

Como determinar a herdabilidade para um caráter quantitativo?



**Kaliana Ferreira¹, Luísa Bertolini¹,
Maria Imaculada Zucchi², Enéas Ricardo Konzen²**

¹Graduanda da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Campus Litoral Norte, Centro de Estudos Costeiros Limnológicos e Marinhos, Imbé, RS

²Agência Paulista de Tecnologia do Agronegócio, Piracicaba, SP

Autor para correspondência - erkonzen@gmail.com; eneas.konzen@ufrgs.br

Palavras-chave: variabilidade fenotípica, variância genética, variância ambiental, SmartGrain, ANOVA

Características quantitativas são controladas por vários genes, portanto, apresentam herança poligênica. A determinação da **herdabilidade** de uma característica quantitativa permite identificar a proporção da **variação fenotípica** que é explicada pela variação genética em uma população. Dentre vários métodos, este material didático apresenta a aplicação da análise de variância (ANOVA) para o cálculo de herdabilidade, decompondo-se os componentes da variância fenotípica em suas variâncias genética e ambiental. Alia-se essa metodologia a um exemplo prático que envolve mensurar caracteres biométricos de frutos que podem ser coletados no seu jardim e medidos no seu computador através do programa SmartGrain. Assim, este material didático visa fornecer um guia para estudantes de graduação e/ou ensino médio para determinar a herdabilidade para variáveis biométricas, incentivando o uso de materiais genéticos do cotidiano do estudante, e o aprendizado de conceitos básicos em genética estatística.

Herdabilidade - A

herdabilidade é um coeficiente genético que expressa a razão entre a variação genética e a variação fenotípica total de um dado atributo em uma população. Veremos, efetivamente, que se trata de um quociente entre variâncias genética e fenotípica, conforme descrições mais a frente neste material.

Os estudantes de Ensino Médio apropriam-se de conceitos básicos em genética, geralmente trabalhando com as duas leis de Mendel e suas conseqüências para diversas características. Para cursos do Ensino Superior, como de Ciências Biológicas, Agronomia, Engenharia Florestal e afins, alunos geralmente apresentam bases sobre as leis da hereditariedade, mas também já apresentam alguma noção sobre o estudo e análise de características quantitativas.

Características ou caracteres ou traços dizem respeito a qualidades, categorias ou medidas que se desejam analisar em um indivíduo ou em populações e espécies. Quando um caráter pode ser descrito por categorias bem definidas, por exemplo, a cor de sementes de ervilha (amarela ou verde), diz-se que esse caráter é qualitativo. Em contrapartida, quando o caráter apresenta diversas medidas numéricas possíveis, como a estatura de uma pessoa, a produtividade de uma cultivar de feijoeiro em um hectare, a quantidade de leite produzida por determinada raça de vaca leiteira, dentre outros, o caráter é quantitativo. É fato que a maioria das características são quantitativas, o que torna o seu estudo mais complexo quanto à sua dissecação genética.

O estudo dos caracteres qualitativos é relativamente mais simples, dado o menor número de genes envolvidos. Gregor Mendel trabalhou com características de ervilha tais como a forma e a cor das sementes, a cor das pétalas de flores, o porte de plantas, dentre outras. Com os seus estudos, mostrou que

Variação fenotípica e genotípica

- A variação de um traço quantitativo conforme foram tomadas suas medidas na população é referida como variação fenotípica, enquanto a variação genética associada a esse traço é referida como variação genotípica.

cada uma dessas características poderia ser explicada pela segregação dos alelos de um gene. Estas terminologias ainda não eram utilizadas na época dele, mas cabe aqui uma descrição objetiva e precisa com os termos atuais. Adicionalmente, mostrou que duas características combinadas segregavam de forma independente, através de sua segunda lei.

Para caracteres quantitativos, no entanto, cientistas do século XIX e primeiros anos do século XX não conseguiam aplicar as duas leis de Mendel. Francis Galton, considerado o pai da biometria, foi quem primeiramente descreveu características quantitativas segundo histogramas de distribuição de frequências para a estatura humana, dentre outras características que avaliou. Cientistas que seguiram a linha de Galton declararam que não era possível explicar características quantitativas através das leis mendelianas. Foi Ronald Fisher, com uma publicação inédita em 1918, que propôs um modelo estatístico que conseguiu explicar características quantitativas segundo uma combinação de vários genes e seus alelos, demonstrando que as leis Mendelianas também se aplicavam a estas características. Foi o primeiro passo para uma série de descobertas que mostraram o papel dos genes e de suas interações para a definição de características quantitativas. Além disso, ao longo das décadas, os geneticistas mostraram e desenvolveram modelos que permitiram identificar que não somente os genes, mas também o ambiente, modulam a expressão de uma característica, ou seja, moldam o fenótipo.

Caracteres quantitativos são efetivamente controlados por mais um de gene. Geralmente, muitos genes estão envolvidos na determinação de uma característica como a estatura humana, o peso corporal de um bovino, a produção de leite e a área foliar total de uma planta. E, muitas vezes, o ambiente modula fortemente a expressão do genótipo, influenciando no valor final do fenótipo. Por exemplo, se cultivarmos uma espécie de planta em um local ensolarado e plantas da mesma espécie em local sombreado, prova-

velmente a área foliar após um certo período será diferente entre os dois locais. Vários genes condicionam o desenvolvimento das folhas, mas o ambiente certamente contribui com maior ou menor expansão da área foliar, considerando a disponibilidade de luminosidade, a temperatura, o status nutricional e umidade relativa do ar. Nessa linha de raciocínio, nota-se que a área foliar é o resultado de genes mais o efeito do ambiente. Além disso, dependendo do ambiente, pode ocorrer um efeito adicional de interferência no comportamento dos genes que se expressam para aquela característica, o que é chamado de efeito de interação. Ao analisar uma característica quantitativa e discriminar os efeitos dos genes, que chamamos de genotípicos, e do ambiente, assim como a interação (quando condicionados a diferentes ambientes), podemos calcular o quanto de uma característica é atribuído a efeitos genéticos. Utilizando uma expressão matemática, podemos dizer que o fenótipo é igual a genótipo, mais ambiente, mais interação genótipo versus ambiente. Se considerarmos somente um ambiente, podemos desconsiderar o efeito de interação, para facilitar nosso raciocínio. Assim, fenótipo é igual a genótipo mais ambiente. Quando estendemos essa análise ao nível de população, a relação pode ser escrita da seguinte maneira: variância fenotípica é igual a variância genética mais variância ambiental. Nessa última relação, o quociente entre a variância genética e a variância fenotípica é chamado de herdabilidade.

