

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ  
CLUJ-NAPOCA  
ȘCOALA DOCTORALĂ  
FACULTATEA DE HORTICULTURĂ**

**Sorana D. BOLBOACĂ**

**MODELE DE ANALIZĂ STATISTICĂ A  
VARIABILITĂȚII GENETICE**

**- REZUMAT AL TEZEI DE DOCTORAT -**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC  
Prof. Univ. Dr. Ing. Radu E. SESTRĂȘ**

**Cluj-Napoca  
2010**

**CUPRINS**

Introducere .....	1
Stadiul actual al cunoașterii.....	2
Retrospectivă istorică .....	2
Genetica populațională.....	3
Caractere cantitative .....	5
Mecanisme de transmitere a caracterelor .....	6
Genetica cantitativă în horticultură: raportarea rezultatelor.....	6
Contribuții personale .....	11
Scop și obiective.....	11
Proiectarea optimă a experimentului funcție de obiectivul studiului .....	11
Structura generică a ghidului de analiza variabilității genetice.....	16
Analiza variabilității genetice în hibridarea dialelelor parțiale - directă și reciprocă.....	17
Concluzii și recomandări.....	29
Referințe .....	38
Lucrări reprezentative publicate.....	42

## INTRODUCERE

Concluzia științifică dovedită pe baza unui experiment poate să fie criticată din mai multe puncte de vedere:

- Interpretarea greșită a experimentului. Rezultatele raportate nu coincid cu rezultatele expectate, astfel încât concluzia să fie justificată, sau rezultatele raportate se datorează șansei și concluzia este falsă. Această interpretare greșită a experimentului aparține statisticianului, care trebuie să-și asume responsabilitatea înțelegerii procesului studiat astfel încât să aplice corect procedeele statistice asupra datelor investigate. Statisticianul are astfel datoria de a înțelege principiile experimentului pentru a fi capabil să aplice corect testele statistice.
- Designul experimentului greșit sau execuția incorectă a acestuia. Structura logică a experimentului trebuie să se bazeze pe noțiuni teoretice și principii ale designului experimental clare și precise, cu detalii tehnice suficiente, care să permită repetarea experimentului.

Dacă designul experimentului este greșit, orice metodă statistică aplicată pentru a explica rezultatele este greșită, concluzia studiului fiind greșită. Există însă și situații în care designul experimentului este corect și ar putea duce la concluzii fondate, dar dacă aceste concluzii nu sunt justificate, se poate spune că greșeala este doar la nivelul interpretării, nu și la nivelul designului.

Procedeele statistice și designul experimentului sunt două aspecte diferite ale aceluiași întreg care cuprinde toate cerințele logice ale procesului complet de acumulare de date, informații și cunoștințe prin experiment.

În funcție de aspectele menționate, în teza "Modele de analiză statistică a variabilității genetice" s-a propus tratarea unitară a conceptului de variabilitate, implicând modele de variabilitate, analiza statistică și interpretarea genetică cantitativă, prin prisma complexității și diversității speciilor horticole, și printr-o serie de aplicații de interes la plantele horticole. De asemenea, prin problematicile abordate s-a urmărit analiza și interpretarea corectă (statistică și genetică) a datelor experimentale horticole, în strânsă legătură cu metoda experimentală aplicată. Pentru realizarea scopului propus, după studiul sistematic al literaturii de specialitate, cercetările au fost realizate în două direcții: proiectarea optimală a experimentului funcție de obiectivul studiului și realizarea de ghiduri de analiză a variabilității genetice.

Proiectarea optimală a experimentului funcție de obiectivele studiului a abordat o serie de metode experimentale uzuale (designul complet randomizat, blocuri complet randomizate, pătratul latin, designul de tip cuib, experimentul factorial), pentru fiecare metodă fiind aplicată modalitatea cea mai corectă de analiză statistică a variabilității. Tot în această secțiune sunt tratate o serie de metode de transformare a datelor experimentale, care pot fi utile în transformarea datelor experimentale cu scopul îndeplinirii asumpțiilor metodelor

statistice de interes. Nu a fost neglijată nici metoda de analiză a variabilității în cazul existenței datelor experimentale lipsă.

Realizarea de ghiduri de analiză a variabilității genetice a avut ca prin pas dezvoltarea modelului șablon al unui astfel de ghid. Modelul șablon realizat a fost validat prin crearea ghidurilor de analiză a variabilității genetice pentru hibridările dialele și aplicarea acestora pe date experimentale horticoale.

Teza oferă soluții de analiză a variabilității genetice prin utilizarea metodelor statistice la probleme punctuale, cuprinzând o serie de exemplificări concrete în cazul datelor experimentale obținute în urma hibridărilor dialele.

## STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

### RETROSPECTIVĂ ISTORICĂ

Genetica cantitativă se ocupă cu studiul caracteristicilor și/sau trăsăturilor cantitative continue și a mecanismelor de transmitere a acestora.

La baza geneticii cantitative stă *mecanismul ereditar* elaborat de Mendel (Mendel, 1866) care dovedește că efectul combinat al mai multor gene determină o distribuție continuă de *fenotipuri* (cuvântul definește pentru un organism o trăsătură sau o caracteristică măsurabilă care este exprimată doar la un subset de indivizi dintr-o populație (Brenner și Miller, 2002).

În 1859 Charles Darwin (1809 - 1882) a fost cel care a formulat *teoria evoluției* (Darwin, 1859). Una din problemele majore identificată de Darwin a fost lipsa cunoașterii mecanismului eredității.

În 1865 Gregor Mendel (1822 - 1884, Heinzendorf, Cehia) propune ideea *transmiterii genetice a caracterelor* în prima sa lucrare în acest domeniu în 1865 (Mendel, 1865; Weiling, 1991). În lucrarea „Experiments on Plant Hybridization” prezentată în 1865 în cadrul Societății Brunn de Istorie a Naturii, Gregor Mendel prezintă *mecanismul eredității unor caractere specifice* la mazăre, arătând că acestea poate fi *descrie matematic* (Mendel, 1866).

În 1900 Hugo de Vries, Carl Correns & Erich von Tschermak-Seysenegg confirmă independent legile eredității a lui Mendel (Monaghan și Corcos, 1986). Urmează în 1902 Archibald Garrod care identifică prima boală genetică (Garrod, 1902), în 1903 William E. Castle care recunoaște relația dintre alele și frecvența genotipică (Castle, 1903), în 1905 William Bateson denuște știința eredității "*genetică*" (Schwartz, 2007), tot în 1905 William Bateson & R. C. Punnett demonstrează "likage-ul" genelor (Punnett, 1905), în 1908 Godfrey H. Hardy & Wilhelm Weinberg formulează *principiul Hardy-Weinberg* - relația matematică dintre frecvența genotipului și alelele (Falconer și Mackay, 1996) iar Herman Nilsson-Ehle obține experimental *demonstrarea moștenirii de tip multigenic* ca bază a moștenirii caracterelor continue (Herman, 1908).

În 1909 W. Johannsen introduce termenul de "*genă*" (Johannsen, 1909), în 1910 Edward M. East elucidează rolul reproducerii sexuale în evoluție (East, 1910), în 1910 Thomas Hunt

Morgan descoperă prima genă "sex-linkată": o genă pentru ochii de culoare galbenă la *Drosophila melanogaster*. În 1911 Thomas Hunt Morgan propune teoria cauzalității genelor linkate prin existența acestora pe același cromozom, în 1913 Alfred Sturtevant prezintă principiile de construire a "genetic linkage map", iar în 1916 Thomas Hunt Morgan introduce **teoria mutației și selecției**.

În 1918 Ronald Aylmer Fisher a arătat că variația continuă a caracterelor poate să fie rezultatul moștenirii genetice Mendeliene (Fisher, 1918). Ronald Aylmer Fisher a pus bazele **modelului genetic de transmitere a caracterelor** demonstrând că variația continuă a caracterelor poate fi rezultatul moștenirii Mendeliene, fiind guvernată de mai multe gene aditive fiecare având o anumită contribuție dar fiecare fiind moștenită în manieră Mendelian. Această lucrare a pus bazele **geneticii biometrice** și a introdus **metodologia de analiză a varianțelor**.

În 1920 Ronald Aylmer Fisher, Sewall Wright și John Burdon Sanderson Haldane își aduc contribuții la **bazele teoretice ale geneticii cantitative** (Fisher, 1930; Wright, 1921; Wright, 1931; Haldane, 1932).

În 1922 Ronald A. Fisher publică prima lucrare în care prezintă examinarea **consecințelor evoluționare** ale moștenirii Mendeliene (Fisher, 1922).

În perioada 1924-1932: John B. S. Haldane publică o serie de lucrări având ca subiect teoria matematică a selecției (Haldane, 1924a; 1924b; 1926; 1927a; 1927b; 1930; 1931; 1932a; 1932b; 1934).

În 1927 Herman J. Müller arată că razele X pot determina mutația (mutageneză).

În 1928 Fredrick Griffith descoperă transformarea genetică a unei bacterii (agent responsabil de principiul transformării).

În 1930 Ronald A. Fisher publică „The Genetical Theory of Natural Selection” (Fisher, 1930), iar Sewall Wright pune fundamentele teoretice ale "**driftului genetic**" (Wright, 1931). În 1932 Sewall Wright descrie relația dintre genotip sau fenotip și fitness ca și **suprafața fitness-ului** (Wright, 1932; Provine, 1986).

În 1953 James Watson și Francis Crick propun **structura de dublu-helix a ADN** (Watson și Crick, 1953).

## GENETICA POPULAȚIONALĂ

Gregor Mendel a studiat transmiterea caracterelor ereditare de la organismele parentale la progenituri și a stabilit o serie de două legi, denumite Legile lui Mendel (Mendel, 1866).

Odată cu legea segregării (prima lege a lui Mendel) s-au introdus o serie de concepte: linie pură, fenotip, dominant, recesiv, backcross, testcross, monohibrid, încrucișarea monohibridă, dominanță.

Legea segregării sau prima lege a lui Mendel e constituită din trei părți: ■ versiunile alternative ale genelor sunt responsabile de variația caracterelor moștenite; introduce noțiunea de alelă (alelele = versiuni diferite ale genelor responsabile de un caracter); ■ pentru fiecare

caracter un organism moștenește două alele, câte una de la fiecare părinte; aceste alele pot să fie sau nu identice; ■ cele două alele ale fiecărui caracter segregă în timpul producerii gameților; astfel, fiecare gamet va conține doar o alelă pentru fiecare genă ceea ce asigură variabilitatea descendenților.

Legea segregării independente a perechilor de caractere (a doua lege a lui Mendel) - Legea Eredității introduce și ea o serie de concepte: dihibrid, încrucișarea dihibridă.

Legea segregării independente a perechilor de caractere sau legea eredității demonstrează că ■ în timpul formării gameților, segregarea alelelor unei perechi de alele este independentă de segregarea alelelor oricărei alte perechi de alele.

Structura genetică a unei populații este descrisă prin frecvența genelor. O serie de factori influențează proprietățile genetice ale unei populații în procesul de transmitere a genelor de la o populație la alta: ■ mărimea populației; ■ diferențe de fertilitate și viabilitate (selecția); ■ migrația și mutația.

Sistemul de împerechere (frecvența genotipurilor în generația filială e influențată de genotipurile care se împerechează în generația parentală). Împerechere întâmplătoare (panmixia) orice individ are aceeași șansă de a se împerechea cu oricare individ de sex opus din populație.

Echilibrul Hardy-Weinberg: "Într-o populație mare în care împerecherea este întâmplătoare, frecvența genelor și fenotipurilor sunt constante din generație în generație în absența mutației, migrației și selecției, iar frecvența genotipurilor este determinată de frecvența genelor" (Hardy, 1908; Weinberg, 1908). Cadrul în care are loc echilibrul Hardy-Weinberg este discutat în detaliu în (Falconer și Mackay, 1996). În cazul alelelor multiple se demonstrează că frecvențele din echilibrul Hardy-Weinberg sunt păstrate după o generație de împerechere la întâmplare indiferent de frecvența genotipurilor la părinți. Dacă toate alelele sunt co-dominante, astfel toate genotipurile sunt reflectate în fenotipuri, frecvența genelor se poate determina din fenotipuri prin simplă numărare. Dacă una sau mai multe gene sunt recesive, frecvența genelor nu poate fi obținută prin numărarea alelelor ci trebuie estimată prin metoda maximizării șansei (maximum-likelihood) - (Weir, 1990). În ceea ce privește genele legate de cromozomii de sex s-a stabilit că legătura dintre frecvența genelor și frecvența genotipurilor la sexul homogamic este aceeași ca și la genele autosomale; sexul heterogamic însă prezintă numai 2 genotipuri fiecare individ purtând o singură genă în loc de două. Astfel,  $\frac{2}{3}$  din genele legate de sex din populație sunt purtate de sexul homogamic și  $\frac{1}{3}$  de sexul heterogamic. Distribuția genelor între cele două sexe oscilează, însă diferența este înjumătățită în generații succesive, încât populația se apropie rapid de echilibru în care frecvențele la cele două sexe sunt egale. În cazul prezenței locilor multipli atingerea echilibrului în frecvența genotipurilor după o generație de împerechere la întâmplare este adevărată pentru locii autosomali considerați separat și dezechilibrul înlănțuit se poate identifica în populații naturale între loci între care recombinarea nu a avut suficient timp să împrăștie dezechilibrul inițial.

## CARACTERE CANTITATIVE

Caracterul este definit ca atribut al unui individ dintr-o populație prin care el diferă de alți indivizi din altă populație sau taxon; orice particularitate morfologică, fiziologică sau biochimică a unui individ sau grup de indivizi, care este determinată de o genă sau un grup de gene în interacțiune cu condițiile de mediu.

Caracterele unei plante, determinate de baza ereditară în interacțiune cu condițiile de mediu, pot fi clasificate în: ■ calitative (sau attribute) - reprezentate de diferențele marcante dintre indivizi datorită cărora aceștia pot fi grupați în câteva clase distincte, calitativ diferite, între care nu există forme intermediare; exemple de caractere calitative constituie culoarea florilor la mazăre (albă sau violetă), forma fructelor la tomate (rotundă sau alungită), habitusul plantelor de fasole (urcătoare sau pitice) etc; ■ cantitative sunt reprezentate de diferențe între indivizi privitoare la însușiri și caractere ce pot fi exprimate numeric și pentru care există o succesiune continuă de valori intermediare între valorile extreme; astfel de caractere sunt: mărimea fructelor la tomate sau la pomii fructiferi, numărul de păstăi pe plantă la mazăre și fasole, producția pe plantă, producția la unitatea de suprafață, conținutul fructelor în zahăr, aciditate etc.

Caracterele cantitative studiate de diferiți cercetători pot fi sumarizate astfel (Wynn și colab., 2000; Jolivet și Bernasconi, 2007; Noel și colab., 2007; Moyle, 2007; Foster și colab., 2003; Lou și colab., 2007; Brewer și colab., 2007; Chaïb și colab., 2007; Zhang și colab., 2007; Bratteler și colab., 2006; Bertin și colab., 2003; Comes, 1998; Linde și colab., 2001):

- dimensiunea trunchiului; înălțimea plantei (înălțimea de la sol până la punctul cel mai superior al plantei la înflorire - cm); diametrul tulpinii la nivelul solului, diametrul tulpinii la 1 cm de sol (o măsurătoare la începutul înfloririi și a doua la sfârșitul înfloririi); numărul de ramificații bazale la sfârșitul înfloririi;
- dimensiunea pețiolului; dimensiune rahisului;
- numărul frunzelor; lungimea celei mai mari frunze; lățimea celei mai mari frunze; grosimea pețiolului primei frunze; lățimea pețiolului primei frunze; numărul frunzelor verzi din coroană; numărul de frunze înainte de înflorire; aria frunzei; indexul frunzei; conținutul de clorofilă al frunzei, indexul stromal al frunzei, numărul celulelor epidermale per frunză; dimensiunea internodală (cm); greutatea frunzelor uscate; greutatea frunzelor neuscate; numărul ramificațiilor laterale de pe trunchiul primar; lungimea maximă internodală pe trunchi;
- vârsta la prima înflorire (numărul de zile între germinare și înflorire); proporția indivizilor înfloriți (în intervalul de 115 zile de la însămânțare); numărul florilor; diametrul corolei (lățimea maximă în mm în diametrul cel mai mare), distanța (mm) dintre suprafața stigmatului și conul anterei; distanța dintre vârful petalei și cel mai apropiat nod interpetală; distanța cea mai mică (mm) de la nodul petalei la baza florii; lungimea rahisului (distanța de la tulpină la "pedicel"-ul florii terminale), numărul de petale, numărul de sepale, numărul inflorescențele vegetative meristem; diametrul meristemului;

numărul de flori per inflorescență; numărul de petale la începutul înfloririi; înălțimea inflorescenței la începutul înfloririi; diametrul rozetei la începutul înfloririi; numărul de fructe sterile în primele 18 flori;

- proporția de germinare a semințelor; timpul de germinare (numărul de zile între însămânțare și germinare); numărul achene-lor; numărul de semințe per achene; numărul de semințe per individ; numărul de indivizi;
- lungimea seminței; lățimea seminței; culoarea seminței; greutatea seminței;
- sexul urmașilor;
- înălțimea tulpinii; numărul de tulpini;
- numărul de ramificații;
- legume, fructe: indexul de formă (lungimea maximă / lățimea maximă); lățimea capetelor terminale; forma miezului (3 caracteristici: locația lățimii maxime, înălțimea "umărului", forma conică); unghiul distal al fructului; caracteristici fizice (greutate, culoare, fermitate, elasticitate totală); morfologia fructului (numărul "locule", procentul ariei ocupate de "locule", grosimea relativă a pericarpului raportat la aria totală); greutatea și diametrul fructelor proaspete; conținutul în materie al fructului uscat; numărul celulelor pericarpice; conținutul de ADN și numărul de straturi celulare din pericarp.

