria do controle ambiental e também por métodos matemáticos de correção do efeito do ambiente que levem a uma menor variância fenotípica. Contudo, o DTI pode ser empregado nas primeiras etapas de seleção de programas de melhoramento do feijoeiro, quando não se dispõe de número suficiente de sementes por família e quando pratica-se a seleção, quanto a características de alta herdabilidade.

Além das vantagens e desvantagens de cada delineamento experimental, as diferenças obtidas nas estimativas de herdabilidade devem ser consideradas na escolha de um ou outro delineamento, pois a herdabilidade de um caráter é um dos mais importantes parâmetros genéticos. As estimativas de herdabilidade expressam a confiança do valor fenotípico como guia para o valor genotípico e fazem parte da maioria das expressões empregadas no melhoramento genético, principalmente na predição de ganhos genéticos decorrentes de seleção (Falconer, 1987; Cruz & Regazzi, 1997). A obtenção de altas estimativas de herdabilidade em relação a uma determinada característica também é muito importante quando se considera o mapeamento genético e a identificação de QTL (Quantitative Trait Loci), uma vez que as inferências genotípicas são feitas com base no fenótipo (Churchill & Doerge, 1998).

Conclusões

1. A média das características e a precisão experimental são semelhantes nos dois delineamentos, entretanto, o DBC possui maior capacidade de detecção de variabilidade genética e maior acurácia do que o DTI.

2. As estimativas de herdabilidade utilizadas na avaliação da acurácia são as mais influenciadas pelo delineamento experimental utilizado, principalmente em relação às características de baixa herdabilidade; maiores estimativas são obtidas no DBC em relação ao DTI.

3. A utilização do DTI é uma alternativa importante nos ensaios realizados durante as primeiras etapas de seleção de programa de melhoramento do feijoeiro, considerando-se a uniformidade da área experimental.

4. O controle ambiental e o desenvolvimento de métodos matemáticos de correção do efeito do ambiente com base em ajustes das médias das testemunhas são alternativas, no DTI, para diminuir a variância fenotípica e aumentar a acurácia experimental.

Referências

- ALLARD, R. W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: E. Blücher, 1971. 381 p.
- BRIM, C. A. A modified pedigree method of selection in soybeans. **Crop Science**, Madison, v. 6, p. 220, 1966.
- CHURCHILL, G. A.; DOERGE, R. W. Mapping quantitative trait loci in experimental populations. In: PATERSON, A. H. (Ed.). **Molecular dissection of complex traits**. New York: CRC Press, 1998. p. 31-41.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, MG: UFV, 1997. 442 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa, MG: UFV, 1997. 390 p.
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 1987. 279 p.
- PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 11. ed. Piracicaba: Nobel, 1985. 466 p.
- SANTOS, M. X. **Estudo do potencial genético de duas raças brasileiras de milho (*Zea mays* L.), para fins de melhoramento**. Piracicaba: Esalq, 1985. 185 p.