As pesquisas realizadas já na segunda década do século XXI mostram que a modulação ambiental sobre a expressão do genótipo se dá via mecanismos que ocorrem também no nível intracelular, até mesmo ao redor do DNA. As influências ambientais condicionam certas modificações químicas do DNA, tais como a adição de grupos metil (metilação), que podem se tornar estáveis e herdáveis. Essa é uma nova fronteira do conhecimento, a epigenética, que certamente contribuirá para melhor entendimento de variações fenotípicas que ocorrem até mesmo para dois indivíduos com genótipos iguais,

tais como gêmeos, ou mesmo duas mudas produzidas a partir de estacas coletadas de uma mesma roseira. Essa abordagem não é a base deste material, mas não poderíamos deixar de citá-la, considerando sua importância na elucidação de traços quantitativos.

Neste artigo, busca-se demonstrar, de maneira simplificada, como características quantitativas podem ser analisadas geneticamente com materiais vegetais que podem ser encontrados até mesmo na cozinha de nossa casa. As análises foram realizadas com o uso de variáveis biométricas para frutos de palmeiras tropicais e subtropicais que vêm sendo objeto de pesquisas em genética de populações e da conservação. Outros exemplos são também mostrados com o propósito de demonstrar os procedimentos para determinar o quanto uma característica é herdável, ou seja, sua herdabilidade. Este material pode ser utilizado, principalmente, em uma aula introdutória sobre genética quantitativa.

Biometria de frutos e sementes

Ao ir à feira encontramos diversos frutos com cores e tamanhos diferentes; o mesmo acontece em um passeio em um parque ou campo, em que encontramos árvores com frutos e sementes de diversos tamanhos (Figura 1). Nesse caso, já estamos trabalhando com variáveis quantitativas, com determinação genética mais complexa, conforme relatamos anteriormente. Sabe-se que através da análise biométrica desses frutos e sementes podemos obter informações importantes sobre a **variabilidade genética** em populações e determinar a herdabilidade das variáveis que estão sendo estudadas. Cabe explicar brevemente do que se trata uma análise biométrica de frutos, assim como reforçar os conceitos de variabilidade genética e herdabilidade.

Biometria de frutos e sementes - Conjunto de procedimentos que determinam as dimensões de frutos e sementes. A biometria dos frutos é um instrumento com potencial para ser utilizado em análises da variabilidade genética dentro de populações de uma mesma espécie e as relações desta variabilidade com os fatores ambientais, conforme relatam Macedo e colaboradores em estudo publicado em 2009.

Variabilidade genética - A variabilidade genética diz respeito à diversidade de alelos de um ou mais loci avaliados em nível de população ou espécie.



Figura 1. Frutos e sementes com cores e tamanhos diferentes.

Biometria de frutos de espécies comestíveis

Vamos demonstrar como podem ser determinadas dimensões de frutos e sementes, utilizando exemplos do nosso cotidiano. Po-

de-se pensar em frutos como tomateiro, pimentinha e vários outros. Aqui vamos trazer exemplos de espécies nativas de palmeiras que têm sido objeto de estudos científicos. As espécies consideradas são o butiazeiro (*Butia odorata*, *B. catarinensis* e outras do mesmo gênero) e jerivá (*Syagrus romanzoffiana*). *B. odorata* (Figura 2, duas fotos superiores) é uma espécie que ocorre tipicamente entre o

litoral do Rio Grande do Sul e o Uruguai, sendo popularmente conhecida como butiá. *B. catarinensis* é uma espécie com características semelhantes, ocorrendo entre o Litoral Norte do RS e Santa Catarina. As duas palmeiras produzem muitos frutos, vistosos e saborosos, frequentemente utilizados em geleias, sucos, licores e até mesmo tortas e bolos. No entanto, são palmeiras ameaçadas de extinção, o que requer o desenvolvimento de estratégias para conservação de seus recursos genéticos.

Essas palmeiras também possuem valor ornamental, dividindo a paisagem urbana com

outra palmeira nativa mais conhecida e de ampla distribuição pelo Brasil, o jerivá (Figura 2, duas fotos inferiores). Seus frutos também são consumidos por animais como gado, antas e pássaros. Quanto à *S. romanzoffiana*, embora não esteja na lista de espécies ameaçadas, alguns estudos já sinalizam a importância de ações de conservação, considerando os efeitos que exploração antrópica pode ter para a espécie ao longo das gerações. A expansão do conhecimento acerca dessas espécies e seus recursos genéticos são essenciais para sua conservação, passando pelo estudo da produtividade de seus frutos, o que inclui variáveis biométricas.



Figura 2.

Indivíduo reprodutivo de *Butia odorata* (duas fotos superiores) e de *Syagrus romanzoffiana* (duas fotos inferiores).

Através de biometria de frutos e sementes podemos identificar a variabilidade genética em populações da mesma espécie e as

relações entre variabilidade e fatores ambientais, informações importantes para conservação e seleção de materiais genéti-

cos para fins de **melhoramento genético**. Por exemplo, com butiás ou pimentas coletadas de plantas diferentes, poderemos identificar se há variabilidade entre os frutos coletados de uma mesma planta ou genótipos e/ou variabilidade entre frutos de

plantas diferentes (genótipos diferentes) (Figura 3). Verificando quais frutos são mais produtivos dentro e entre genótipos, poderemos selecionar os mais produtivos para produzir mudas dos genótipos mais promissores.