## MECANISMELE TRANSMITERII CARACTERELOR

Transmiterea ereditară a caracterelor cantitative e guvernată de 3 legi fundamentale ale geneticii: ■ legea purității gameților; ■ legea liberei segregări a caracterelor; ■ legea moștenirii înlănțuite a caracterelor.

Ereditatea caracterelor calitative, așa cum a fost prezentată mai sus, reprezintă un model mult simplificat. În realitate lucrurile sunt mult mai complicate. Fenomenele genetice ■ pleiotropia, ■ epistazia, ■ prezența genelor modificatoare, ■ penetranța, ■ expresivitatea, ■ linkajul precum și ■ interacțiunea genotipului cu mediul pot modifica rapoartele de segregare așteptate pentru un caracter calificativ cu un determinism ereditar relativ simplu. Astfel de modificări au, bineînțeles, repercusiuni asupra eficienței muncii de ameliorare.

## GENETICA CANTITATIVĂ ÎN HORTICULTURĂ: RAPORTAREA REZULTATELOR

S-a realizat un studiu în scopul identificării estimatorilor și metodelor statistice și matematice în raportarea modelelor de genetică cantitativă în horticultură: ■ Încadrarea în timp: Iunie 2008; Baza de date în care s-a realizat căutarea: ■ Oxford Journals; ■ Cuvinte cheie: Quantitative genetic\* (Abstract | Title; words: all); ■ Domeniul jurnalelor: Științele Vieții, Matematică și fizică; ■ Anul publicării: Noiembrie 1849 - Septembrie 2008; ■ Limitarea rezultatelor: include toate articolele; ■ Formatul rezultatelor: standard & sortat după cea mai bună potrivire cu cuvintele cheie de căutare.

Prin aplicarea criteriilor enumerate mai sus a fost identificat un număr de patru sute treizeci și cinci de titluri. Criteriile de includere a articolului în studiul realizat au fost următoarele: ■ Metoda: genetică cantitativă; ■ Subiectul: horticultură (arboricultură, floricultură, oleicultură, pomologie, viticultură și peisagistică); ■ Tipul de articol: cercetare originală; ■ Tipul de acces: acces la articolul complet.

Pentru articolele care au îndeplinit criteriile de includere în studiu au fost investigate următoarele variabile: ■ Cuvinte cheie: primele cinci pentru articolele care au avut mai mult de 5 cuvinte cheie; ■ Estimatori statistici descriptivi: medie, deviație standard, amplitudine, maxim, minim, frecvențe (absolută, relativă, distribuția de frecvență), heritabilitate, analiza varianței, maparea locusului caracterului cantitativ, analiza de corelație (coeficientul de corelație și de determinare), coeficientul de variație, alte teste statistice, programe utilizate în analiza datelor și prezentarea rezultatelor.

Datele au fost sumarizate utilizând programul Microsoft Excel. Intervalele de confidență asociate frecvențelor au fost calculate cu o metodă bazată pe distribuția binomială (Drugan și colab., 2003; Bolboacă și Achimaș Cadariu, 2003). Principalele rezultate obținute sunt prezentate și discutate în continuare: ■ Treizeci și cinci de articole (8.05%, 95% CI [5.75 – 11.03], unde 95% CI = 95% intervalul de confidență de 95% asociat frecvenței relative) au îndeplinit criteriile de includere în studiu. ■ Trei din cele 35 de articole clasificate ca articole originale s-au dovedit a fi aplicații software destinate analizei de genetică cantitativă: QTLNetwork 2.0 (Yang și colab., 2007), maparea epistazisului genom-genom (Cui și Wu, 2005) și QU-GENE (Podlich și Cooper, 1998).

Distribuția în funcție de domeniul cercetat a modelelor de genetică cantitativă este redată în Tabelul 1.

De remarcat este faptul că deși plaja de publicare a fost largă (începând cu 1849) cel mai vechi articol care a îndeplinit criteriile de includere a fost publicat în 1994 și ~ 34% au fost publicate în 2007. Acest trend poate fi explicat de accesul limitat la articole complete publicate mai devreme de 1994 în cadrul bazei de date Oxford Journals.

Analiza cuvintelor cheie utilizate a arătat că 10 in cele 35 de articole care au îndeplinit criteriile de includere și excludere din studiu (28.57%, 95% CI [14.37 – 45.63]) nu include nici un cuvânt cheie cu toate că articolele au fost încadrate ca și raportări ale cercetărilor originale. Absența cuvintelor cheie la aceste articole poate fi explicată de politica de publicare și cerințele pentru autori a jurnalelor respective. Cincisprezece cuvinte cheie au apărut la mai multe articole. Topul celor mai frecvente trei cuvinte cheie a este: loci ai caracterelor cantitative (*quantitative trait loci* - 12 apariții), polimorfism pe lungime de fragmente amplificate (*amplified fragment length polymorphism* - 4 apariții), dezvoltare (*development*) și analiza componentelor principale (*principal component analysis*) - 3 apariții. Următoarele cuvinte cheie au fost identificate ca apărând de 2 ori în cadrul articolelor investigate: măr (*apple*), *Arabidopsis*, domesticire (*domestication*), timp de înflorire (*flowering time*), variație genetică (*genetic variation*), *Phaseolus vulgaris* și *Solanum lycopersicum*.

Diversitatea mare a domeniilor de cercetare ale articolelor incluse în analiză explică absența unor frecvențe mai mari în cadrul cuvintelor cheie. Cel mai frecvent cuvânt cheie identificat a fost QTL (*quantitative trait loci/locus*) cu o tendință de creștere a aparițiilor în ultimii ani. Această metodă se pare că este frecvent utilizată în diferite domenii de cercetare chiar dacă limitele acesteia sunt cunoscute: heritabilitatea asociată QTL-urilor individuale este o fracție mică din heritabilitatea caracterului de interes, cel mai frecvent sub 50% (Kearsey, 1998); când mediul și interacțiunea acestuia cu genotipul afectează considerabil fenotipul unui caracter eficacitatea QLT poate să fie mică; acuratețea analizei QLT este influențată de: metodologia de cercetare (ex. tipul de segregare, dimensiunea eșantionului sau a populației, heritabilitatea caracterului de interes, nivelul de polimorfism al markerilor AND, metoda statistică folosită pentru realizarea hărții de legătură și analiza QTL (Carbonell și Asíns, 1996), numărul de contributory la varianța genotipică pentru fiecare locus, procentul de markeri codominanți, încrederea ordinii markerilor în harta de legătură, evaluarea caracterului, etc. (Asíns, 2002).

Analiza estimatorilor și parametrilor statistici utilizați în articole investigate a pus în evidență următoarele: ■ Distribuția datelor, exprimată ca frecvență absolută sau relativă (frecvență relativă cumulată crescător) și reprezentarea grafică a acesteia a fost identificată în ~ 69% din articole (95% CI [51.51 – 82.78]). ■ Estimatorii centralității cel mai frecvent utilizați au fost media (aritmetică sau armonică), eroarea standard a mediei, minim, maxim cu o apariție de ~ 66% (95% CI [48.65 – 79.92]) în articolele investigate. ■ Coeficientul de corelație și determinare sunt folosiți pentru cuantificarea legăturii dintre caractere. Patruzeci și patru la sută din articolele investigate utilizează acești estimatori dar metoda folosită în calcul (Pearson, Spearman, Kendall, Gamma) este specificată doar în șase articole (~ 32%, 95% CI [10.80 – 57.62]). ■ Diferite metode de realizare a hărților pentru loci ai caracterelor cantitative au fost folosite în șase articole (~ 46%, 95% CI [28.65 – 62.78]). ■ Analiza varianței a fost aplicată în 13 articole (37%, 95% CI [20.08 – 54.20]). Indicele de heritabilitate a fost raportat în 8 articole (~ 23%, 95% CI [11.51 – 39.92]). Coeficientul de variație a fost raportat în 4 articole (11%, 95% CI [2.94 – 25.63]). ■ ~ 49% din articolele incluse în studiu au raportat folosirea uneia din următoarele metode inferențiale: ANOVA sau ANCOVA, Bonferroni, chi-square, Testul Student, regresia liniară sau logistică, testul Kruskal-Wallis, testul Wilcoxon, testul Tukey, testul Mantel, testul Mann-Withney, testul Duncan, analiza factorilor, analiza componentelor principale. ■ Metodele statistice raportate în analiza QTL include: testul Student, analiza varianței (ANOVA), regresia liniară, valori ale probabilităților, procentul variației fenotipice explicată de QTL, etc. (Collard și colab., 2005).

**Tabelul 1.**

Distribuția pe domenii și specii a articolelor științifice incluse în studiu

Domeniul	Specie
Floricultură	<i>Stylosanthes scabra</i> (Thumma și colab., 2001) <i>Arabidopsis thaliana</i> (Menga și colab., 2008) <i>Silene latifolia</i> (Jolivet și Bernasconi, 2007; Meagher și colab., 2005) <i>Ranunculus nodiflorus</i> (Noel și colab., 2007) <i>Arabidopsis</i> (Pouteau și colab., 2006) <i>Anemones</i> (Zamer și colab., 1999)

		<i>Silene vulgaris</i> (Bratteler și colab., 2006) <i>Convolvulus arvensis</i> L. (Westwood și colab., 1997) <i>Scenico vulgaris</i> L. (Comes, 1998) <i>Primula sieboldii</i> (Yoshioka și colab., 2004) <i>Capsella bursa-pastoris</i> L. (Linde și colab., 2001) <i>Arabidopsis thaliana</i> (Jönsson și colab., 2005)
Cultura legumelor	Cartof	<i>Solanum tuberosum</i> L. (Ortiz și Peloquin, 1994; Fernández-del-Carmen și colab., 2007)
	Roșie	Unspecified (Seymour și colab., 2002)
		<i>Lycopersicon</i> (Moyle, 2007)
		<i>Solanum lycopersicum</i> & <i>Solanum pimpinellifolium</i> (Brewer și colab., 2007; Chaïb și colab., 2007)
		<i>Lycopersicon esculentum</i> (Causse și colab., 2002; Bertin și colab., 2003)
		<i>Solanum lycopersicum</i> , <i>Solanum pennelli</i> (Bermúdez și colab., 2005)
	Salată	<i>Lactuca sativa</i> & <i>Lactuca serriola</i> acc. (Zhang și colab., 2007) <i>Lactucosonchus webbii</i> and <i>Sonchus radicans</i> (Kim, 2007)
Mazăre	<i>Pisum sativum</i> (Weeden, 2007)	
Fasole		<i>Phaseolus vulgaris</i> (Papa și colab., 2007)
		<i>Brassica rapa</i> (Lou și colab., 2007)
Cultura fructelor		Piersica ( <i>Prunus davidiana</i> & <i>P. persica</i> L. Batsch) (Quilot și colab., 2005) Măr (Unspecified) (Foster și colab., 2003) Căpșuni ( <i>Fragaria</i> ) (Sargent și colab., 2004)
Viticultură		<i>Vitis vinifera</i> (Abbal și colab., 2007)
Arboricultură		<i>Metroxylon sagu</i> (Kjâr și colab., 2004) <i>Peridium aquilinum</i> L. (Wynn și colab., 2000) <i>Quercus laevis</i> (Klaper și colab., 2001) <i>Manihot esculenta</i> (Cach și colab., 2005)

Heritabilitatea, rația variației genetice aditive raportat la variația fenotipică (Nyquist, 1991; Holland și colab., 2003) par a-și fi pierdut importanța datorită imposibilității de generalizare a rezultatelor (Hallauer, 2007). Majoritatea articolelor raportează rezultate experimentale primare dar există și o serie de lucrări care raportează rezultate secundare în urma coletării datelor experimentale din baze de date: Genoscope<sup>1</sup>; National Center for Biotechnology Information databases<sup>2</sup>; ExPaSy<sup>3</sup>; Unigene<sup>4</sup>; Solanaceae Genomic Network<sup>5</sup>; WU-BLAST<sup>6</sup>; KEGG<sup>7</sup>; SGN<sup>8</sup>; Brassica rapa<sup>9</sup>. Trei programe statistice au fost raportate ca fiind utilizate în analiza datelor: JMP V 5.1<sup>10</sup>, SPSS<sup>11</sup> și MVSP 3.1<sup>12</sup>. Paisprezece programe dedicate (2 de prelucrare a imaginilor și 12 de analiză QTL) au fost raportate ca fiind utilizate în analiza și raportarea rezultatelor: Scion Image<sup>13</sup>; Irfanview<sup>14</sup>; BLASTX<sup>15</sup>; BLASTN 2.0 MPWashU<sup>16</sup>;

<sup>1</sup> [http://www.cns.fr/cgi-bin/blast\\_server/projet\\_ML/blast.pl](http://www.cns.fr/cgi-bin/blast_server/projet_ML/blast.pl)

<sup>2</sup> <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<sup>3</sup> <http://www.expasy.org/>

<sup>4</sup> <http://www.sgn.cornell.edu>

<sup>5</sup> <http://www.sgn.cornell.edu/>

<sup>6</sup> <http://blast.wustl.edu>

<sup>7</sup> <http://www.genome.jp/kegg/>

<sup>8</sup> <http://www.sgn.cornell.edu>

<sup>9</sup> <http://www.Brassica-rapa.org>

<sup>10</sup> <http://www.jmp.com/>

<sup>11</sup> <http://www.spss.com/>

<sup>12</sup> <http://www.kovcomp.co.uk/mvsp/>

<sup>13</sup> <http://rsb.info.nih.gov/nih-image>

<sup>14</sup> <http://www.irfanview.com>

<sup>15</sup> <https://pdc.usace.army.mil/software/blastx>

<sup>16</sup> <http://blast.wustl.edu>

MAPMAKER<sup>17</sup>; Joinmap<sup>18</sup>; MAPQTL<sup>19</sup>; MapChart<sup>20</sup>; Genescan<sup>21</sup>; Genotyper; Genstat<sup>22</sup>; FDIST2<sup>23</sup>; Tomato Analyser<sup>24</sup>; QTL Cartographer<sup>25</sup>. Din analiza articolelor evaluate rezultă că metodele statistice sunt utilizate în raportarea rezultatelor cercetărilor din toate domeniile horticulturii cu o frecvență mai mare în creșterea legumelor și floricultură. Limita majoră a prezentei cercetări este reprezentată de investigarea doar a articolelor din Oxford Journals. O altă limită a prezentei cercetări este determinată de accesul limitat la întreg conținutul articolului, unele articole necesitând plățirea consultării lor. Analiza doar a datelor obținute din abstracte nu a fost considerată viabilă datorită informației sumare care putea fi obținută din acestea.

Principalele concluzii ale studiului au fost: ■ Metoda cea mai utilizată în raportarea rezultatelor cercetărilor de genetică cantitativă este analiza QTL cu toate că limitele acesteia sunt bine cunoscute. ■ Mai mult de jumătate din studiile analizate nu raportează nici o metodă statistică inferențială în raportarea rezultatelor. ■ Rezultatele prezentului studiu nu permit indicarea trendului de utilizare a estimatorilor și testelor statistice în raportarea rezultatelor cercetărilor de genetică cantitativă datorită studierii unei singure baze de date. Studiul realizat a fost valorificat într-o publicație: (Bolboacă și colab., 2008).

---

<sup>17</sup> <http://www.mapmaker.com>

<sup>18</sup> <http://www.kyazma.nl/index.php/mc.JoinMap/>

<sup>19</sup> <http://www.kyazma.nl/index.php/mc.MapQTL/>

<sup>20</sup> <http://www.biometris.wur.nl/uk/Software/MapChart/>

<sup>21</sup> <http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>

<sup>22</sup> <http://www.vsni.co.uk/products/genstat/>

<sup>23</sup> <http://www.rubic.rdg.ac.uk/~mab/software.html>

<sup>24</sup> <http://www.oardc.ohio-state.edu/vanderknaap/>

<sup>25</sup> <http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>

## CONTRIBUȚII PERSONALE

### SCOP ȘI OBIECTIVE

**Scop:** Tratarea unitară a conceptului de variabilitate implicând modele de variabilitate, analiza statistică și interpretarea genetică cantitativă într-o serie de aplicații horticole de interes.

**Obiectiv general:** Realizarea de ghiduri de analiză a variabilității genetice.

**Obiective specifice:**

- Realizarea ghidului pentru proiectarea optimală a experimentului horticol în funcție de obiectivul studiului.
- Analiza variabilității în hibridările dialele: ■ completă, ■ parțială - directă și autopolenizare; ■ parțială - directă și reciprocă, ■ parțială - directă. Un singur model de analiză este redat aici, teza în extenso cuprinzând însă toate modelele.

### PROIECTAREA OPTIMALĂ A EXPERIMENTULUI FUNCȚIE DE OBIECTIVUL STUDIULUI

Principalele caracteristici ale unui experiment bine planificat sunt următoarele (Cocs, 1958; Cocs și Reid, 2000):

- *Gradul de precizie.* Probabilitatea trebuie să fie mare dacă experimentul este capabil să măsoare diferențe cu un grad de precizie dorit. Aceasta necesită un design adecvat și replicare suficientă.
- *Simplicitatea.* Designul trebuie să fie cât mai simplu posibil în concordanță cu obiectivele experimentului.
- *Absența erorilor sistematice.* Unitățile experimentale care primesc un tratament nu trebuie să difere în mod sistematic față de unitățile experimentale care primesc alt tratament astfel încât să se obțină o estimare fără eroare a fiecărui tratament investigat.
- *Gama de valabilitate a concluziilor.* Un experiment replicat în timp și spațiu va determina creșterea validității unei concluzii. Randomizarea este o altă modalitate de a crește validitatea concluziilor unui experiment și de eliminare a potențialelor erori experimentale.
- *Calcularea gradului de incertitudine.* Experimentul trebuie elaborat astfel încât să fie posibilă calcularea posibilității de obținere a rezultatului așteptat datorat exclusiv șansei.

