

## ВЛИЯНИЕ ОБЪЕМА ВЫБОРКИ РАСТЕНИЙ НА ТОЧНОСТЬ СРАВНЕНИЯ ГЕНОТИПОВ В ПОЛЕВОМ ОПЫТЕ

Е.А. КОМАРОВА, асп.; А.В. СМИРЯЕВ, д. б. н.; В.В. ПЫЛЬНЕВ, д. б. н.

(Кафедра селекции и семеноводства полевых культур и кафедры генетики)

Разработан биометрический метод оценки влияния размера выборки растений ( $m$ ), измеряемых на каждой делянке, на относительную точность сравнения генотипов в полевом опыте. Метод применен для анализа параметров анатомического строения подколосового междоузлия и элементов структуры урожая сортов озимой тритикале. Рассмотрены 2 случая: анализ однолетних данных и данных за несколько лет. В первом случае сокращение числа  $m$  по сравнению с 10 приводит к значительному увеличению доверительного интервала, а увеличение  $m$  сопровождается незначительным его снижением. Во втором случае изменение  $m$  в меньшей мере отражается на доверительном интервале, что вызвано большим влиянием на ошибку опыта эффекта взаимодействия генотип — среда. Результаты представлены в виде оценок параметров и графиков при различном числе  $m$ .

В селекционной практике при оценке исходного материала в полевом эксперименте важно установить существенные различия между сравниваемыми образцами по количественным признакам. Поэтому актуальной является задача определения достаточного для анализа объема выборки растений, измеряемых в каждом повторении, и степени влияния объема на доверительный интервал.

Цели исследований:

1. Разработка метода определения влияния объема выборки растений, измеряемых на делянке (в повторении), на размер доверительного интервала для парного сравнения генотипов, совместно испытываемых в полевом опыте с повторениями.

2. Применение разработанного метода для анализа параметров анатомического строения подколосового междоузлия и элементов структуры урожая коллекции сортов гексаплоидной озимой тритикале. Важность этой цели

вызвана тем, что анатомический анализ, позволяющий более полно изучить и оценить исходный материал [3, 5, 7], весьма трудоемок, следствием чего является вынужденное ограничение числа анализируемых растений каждого образца на делянке.

### Материал и методика

В основе вычисления любого доверительного интервала лежит нахождение  $\sqrt{S_{ош}^2}$  — среднеквадратичного отклонения ошибки оценки признака.

В частности, НСР =  $t_T \times \sqrt{\frac{2S_{ош}^2}{n}}$ , где  $n$  — число повторений;  $t_T$  — табличное значение критерия Стьюдента [2].

Первая методическая часть работы заключалась в получении формулы для расчета относительного изменения величины доверительного интервала в зависимости от объема выборки расте-

ний на делянке. Рассмотрены две ситуации: анализ однолетних данных с повторениями, а также анализ при наличии данных испытания за несколько лет. Для удобства и наглядности ставилась задача построения графиков вышеупомянутой зависимости.

Для однолетних данных средний квадрат ошибки ( $SI^2_{ou}$ ), который берется из таблицы дисперсионного анализа, можно разложить на компоненты

$$SI^2_{ou}(m) = S^2_i + S^2_m \quad (1)$$

Первая — дисперсия  $S^2_i$ , остается даже при очень большом числе растений, измеряемых на каждой делянке. Причина ее возникновения — общая изменчивость почвенного плодородия на опытном поле и, прежде всего, тренды увлажнения, кислотности и пр. Если схема опыта — рандомизированные блоки, то обычно  $S^2_i$  тем больше, чем протяженнее один блок. Вторая — дополнительная дисперсия  $S^2_m$  возникает из-за ограниченного объема ( $m$ ) выборки растений, измеряемых на каждой делянке. Предметом изучения был анализ ее влияния на точность опыта.

Зная  $S^2_0$  — дисперсию при 10 измеряемых растениях, можно получить оценку  $SI^2_{ou}(m)$  для любого другого числа  $m$ :

$$SI^2_{ou}(m) = S^2_i + \frac{S^2_{10} \times 10}{m}$$

Принимая доверительный интервал при  $t=10$  за точку отсчета (за единицу), можно прогнозировать относительное изменение  $\sqrt{SI^2_{ou}}$ , а значит, и доверительного интервала при увеличении либо уменьшении объема выборки  $m$ . Тогда относительная точность опыта, отражающая изменение доверительного интервала при другом объеме выборки растений ( $m$ ), измеряемых на делянке в одном повторении опыта

$$K_i(m) = \sqrt{\frac{SI^2_{ou}(m)}{SI^2_{ou}(10)}} \quad (2)$$

Формулы (1) и (2) пригодны для анализа однолетнего опыта с любым числом повторений.