Melhoramento genético

- O melhoramento genético é um conjunto de técnicas que envolve cruzamentos e seleção de genótipos de interesse (por exemplo, mais produtivos, com frutos maiores, maior rendimento de polpa) para aprimorar características importantes que podem favorecer a comercialização de frutos dessas espécies.



Figura 3.

Frutos de *Butia odorata* com diferentes tamanhos e cores (superior), assim como pimentas (inferior).

Como determinar medidas biométricas de frutos e sementes?

Uma opção para obter medidas biométricas de frutos e sementes é a utilização de um paquímetro analógico ou digital. No entanto, essas mesmas medidas também podem ser obtidas através de um programa que dimensiona frutos e sementes por imagens. O programa SmartGRAIN (desenvolvido e lançado por Tanabata e colaboradores em 2012, disponível através do link: [http://](http://www.kazusa.or.jp/kazusalab/smartgrain.html)

www.kazusa.or.jp/kazusalab/smartgrain.html), é um exemplo de aplicativo computacional que calcula dimensões de frutos através do seu reconhecimento em imagens. As variáveis calculadas através do programa incluem, dentre outras, a área, o perímetro, o comprimento, a largura e a circularidade dos frutos.

Os frutos e sementes no programa SmartGRAIN são medidos através de uma imagem simples. É recomendado um fundo de cor que não transmita sombra para diminuir os ajustes do tamanho do fruto no programa (Figura 4), e que se determine uma escala de acordo com o tamanho dos frutos em milímetros.



Figura 4. Captura de tela ilustrando fotografia com tomates que foram analisados no programa SmartGrain.

Obtendo medidas de frutos através de fotos e determinando variabilidade genética e herdabilidade

O tutorial a seguir é uma adaptação para medir frutos e sementes de butiá (*B. odorata*) e jerivá (*S. romanzoffiana*), espécies que temos estudado. Criamos um passo a passo para a medição de frutos e sementes que se queira, mas para

mais informações, consulte o tutorial e o artigo específico dos autores do programa (Tanabata e colaboradores). O programa SmartGRAIN é um aplicativo executável (não requer instalação) e os passos que seguem são baseados no

manual disponibilizado pelo programa, onde também podem ser encontradas mais informações sobre a barra de tarefas e suas outras funcionalidades. A partir dos dados mostrados, será possível calcular a variabilidade genética (que efetivamente será expressa como uma variância) para as variáveis de dimensões de frutos e estimar a sua herdabilidade.

Mãos à obra!

Depois de baixar o programa pelo link, deve-se executá-lo para abrir e utilizar. A análise pode ser realizada com uma imagem que contenha frutos ou sementes de espécie de sua preferência. Primeiramente, vamos nos

deter apenas aos passos necessários para determinar as medidas no programa. Depois, vamos apresentar um exemplo de dados simplificado que permitirá fazer o cálculo da variabilidade genética e da herdabilidade.

Antes de mais nada, deve-se coletar ou separar frutos de alguma espécie e organizá-los sobre uma superfície preferencialmente escura e com uma régua à mostra. Neste tutorial, mostramos um exemplo de frutos de jerivá, espécie de palmeira que descrevemos anteriormente (Figura 5). Fotografia deve ser tirada; pode ser com o celular. Posteriormente, a imagem deve ser aberta no programa, conforme os passos 1, 2 e 3, a seguir (Figura 6).