Ipoteza cercetării este o asumție care poate fi testată prin compararea rezultatului așteptat cu rezultatul obținut în urma experimentului. În designul experimentului trebuie luate în considerare următoarele principii de bază necesare testării unei ipoteze:

- *Mărimea studiului:* numărul de replicări (numărul de unități experimentale asupra cărora se aplică același design experimental; pe baza acestora se poate calcula precizia și eroarea experimentală), volumul și forma unităților experimentale.
- *Tipul și numărul măsurătorilor:* aparatura disponibilă, precizia și acuratețea măsurătorilor, definirea în timp a acțiunii de măsurare, resursele financiare disponibile.

Precizia unei măsurători este asociată cu eroarea de randomizare și poate fi îmbunătățită prin creșterea volumului eșantionului. Precizia, sensibilitatea sau cantitatea de informație e măsurată ca și reciproca varianței mediei:

- Populația:  $I = n/\sigma^2$
- Eșantionul:  $I = (n_1+1)/[(n_1+3) \cdot s^2]$ , unde  $(n_1+1)/(n_1+3)$  este factorul de corecție care tinde la infinit dacă  $(n_1+1)/(n_1+3)=1$ .
- Acuratețea este asociată cu conceptul de bias (eroare) sau eroare sistematică; este în relație cu metoda de măsurare sau cu aparatul utilizat. Acuratețe versus precizie: nu trebuie confundată acuratețea unui experiment cu precizia acestuia. Acuratețea indică apropierea rezultatului măsurat de valoarea adevărată în timp ce precizia indică repetabilitatea și reproductibilitatea măsurătorii.
- *Tratamentul*: tipul tratamentului, nivelele de tratament și numărul acestora. Pentru cele mai multe desin-uri de experiment se presupune că observația obținută când un anumit tratament se aplică la o anumită unitate experimentală ca o cantitate ce depinde doar de unitatea experimentală sumată cu o cantitate ce depinde de tratament. Punctele esențiale ale acestei asumptii sunt:
  - Termenul tratament se adună la termenul unitate experimentală mai degrabă decât să se înmulțească;
  - Efectele tratamentului sunt constante;
  - Observarea unei unități experimentale nu este afectată de tratamentul aplicat altor unități experimentale. Un tip particular de tratament este controlul, inclus în multe cercetări pentru a permite verificarea efectelor tratamentelor (ex. tratament standard). Tipul și nivelele de tratament sunt importante mai ales când tratamentele sunt cantitative. Alegerea numărului de nivele și a distanțelor sunt importante în determinarea naturii răspunsului (ex. răspuns liniar sau curb).
- *Atribuirea tratamentelor fiecărei unitate experimentală*: randomizare completă, randomizare restricționată. Randomizarea se realizează cu scopul asigurării unei estimări valide a erorii experimentale, a mediilor tratamentelor și a diferenței dintre acestea. Randomizarea minimizează posibilitatea apariției erorilor experimentale crescând astfel acuratețea estimării și garantând că, în medie, erorile vor fi distribuite independent.
- *Controlul erorilor*: realizat prin tehnica blocurilor, utilizarea observațiilor concomitente, alegerea mărimii și formei unităților experimentale, controlul mediului prin utilizarea camerelor de creștere sau a serelor. Controlarea erorilor experimentale se realizează prin design-ul experimentului astfel încât variațiile naturale ale unui set de unități experimentale sunt controlate în așa fel încât să nu contribuie la diferența dintre mediile tratamentelor.
- *Precizia relativă* a designului care implică puține tratamente. Eficiența relativă a unui designului 1 față de designul 2 e calculată ca și rata volumului de informații în cele două modele experimentale:

$$ER_{1 \text{ fata de } 2} = \frac{(n_1 + 1)/[(n_1 + 1) \times s_1^2]}{(n_2 + 1)/[(n_2 + 1) \times s_2^2]}$$

### **Material și Metodă - Analiza varianțelor cu testul ANOVA**

Testul ANOVA se poate aplica pentru a testa două ipoteze diferite: ipoteza egalității varianțelor și ipoteza egalității mediilor, ambele ipoteze cu utilitate practică în analiza datelor experimentale horticole. Asumpțiile testului în cazul designului de tip complet randomizat sunt: ■ Efectele de aditivitate (*Tratamentul este constant în cazul repetării și efectele repetării asupra tratamentului este constant*); ■ Independența erorilor (*auto-corelație*); ■ Distribuția normală a erorilor – testele Jarque-Bera (Jarque și Bera, 1980; 1981), Chi-Square (Pearson, 1900), Kolmogorov-Smirnov (Kolmogorov, 1941), Anderson-Darling (Anderson și Darling, 1952), și/sau Shapiro-Wilk (Shapiro și Wilk, 1968; Shapiro și colab., 1968); ■ Omogenitatea varianței - testul Levene (Levene, 1960).

Aplicarea testului ANOVA ca test statistic utilizat în analiza datelor experimentale horticole s-a realizat pentru următoarele tipuri de metode experimentale:

- Designul de tip blocuri complet randomizate. În acest tip de experiment se pleacă de la asumția că unități experimentale sunt uniforme (Bolboacă și colab., 2009) și că populația de unități experimentale poate fi împărțită într-un număr relativ omogen de sub-populații numite blocuri. Tratamentul este ulterior asignat prin randomizare unităților experimentale astfel încât fiecare tratament să apară cu aceeași frecvență în fiecare bloc (uzul o singură dată) și fiecare bloc să conțină toate tratamentele.
- Designul de tip pătrat latin și pătratul latin repetat (ANOVA bi-factorial). Acest tip de design experimental se aplică ori de câte ori se dorește îndepărtarea a două surse de variație din erorile experimentale prin crearea de blocuri pe două dimensiuni. Randomizarea tratamentelor este astfel restricționată de gruparea per coloane și rânduri. Fiecare rând și fiecare coloană primește un tratament o singură dată. Pătratul latin în care tratamentele sunt asignate în ordine începând cu primul rând și prima coloană se numește pătrat latin standard.
- Designul de tip cuib (sub-eșantionarea). Se aplică când se dorește să se realizeze mai multe observații pentru fiecare unitate experimentală, unitate asupra căreia se aplică un tratament. Aceste observații se realizează pe sub-eșantioane sau eșantioane ale unităților. Aceasta se realizează prin analiza de varianță a cuiburilor (*nested analysis of variance / nested ANOVA*). Analiza ANOVA de tip cuib se aplică pentru a:
  - Stabili magnitudinea erorilor în diferite etape ale unui experiment.
  - Estima magnitudinea variației care poate fi atribuită diferitelor nivele de variație într-un studiu de genetică cantitativă.
  - A identifica sursele de variație în populații naturale a sistemului studiat.
- Experimentul factorial. investigarea efectului unui număr de variabile sau factori asupra unui răspuns Y. În trecut factorii erau studiați ca și factor unic per experiment. Fisher însă a evidențiat avantajele combinării într-un experiment a mai multor factori într-un experiment factorial (unic)- (Fisher, 1926). În designul factorial cercetătorul compară toate tratamentele care pot fi formate prin combinarea nivelelor diferiților factori.

**Rezultatele și discuții - Designul complet randomizat vs blocuri complet randomizate**

Rezultatele pentru toate tipurile de metode experimentale specificate anterior sunt prezentate în teză, aici s-au prezentat doar pentru designul complet randomizat și blocuri complet randomizate.

*Problema statistică.* Se dorește compararea a trei cultivare cu patru repetiții. Se știe că nivelul nativ N al solului în câmpul experimental variază de la înalt (granița de nord) la slab (granița de sud). Se așteaptă ca producția să varieze de la o granița la cealaltă. Aceasta nu îndeplinește asumția că erorile sunt identic distribuite; erorile tind să fie negative pe o graniță și pozitive pe cea opusă. Pentru designul de tip complet randomizat metoda experimentală este prezentată în schema următoare:

1	2	3	↑N
4	5	6	
7	8	9	
10	11	12	

Câmpul experimental poate fi divizat în 4 blocuri cu trei parcele fiecare (solul fiind astfel uniform în cele 4 blocuri. În aceste condiții fiecare parcelă are o șansă egală de a fi aleasă pentru fiecare tratament; dar în cadrul fiecărui bloc un număr fix de parcele (de obicei egal cu 1) va fi ales pentru fiecare tratament:

Bloc 1	1 (B)	2 (A)	3 (C)	↑N
Bloc 2	4 (A)	5 (B)	6 (C)	
Bloc 3	7 (A)	8 (C)	9 (B)	
Bloc 4	10 (A)	11 (C)	12 (B)	

Modelul matematic. Observabila Y cumulează pe lângă medie ( $\mu$ ) efecte ale tratamentului ( $\tau$ ) și blocului ( $\beta$ ) după modelul:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

unde  $\tau_i$  reprezintă valoarea medie asociată tratamentului  $i$ ,  $i = 1, \dots, t$  (număr total de tratamente),  $\beta_j$  reprezintă eroarea asociată blocului  $j$ ,  $j = 1, \dots, r$  ( $r =$  număr total de blocuri, 1 tratament per bloc).

Asumții ale modelului:

- Design de tip complet randomizat: erorile sunt independente, omogene și normal distribuite.
- Design de tip blocuri complet randomizate: nu există interacțiuni (aditivitatea efectului primar sau major).

*ANOVA.* Formulele generice de calcul pentru testul ANOVA asociat design-ului complet randomizat este prezentat în Tabelul 2 iar pentru designul de tip blocuri complet randomizate este prezentat în Tabelul 3 (în ambele cazuri există un singur factor de urmărit).

**Tabelul 2.**

ANOVA generic pentru designul de tip complet randomizat (un factor)

Sursa	df	SS	MS	F
Tratamente	t - 1	SST	SST/(t-1)	MST/MSE

Erori	$t(r - 1)$	SS - SST	SSE/ $t(t-1)$	
Total	$rt - 1$	SS		

df = grade de libertate; SS = suma pătratelor erorilor; MS = media pătratelor erorilor;  
F = statistica Fisher; r = numărul de blocuri; t = numărul de tratamente

**Tabelul 3.**

ANOVA pentru designul de tip blocuri complet randomizate (un factor)

Sursa	df	SS	MS	F
Blocuri	$r - 1$	SSB	SSB/ $(r-1)$	
Tratamente	$T - 1$	SST	SST/ $(t-1)$	MST/MSE
Erori	$(r-1)(t-1)$	SS-SST-SSB	SSE/ $(r-1)(t-1)$	
Total	$rt - 1$	SS		

df = grade de libertate; SS = suma pătratelor erorilor; MS = media pătratelor erorilor;  
F = statistica Fisher; r = numărul de blocuri; t = numărul de tratamente

Următoarele observații se pot desprinde din analiza generică a tabelelor ANOVA pentru cele două tipuri de design experimental:

- Există mai puține grade de libertate pentru erori în designul de tip blocuri complet randomizate în comparație cu designul complet randomizat  $((r-1)(t-1)$  vs  $t(r-1)$  (diferența constă în  $(r-1)$  grade de libertate).
- Dacă designul de tip blocuri complet randomizate se aplică unui experiment în care între blocuri nu există nici o diferență semnificativă (ex. nu există efect de bloc semnificativ), MSE pentru designul de tip randomizare completă va fi mai mic decât MSE pentru designul de tip blocuri complet randomizate datorită diferenței gradelor de libertate.
- Designul complet randomizat are o valoare critică F mai mică decât designul blocuri complet randomizate deoarece acesta din urmă are valoarea mai mare la gradele de libertate. Mai mult, dacă nu există diferență semnificativă statistic între blocuri  $MSE_{(design\ complet\ randomizat)} = MSE_{(design\ de\ tip\ blocuri\ complet\ randomizate)}$ . Cu alte cuvinte,  $F_{critic}$  al designului de tip blocuri complet randomizate mută pragul de respingere al ipotezei nule mai departe de media (0) în comparație cu designul de tip complet randomizat. Această schimbare a poziției pragului de respingere influențează eroarea de tip II ( $\beta$ ) și respectiv puterea testului  $(1-\beta)$ . Astfel, probabilitatea acceptării unei ipoteze nule false ( $\beta$ ) va fi mai mică pentru un design complet randomizat în comparație cu valoarea pentru un design de tip blocuri complet randomizate (designul de tip complet randomizat este mai puternic (valoare mai mare pentru  $1-\beta$ )).

**Concluzii parțiale – designul complet randomizat și blocuri complet randomizate**

- Designul de tip blocuri complet randomizate se recomandă a fi utilizat pentru a îmbunătăți abilitatea unui experiment de detectare a efectelor reale a tratamentului prin îndepărtarea surselor de variație (blocuri) din erorile experimentale.
- Designul de tip pătrat latin se utilizează când se dorește îndepărtarea din erorile experimentale a două surse de variații.
- Eficiența relativă este un parametru statistic util în identificarea metodei experimentale care să permită obținerea rezultatelor de interes.

- Designul de tip complet randomizat este mai puternic în comparație cu designul de tip blocuri complet randomizate (valoare mai mare pentru  $1-\beta$ ) în analiza variabilității genetice deoarece probabilitatea acceptării unei ipoteze nule false este mai mică.

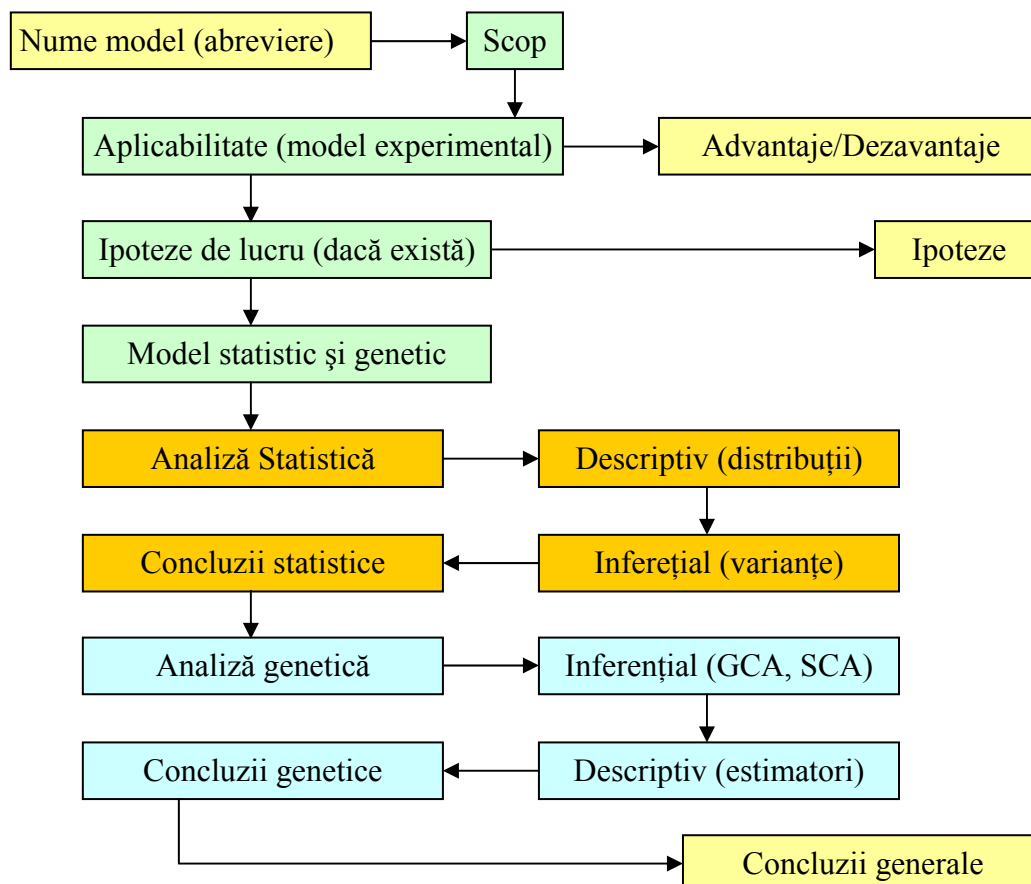
**STRUCTURA GENERICĂ A GHIDULUI DE ANALIZA VARIABILITĂȚII GENETICE**

Crearea ghidurilor de analiză statistică și genetică a variabilității caracterelor cantitative s-a realizat prin parcurgerea următorilor pași:

- Definirea conceptului și identificarea utilizatorilor. Principalele obiective ale ghidului sunt:
  - Îmbunătățirea cunoștințelor de analiză statistică și genetică în evaluarea variabilității caracterelor cantitative;
  - Crearea unui îndrumător care să permită analiza corectă a datelor experimentale;
  - Îmbunătățirea procesului de raportare și interpretare statistică și genetică în analiza datelor rezultate din hibridări dialele în horticultură.
- Identificarea și sumarizarea metodelor de analiză statistică (statistică descriptivă și inferențială) & genetică.

Analiza	Statistică	Genetică
Descriptiv (definiție, aplicabilitate, interpretare, limite)	10 estimatori	11 estimatori
Inferențial (definiție, avantaje, condiții de aplicare)	8 metode	Analiza genetică în hibridarea dialelă

- Crearea recomandărilor de interpretare statistică și genetică.
- Modelul șablon propus:



- Validarea modelului șablon: s-a aplicat pentru analiza datelor experimentale rezultate din hibridarea dialelă completă și parțială (directă și autopolenizare; directă și reciprocă și directă).

### ANALIZA VARIABILITĂȚII GENETICE ÎN HIBRIDAREA DIALELĂ PARȚIALĂ - DIRECTĂ ȘI RECIPROCĂ

**Denumire model / Abreviere:** Modelul experimental III al lui Griffing / Griffing III

**Scop:** Analiza variabilității genetice în hibridări directe și reciproce, fără autopolenizări.

**Avantaje / Dezavantaje:**

- Se poate aplica în hibridări directe și reciproce (Griffing, 1956a; 1956b).
- Permite evaluarea capacității generale și specifice de combinare, a efectului matern și a efectelor interacțiunilor materne (Kaushik și Puri, 1985).