При анализе и сравнении сортов по данным за несколько лет ошибку сравнения среднееголетних значений признака определяют дисперсией, имеющей структуру [6]:

$$SI^2_{ou}(m) = S^2_v + \frac{SI^2_{ou}(m)}{n}, \quad (3)$$

где  $SI^2$  — дисперсия взаимодействия генотип — среда ( $G \times E$ );  $n$  — число повторений за каждый год.

$$\text{В этом случае НСР} = t_T \sqrt{\frac{SI^2_{ou}(m)}{Q}},$$

где  $S^2_v$  — число лет совместного испытания набора сортов.

Аналогично формуле (2)

$$K_2(m) = \sqrt{\frac{SI^2_{ou}(m)}{SI^2_{ou}(10)}} \quad (4)$$

Вторая часть работы — проверка предложенной методики. В качестве данных для анализа были использованы параметры анатомической структуры подколосового междоузлия стебля и элементы структуры урожая 10 сортов гексаплоидной озимой тритикале (Виктор, Никлап, Кентавр, Гармония, АДМ-9, Водолей, Стрельна 11, 21406/96, Талисман, Антей), различающихся по продуктивности колоса. Эксперимент проводили в 2005-2006 гг. на поле лаборатории селекции и семеноводства полевых культур РГАУ — МСХА имени К.А. Тимирязева. Повторность опыта — 3-кратная (3 блока). Площадь делянки в 2005 г. составила 1 м<sup>2</sup>, а в 2006 г. — 1,5 м<sup>2</sup> при тождественности почвенных условий за оба года. Посев осуществлялся сеялкой СКС-6-10. На делянке располагалось 6 рядков, в которых, исключая крайние, отмечались случайным образом посредством подвешивания этикеток 10 пар морфологически сходных растений. Ана-

томический анализ проводили следующим образом:

1. В фазу полного цветения на делянке срезали половину отмеченных растений (по одному из каждой пары, т.е. 10 из каждой повторности), и их подколосовые междоузлия фиксировали в 70%-м этиловом спирте.

2. На ручном микротоме опасной бритвой получали тонкие поперечные срезы, после чего проводили их окрашивание родамином и водной голубой и изготавливали временные препараты по [1, 4].

3. С помощью окуляр-микрометра измеряли и подсчитывали 14 анатомических показателей: количество, суммарный тангентальный диаметр, средняя площадь и общая площадь проводящих пучков паренхимы, количество и общая площадь проводящих пучков первичной коры и островков хлоренхимы, количество и общая площадь всех пучков, площади склеренхимного кольца, медуллярной лакуны, выполненной части соломины, поперечного среза соломины.

Уборку оставшихся на делянках контрольных растений (10 из каждой повторности) осуществляли в фазу полной спелости, измеряли их высоту и определяли элементы структуры урожая: общее число колосков в колосе, число зерен в колосе и массу зерен в колосе.

## Результаты и их обсуждение

Для уточнения оценок параметров, входящих в формулы (1) и (2), были использованы данные за оба года испытания.

В табл. 1 для примера представлены результаты дисперсионного анализа количества проводящих пучков паренхимы.  $SI^2_{ou}(10)$  и  $SI I^2_{ou}(10)$  равны  $MS$  остатка (выделены жирным шрифтом). Отметим, что для двухлетних данных годы рассматривали как блоки.

$$\begin{aligned} \overline{SI^2_{ou}}(10) &= \frac{S^2_{ou}(1\text{-й год}) + S^2_{ou}(2\text{-й год})}{2} = \\ &= \frac{0,56 + 0,52}{2} = 0,54. \end{aligned}$$

Дисперсию при выборке в 10 растений ( $S^2_{10}$ ) рассчитывали для каждого повторения, затем полученное значение делили на 10.

$$\begin{aligned} \overline{S^2_{10}} &= \frac{S^2_{10}(1\text{-й год}) + S^2_{10}(2\text{-й год})}{2} = \\ &= \frac{\sum_{1\text{-й год}}^{2\text{-й год}} \sum_{1\text{ сорт}}^{10\text{ сортов}} \sum_{1\text{ пов.}}^{3\text{ пов.}} S^2_{10} / 10(\text{раст.})}{2(\text{года}) \times 10(\text{сорт}) \times 3(\text{повт.})} = 0,31, \end{aligned}$$

где  $\overline{S^2_{10}}$  — среднее за 2 года значение дисперсий на каждой делянке при анализе 10 растений у каждого сорта.