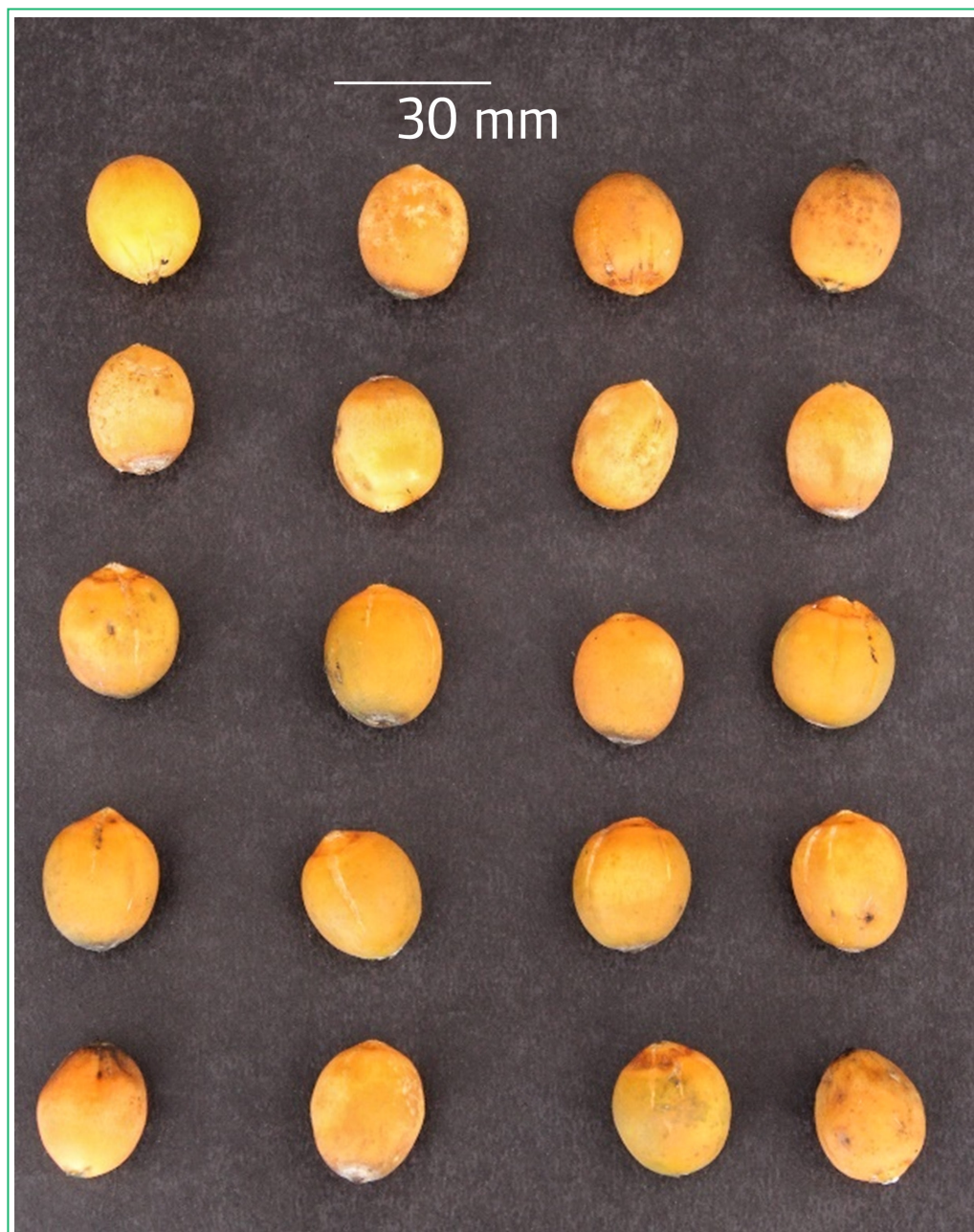


Figura 5.
Imagem utilizada no exemplo.

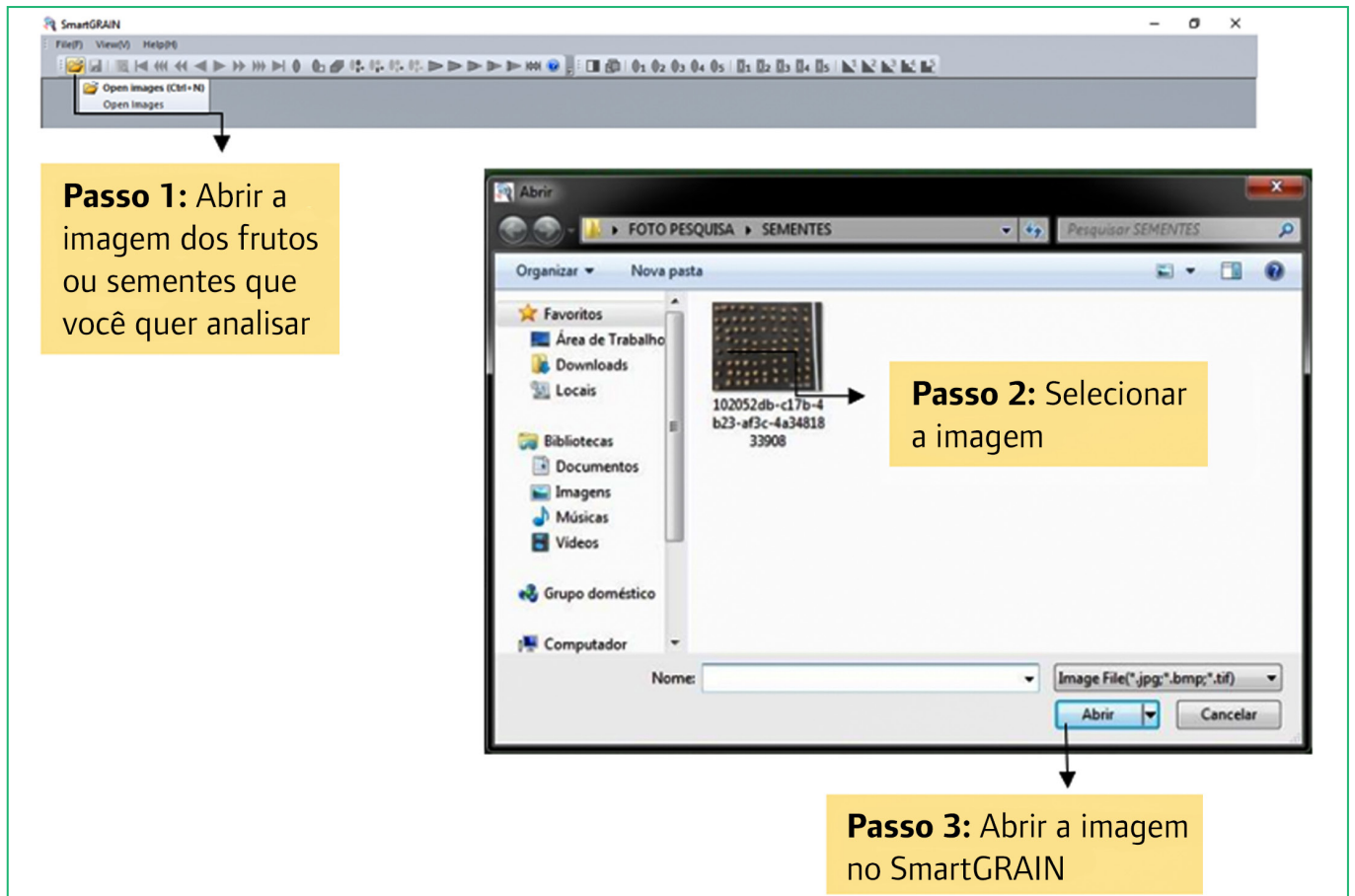


Figura 6. Abertura da imagem no programa SmartGrain.

Posteriormente, é necessário informar ao programa quais cores da imagem são associadas a frutos (pode-se informar até cinco cores clican-

do sobre os frutos) e também cores que serão entendidas pelo programa como plano de fundo (até cinco cores também) (Figuras 7 e 8).