**Aplicabilitate (design experimental):**

- Design complet randomizat (Talebi și Subramanya, 2009).
- Design optimal (Ghosh și Das, 2004).
- Design blocuri echilibrate (Kumar Sharma și Fanta, 2009).

#### Material și metodă

Modelul matematic aplicat în analiza variabilității genetice în hibridarea dialelă cu încrucișări directe și reciproce între genitori, fără autopolenizări, este cunoscut și ca modelul experimental Griffing III (Griffing, 1956a; 1956b).

Modelul dialel  $p(p-1)$ , unde  $p$  = numărul de genitori, permite:

- Calcularea capacității generale (CGC) și specifice (CSC) de combinare.
- Asumpții: observația  $ij$  poate fi reprezentată de modelul:

$$X_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + \sum_k \sum_l (e_{ijkl})/bc - \text{Modelul I}$$

$$X_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + \sum_k b_k/b + \sum_k (br)_{ijk}/b + \sum_k \sum_l (e_{ijkl})/bc - \text{Modelul II}$$

unde  $s_{ij}$  = capacitatea specifică de combinare, astfel încât  $s_{ij} = s_{ji}$ ;  $r_{ij}$  = efectul genotipic reciproc astfel încât  $r_{ij} = r_{ji}$ .

- Formulele de calcul a capacității generale și specifice de combinare sunt redate în Tabelul 4 (Yates, 1947). Metoda de analiză pentru situația în care datele experimentale nu sunt ortogonale și efectele sunt variabile aleatorii este prezentată de Henderson (1948, 1952).

#### Modelul I de analiză

- Restricții:  $\sum_i g_i = 0$  și  $\sum_{i \neq j} s_{ij} = 0$  (pentru fiecare  $j$ ).
- $MS_E' = MS_E/bc$
- Diferențele între clase de efecte sunt date de formulele:
  - Testarea capacității generale de combinare:  $F_{(p-1),m} = MS_G/MS_E'$
  - Testarea capacității specifice de combinare:  $F_{p(p-3)/2,m} = MS_S/MS_E'$
  - Testarea efectelor reciproce:  $F_{p(p-1)/2,m} = MS_R/MS_E'$

Tabelul 4.

Analiza varianței pentru metoda experimentală III (MS expectate în asumptiile Modelului I și II)

Sursa	df	SS	MS	MS expectate	
				Model I	Model II
				CGC	p-1
CSC	p(p-3)/2	SS <sub>S</sub>	MS <sub>S</sub>	$\sigma^2 + 4/(p(p-3))\sum_{i,i<j}\sum s_{ij}^2$	$\sigma^2 + 2\sigma_s^2$
Efectul reciproc	p(p-1)/2	SS <sub>R</sub>	MS <sub>R</sub>	$\sigma^2 + 4/(p(p-1))\sum_{i,i<j}\sum r_{ij}^2$	$\sigma^2 + 2\sigma_r^2$
Eroare	sum(n <sub>i</sub> )-df <sub>G</sub> -df <sub>S</sub> -df <sub>R</sub>	SS <sub>E</sub>	MS <sub>E</sub>	$\sigma^2$	$\sigma^2$

CGC = capacitatea generală de combinare; CSC = capacitatea specifică de combinare

CPG = componentele parametrilor genetici (medii pătratice expectate)

SS = suma pătratelor erorilor; MS = media pătratelor erorilor; df = gradele de libertate

SS<sub>G</sub> =  $\sum_i(x_{i.} + x_{.i})^2/(2(p-2)) - 2x_{..}^2/(p(p-2))$ ; SS<sub>S</sub> =  $\sum_{i,i<j}\sum(x_{ij}+x_{ji})^2/2 - \sum_i(x_{i.} + x_{.i})^2/(2(p-2)) + x_{..}^2/[(p-1)(p-2)]$

SS<sub>R</sub> =  $\sum_{i,i<j}\sum(x_{ij}-x_{ji})^2/2$ ; SS<sub>E</sub> = SS<sub>E</sub>(Anova)/n"

- Efectele se pot estima utilizând formulele:

$$\hat{\mu} = \frac{1}{p(p-1)} x_{..}$$

$$\hat{g}_i = \frac{1}{2p(p-2)} (p(x_{i.} + x_{.i}) - 2x_{..})$$

$$\hat{s}_{ij} = \frac{1}{2} (x_{ij} + x_{ji}) - \frac{1}{2(p-2)} (x_{i.} + x_{.i} + x_{.j} + x_{j.}) + \frac{1}{(p-1)(p-2)} x_{..}$$

- Varianța oricărui părinte sau a valorii medii din F<sub>1</sub>:  $\text{var}(x_{ij}) = \hat{\sigma}^2 = MS'_E$
- Varianța diferenței dintre două valori medii:  $\text{var}(x_{ij} - x_{kl}) = 2\hat{\sigma}^2$
- Varianțele efectelor și a mediilor dintre efecte se pot estima utilizând formulele:

$$\text{var}(\hat{\mu}) = \frac{1}{p(p-1)} \hat{\sigma}^2$$

$$\text{var}(\hat{g}_i) = \frac{p-1}{2p(p-2)} \hat{\sigma}^2$$

$$\text{var}(\hat{s}_{ij}) = \frac{p-3}{2(p-1)} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j)$$

$$\text{var}(\hat{r}_{ij}) = \frac{1}{2} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j)$$

$$\text{var}(\hat{g}_i - \hat{g}_j) = \frac{1}{p-2} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j)$$

$$\text{var}(\hat{s}_{ij} - \hat{s}_{kl}) = \frac{p-1}{p-2} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j, k, j \neq k)$$

$$\text{var}(\hat{s}_{ij} - \hat{s}_{kl}) = \frac{p-4}{p-2} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j, k, j \neq k, l, k \neq l)$$

Modelul II de analiză

- MS<sub>E</sub>' =  $\sigma^2$
- Testarea ipotezelor:
  - $\sigma_g^2 = 0$ :  $F_{(p-1), p(p-3)/2} = MS_G/MS'_E$
  - $\sigma_s^2 = 0$ :  $F_{p(p-3)/2, m} = MS_S/MS'_E$
  - $\sigma_r^2 = 0$ :  $F_{p(p-1)/2, m} = MS_R/MS'_E$
- Varianțele sunt estimate utilizând formulele:

$$\hat{\sigma}_g^2 = \frac{1}{2(p+2)}(MS_G - MS_S)$$

$$\hat{\sigma}_s^2 = \frac{1}{2}(MS_S - MS'_E)$$

$$\hat{\sigma}_r^2 = \frac{1}{2}(MS_R - MS'_E)$$

- Estimarea aproximativă a varianțelor pentru componentele varianțelor se realizează cu următoarele formule:

$$\text{var}(\hat{\sigma}_g^2) \cong \frac{1}{2(p-1)(p+2)^2} MS_G^2 + \frac{1}{p(p-2)^2(p-3)^2} MS_S^2$$

$$\text{var}(\hat{\sigma}_s^2) \cong \frac{1}{p(p-3)} MS_S^2 + \frac{1}{2m} (MS'_E)^2$$

$$\text{var}(\hat{\sigma}_r^2) \cong \frac{1}{p(p-1)} MS_R^2 + \frac{1}{2m} (MS'_E)^2$$

$$\text{var}(\hat{\sigma}^2) \cong \frac{2}{m} MS'_E$$

**Designul experimental**

- Vigoarea de creștere a hibrizilor de păr F<sub>1</sub>: înălțimea puietilor în vârstă de 1 an. Determinarea înălțimii hibrizilor de păr obținuți în seră, din semințe rezultate din hibridările efectuate în 2009, s-a realizat în luna mai 2010. Înălțimea s-a măsurat de la nivelul solului până la vârful hibrizilor și s-a exprimat în centimetri (cm) (Sestraș și colab., 2009; 2010a,b).
- Locația experimentului: Stațiunea de Cercetare și Dezvoltare pentru Pomicultură Cluj-Napoca.
- Hibrizii F<sub>1</sub>: obținuți din încrucișări ale unor soiuri de păr cu creștere și fructificare diferită.
- Soiuri utilizate: două soiuri străine (Aurora și Williams – Williams' Bon Chretien, sau Williams' good Christian, cunoscut în Statele Unite ale Americii și Canada și sub denumirea Bartlett (US plant patent 741) și două soiuri obținute la SCDP Cluj-Napoca: Jubileu (Ghidra și colab., 2004) și Arvena (Sestraș și colab., 2009; Sestraș și colab, 2010c) - Tabelul 5.

**Tabelul 5.**

Hibridarea dialelă rezultată din încrucișări directe și reciproce, fără autopolenizări, la păr

♀/♂	Aurora (P <sub>1</sub> )	Williams (P <sub>2</sub> )	Jubileu (P <sub>3</sub> )	Arvena (P <sub>4</sub> )
Aurora (P <sub>1</sub> )		P <sub>1</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> ×P <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> ×P <sub>4</sub>
Williams (P <sub>2</sub> )	P <sub>2</sub> ×P <sub>1</sub>		P <sub>2</sub> ×P <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> ×P <sub>4</sub>
Jubileu (P <sub>3</sub> )	P <sub>3</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>3</sub> ×P <sub>2</sub>		P <sub>3</sub> ×P <sub>4</sub>
Arvena (P <sub>4</sub> )	P <sub>4</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>3</sub>	

Număr de combinații hibride = p(p-1) = 4\*3 = 12

- Datele experimentale sunt redată în Tabelul 6.

**Tabelul 6.**

Date experimentale: înălțimea hibrizilor de păr (cm)

P <sub>1</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> ×P <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> ×P <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub> ×P <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> ×P <sub>4</sub>	P <sub>3</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>3</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub> ×P <sub>4</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>3</sub>
31	25	48	37	36	19	14	43	18	70	55	42
39	22	46	39	25	37	13	24	78	22	40	53
33	26	50	26	23	23	33	30	24	29	61	18
25	24	36	45	23	40	16	50	13	50	7	40
20	24	39	23	37	37	47	18	35	36	39	43
29	20	15	35	26	25	21	18	19	22	43	35
19	20	46	13	10	33	46	22	10	57	73	53
16	40	26	39	12	13	45	40	40	32	41	52
19	35	27	19	45	14	44	50	44	61	24	37
10	35	63	20	21	28	15	60	52	52	26	20
41	14	50	34	43	20	16	26	18	40	33	26
43	16	45	35	16	40	15	79	26	46	18	65
58	11	30		27	13	17	40	47	15	41	38
29	12	37			24	15	17	20	60	22	36
28	15	27			13	15	56	18	59	20	49
42	20	28			44	14	38	34	22	28	32
	21	28			32	19	54	15	53	40	63
	18	22			33	14	55	46	70	47	38
	16	26			42	19	36	36	15	40	52
	18	32			37	14	47	40	17	27	61
	15	35			10		57	63	25	18	42
	12	39			24		40	42	20	32	40
	14	15			22		18	26	25	21	13
	22				26		56	24	32	21	9
	34				37			20	37	10	56
	23				37						40
	26				27						25
					15						

Aurora × Williams = P<sub>1</sub>×P<sub>2</sub>; Aurora×Jubileu = P<sub>1</sub>×P<sub>3</sub>; Aurora×Arvena = P<sub>1</sub>×P<sub>4</sub>;  
 Williams×Aurora = P<sub>2</sub>×P<sub>1</sub>; Williams×Jubileu = P<sub>2</sub>×P<sub>3</sub>; Williams×Arvena = P<sub>2</sub>×P<sub>4</sub>;  
 Jubileu×Aurora = P<sub>3</sub>×P<sub>1</sub>; Jubileu×Williams = P<sub>3</sub>×P<sub>2</sub>; Jubileu×Arvena = P<sub>3</sub>×P<sub>4</sub>;  
 Arvena×Aurora = P<sub>4</sub>×P<sub>1</sub>; Arvena×Williams = P<sub>4</sub>×P<sub>2</sub>; Arvena×Jubileu = P<sub>4</sub>×P<sub>3</sub>

Rezultate și discuții

Parametrii statistici descriptivi care caracterizează înălțimea hibrizilor de păr sunt prezentați în Tabelul 7.

Tabelul 7.

Parametrii statistici: înălțimea hibrizilor de păr

	m [95%CI]	StDev	Min	Max	CV [95%CI]
Aurora × Williams (n = 16)	30.13 [23.56-36.69]	12.32	10	58	0.41 [0.29-0.69]
Aurora × Jubileu (n = 27)	21.41 [18.39-24.42]	7.62	11	40	0.36 [0.27-0.51]
Aurora × Arvena (n=23)	35.22 [30.02-40.41]	12.01	15	63	0.34 [0.26-0.51]
Williams × Aurora (n=12)	30.42 [24.14-36.70]	9.89	13	45	0.32 [0.22-0.60]
Williams × Jubileu (n=13)	26.46 [19.78-33.14]	11.05	10	45	0.42 [0.29-0.77]
Williams × Arvena (n=28)	27.32 [23.36-31.28]	10.21	10	44	0.37 [0.29-0.53]
Jubileu × Aurora (n=20)	22.60 [16.74-28.46]	12.52	13	47	0.55 [0.40-0.93]
Jubileu × Williams (n=24)	40.58 [33.61-47.56]	16.51	17	79	0.41 [0.31-0.61]
Jubileu × Arvena (n=25)	32.32 [25.44-39.20]	16.68	10	78	0.52 [0.38-0.79]
Arvena × Aurora (n=25)	38.68 [31.35-46.01]	17.76	15	70	0.46 [0.34-0.69]
Arvena × Williams (n=25)	33.08 [26.61-39.55]	15.68	7	73	0.47 [0.35-0.72]
Arvena × Jubileu (n=27)	39.93 [34.07-45.78]	14.80	9	65	0.37 [0.28-0.53]

Analiza parametrilor statistici pune în evidență următoarele:

- Înălțimea cea mai mică s-a obținut la hibridii rezultați din încrucișarea Aurora × Jubileu. Înălțimea cea mai mare a fost obținută de hibridii din combinația Jubileu × Williams.
- Media înălțimii hibridilor rezultați din încrucișarea Aurora × Arvena este semnificativ statistic mai mică în comparație cu cea a hibridilor rezultați din celelalte încrucișări, cu excepțiile: Williams × Jubileu, Williams × Arvena și Jubileu × Aurora.
- Media hibridilor permite identificarea a două grupe: grupa 1 cu înălțime mică (Aurora × Jubileu, Jubileu × Aurora, Williams × Jubileu, Williams × Arvena) și grupa 2 cu înălțime mai mare (restul hibridilor).
- Cel mai mic coeficient de variabilitate relativă s-a înregistrat la hibridii rezultați din combinația Williams × Aurora. Cea mai mare variabilitate relativă a fost observată la hibridii rezultați din încrucișarea Jubileu × Aurora, respectiv Jubileu × Arvena.
- Variabilitatea relativă a hibridilor F<sub>1</sub> nu este semnificativ statistic diferită în încrucișările investigate, în toate cazurile fiind observată o variabilitate relativă mare (coeficientul de variabilitate relativă > 32%) (Botez și colab., 1995). Variabilitatea relativă este strict legată de caracteristicile genitorului matern și/sau patern (Sestraș și colab., 2009).

Datele experimentale pentru vigoarea hibridilor F<sub>1</sub> de păr s-au dovedit a fi normal distribuite, cu o singură excepție, dată de hibridii rezultați din încrucișarea Jubileu × Aurora, pentru care normalitatea nu este acceptată de nici unul din cele trei teste, la un prag de semnificație de 5% (Tabelul 8).

**Tabelul 8.**

Analiza datelor experimentale: Teste de normalitate

	Kolmogorov-Smirnov		Anderson-Darling		$\chi^2$	
	Stat (p)	Respingem H <sub>0</sub> ?	Stat*	Respingem H <sub>0</sub> ?	Stat (p)	Respingem H <sub>0</sub> ?
Aurora × Williams (n = 16)	0.1069 (0.9838)	Nu	0.2398	Nu	0.5935 (0.7432)	Nu
Aurora × Jubileu (n = 27)	0.1253 (0.7446)	Nu	0.6687	Nu	0.6803 (0.7117)	Nu
Aurora × Arvena (n=23)	0.1171 (0.8729)	Nu	0.3119	Nu	1.9338 (0.5863)	Nu
Williams × Aurora (n=12)	0.2248 (0.5082)	Nu	0.4167	Nu	0.2210 (0.6383)	Nu
Williams × Jubileu (n=13)	0.1719 (0.7723)	Nu	0.2962	Nu	0.5699 (0.4503)	Nu
Williams × Arvena (n=28)	0.1499 (0.5080)	Nu	0.5359	Nu	2.005 (0.5714)	Nu
<b>Jubileu × Aurora (n=20)</b>	<b>0.3132 (0.0305)</b>	<b>Da<sup>0.05</sup></b>	<b>2.7968</b>	<b>Da<sup>0.05</sup></b>	<b>4.4453 (0.035)</b>	<b>Da<sup>0.05</sup></b>
Jubileu × Williams (n=24)	0.1031 (0.9377)	Nu	0.4376	Nu	0.5630 (0.7546)	Nu
Jubileu × Arvena (n=25)	0.1676 (0.4360)	Nu	0.6329	Nu	1.1901 (0.5515)	Nu
Arvena × Aurora (n=25)	0.1394 (0.6654)	Nu	0.6230	Nu	1.6955 (0.4284)	Nu
Arvena × Williams (n=25)	0.1070 (0.9079)	Nu	0.4050	Nu	0.3301 (0.8478)	Nu
Arvena × Jubileu (n=27)	0.1103 (0.8621)	Nu	0.3139	Nu	0.2702 (0.8737)	Nu

\* valoarea critică la 5% = 2.5018; H<sub>0</sub> = datele experimentale urmează o distribuție normală

Rezultatele analizei distribuției datelor experimentale impun două restricții:

- Testul ANOVA nu se va utiliza pentru compararea mediilor hibridilor F<sub>1</sub>. Acesta se poate aplica corect doar după eliminarea din analiză a hibridilor a căror înălțime nu este normal distribuită.
- Compararea diferențelor a două medii se va realiza după eliminarea din analiză a hibridilor F<sub>1</sub> care s-au dovedit a nu prezenta o distribuție normală a datelor experimentale.