Таблица 1

Дисперсионный анализ однолетних и двухлетних данных

Год	Источник	SS	df	MS	$F_\phi$	$F_{05}$
2005	Общая	158,69	29	—	—	—
	Варианты	147,91	9	16,43	29,35	2,46
	Блоки	0,70	2	0,35	0,63	3,55
	Остаток	10,08	18	<b>0,56</b>	—	—
2006	Общая	197,03	29	—	—	—
	Варианты	187,48	9	20,83	40,30	2,46
	Блоки	0,24	2	0,12	0,23	3,55
	Остаток	9,30	18	<b>0,52</b>	—	—
Двухлетние данные	Общая	90,83	19	—	—	—
	Варианты	68,07	9	7,56	8,79	3,18
	Годы	15,02	1	15,02	17,45	5,12
	Остаток	7,74	9	<b>0,86</b>	—	—

Из формулы 1:

$$\bar{S}_i^2 = \bar{S}I_{ou}^2 - \bar{S}_{10}^2 = 0,54 - 0,31 = 0,23,$$

$$K_1(m) = \sqrt{\frac{0,23 + 0,31 \times \frac{10}{m}}{0,54}}.$$

Для расчета параметра (4) воспользуемся  $SII_{ou}^2(10) = 0,86$  из табл. 1. Тогда из формулы (3), заменив  $SII_{ou}^2$  на  $\bar{S}I_{ou}^2$ , получим

$$S_v^2 = \left[ SII_{ou}^2(10) - \frac{\bar{S}I_{ou}^2(10)}{3} \right] = \\ = \left( 0,86 - \frac{0,54}{3} \right) = 0,68,$$

$$K_2(m) = \sqrt{\frac{0,68 + \frac{0,23 + 0,31 \times \frac{10}{m}}{3}}{0,86}}.$$

Пользуясь формулами (1)–(4), для всех анализируемых признаков были построены графики зависимости  $K_1$  и  $K_2$  от  $m$  — объема выборки растений на делянке. С целью упрощения и наглядности далее в комплексе рассмотрены все 14 анатомических показателей и отдельно все 4 элемента структуры урожая. Таким образом, на рис. 1 графики I и II формируют верхнюю и нижнюю границы значений  $K_1(m)$ , в пределах которых расположены графики всех 14 показателей анатомической структуры при анализе однолетних опытов, а графики III и IV —  $K_2(m)$ . На рис. 2 графики I–IV построены по такому же принципу, что и на рис. 1, но для комплекса элементов структуры урожая.

Рис. 1 позволяет сделать вывод о том, что показатели анатомической структуры не сильно отличаются друг от друга по степени изменения  $K$  в

зависимости от  $m$  — величины выборки растений на делянке. Причем интервал между максимальной и минимальной границами  $K_2\{m\}$  при анализе однолетних данных (графики I и II) шире, чем для  $K_2\{m\}$  при анализе двухлетних данных (графики III и IV). Анализируя границы I и II, можно отметить, что уменьшение величины выборки растений от 10 до 5 приводит к резкому увеличению  $K_2$  — в 1,2–1,3 раза. То есть доверительный интервал для парного сравнения генотипов по однолетним данным увеличивается на 20–30% по сравнению с 10 растениями. Если же для анализа использовать 1 растение на делянке, то  $K_1$  увеличивается в 2,1–2,6 раза. В случае границ III–IV для  $K_2$  доверительный интервал увеличивается на 4–7% и 33–54% при выборке в 5 и 1 растение соответственно. Увеличение же выборки растений от 10 до 20 приводит к небольшому уменьшению  $K$  (на 4–19%), особенно при анализе среднесуточных данных. Относительная точность опыта увеличивается незначительно.