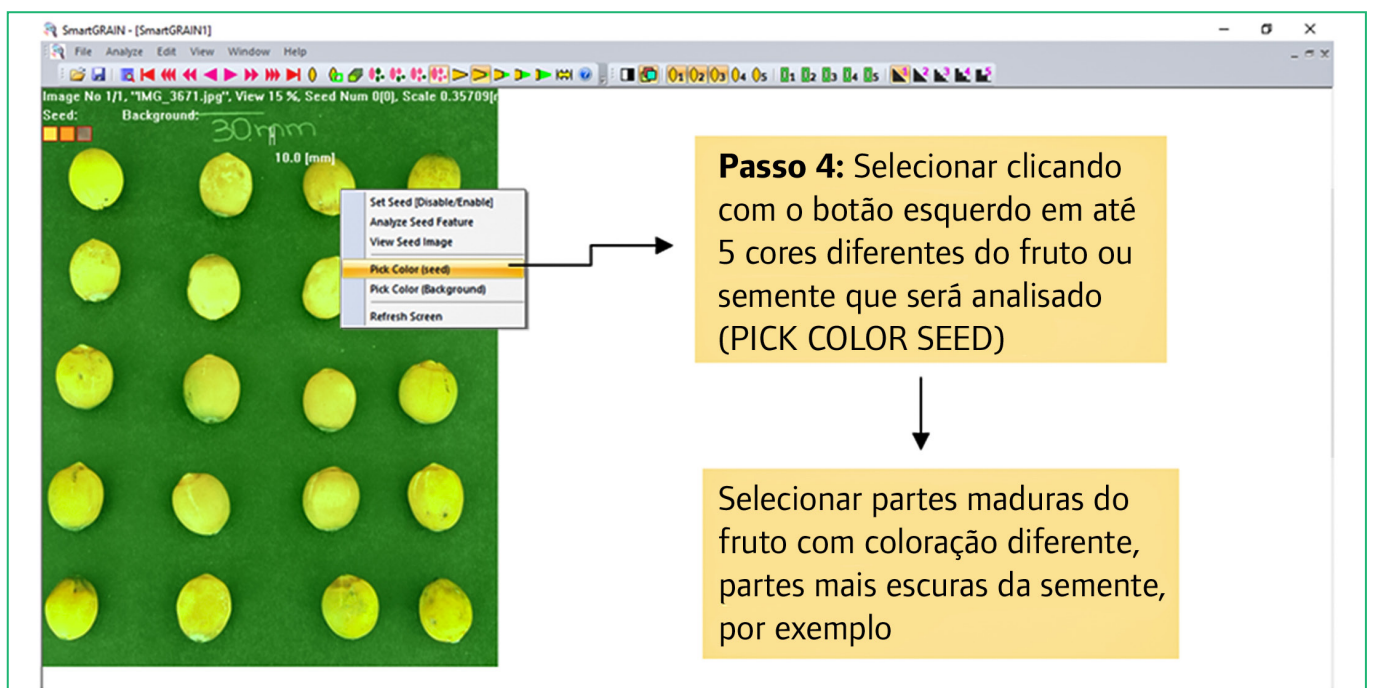


Figura 7. Selecionar cores para frutos/ sementes.

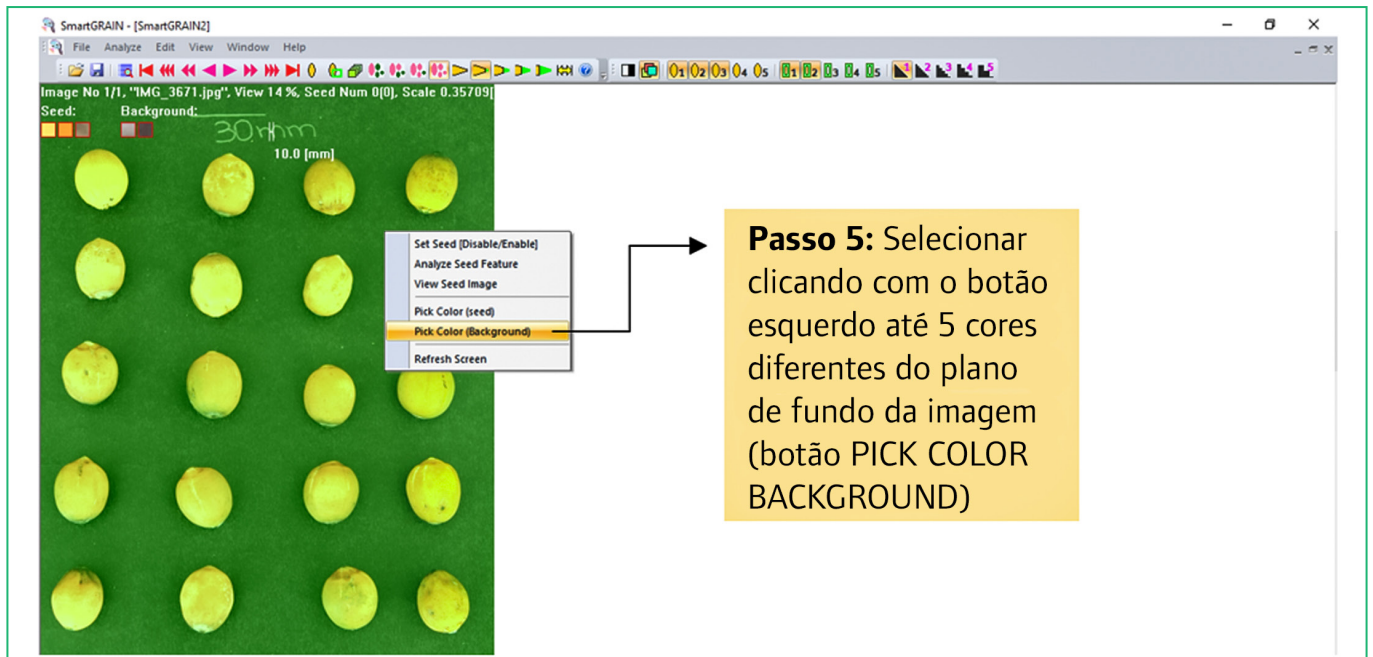


Figura 8.
Selecionar cores para o fundo.