Compararea perechilor de medii s-a făcut cu testul Tukey HSD (Tabelul 9). Analiza rezultatelor comparării perechilor de medii pune în evidență următoarele:

- Hibrizii rezultați din hibridarea Aurora × Jubileu sunt cu înălțimi semnificative statistic mai mici în comparație cu cei rezultați din hibridările: Aurora × Arvena, Williams × Jubileu, Arvena × Aurora, și Arvena × Jubileu.
- Descendenții rezultați din hibridarea Williams × Arvena sunt cu înălțimi semnificative mai mici în comparație cu cei rezultați din hibridările: Jubileu × Williams și Arvena × Jubileu.
- Descendenții rezultați din hibridarea Jubileu × Aurora sunt cu înălțimi semnificative mai mici în comparație cu cei rezultați din hibridările: Jubileu × Williams, Arvena × Aurora și Arvena × Jubileu.
- Hibrizii Arvena × Jubileu, Jubileu × Williams și Arvena × Aurora se remarcă prin înălțimea cea mai mare.

Tabelul 9.

Compararea mediilor hibrizilor

	P <sub>1</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>1</sub> ×P <sub>3</sub>	P <sub>1</sub> ×P <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub> ×P <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> ×P <sub>4</sub>	P <sub>3</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>3</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub> ×P <sub>4</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>1</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>2</sub>	P <sub>4</sub> ×P <sub>3</sub>
P <sub>1</sub> ×P <sub>2</sub>		8.718 (0.680)	-5.092 (0.992)	-0.292 (1.00)	3.663 (1.00)	2.804 (1.00)	7.525 (0.893)	-10.458 (0.432)	-2.195 (1.00)	-8.555 (0.725)	-2.955 (1.00)	-9.801 (0.501)
P <sub>1</sub> ×P <sub>3</sub>			-13.810 (0.022)	-9.009 (0.760)	-50.054 (0.995)	-5.914 (0.907)	-1.193 (1.00)	-19.176 (0.000)	-10.913 (0.157)	-17.273 (0.001)	-11.673 (0.095)	-18.519 (0.000)
P <sub>1</sub> ×P <sub>4</sub>				4.801 (0.998)	8.756 (0.792)	7.896 (0.659)	12.617 (0.110)	-5.366 (0.972)	2.897 (1.00)	-3.463 (0.999)	2.137 (1.00)	-4.709 (0.988)
P <sub>2</sub> ×P <sub>1</sub>					3.995 (1.00)	3.095 (1.00)	7.817 (0.920)	-10.167 (0.623)	-1.903 (1.00)	-8.263 (0.858)	-2.663 (1.00)	-9.509 (0.691)
P <sub>2</sub> ×P <sub>3</sub>						-0.860 (1.00)	3.862 (1.00)	-14.122 (0.116)	-5.858 (0.984)	-12.218 (0.279)	-6.618 (0.960)	-13.464 (0.142)
P <sub>2</sub> ×P <sub>4</sub>							4.721 (0.990)	-13.262 (0.028)	-4.999 (0.975)	-11.359 (0.110)	-5.759 (0.931)	-12.604 (0.035)
P <sub>3</sub> ×P <sub>1</sub>								-17.893 (0.001)	-9.720 (0.432)	-16.080 (0.006)	-10.480 (0.313)	-17.326 (0.001)
P <sub>3</sub> ×P <sub>2</sub>									8.263 (0.614)	1.903 (1.00)	7.503 (0.747)	0.657 (1.00)
P <sub>3</sub> ×P <sub>4</sub>										-6.360 (0.891)	-0.760 (1.00)	-7.606 (0.692)
P <sub>4</sub> ×P <sub>1</sub>											5.600 (0.953)	-1.246 (1.00)
P <sub>4</sub> ×P <sub>2</sub>												-6.846 (0.816)

P<sub>1</sub>×P<sub>2</sub> = Aurora × Williams (n = 16); P<sub>1</sub>×P<sub>3</sub> = Aurora × Jubileu (n = 27); P<sub>1</sub>×P<sub>4</sub> = Aurora × Arvena (n=23);  
 P<sub>2</sub>×P<sub>1</sub> = Williams × Aurora (n=12); P<sub>2</sub>×P<sub>3</sub> = Williams × Jubileu (n=13); P<sub>2</sub>×P<sub>4</sub> = Williams × Arvena (n=28);  
 P<sub>3</sub>×P<sub>1</sub> = Jubileu × Aurora (n=20); P<sub>3</sub>×P<sub>2</sub> = Jubileu × Williams (n=24); P<sub>3</sub>×P<sub>4</sub> = Jubileu × Arvena (n=25);  
 P<sub>4</sub>×P<sub>1</sub> = Arvena × Aurora (n=25); P<sub>4</sub>×P<sub>2</sub> = Arvena × Williams (n=25); P<sub>4</sub>×P<sub>3</sub> = Arvena × Jubileu (n=27)

În termeni de omogenitate a mediilor, testul Tukey identifică două grupe de hibridi pentru un prag de semnificație de 5%:

- Subsetul 1: Aurora × Jubileu (n = 27), Williams × Jubileu (n=13), Williams × Arvena (n=28), Aurora × Williams (n = 16), Williams × Aurora (n=12), Jubileu × Arvena (n=25), Arvena × Williams (n=25), Aurora × Arvena (n=23) (p = 0.062)
- Subsetul 2: Williams × Jubileu (n=13), Williams × Arvena (n=28), Aurora × Williams (n = 16), Williams × Aurora (n=12), Jubileu × Arvena (n=25), Arvena × Williams (n=25), Aurora × Arvena (n=23), Arvena × Aurora (n=25), Arvena × Jubileu (n=27), Jubileu ×

Williams (n=24) (p = 0.050).

Media globală a tuturor hibridilor a fost de 31.89±14.84 (IC95% [30.09-33.68]).

Compararea mediei fiecărei hibridări cu media globală a experimentului a pus în evidență următoarele trei grupe distincte:

- Grupul 1: mediile hibridilor F<sub>1</sub> semnificativ statistic mai mici în comparație cu media globală. În această categorie intră (clasificate descendent, cel cu probabilitatea de eroare mai mică fiind primul): Aurora × Jubileu (t = -7.14, p = 1.38·10<sup>-7</sup>), Williams × Arvena (t = -2.37, p = 0.0254) și Jubileu × Aurora (t = -3.32, p = 0.0036).
- Grupul 2: mediile hibridilor F<sub>1</sub> semnificativ statistic mai mari în comparație cu media globală. În această categorie intră familiile: Arvena × Jubileu (t = 2.82, p = 0.0090) și Jubileu × Williams (t = 2.58, p = 0.0167).
- Grupul 3: mediile hibridilor F<sub>1</sub> nu diferă semnificativ statistic față de media globală. În această categorie intră combinațiile care nu aparțin grupului 1 sau 2.

Testarea omogenității varianțelor (H<sub>0</sub>: varianțele sunt egale) a pus în evidență prezența diferenței semnificative statistic a varianțelor înălțimii (statistica Levene = 3.011; p = 0.001; df1 = 11; df2 = 253). În aceste condiții, nu are sens aplicarea inferenței genetice a varianțelor asupra înălțimii hibridilor F<sub>1</sub>, dar aceasta se va realiza în scopul exemplificării.

Rezultatele obținute prin aplicarea testului ANOVA sunt prezentate în Tabelul 10. La eliminarea din analiza ANOVA a hibridilor care nu urmează o distribuție normală se obține o valoare F = 4.675 (p = 4.30·10<sup>-6</sup>)

**Tabelul 10.**

Rezultate test ANOVA

Sursa variației	SS	df	MS	F*	p
Între grupuri (SSV)	10740.96	11	976.45	5.21	2.14·10 <sup>-7</sup>
În grupuri (SSE)	47399.64	253	187.35	0.85	0.9024
Total (SST)	58140.60	264	220.23		

\* F<sub>critic(5%)</sub> = 1.6921; SS = suma pătratelor erorilor; df = grade de libertate; MS = media pătratelor erorilor

Metoda de calcul este identică cu cea prezentată la hibridarea dialelă completă, motiv pentru care nu se va mai detalia.

Sumarizarea mediilor înălțimii pentru fiecare părinte este prezentată în Tabelul 11.

**Tabelul 11.**

Sumarizarea înălțimii hibridilor F<sub>1</sub> per părinte: hibridarea dialelă directă și reciprocă

♀♂	Aurora (P <sub>1</sub> )	Williams (P <sub>2</sub> )	Jubileu (P <sub>3</sub> )	Arvena (P <sub>4</sub> )	x <sub>i</sub>
Aurora (P <sub>1</sub> )		31.13	21.41	35.22	86.75
Williams (P <sub>2</sub> )	30.42		26.46	27.32	84.20
Jubileu (P <sub>3</sub> )	22.60	40.58		32.32	95.50
Arvena (P <sub>4</sub> )	38.68	33.08	39.93		111.69
x <sub>j</sub>	91.70	103.79	87.79	94.86	
				x <sub>..</sub>	378.14

Modalitățile de calcul fiind identice cu cele prezentate la modelele anterioare, prezentăm doar câte un exemplu pentru x<sub>i</sub>, x<sub>j</sub> și respectiv exemplul pentru x...

- x<sub>1</sub> (♀P<sub>1</sub>) = 31.13 + 21.41 + 35.22 = 86.75
- x<sub>1</sub> (♂P<sub>1</sub>) = 30.42 + 22.60 + 38.68 = 91.70

- $\bar{x}_{..} = 31.13 + 21.41 + 35.22 + 30.42 + 26.46 + 27.32 + 22.60 + 40.58 + 32.32 + 38.68 + 33.08 + 39.93 = 378.14$ .

Capacitatea generală și specifică de combinare este redată în Tabelul 12.

**Tabelul 12.**

Capacitatea generală și specifică de combinare: Rezultate

Sursa	df	SS	MS	F	p
CGC	3	113.18	37.73	4.42	$4.73 \cdot 10^{-3}$
CSC	2	183.88	91.94	10.78	$1.03 \cdot 10^{-2}$
Efecte reciproce	6	151.97	25.33	2.97	$8.07 \cdot 10^{-3}$
Total	253	2157.76	8.53		

CGC = capacitatea generală de combinare; CSC = capacitatea specifică de combinare; SS = suma pătratelor erorilor; df = grade de libertate; MS = media pătratelor erorilor; F = statistica Fisher; p = semnificația statistică

Modalitatea de calcul pentru rezultatele prezentate în Tabelul 89 este după cum urmează:

- $df_{CGC} = 4 - 1 = 3$ ;  $df_{CSG} = p(p-3)/2 = 4*(4-3)/2 = 2$ ;  $df_r = p(p-1)/2 = 4*(4-1)/2 = 6$ ;  $df_e = 265 - 3 - 2 - 6 - 1 = 253$ .
- CGC:
  - $SS_g = ((x_{1.} + x_{1.})^2 + (x_{2.} + x_{2.})^2 + (x_{3.} + x_{3.})^2 + (x_{4.} + x_{4.})^2) / (2*(4-2) - 2*(x_{..})^2 / (4*(4-2))) = [(86.75+91.70)^2 + (84.20+103.79)^2 + (95.50+87.79)^2 + (111.69+94.86)^2] / 4 - 2*378.14^2/8 = 113.18$
  - $MS_g = SS/df = 113.18/3 = 37.73$
- CSG:
  - $SS_s = \sum(x_{ij} + x_{ji})^2/2 - \sum(x_{i.} + x_{.j})^2/(2*(4-2)) + x_{..}^2/((4-1)*(4-2)) = ((30.13+30.42)^2 + (21.41+22.60)^2 + (35.22+38.68)^2 + (26.46+40.58)^2 + (27.32+33.08)^2 + (32.32+39.93)^2)/2 - ((86.75+91.70)^2 + (84.20+103.79)^2 + (95.50+87.79)^2 + (111.69+94.86)^2)*2/(4*(4-2)) + (378.14^2)/((4-1)*(4-2)) = 183.88$
  - $MS_s = 183.88 / 2 = 10.78$
- Efecte reciproce:  $= \sum_i \sum_j (i < j) (x_{ij} - x_{ji})^2/2$ 
  - $SS_r = ((30.13-30.42)^2 + (21.41-22.60)^2 + (35.22-38.68)^2 + (26.46-40.58)^2 + (27.32-33.08)^2 + (32.32-39.93)^2)/2 = 151.97$
  - $MS_r = 151.97/6 = 25.33$
- Total:
  - $SS = 47399.64/(1/(12-1)*(265-SUMSQ(16, 27, 23, 12, 13, 28, 20, 24, 25, 25, 25, 27)/265)) = 2157.76$
  - $MS_e = 2157.76/253 = 8.53$

Analiza rezultatelor analizei genetice pune în evidență următoarele:

- Capacitatea generală de combinare în transmiterea înălțimii puietilor de păr la descendenții seminali din combinațiile studiate este semnificativă statistic.
- Capacitatea specifică de combinare în transmiterea înălțimii este semnificativă statistic.
- Efectele reciproce contribuie semnificativ statistic la transmiterea înălțimii.

Estimarea diferitelor efecte s-a realizat prin calcularea următorilor parametri:

- $\mu = 378.14/(4*(4-1)) = 31.51$  (media estimată)
- $g_1 = (4*(86.75+91.70)-2*378.14)/(2*4*(4-2)) = -2.656$  (capacitatea generală de

combinare a părintelui Aurora)

- $g_2 = (4*(84.20+103.79)-2*378.14)/(2*4*(4-2)) = -0.270$  (capacitatea generală de combinare a părintelui Williams)

- $g_3 = (4*(95.50+87.79)-2*378.14)/(2*4*(4-2)) = -1.445$  (capacitatea generală de combinare a părintelui Jubileu)

- $g_1 = (4*(111.69+94.86)-2*378.14)/(2*4*(4-2)) = 4.369$  (capacitatea generală de combinare a părintelui Arvena)

- $s_{12} = (30.13+30.42)/2-(86.75+84.20+91.70+103.78)/(2*(4-2))+378.14/((4-1)*(4-2)) = 1.685$  (capacitatea specifică de combinare a părintelui Aurora cu părintele Williams)

- $s_{13} = (21.41+22.60)/2-(86.75+95.50+91.70+87.79)/(2*(4-2))+378.14/((4-1)*(4-2)) = -5.409$

- $s_{14} = (35.22+38.68)/2-(86.75+111.69+91.70+94.86)/(2*(4-2))+378.14/((4-1)*(4-2)) = 3.724$

- $s_{23} = (26.46+40.58)/2-(84.20+95.50+103.79+87.79)/(2*(4-2))+378.14/((4-1)*(4-2)) = 3.724$

- $s_{24} = (27.32+33.08)/2-(84.20+111.69+103.79+94.86)/(2*(4-2))+378.14/((4-1)*(4-2)) = -5.409$

- $s_{34} = (32.32+39.93)/2-(95.50+111.69+87.79+94.86)/(2*(4-2))+378.14/((4-1)*(4-2)) = 1.685$

- $r_{12} = (30.13-30.42)/2 = -0.1458$  (efectele reciproce de combinare a părintelui Aurora cu părintele Williams)

- $r_{13} = (21.41-22.60)/2 = -0.5963$

- $r_{14} = (35.22-38.68)/2 = -1.7313$

- $r_{23} = (26.46-40.58)/2 = -7.0609$

- $r_{24} = (27.32-33.08)/2 = -2.8793$

- $r_{34} = (32.32-39.93)/2 = -3.8030$

Sinteza rezultatelor analizei genetice inferențiale este redată în Tabelul 13.

**Tabelul 13.**

Sumarizarea efectele CSC și CGC a înălțimii hibridilor F<sub>1</sub> în funcție de soiurile utilizate ca genitori

	Aurora (P <sub>1</sub> )	Williams (P <sub>2</sub> )	Jubileu (P <sub>3</sub> )	Arvena (P <sub>4</sub> )	g <sub>i</sub> <sup>a</sup>	σ <sub>si</sub> <sup>b</sup>
Aurora (P <sub>1</sub> )		1.685	-5.409	3.724	-2.656	9.637
Williams (P <sub>2</sub> )	1.685		3.724	-5.409	-0.270	9.637
Jubileu (P <sub>3</sub> )	-5.409	3.724		1.685	-1.443	9.637
Arvena (P <sub>4</sub> )	3.724	-5.409	1.685		4.369	9.637

<sup>a</sup>DL(5%) = 2.2275; DL(1%) = 2.9356; DL(0.1%) = 3.7659; <sup>b</sup>DL(5%) = 5.7514;

DL(1%) = 7.5796; DL(0.1%) = 9.7234; g<sub>i</sub> = capacitatea generală de combinare a părintelui *i*

- Raportul CGC:CSC obținut pe baza datelor experimentale are valoarea:

$$GCA:SCA = 2*37.73/(2*37.73 + 91.94) = 0.4508$$

- Variațiile efectelor:

$$\text{var}(\mu_{\text{exp}}) = 8.53/(4*(4-1)) = 0.7107$$

$$\text{var}(g_{i(\text{exp})}) = 8.53*(4-1)/(2*4*(4-2)) = 1.5991$$

$$\text{var}(s_{ij(\text{exp})}) = 8.53 \cdot (4-3) / (2 \cdot (4-1)) = 1.4214$$

$$\text{var}(r_{ij(\text{exp})}) = 8.53 / 2 = 4.2643$$

▪ Coeficienții de variație genetici (variabilitate genetică relativă): se calculează doar pentru valori pozitive ale varianțelor.