На рис. 2 в отличие от рис. 1 интервал между графиками III и IV шире, чем между I и II. Тенденция же увеличения либо уменьшения  $K$  в зависимости от величины выборки растений при анализе элементов структуры урожая сходна с таковой для параметров анатомического строения подколосового междоузлия. То есть при уменьшении величины выборки от 10 до 1 происходит значительное увеличение границ  $K_1$  и  $K_2$ , тогда как возрастание числа анализируемых растений до 20 приводит к меньшему снижению степени изменения доверительного интервала.

Меньшее влияние  $m$  на  $K_2$  по сравнению с влиянием на  $K_1$  обусловлено тем, что большую часть ошибки сравнения среднесуточных значений ( $SII_{ou}^2(10)$ ) составляет дисперсия взаимодействия генотип — среда ( $S_v^2$ ). Поэтому значения  $K_2$  при изменении

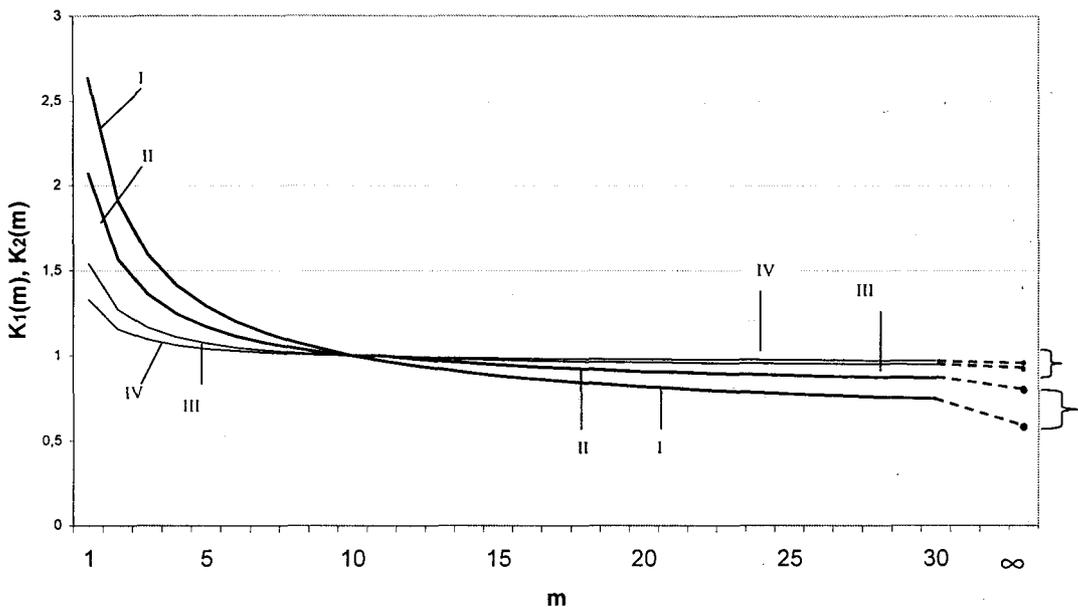


Рис. 1. Влияние объема выборки растений в повторении при  $n=3$  на степень изменения доверительного интервала при проведении анатомического анализа (пояснения в тексте)