Depois de ter indicado ao programa quais cores devem ser reconhecidas como plano de fundo e como cores de frutos, pode ser efetuada a análise da imagem (Figura 9).

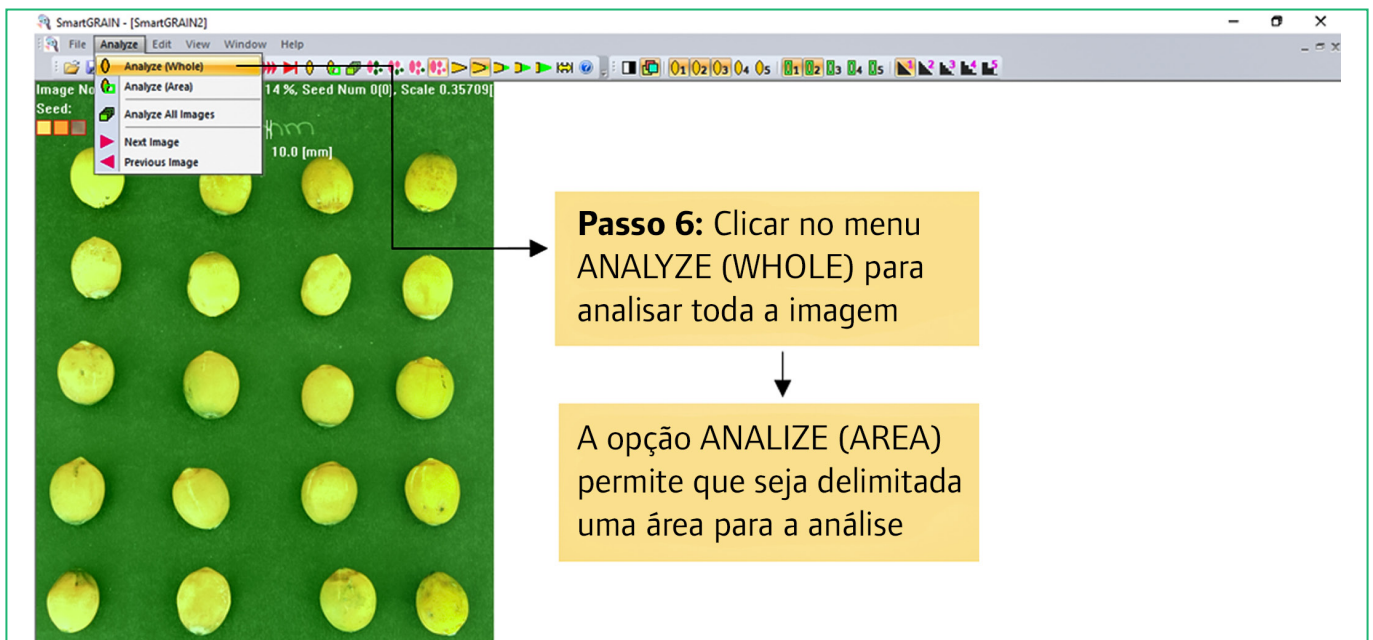


Figura 9.
Como analisar a imagem?

O programa fará o processamento da imagem conforme as cores que você definiu para o fundo e para os frutos (Figura 10).

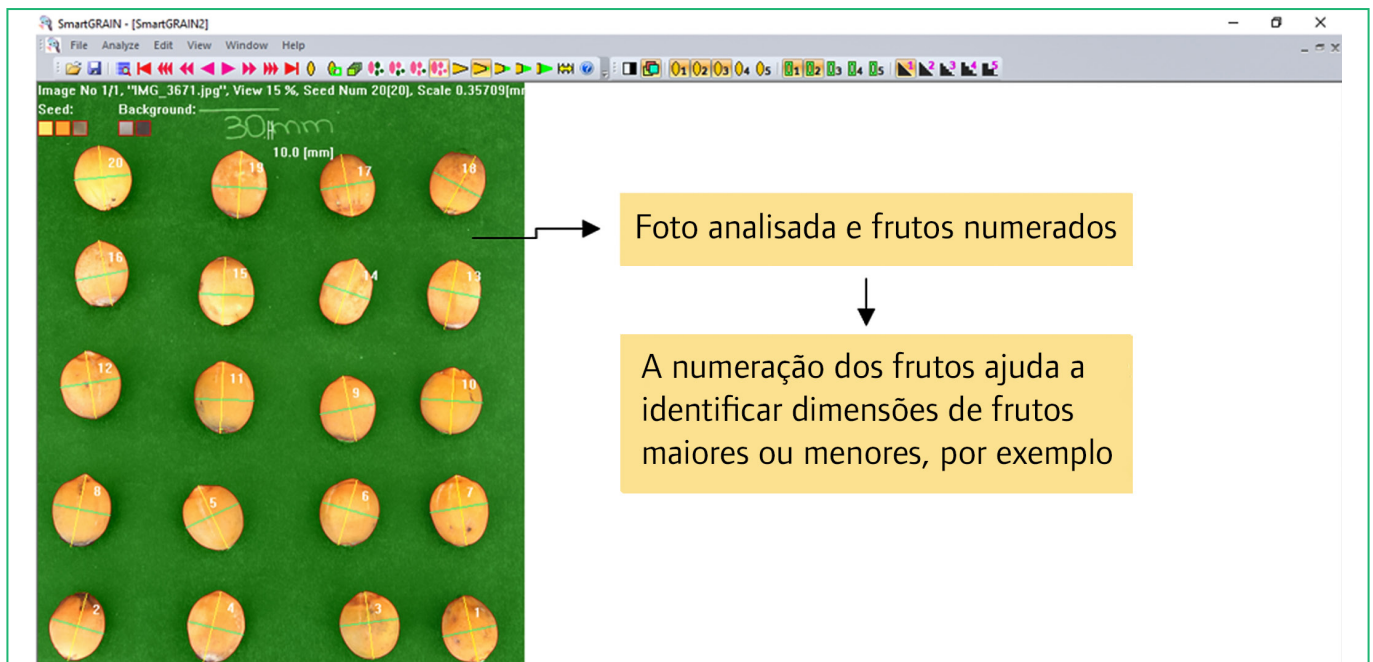


Figura 10.
Figura analisada.