▪ Aditivă:  $CV_A = 100\sqrt{V_A}/m$ , unde  $V_A = 91.94$ ;  $m$  (media aritmetică) = 31.89;  $CV_A = 100 \cdot \sqrt{91.94} / 31.89 = 30.07\%$

▪ Genotipică:  $CV_G = 100\sqrt{(V_G)}/m$ . unde  $V_G = 91.94 + 129.67 = 129.67$ ;  $CV_G = 100 \cdot \sqrt{129.67} / 31.89 = 35.71\%$

▪ Fenotipică:  $CV_P = 100\sqrt{(V_P)}/m$ ; unde  $V_P = 129.67 + 8.53 = 138.19$ ;  $CV_P = 100 \cdot \sqrt{138.19} / 31.89 = 36.87\%$

▪ Al reziduurilor:  $CV_R = 100\sqrt{(V_P - V_A)}/m = 100 \cdot \sqrt{138.19 - 91.94} / 31.89 = 21.33\%$

▪ Coeficienții de heritabilitate:

▪ În sens larg:  $H^2 = V_G/V_P = 129.67/138.19 = 0.9383$

▪ În sens restrâns:  $h^2 = V_A/V_P = 91.94/138.19 = 0.1323$

Analiza rezultatelor genetice pune în evidență următoarele:

▪ Efectele CGC acționează în direcția obținerii unor descendenți mai înalți la soiul Arvena (rezultat asigurat statistic). Efectele CGC acționează în direcția obținerii unor descendenți mai mici la soiul Aurora, Williams și Jubileu.

▪ Hibridările cu Arvena duc la apariția unor hibrizi cu înălțime mare (valori  $g_i$  pozitive, asigurat statistic). Soiul Aurora dă naștere unor hibrizi cu înălțime mai mică (valori  $g_i$  negative).

▪ Estimarea capacității generale de combinare pune în evidență faptul că părintele cu capacitatea cea mai mare de transmitere la descendenții a înălțimii puieților este Arvena ( $P_4$ ) (rezultat asigurat statistic).

▪ Valoarea scăzută a raportului CGC:CSC indică prezența unui efect dominant sau epistatic în transmiterea înălțimii hibrizilor  $F_1$ .

▪ Capacitatea specifică de combinare s-a dovedit a fi semnificativă statistic în transmiterea înălțimii.

▪ Efectele reciproce s-au dovedit a avea o contribuție semnificativă statistic în transmiterea caracterului cantitativ investigat.

▪ Coeficientul de heritabilitate în sens larg a fost estimat ca având o valoare de 0.9383. Acest rezultat indică faptul că influența mediului asupra manifestării fenotipice a caracterului cantitativ urmărit este redusă. Efectele non-genetice care contribuie la transmiterea înălțimii contribuie de asemenea la valoarea coeficientului de heritabilitate în sens larg (Bernardo, 2002).

▪ Contribuția varianței aditive genetice la transmiterea înălțimii pomilor este relativ redusă ( $h^2 = 0.1323$ ). Valoarea mică a coeficientului de heritabilitate în sens restrâns sugerează necesitatea aplicării unor metode de selecție genotipică individuală, prin urmărirea în descendență a valorii fiecărei plante elite.

- Analiza coeficienților de variație genetică a pus în evidență următoarele:
  - Cea mai mare variabilitate genetică relativă s-a dovedit a fi cea fenotipică.
  - Cea mai mică variabilitate genetică relativă s-a identificat a fi cea a reziduurilor.
  - Variabilitatea genetică relativă fenotipică (36.87%) este aproximativ identică cu cea genotipică (35.71%).

### *Concluzii parțiale*

- Statistice:
  - Hibrizii rezultați din hibridarea Aurora × Jubileu sunt cu înălțimi semnificative mai mici în comparație cu cei rezultați din hibridările: Aurora × Arvena, Williams × Jubileu, Arvena × Aurora, și Arvena × Jubileu.
  - Analiza mediei hibrizilor permite identificarea a două grupe: grupa 1 cu înălțime mică (Aurora × Jubileu, Jubileu × Aurora, Williams × Jubileu, Williams × Arvena) și grupa 2 cu înălțime mai mare (restul hibrizilor).
  - Cel mai mic coeficient de variabilitate relativă s-a obținut la descendenții Williams × Aurora. Cea mai mare variabilitate relativă a fost observată la descendenții rezultați din încrucișarea Jubileu × Aurora, respectiv Jubileu × Arvena.
  - În termeni de omogenitate a mediilor, testul Tukey identifică două grupe de hibridi (prag de semnificație de 5%):
    - Subsetul 1: Aurora × Jubileu (n = 27), Williams × Jubileu (n=13), Williams × Arvena (n=28), Aurora × Williams (n = 16), Williams × Aurora (n=12), Jubileu × Arvena (n=25), Arvena × Williams (n=25), Aurora × Arvena (n=23) (p = 0.062)
    - Subsetul 2: Williams × Jubileu (n=13), Williams × Arvena (n=28), Aurora × Williams (n = 16), Williams × Aurora (n=12), Jubileu × Arvena (n=25), Arvena × Williams (n=25), Aurora × Arvena (n=23), Arvena × Aurora (n=25), Arvena × Jubileu (n=27), Jubileu × Williams (n=24) (p = 0.050)
  - Compararea mediei fiecărei hibridări cu media globală a experimentului a pus în evidență următoarele trei grupe distincte:
    - Grupul 1: mediile hibrizilor  $F_1$  semnificativ statistic mai mici în comparație cu media globală. În această categorie intră (clasificate descendent, cel cu probabilitatea de eroare mai mică fiind primul): Aurora × Jubileu ( $t = -7.14$ ,  $p = 1.38 \cdot 10^{-7}$ ), Williams × Arvena ( $t = -2.37$ ,  $p = 0.0254$ ) și Jubileu × Aurora ( $t = -3.32$ ,  $p = 0.0036$ ).
    - Grupul 2: mediile hibrizilor  $F_1$  semnificativ statistic mai mari în comparație cu media globală. În această categorie intră: Arvena × Jubileu ( $t = 2.82$ ,  $p = 0.0090$ ) și Jubileu × Williams ( $t = 2.58$ ,  $p = 0.0167$ ).
    - Grupul 3: mediile hibrizilor  $F_1$  nu diferă semnificativ statistic față de media globală. În această categorie intră cele nespecificate ca aparținând grupului

1 sau 2.

- Absența omogenității varianțelor nu susține aplicarea analizei genetice.
- Genetice:
  - Efectele CGC acționează în direcția obținerii unor descendenți mai înalți la soiul Arvena, valorile fiind asigurate statistic. Efectele CGC acționează în direcția obținerii unor descendenți mai mici în cazul soiurilor Aurora, Williams și Jubileu. Hibridările cu Arvena duc la obținerea unor descendenți cu înălțime mare (valori  $g_i$  pozitive, semnificative statistic). Descendenții soiului Aurora prezintă înălțimi mai mici, asigurate statistic (valori  $g_i$  negative).
  - Părintele cu capacitatea generală de combinare cea mai mare s-a dovedit a fi Arvena ( $P_4$ ).
  - Valoarea scăzută a raportului CGC:CSC indică prezența unui efect dominant sau epistatic în transmiterea înălțimii hibrizilor  $F_1$ .
  - Capacitatea specifică de combinare s-a dovedit a fi semnificativă statistic în transmiterea înălțimii. Efectele reciproce s-au dovedit a avea o contribuție semnificativă statistic în transmiterea caracterului cantitativ de interes.
  - Coeficientul de heritabilitate în sens larg a fost estimat ca având o valoare de 0.9383. Acest rezultat indică faptul că influența mediului asupra manifestării fenotipice a caracterului cantitativ urmărit este redusă.
  - Contribuția varianței genetice aditive la transmiterea înălțimii pomilor este considerată slabă ( $h^2 = 0.1323$ ). Valoarea mică a coeficientului de heritabilitate în sens restrâns sugerează necesitatea aplicării unor metode de selecție genotipică individuală, prin urmărirea în descendență a valorii fiecărei plante elite.
  - Analiza coeficienților de variație genetică a pus în evidență următoarele:
    - Cea mai mare variabilitate genetică relativă s-a dovedit a fi cea fenotipică.
    - Cea mai mică variabilitate genetică relativă s-a identificat a fi cea a reziduurilor.
    - Variabilitatea genetică relativă fenotipică (36.87%) este aproximativ identică cu cea genotipică (35.71%)
- Generale:
  - Analiza genetică a pus în evidență efecte generale și specifice de combinare, respectiv efecte reciproce semnificative statistic în transmiterea caracterului cantitativ de interes, cu toate că asumția de omogenitate a varianțelor nu a fost îndeplinită. În acest caz, rezultatele obținute referă doar datele experimentale care au stat la baza analizei.
  - Testul ANOVA utilizat în compararea mediilor înălțimilor hibrizilor  $F_1$  este valid doar dacă nu sunt incluse în analiză valorile experimentale care s-au dovedit statistic a nu fi normal distribuite. Diferențe semnificative statistic între

mediile înălțimii hibrizilor  $F_1$  în cadrul combinațiilor s-au înregistrat în nouă cazuri din 66 posibile. Astfel, aproximativ 14% din cazuri, prezintă diferențe între perechile de medii semnificative statistic.

- Soiul Arvena are capacitatea cea mai mare de transmitere a unei înălțimi mari (valori  $g_i$  pozitive, asigurat statistic). Soiul Aurora are capacitatea cea mai bună de transmitere a înălțimii mici (valori  $g_i$  negative, asigurat statistic).

## CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

### Concluzii și recomandări cu privire la designul experimental

Este posibil ca componente semnificative ale interacțiunii să fie ascunse într-o interacțiune ne-semnificativă.

(*recomandare*) Identificarea existenței unei diferențe semnificative statistic în analiza varianțelor impune ■ descompunerea varianțelor și analiza detaliată pentru interpretarea corectă.

÷ Proiectarea optimală a experimentului funcție de obiectivul studiului

- Aplicarea metodei științifice în studiul experimental impune aplicarea unei succesiuni de pași stabilite înainte de efectuarea studiului, succesiune care depinde de tipul studiului experimental;
- În problema "design experimental (complet) randomizat vs. blocuri (complet) randomizate" luată în studiu s-a demonstrat că randomizarea pe blocuri reduce numărul de observații necesare (în studiul de efect al estrogenului asupra câștigului în greutate s-a obținut că 5.51 repetiții prin designul complet randomizat produc același volum de informație ca o repetiție prin designul de tip blocuri complet randomizate);
- (*recomandare*) Designul de tip blocuri complet randomizate se recomandă a fi utilizat pentru
  - a îmbunătăți abilitatea unui experiment de detectare a efectelor reale a tratamentului prin îndepărtarea surselor de variație (blocuri) din erorile experimentale.
  - în general în analiza variabilității genetice deoarece probabilitatea acceptării unei ipoteze nule false este mai mică (având o valoare mai mare pentru  $1-\beta$ ;  $\beta$  - erori de clasificare de tipul II).
- (*recomandare*) Eficiența relativă este un parametru statistic util pentru
  - identificarea metodei experimentale care să permită obținerea rezultatelor de interes.

÷ Designul greco-latin

- Designul Greco-Latin permite studierea unui număr de  $t$  tratamente simultan cu trei variabile diferite (în total 4 factori);
- Dacă se dorește analiza simultană a mai multor factori se utilizează un design de tip pătrat hiper-Greco-Latin;
- (*recomandare*) Designul de tip pătrat latin se utilizează când

- se dorește îndepărtarea din erorile experimentale a două surse de variații.
- ÷ Designul de tip cuib
  - Unul dintre motivele utilizării designului cuib este investigarea distribuției variației între unitățile sau sub-unitățile experimentale (fiind un design experimental special conceput în acest sens);
  - Subeșantionarea în cadrul unei unități experimentale este utilă și recomandată din prisma alocării optimale a resurselor dacă varianța între subeșantioane se dovedește a fi mai mare decât varianța între unitățile experimentale;
  - (**recomandare**) Utilizarea designului de tip cuib prin analiză statistică permite
    - alocarea optimă a resurselor în termeni de costuri și respectiv de număr de subeșantioane necesare în funcție cu metoda experimentală dorită (ex. numărul de tratamente).
- ÷ Experimentul factorial
  - Are ca scop evidențierea rolului unui factor asupra unei observabile;
  - Analiza statistică implică utilizarea testului ANOVA pentru separarea varianțelor;
  - (**recomandare**) Experimentul factorial este foarte eficient în
    - investigarea relației dintre efectele diferiților factori.
- ÷ Transformarea datelor experimentale
  - Analiza statistică a datelor experimentale (analiza de tendință centrală, împrăștiere și variabilitate, de regresie, etc.) operează și produce rezultate valide statistic când sunt îndeplinite o serie de condiții (sunt formulate o serie de ipoteze asupra datelor experimentale);
  - Cele mai importante ipoteze referă absența erorilor sistematice și distribuția normală a erorii întâmplătoare;
  - Nu totdeauna aceste ipoteze se pot asuma (pentru orice set de date experimentale);
  - Au fost identificate o serie de situații specifice când transformarea datelor este chiar recomandată
  - (**recomandare**) logaritmarea datelor se face când
    - cu ajutorul testului Tukey se evidențiază un efect multiplicativ
  - (**recomandare**) aplicarea funcției radical se face pentru
    - date cu distribuție Poisson
  - (**recomandare**) transformarea arcsin se face când
    - rezultatele sunt exprimate în unități relative adimensionale
  - (**recomandare**) ridicarea la putere se face pentru
    - compararea experimentelor derulate în condiții de mediu și locație foarte diferite
- ÷ Date experimentale incomplete (lipsă)
  - În analiza în raport cu un singur factor care influențează experimentul, analiza și interpretarea datelor este similară celei cu date complete, datele lipsă doar reducând gradele de libertate ale analizei, în timp ce pentru analizele mai complexe - cu doi

- sau mai mulți factori - lipsa datelor complică substanțial analiza statistică și interpretarea rezultatelor;
- (**recomandare**) În cazul datelor experimentale lipsă există două posibilități de compensare:
    - estimarea datelor lipsă din datele existente
    - aplicarea unor factori de corecție în cazul analizei ANOVA
    - reducerea numărului gradelor de libertate în cazul analizei unifactoriale.

### Concluzii și recomandări cu privire la analiza inferenței cu teste statistice

Nu există nici un consens cu privire la care test să se aplice. Cea mai mare dificultate este dată de diferitele rate de erori de clasificare de tipul I (experimental vs. comparativ).

- ÷ (**recomandare**) Testul Scheffe este o tehnică foarte generală utilizată în testarea tuturor comparațiilor posibile între medii. Nu este recomandată pentru eșantioane perechi (este foarte conservativă).
- ÷ (**recomandare**) Testul Dunnett se utilizează când se dorește compararea între efectele tratamentelor cu un grup de control sau de referință.
- ÷ (**recomandare**) Pentru designurile cu volume de eșantioane diferite se recomandă utilizarea testului Tukey.
- ÷ (**recomandare**) Toate metodele / modelele statistice și genetice utilizate în analiza variabilității caracterelor cantitative trebuie descrise pe scurt. De asemenea metodele/modelele utilizate trebuie referite. Referințele metodelor/modelelor statistice trebuie să fie de tip material standard (carte, capitol de carte sau articol original cu includerea paginii de început și sfârșit, articol de tip sinteză, articol original).

### Concluzii și recomandări cu privire la interpretarea rezultatelor

În prezentarea rezultatelor se va începe cu rezultatele statistice descriptive, urmate de rezultatele statisticii inferențiale.

(**recomandare**) Prezentarea rezultatelor statistice trebuie să cuprindă:

- ÷ Estimatorii punctuali trebuie însoțiți de intervalul de încredere pentru a permite o interpretare cât mai corectă.
- ÷ Pentru eșantioane mici, se va evita utilizarea valorilor procentuale.
- ÷ La aplicarea unui test statistic, trebuie raportate cât mai multe informații. De exemplu, în cazul utilizării testului Student merită raportate: media și deviația standard, valoarea parametrului  $t$ , gradele de libertate, valoarea  $p$ .
- ÷ Semnificația statistică se specifică cu valoare (formatul rezultatelor: număr cu patru zecimale, sau număr științific cu două zecimale). Nu este recomandat utilizarea termenilor de genul „N.S.” = ne semnificativ statistic.