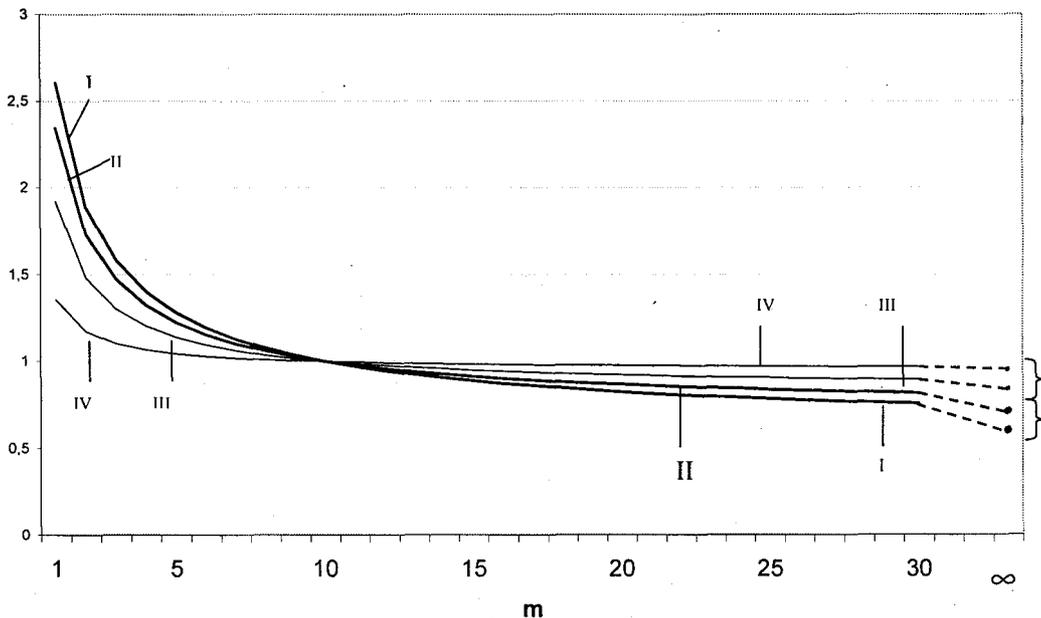


Рис. 2. Влияние величины выборки растений в повторении при  $n=3$  на степень изменения доверительного интервала при анализе элементов структуры урожая (пояснения в тексте)

$m$  на рис. 1 и 2 меньше отклоняются от точки отсчета (1 на оси ординат), чем значения  $K_i$ .

Знак 00 на оси X и пары точек на рис. 1 и 2 соответствуют пределам (плато)  $K_i$  и  $K_2$ , к которым стремятся границы K степени изменения доверительного интервала для рассматриваемых признаков при очень большом объеме выборки растений на делянке ( $m \rightarrow \infty$ ). Из формул (1) и (2) следует, что уровень плато по каждому показателю для однолетних данных равен

$\sqrt{\frac{S_i^2}{S_{i\text{ов}}^2(10)}}$ . Для многолетних данных из формул (3) и (4) значение плато равно

$$\text{но } \sqrt{\frac{S_v^2 + S_i^2 / n}{S_{i\text{ов}}^2(10)}}$$

Следует подчеркнуть, что выводы и оценки, относящиеся к однолетним данным, не зависят от  $n$  — числа повторений опыта, так как  $n$  не входит в  $K_1(m)$ . Аналогично выводы и оценки, относящиеся к многолетним данным, не зависят от  $Q$  — числа лет совместного испытания генотипов, но зависят от  $n$  — так как  $n$  входит в  $K_2(m)$ . Для получения выводов при другом значении  $n$  (не равном 3) достаточно проанализировать выражение  $K_2(m)$  при новом  $n$ . В табл. 2 приведены диапазоны значений  $K_2(m)$  при различных  $m$  и  $n$ .

При  $n < 3$  по сравнению с  $n = 3$  возрастание  $K_2(m)$  при  $m = 5, 10$  и 20 вызвано снижением влияния на

Таблица 2  
Диапазоны значений  $K_2(m)$

$m$	$n$	Анатомический показатель	Элемент структуры урожая
5	2	1,1–1,17	1,11–1,3
	3	1,04–1,07	1,05–1,14
	4	1–1,02	1,01–1,05
10	2	1,04–1,07	1,04–1,11
	3	1	1
	4	0,96–0,98	0,94–0,98
20	2	1–1,03	1–1,01
	3	0,96–0,98	0,92–0,98
	4	0,93–0,96	0,89–0,96

$S_{i\text{ов}}^2(m)$ , что ясно из формул (3) и (4), и, наоборот, снижение  $K_2(m)$  при  $m > 3$  вызвано большим влиянием дисперсии взаимодействия генотип — среда на ошибку сравнения генотипов по среднемуголетним значениям признаков.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Барыкина Р.П. и др. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. М.: Изд-во МГУ, 2004. — 2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1985. — 3. Лазаревич С.В. Эволюция анатомического строения стебля пшеницы. Мн. Хата, 1999. — 4. Пыльное В.В. Закономерности эволюции озимой пшеницы в результате селекции. Автореф. докт. дис. М., 1997. — 5. Смиряев А.В., Кильчевский А.В. Генетика популяций и количественных признаков. М.: КолосС, 2007. — 6. Тетерятченко К.Г. Анатомический метод оценки исходного материала мягкой озимой пшеницы на продуктивность, морозостойкость и устойчивость к полеганию // Науч.-техн. бюлл. ВИР им. Вавилова, 1984. Вып. 146. С. 28-32.

#### SUMMARY

In selection practice when evaluating initial material during field experiments it is important to determine essential differences between compared examples according to their quantitative attributes. Therefore the problem to determine the sufficient number of plants measured in each repetition and the degree of the number influence is of importance now.