#FICA A DICA - Se caso após analisar a imagem o programa não contemplar toda a área do fruto pode-se excluir e/ou incluir

parte do fruto ou da semente que desejar. Esses ajustes são recomendados para melhor precisão dos dados (Figura 11).

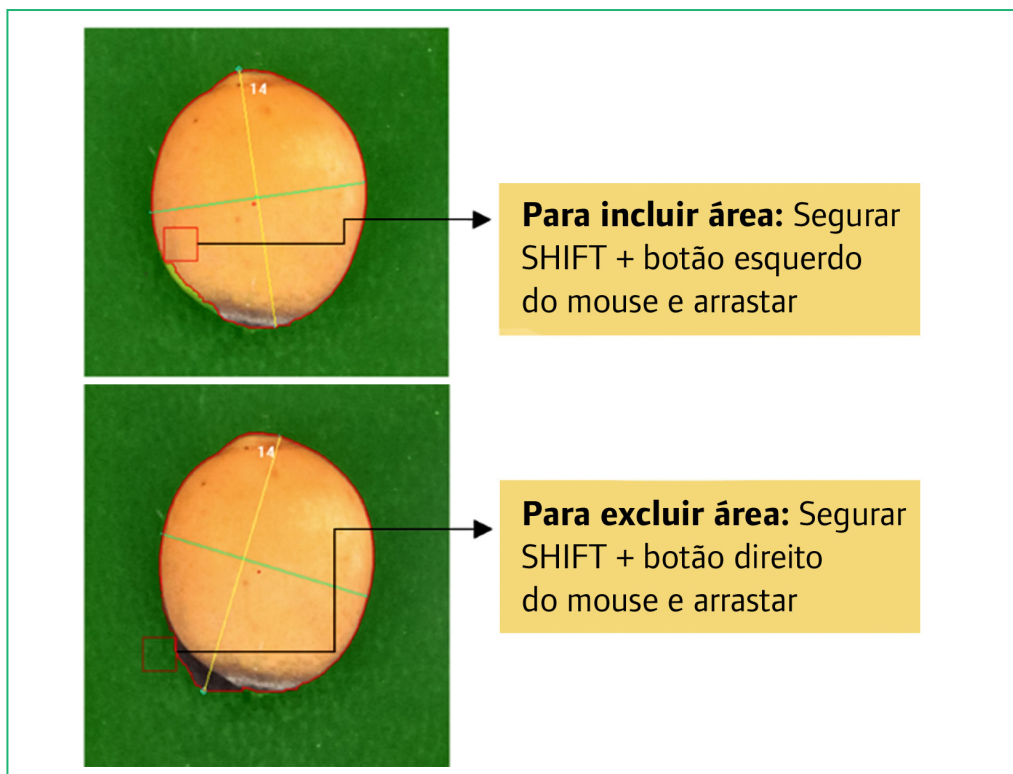


Figura 11.
Inclusão e exclusão de área.

Após esses ajustes é necessário ajustar uma escala para a imagem. Para tanto, deve-se utilizar o botão mostrado na imagem a seguir (Figura 12).

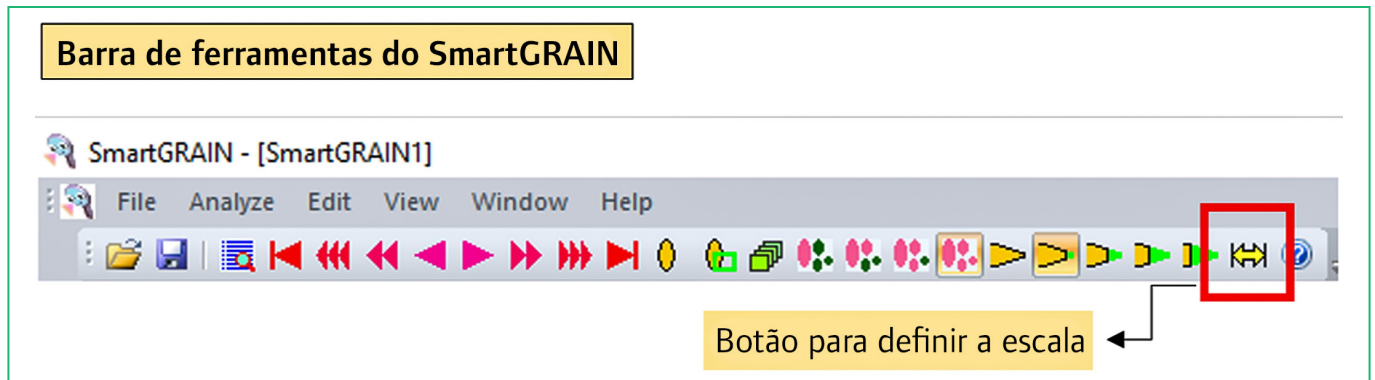


Figura 12.
O botão de escala.

Na imagem que está sendo utilizada aqui foi desenhada uma escala de 30 mm à caneta e régua. É a partir dessa escala que o programa conseguirá calcular as dimensões dos frutos, de maneira proporcional (Figura 13).