(**recomandare**) Greșeli de evitat în interpretarea statistică a rezultatelor:

- ÷ "ne semnificativ statistic": este adesea interpretat greșit. Testele statistice evaluează doar plauzabilitatea datelor observate când ipoteza nulă este adevărată. Valoarea  $p$  este probabilitatea ca datele observate să apară datorită șansei. '*Semnificativ statistic*' poate duce la două interpretări: (1) ipoteza nulă este adevărată (evenimentele sunt datorate șansei), și (2) ipoteza nulă este falsă ( $p < 0.05 \rightarrow$  se respinge ipoteza nulă). Ipoteza nulă nu se poate respinge dacă  $p > 0.05$ . Un astfel de rezultat, nu înseamnă că nu există nici o diferență, dar nu se poate determina dacă există sau nu o diferență așteptată.
- ÷ "Valoarea  $p$  și nivelul de semnificație". Nivelul de semnificație cel mai frecvent utilizat ca punct de graniță pentru semnificația statistică (eroare de tip I,  $\alpha$ ) este cel care permite interpretarea valorilor  $p$  asociate testelor statistice. Nivelul de semnificație este cel ales de cercetător. Este de preferat raportarea valorii exacte a probabilității  $p$ , precum și intervalul de încredere al unui estimator.
- ÷ "Semnificația statistică și importanța practică". Dacă volumul eșantionului este mare ( $> 1000$ ), diferențele mici sunt semnificative statistic. Pe de altă parte, dacă volumul eșantionului este mic, o diferență mare care nu este semnificativă statistic, nu poate fi ignorată dacă are importanță practică.
- ÷ "Teste multiple și măsurători repetate". Utilizarea a mai multor teste statistice într-un singur studiu (analize pe subgrupe, mai multe metode statistice, analiza unui număr mare de variabile, măsurători separate în timp ale aceleiași variabile) pot determina creșterea probabilității de obținere a unor rezultate fals-pozitive. Pentru a evita aceasta: (1) identifică o variabilă de răspuns mai simplă; (2) interpretează specific nu generic rezultatele (de evitat termenul de „semnificativ”; se prezintă valoarea exactă pentru  $p$  și nu NS); (3) controlează nivelul de semnificație (corecția Bonferroni): nivelul de semnificație va fi de 0.01 pentru o analiză pe 5 subgrupe.
- ÷ "Analiza statistică de explorare sau de confirmare (exploratorie vs. confirmatorie)". Numai o analiză statistică de confirmare poate duce la rezultate care să permită extrapolarea concluziilor de la nivelul eșantionului pe care au fost obținute la nivelul populației din care eșantionul a fost extras. Acest tip de analiză statistică necesită un plan de analiză prestabilit prin protocolul de cercetare. Analizele exploratorii ar trebui folosite doar pentru identificarea de noi ipoteze care vor fi investigate prin studii ulterioare. Cel mai adesea, studiile observaționale sunt clasificate ca exploratorii. Concluzia unei analize exploratorii trebuie să fie de tipul "sunt necesare evaluări viitoare pentru a valida rezultatele". Pentru a reduce dezavantajele analizei exploratorii, se poate aplica o procedură de validare încrucișată. Dacă volumul eșantionului este destul de mare, acesta se împarte în două, unul fiind folosit în analiza exploratorie și cel de-al doilea în validarea ipotezei obținute în analiza exploratorie.
- ÷ "Asocierea statistică și relația cauză-efect". O asociere statistică nu este echivalentă cu o relație de tip cauză-efect între variabilele investigate. Cauzalitatea se stabilește în urma unor studii observaționale. S-au identificat următoarele ca argumente a prezenței unei relații de cauzalitate (evidențe non-statistice):

- Consecvența: alte investigații și alte studii pe diferite populații au obținut aceleași concluzii.
  - Verosimilitatea / Plauzibilitatea: concluziile sunt plauzibile biologic.
  - Doză-răspuns: relația de tip doză-răspuns (expunerea la o concentrație mare a unui anumit factor determină un risc mult mai crescut pentru o patologie).
  - Temporalitatea: efectul crește sau descrește odată cu creșterea sau descreșterea expunerii.
  - Puterea relației: o valoarea mare a unui estimator (ex. risc relativ, rata șansei, rata de hazard) este mult mai convingătoare în comparație cu o valoare mică.
- ÷ "Distribuții și asumptii". O serie de teste statistice au anumite asumptii; dacă aceste asumptii sunt corecte, validitatea ( $\alpha$  - eroare) și puterea ( $1-\beta$ -eroare) sunt garantate. Dacă datele urmează o distribuție asimetrică acestea se pot transforma înainte de analiză; cea mai frecventă modalitate de transformare este logaritizarea. După realizarea analizei este recomandat ca rezultatele să se transforme la scala originală.
- ÷ "Media și deviația standard" se utilizează în raportarea rezultatelor doar dacă variabilele sunt cantitative și urmează o distribuție normală. În caz contrar, este recomandată folosirea medianei, percentilelor sau cvartilelor.
- ÷ "Valorile extreme". Se consideră valoare extremă orice valoare care se abate grosolan (3 deviații standard de la medie) față de restul datelor experimentale. Verificarea prezenței valorilor extreme trebuie realizată înainte de analizarea datelor deoarece prezența acestora are influențe majore asupra rezultatelor. Se pot utiliza teste statistice pentru identificarea prezenței valorilor aberante (Bolboacă și Jäntschi, 2009): Grubbs (Grubbs, 1969; Stefansky, 1972), Jarque-Bera (Jarque și Bera, 1980; 1981), etc.

### Concluzii și recomandări cu privire la metodele de analiză genetică

În funcție de modul în care au fost aleși părinții și condițiile de mediu (condițiile experimentale), modelele de analiză genetică se pot clasifica ca model:

- ÷ Random: atât liniile, cât și mediul, sunt rezultatul unei distribuții normale.
- ÷ Fix: atât liniile, cât și mediul, sunt rezultatul unei alegeri deliberate.
- ÷ Mixt: unul din factori este ales deliberat și celălalt randomizat.
- ÷ (**recomandare**) Modul de interpretare și valorificate a parametrilor genetici se face
  - în funcție de modelul ales. De exemplu, pentru modelul fix: calcularea parametrilor genetici (heritabilitate în sens larg  $H^2$ , heritabilitate în sens restrâns  $h^2$ , gradul de dominanță  $a^2$ ) are semnificație relativă.

Rezultatele obținute pot fi utilizate în evaluarea potențialului de ameliorare a formelor parentale și prognoza efectelor heterozis pe baza efectelor aditive și neaditive.

- ÷ (**recomandare**) Estimatorii punctuali trebuie însoțiți de intervalul de încredere, pentru a permite o interpretare cât mai corectă a acestora.

- ÷ (**recomandare**) Interpretarea estimatorilor punctuali se va face în conformitate cu specificațiile prezentate în secțiunea "Identificarea și sumarizarea metodelor de analiză genetică".
- ÷ (**recomandare**) Aplicarea metodei de analiză genetică se face în funcție de designul experimental (ținând cont inclusiv dacă modelul este fix sau random).
- ÷ (**recomandare**) Metoda de analiză genetică trebuie decisă înainte de inițierea hibridării dialele.
- ÷ Heritabilitatea aduce informații cu privire la proporția variației fenotipice atribuită variației genotipice a indivizilor.
- ÷ Heritabilitatea în sens larg ilustrează contribuția tuturor factorilor genetici la variabilitatea fenotipică (varianța aditivă, varianța dominanței, interacțiunile epistatice, efectele materne și paterne). Acest estimator aduce informații cu privire la proporția diferențelor fenotipice atribuite tuturor surselor de variație.
- ÷ Heritabilitatea în sens restrâns cuantifică proporția din variabilitatea fenotipică atribuită aditivității naturale. Heritabilitatea în sens restrâns aduce informații cu privire la proporția diferențelor fenotipice atribuite varianței genetice aditive.
- ÷ Analiza varianțelor se face prin calcularea capacității generale și specifice de combinare. Capacitatea specifică de combinare evaluează efectele interacțiunii părinților asupra caracterului cantitativ de interes al genitorilor. Capacitatea generală de combinare evaluează efectul fiecărui părinte în privința transmiterii de la genitori la descendenți a caracterului cantitativ de interes.
- ÷ Valoarea mare a raportului CGC:CSC sugerează importanța efectelor aditive în transmiterea caracterului cantitativ; o valoare mică a acestui raport sugerează prezența unui efect de tip dominant și/sau epistatic.
- ÷ Capacitatea generală de combinare se poate utiliza pentru predicția performanțelor hibridilor.
- ÷ Capacitatea generală de combinare aduce informații cu privire la efectul de aditivitate când efectele aditiv  $\times$  aditiv sunt prezente.
- ÷ Analiza genetică nu asigură succesul în atingerea obiectivelor de ameliorare, dar crește șansa de succes în cazul în care informațiile privind capacitatea genitorilor de a-și transmite caracteristicile descendenților sunt utilizate adecvat.
- ÷ (**recomandare**) Greșeli de evitat în interpretarea rezultatelor analizei genetice:
  - Prea multe rezultate: prezentarea pe etape a modalității de calculare a capacității specifice și generale de combinare.
  - Prezentarea generică a valorilor de semnificație (ex.  $p = NS$ ). Este recomandată specificarea valorilor obținute.
  - Duplicarea rezultatelor din analiza statistică în analiza genetică.
  - Duplicarea rezultatelor în text și tabel/figuri.
  - Interpretarea greșită a parametrilor.
  - Expunerea rezultatelor fără interpretarea acestora.

**Concluzii și recomandări privind variabilitatea genetică în hibridarea dialelă completă**

- ÷ (**statistic**) Hibrizii rezultați din încrucișarea Macfree×Sauron sunt semnificativ statistic mai scunzi (prin extrapolare, cu vigoare mai mică) în comparație cu cei rezultați din hibridările Macfree×Priscilla și Macfree× Macfree.
- ÷ (**statistic**) Analiza genetică a varianțelor se poate aplica corect, deoarece omogenitatea varianțelor a fost dovedită statistic.
- ÷ (**statistic**) Hibrizii rezultați din încrucișarea Macfree×Sauron sunt semnificativ statistic mai scunzi în comparație cu cei rezultați din hibridările Macfree×Priscilla și Macfree×Macfree.
- ÷ (**statistic**) Clasificarea descendentă a hibridărilor după coeficientul de variabilitate relativă este (top 5): Priscilla×Sauron (37%), Priscilla×Sir Prize (32%), Sir Prize×Sauron (31%), Sir Prize×P<sub>4</sub> (29%), Sir Prize×Priscilla (24%).
- ÷ (**statistic**) Clasificarea ascendentă a hibridărilor după coeficientul de variabilitate relativă este (top 5): Sauron×Sauron (9%), Macfree×Macfree (12%), Priscilla×Macfree (13%), Sauron× Priscilla (16%), Sir Prize×Sir Prize & Priscilla×Priscilla (17%).
- ÷ (**statistic**) Compararea mediei fiecărei hibridări cu media globală a experimentului a pus în evidență următoarele trei grupe distincte: ▪ Grupul 1: mediile hibrizilor F<sub>1</sub> semnificativ statistic mai mici, în comparație cu media globală. În această categorie intră (clasificate descendent, cel cu probabilitatea de eroare mai mică fiind primul): Sir Prize×Priscilla ( $t = -7.04$ ,  $p = 2.99 \cdot 10^{-11}$ ), Sir Prize×Macfree ( $t = -5.34$ ,  $p = 2.29 \cdot 10^{-7}$ ), Macfree×Sauron ( $t = -4.62$ ,  $p = 5.93 \cdot 10^{-6}$ ), Sir Prize×Sauron ( $t = -4.50$ ,  $p = 1.05 \cdot 10^{-5}$ ); ▪ Grupul 2: mediile hibrizilor F<sub>1</sub> semnificativ statistic mai mari, în comparație cu media globală. În această categorie intră: Sauron×Sauron ( $t = 4.33$ ,  $p = 1.76 \cdot 10^{-5}$ ), Macfree×Priscilla ( $t = 3.64$ ,  $p = 0.0003$ ), Priscilla×Macfree ( $t = 3.57$ ,  $p = 0.0004$ ), Macfree×Macfree ( $t = 3.18$ ,  $p = 0.0016$ ); ▪ Grupul 3: mediile hibrizilor F<sub>1</sub> nu diferă semnificativ statistic, față de media globală. În această categorie intră cele nespecificate ca aparținând grupului 1 sau 2.
- ÷ (**genetic**) Hibridările dintre soiurile Priscilla și Macfree duc la apariția unor hibridi cu înălțime mare (valori  $g_i$  pozitive, Priscilla având cea mai mare contribuție în acest sens). Soiul Sir Prize dă naștere unor hibridi cu înălțime mai mică (valori  $g_i$  negative).
- ÷ (**genetic**) Estimarea capacității generale de combinare pune în evidență faptul că părintele cu capacitatea cea mai mare de transmitere a caracterului este Priscilla, urmat de Macfree.
- ÷ (**genetic**) Valoarea scăzută a raportului CGC:CSC indică prezența unui efect dominant sau epistatic în transmiterea înălțimii hibrizilor F<sub>1</sub>.
- ÷ (**genetic**) Coeficientul de heritabilitate în sens larg a fost estimat ca având o valoare de 0.9201. Acest rezultat indică faptul că influența mediului asupra manifestării fenotipice a caracterului cantitativ urmărit este redusă. Efectele non-genetice care contribuie la transmiterea înălțimii contribuie, de asemenea, la valoarea coeficientului de heritabilitate în sens larg (Bernardo, 2002).

- ÷ (**genetic**) Contribuția varianței aditive genetice la transmiterea înălțimii este relativ redusă ( $h^2 = 0.2739$ ). Valoarea mică a coeficientului de heritabilitate în sens restrâns sugerează utilitatea aplicării unor metode de selecție genotipică individuală prin urmărirea în descendență a valorii fiecărei plante elite, în funcție de caracterul analizat.
- ÷ (**recomandare**) Analiza statistică și analiza genetică trebuie realizată după verificarea asumpțiilor testelor care se doresc a fi aplicate. În acest context, analiza ANOVA a identificat existența unei diferențe semnificative statistic în compararea mediilor (distribuția normală a datelor experimentale – testul Kolmogorov-Smirnov, Anderson-Darling și Chi-Square) și respectiv a varianțelor (omogenitatea varianțelor - testul Levene), asumpțiile testului fiind verificate statistic.

### **Concluzii și recomandări privind variabilitatea genetică în hibridarea dialelă directă cu autopolenizare**

- ÷ (**statistic**) Cea mai mare valoare a caracterului cantitativ investigat a fost observată la hibridii rezultați din hibridarea Pry×BBM. Deoarece intervalele de confidență de 95% nu se suprapun, este posibil să nu fie identificate diferențe semnificative statistic între valorile caracterului cantitativ în compararea hibridărilor investigate.
- ÷ (**statistic**) Clasificarea descendentă după coeficientul de variabilitate relativă este (top 5): Pry×BBO (~54%), PB×PB (~43%), BBM×BBO (42%), Pry×Pry (34%), BBO×BBO (34%), Pry×PB (29%).
- ÷ (**statistic**) Testul Levene identifică absența omogenității varianțelor → nu este corectă aplicarea analizei genetice.
- ÷ (**statistic**) Media hibridilor BBM×BBM este semnificativ statistic mai mică în comparație cu media eșantionului (testul Welch,  $p = 0.0045$ ).
- ÷ (**genetic**) Capacitatea specifică de combinare cu valoarea cea mai mare este obținută de genitorii Pry×BBO, strâns urmată de BBM×BBO.
- ÷ (**genetic**) Capacitatea specifică de combinare s-a dovedit a avea semnificație statistică în transmiterea caracterului cantitativ urmărit.
- ÷ (**genetic**) Cu toate că analiza statistică a varianțelor (testul ANOVA) nu a identificat o diferență semnificativă statistic, analiza genetică pune în evidență capacitatea specifică de combinare a formelor parentale, cu influențe semnificative statistic asupra transmiterii caracterului cantitativ de interes la *Calendula*.

### **Concluzii și recomandări privind variabilitatea genetică în hibridarea dialelă directă și reciprocă**

- ÷ (**statistic**) Media valorii caracterului cantitativ analizat la hibridi, a permis identificarea a două grupe: grupa 1 cu înălțime mică a hibridilor (combinațiile: Aurora×Jubileu, Jubileu×Aurora, Williams×Jubileu, Williams×Arvena) și grupa 2 cu înălțime mai mare (restul combinațiilor).

- ÷ (*statistic*) Cel mai mic coeficient de variabilitate relativă s-a obținut la hibridii din combinația Williams×Aurora. Cea mai mare variabilitate relativă a fost observată la hibridii rezultați din încrucișarea Jubileu×Aurora respectiv Jubileu×Arvena.
- ÷ (*statistic*) Absența omogenității varianțelor nu susține aplicarea analizei genetice.
- ÷ (*statistic*) Compararea mediei fiecărei hibridări cu media globală a experimentului a pus în evidență următoarele trei grupe distincte. ▪ Grupul 1: mediile hibridilor  $F_1$  semnificativ statistic mai mici în comparație cu media globală. În această categorie intră (clasificate descendent, cel cu probabilitatea de eroare mai mică fiind primul): Aurora×Jubileu ( $t = -7.14$ ,  $p = 1.38 \cdot 10^{-7}$ ), S Williams×Arvena ( $t = -2.37$ ,  $p = 0.0254$ ) și Jubileu×Aurora ( $t = -3.32$ ,  $p = 0.0036$ ); ▪ Grupul 2: mediile hibridilor  $F_1$  semnificativ statistic mai mari în comparație cu media globală. În această categorie intră: Arvena×Jubileu ( $t = 2.82$ ,  $p = 0.0090$ ) și Jubileu×Williams ( $t = 2.58$ ,  $p = 0.0167$ ); ▪ Grupul 3: mediile hibridilor  $F_1$  nu diferă semnificativ statistic, față de media globală. În această categorie intră combinațiile hibride nespecificate ca aparținând grupului 1 sau 2.
- ÷ (*genetic*) Efectele CGC acționează în direcția obținerii unor descendenți mai înalți pentru soiul Arvena, valorile fiind asigurate statistic.
- ÷ (*genetic*) Efectele CGC acționează în direcția obținerii unor descendenți mai mici pentru soiurile Aurora, Williams și Jubileu, valorile fiind asigurate statistic. Dintre soiurile investigate, soiul Aurora dă naștere unor descendenți cu înălțimea cea mai mică (valori  $g_i$  negative).
- ÷ (*genetic*) Estimarea capacității generale de combinare pune în evidență faptul că părintele cu capacitatea cea mai mare este Arvena ( $P_4$ ).
- ÷ (*genetic*) Valoarea scăzută a raportului CGC:CSC indică prezența unui efect dominant sau epistatic în transmiterea înălțimii hibridilor  $F_1$ .
- ÷ (*general*) Analiza genetică a pus în evidență efecte generale și specifice de combinare, respectiv efecte reciproce, semnificative statistic în transmiterea caracterului cantitativ de interes, cu toate că asumția de omogenitate a varianțelor nu a fost îndeplinită. În acest caz, rezultatele obținute referă doar datele experimentale care au stat la baza analizei.

### **Concluzii și recomandări privind variabilitatea genetică în hibridarea dialelă directă**

- ÷ (*statistic*) Înălțimea hibridilor  $F_1$  de măr în combinațiile studiate, s-a dovedit a fi un caracter cu o variabilitate relativă înaltă. Cea mai mare variabilitate relativă a fost identificată la hibridii  $F_1$  rezultați din încrucișarea Strk×GDs (hibridii a căror medie a fost cea mai mică, în comparație cu alternativele studiate).
- ÷ (*statistic*) Din punct de vedere statistic, hibridii  $F_1$  rezultați din încrucișarea Strk×GDs s-au dovedit a avea vigoarea semnificativ statistic mai mică, în comparație cu hibridii  $F_1$  rezultați din următoarele încrucișări: Strk×Lib, GDs×Fl, și Lib×Fl. Pentru a putea recomanda utilizarea soiurilor din experiment ca genitori în noi lucrări de ameliorare, este necesară și analiza productivității descendenților lor, precum și a altor caractere importante pentru cultura și ameliorarea mărului, în comparație cu alți hibridii.

- ÷ (**genetic**) Transmiterea și fixarea cea mai bună în descendențele generative a vigorii scăzute a asigurat-o soiul Starkrimson.
- ÷ (**genetic**) Soiurile cu o creștere și fructificare de tip spur (Starkrimson și Goldenspur), utilizate ca genitori, au determinat obținerea hibridilor cu vigoarea cea mai scăzută.
- ÷ (**genetic**) Valoarea coeficientului de heritabilitate în sens larg ( $H^2 \sim 1$ ) a înălțimii pomilor nu a oferit o informație validă, deoarece cel puțin una din varianțele din formula de calcul a avut valoare negativă.

## REFERINȚE

- Anderson, T.W., D. A. Darling, 1952, Asymptotic theory of certain "goodness-of-fit" criteria based on stochastic processes, *Annals of Mathematical Statistics* 23(2), 193-212.
- Baker, R.J., 1978, Issues in diallel analysis, *Crop Sci.* 18:533-536.
- Beninger, C. W., M. J. Bassett, S. Owens, 2000, Chemical and morphological expression of the B and Asp seedcoat genes in *Phaseolus vulgaris*, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125, 52-58.
- Bertin, N., C. Borel, B. Brunel, C. Cheniclet, M. Causse, 2003, Do Genetic Make-up and Growth manipulation Affect Tomato Fruit Size by Cell Number, or Cell Size and DNA Endoreduplication?, *Annals of Botany* 99, 415-424.
- Bolboacă S.D., L. Jäntschi, R. Sestraș, 2008, Reporting Results and Associated Statistics in Quantitative Genetic Studies, *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine - Horticulture*, 65(1), 71-79.
- Bolboacă, S.D., L. Jäntschi, R.E. Sestraș, 2009, Statistical Approaches in Analysis of Variance: from Random Arrangements to Latin Square Experimental Design, *Leonardo Journal of Sciences* 15(8), 71-82.
- Botez, C., E. Marin, E. Tămaș, 1995, *Genetica, Tipografia Agronomia, Cluj-Napoca.*
- Bratteler, M., M. Baltisberger, A. Widmer, 2006, QTL Analysis of Intraspecific Differences between Two *Silene vulgaris* Ecotypes, *Annals of Botany* 98, 411-419.
- Brenner, S., J.H. Miller, 2002, *Encyclopedia of Genetics*, San Diego: Academic Press.
- Brewer, M.T., J.B. Moysenko, A.J. Monforte, E. van der Knaap, 2007, Morphological variation in tomato: a comprehensive study of quantitative trait loci controlling fruit shape and development, *Journal of Experimental Botany* 58(6), 1339-1349.
- Castle, W.E., 1903, Mendel's law of heredity, *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences* 30, 543-548.
- Chaib J., M.-F. Devaux, M.-G. Grotte, K. Robini, M. Causse, M. Lahaye, I. Marty, 2007, Physiological relationships among physical, sensory, and morphological attributes of texture in tomato fruits, *Journal of Experimental Botany* 58(8), 1915-1925.
- Cocs, D.R., 1958, *Planning of Experiments*, New York: Wiley.
- Cocs, D.R., N. Reid, 2000, *The Theory of the Design of Experiments*, Chapman & Hall/CRC; Florida.
- Comes, H.P., 1998, Major Gene Effects During Weed Evolution: Phenotypic Characters Cosegregate With Alleles at the Ray Floret Locus in *Senecio vulgaris* L. (Asteraceae), *Journal of Heredity* 89, 54-61.
- Darwin, C., 1859, *On the Origin of Species by Means of Natural Selection of the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*, John Murra: London.
- East, E.M., 1910, The transmission of variances in the potato in a sexual reproduction. *Rpt. Conn. Agr. Exp. Sta.* 3, 120-160.
- Egounlety, M., O. C. Aworh, 2003, Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms), *Journal of Food Engineering* 56(2-3), 249-254.
- Falconer, D.S., T.F.C. Mackay, 1996, Hardy-Weinberg equilibrium. In: Falconer DS, TFC Mackay (Editors). *Introduction to Quantitative Genetics*. Pearson Education Limited: Harlow, England. 4th Edition, pp. 5-18.
- Fisher, R.A., 1918, The Correlation Between Relatives on the Supposition of Mendelian Inheritance, *Edinb. Roy. Soc. Trans.* 52, 399-433.

- Fisher, R.A., 1922, On the Mathematical Foundations of Theoretical Statistics, *Philosophical Transactions of the Royal Society A*(222), 309-368.
- Fisher, R.A., 1926, The arrangement of field experiments, *Journal of the Ministry of Agriculture of Great Britain* 33, 503-513.
- Fisher, R.A., 1930, *The Genetical Theory of Natural Selection*, Clarendon Press.
- Foster, T., R. Johnston, Al. Seleznyova, 2003, A Morphological and Quantitative Characterization of Early Floreal development in Apple (*Malus × domestica* Borkh.), *Annals of Botany* 92, 199-206.
- Garrod, A., 1902, The Incidence of Alkaptonuria: A Study in Chemical Individuality, *The Lancet* 2, 1616.
- Ghidra, V., I. Chis, R. Sestraș, M. Dejeu, 2004, Pear Varieties and Selections, With Extra-Early and Early Ripening, Obtained at the Fruit Research Station Cluj (FRS Cluj), *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj*, XXXII, 48-51.
- Ghosh, H., A. Das, 2004, Optimal diallel cross designs for the interval estimation of heredity, *Statistics & Probability Letters*, 67(1), 47-55.
- Haldane, J.B.S., 1924a, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part I, *Transactions of the Cambridge Philosophical Society* 23, 19-41.
- Haldane, J.B.S., 1924b, The influence of partial self-fertilisation, inbreeding, assortative mating and selective fertilisation on the composition of Mendelian populations and on
- Haldane, J.B.S., 1926, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part III, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 23, 363-372.
- Haldane, J.B.S., 1927a, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part IV, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 23, 607-615.
- Haldane, J.B.S., 1927b, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part V. Selection and mutation, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 23, 838-844.
- Haldane, J.B.S., 1930, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part VI. Isolation, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 26, 220-230.
- Haldane, J.B.S., 1931, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part VII. Selection intensity as a function of mortality rate, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 27, 131-136.
- Haldane, J.B.S., 1932a, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part VIII. Metastable populations, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 27, 137-142.
- Haldane, J.B.S., 1932a, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part VIII. Metastable populations, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 27, 137-142.
- Haldane, J.B.S., 1932b, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part IX. Rapid selection, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 28, 244-248.
- Haldane, J.B.S., 1932b, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part IX. Rapid selection, *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society* 28, 244-248.
- Haldane, J.B.S., 1934, A mathematical theory of natural and artificial selection. Part X. Some theorems on artificial selection, *Genetics* 19, 412-429.
- Hallauer, A.R. and J.B. Miranda Fo. 1981. *Quantitative genetics in maize breeding*. Iowa State Univ. Press, Ames.
- Hardy, G.H., 1908, Mendelian proportions in a mixed population. *Science* 28, 49-50.
- Henderson, C.R., 1948, Estimation of general, specific and maternal combining abilities in crosses among inbred lines of swine. Ph.D. Thesis. Iowa State University Library, Ames, Iowa.
- Henderson, C.R., 1952, Specific and general combining ability. Chapter 22. *Heterosis*. Edited by Gowen J.W. Iowa State College Press. Ames, Iowa.
- Herman, N.-E., 1908, Årsberättelse öfver Sveriges Utsädesförenings verksamhet under år 1907. *Hösthvetet. Sveriges Utsädesförenings Tidskrift* 18, 111-122.
- Jarque, C.M., A.K. Bera, 1980, Efficient tests for normality, homoscedasticity and serial independence of regression residuals, *Econ. Lett.* 6(3), 255-259.
- Jarque, C.M., A.K. Bera, 1981, Efficient tests for normality, homoscedasticity and serial independence of regression residuals: Monte Carlo evidence, *Econ. Lett.* 7(4), 313-318.
- Johannsen, W., 1909, *Elemente der exakten Erblchkeitslehre*, Gustav Fischer, Jena.
- Jolivet, C., G. Bernasconi, 2007, Molecular and Quantitative Genetic Differentiation in European Populations of *Silene latifolia* (Caryophyllaceae), *Annals of Botany* 100, 119-127.
- Kaushik, L.S., P.D. Puri, 1985, Missing Plot Technique in Diallel Crosses for Griffing Method-III, *Biomertical Journal*, 27(4), 385-395.
- Kolmogorov, A., 1941, Confidence Limits for an Unknown Distribution Function, *The Annals of Mathematical Statistics* 12(4), 461-463.

- Kumar Sharma, M., S. Fanta, 2009, Incomplete block designs for CDC experiments I and III. *Metron* 67(2), 211-22.
- Levene, H., 1960, Robust tests for equality of variances. In: Ingram Olkin, Harold Hotelling și colab. *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*, Stanford University Press., pp. 278-292.
- Linde, M., S. Diel, B. Neuffer, 2001, Flowering Ecotypes of *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik. (Brassicaceae) Analysed by a Cosegregation of Phenotypic Characters (QTL) and Molecular Markers, *Annals of Botany* 87, 91-99.
- Lou, P., J. Zhao, J.S. Kim, S. Shen, D.P. Del Carpio, X. Song, M. Jin, D. Vreugdenhil, X. Wang, M. Koornneef, G. Bonnema, 2007, Quantitative trait loci for flowering time and morphological traits in multiple populations of *Brassica rapa*, *Journal of Experimental Botany* 58(14), 4005-4016.
- Mendel, G., 1865, Experiments in Plant Hybridization (in German), Meetings of the Brünn Natural History Society, February 8th, and March 8th.
- Mendel, G.J., 1866, Versuche über Pflanzen-Hybriden. *Verhandlungen des naturforschenden Vereins Brünn* 4, 3-47. (in English in 1901, *J. R. Hortic. Soc.* 26, 1-32).
- Monaghan, F., A. Corcos, 1986, Tschermak: a non-discoverer of Mendelism. I. An historical note. *J. Hered.* 77(6), 468-9.
- Moyle, L.C., 2007, Comparative Genetics of Potential Prezygotic and Postzygotic Isolating Barriers in a *Lycopersicon* Species Cross, *Journal of Heredity* 98(2), 123-135.
- Noel, F., N. Machon, E. Porcher, 2007, No Genetic Diversity at Molecular Markers and Strong Phenotypic Plasticity in Populations of *Ranunculus nodiflorus*, an Endangered Plant Species in France, *Annals of Botany* 99, 1203-1212.
- Pearson, K., 1900, On the criterion that a given system of derivations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling, *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science* 5(50), 157-175.
- Provine, W., 1986, *Sewall Wright and Evolutionary Biology*. University of Chicago Press.
- Punnett, R.C., 1905, *Mendelism*, Cambridge: Bowes and Bowes.
- Schwartz, J.H., 2007, Recognizing William Bateson's contributions, *Science* 315(5815), 1077.
- Sestraș, R., D. Pamfil, A. Sestraș, L. Jäntschi, S. Bolboacă, C. Dan, 2009, Inheritance of apple tree vigour, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37(1), 70-73.
- Sestraș, R., C. Dan, D. Pamfil, A. Sestraș, L. Jäntschi, S.D. Bolboacă, 2010a, The Variability of Juvenile Period, Fruits Size and Response to Diseases Attack on F1 Interspecific Apple Hybrids and the Efficiency of Selection, *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 38(1), 234-240.
- Sestraș, R., A. Sestraș, E. Harsan, A. Barbos, 2010b, 'Sauron' Apple Cultivar, *Notulae Scientia Biologicae* 2(2):135-136.
- Sestraș, A., R. Sestraș, E. Harsan, A. Barbos, 2010c, 'Arvena' – a new pear cultivar obtained at Fruit Research Station Cluj, Romania, *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology* (14)2:342-345.
- Shapiro S.S., M.B. Wilk, 1968, Approximation for the null distribution of the W statistic, *Technometrics* 10, 861-866.
- Shapiro, S.S., M.B. Wilk, H.J. Chen, 1968, A comparative study of various tests for normality, *J. Amer. Statist. Assoc.* 63, 1343-1372.
- Summerfield, R. J., P.A. Huxley, W. Steelle, 1974, Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), *Field Crops Abstr.* 27, 301-312.
- Taiwo, K. A., 1998, The potential of cowpea as human food in Nigeria, *Technovation* 18, 469-481.
- Talebi, E., G. Subramanya, 2009, Diallel analysis of Bivoltine and multivoltine races for six quantitative traits, *Ozean Journal of Applied Sciences*, 2(3), [http://ozelacademy.com/OJAS\\_v2n3\\_8.pdf](http://ozelacademy.com/OJAS_v2n3_8.pdf) (Accesat Mai 2010).
- Troszyńska, A., I. Estrella, M.L. López-Amóres, T. Hernández, 2002, Antioxidant activity of pea (*Pisum sativum* L.) seed coat acetone extract, *Lebensm. Wiss. Technol.* 35, 158-164.
- Warrington, R.T., A.L. Hale, D.C. Scheuring, D.W. Whitaker, T. Blessington, J.C. Miller, Jr., 2002, Variability for antioxidant activity in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) as influenced by genotype and postharvest rehydration, *HortScience* 37, 738.
- Watson, J.D., F.H.C. Crick, 1953, Molecular structure of Nucleic Acids. A structure for deoxyribose Nucleic Acid, *Nature* 4356, 737-738.
- Weinberg, W., 1908, Über des Nachweis der Vererbung beim Menschen, *Jh Ver. Vaterl. Naturk. Württemb.* 64, 369-382.
- Weir, B.S., 1990, *Genetic Data Analysis*. Sinauer, Sunderland, Mass., USA.

- Wright, S., 1921, Systems of Mating, *Genetics* 6, 111-178.
- Wright, S., 1931, Evolution in Mendelian Populations, *Genetics* 16, 97-159.
- Wright, S., 1932, The roles of mutation, inbreeding, crossbreeding and selection in evolution, *Proc. 6th Int. Cong. Genet.* 1, 356-366.
- Wynn, J.M., J.L. Small, R.J. Pakeman, E. Sheffield, 2000, An Assessment of Genetic and Environmental Effects on Sporangial Development in Bracken [*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn] using a Novel Quantitative Method, *Annals of Botany* 85(Supplement B), 113-115.
- Yates, F., 1947, Analysis of data from all possible reciprocal crosses between a set of parental lines. *Heredity* 1, 287-301.
- Zhang, F.Z., C. Wagstaff, A.M. Rae, A.K. Sihota, C.W. Keevil, S.D. Rothwell, G.J.J. Clarkson, R.W. Michelmore, M.J. Truco, M.S. Dixon, G. Taylor, 2007, QTLs for shelf life in lettuce co-locate with those for leaf biophysical properties but not with those for leaf developmental traits, *Journal of Experimental Botany* 58(6), 1433-1449.

**LUCRĂRI REPREZENTATIVE PUBLICATE**

- Bolboacă S.D., L. Jäntschi, R. Sestraș, 2008, Reporting Results and Associated Statistics in Quantitative Genetic Studies, Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine - Horticulture, 65(1), 71-79.
- Bolboacă S.D., L. Jäntschi, 2009, Distribution Fitting 3. Analysis under Normality Assumptions, Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture 66(2), 698-705.
- Bolboacă, S.D., L. Jäntschi, R.E. Sestraș, 2009, Statistical Approaches in Analysis of Variance: from Random Arrangements to Latin Square Experimental Design, Leonardo Journal of Sciences 15(8), 71-82.
- Jäntschi, L., S.D. Bolboacă, 2009, Distribution Fitting 2. Pearson-Fisher, Kolmogorov-Smirnov, Anderson-Darling, Wilks-Shapiro, Kramer-von-Mises and Jarque-Bera statistics, Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture 66(2), 691-697.
- Sestraș, R., D. Pamfil, A. Sestraș, L. Jäntschi, S. Bolboacă, C. Dan, 2009, Inheritance of apple tree vigour, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 37(1), 70-73.
- Sestraș, R., C. Dan, D. Pamfil, A. Sestraș, L. Jäntschi, S.D. Bolboacă, 2010, The Variability of Juvenile Period, Fruits Size and Response to Diseases Attack on F1 Interspecific Apple Hybrids and the Efficiency of Selection, Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj 38(1), 234-240.
- Bolboacă, S.D., L. Jäntschi, A.F. Sestraș, R.E. Sestraș, Statistics and Genetic Analysis of Quantitative Traits using Griffing's Experimental Method IV: A practical guideline, Under review, 2010.
- Bolboacă, S.D., L. Jäntschi, A.F. Sestraș, R.E. Sestraș, D.C. Pamfil, Pearson-Fisher Chi-Square Statistic Revisited, Pakistan Journal of Statistics, Under review, 2009.