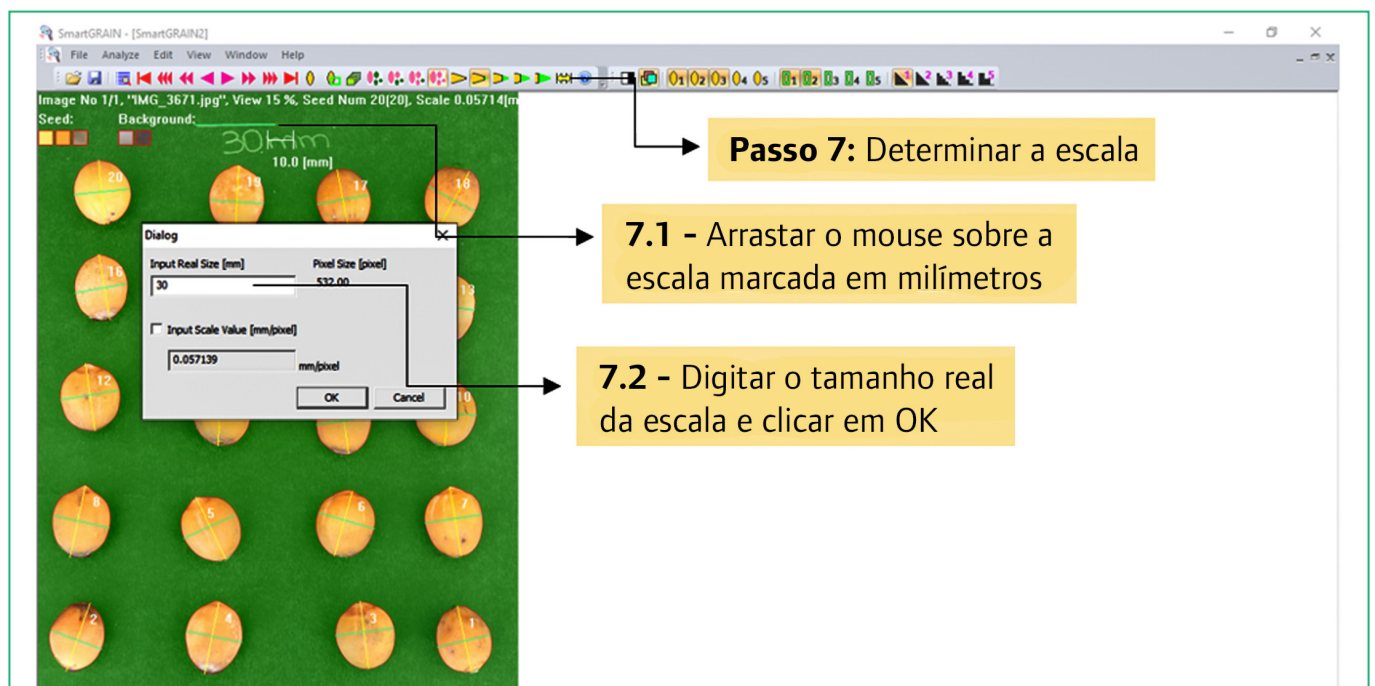


Figura 13.
Definição da escala para medidas dos frutos.

Após colocar a escala e fazer a correção, falta salvar os dados em uma planilha (Figura 14).

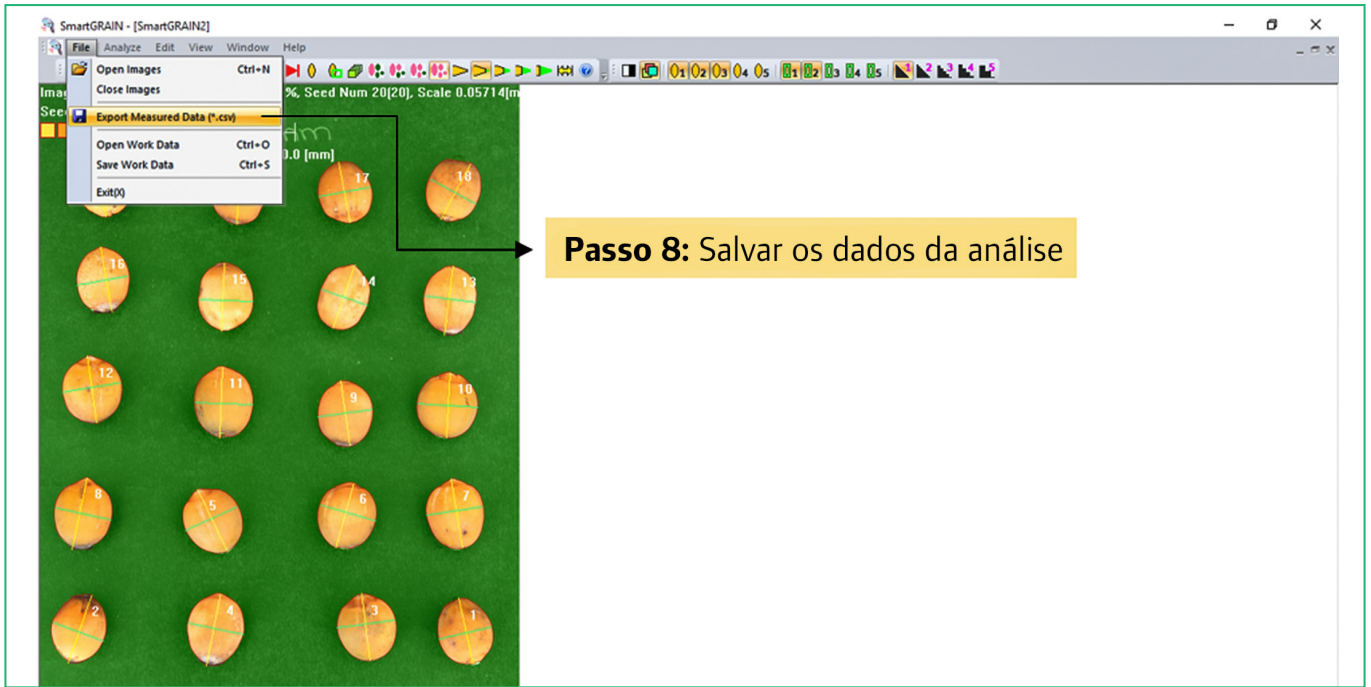


Figura 14.
Exportando os dados para uma planilha.

Os próximos passos mostram como abrir tabela no Excel. Esse processo deverá levar em consideração um aspecto particular: o fato de que o programa utiliza decimais representados por ponto. No Brasil, utilizamos os decimais representados por vírgula.

Assim, o Excel geralmente está configurado para decimais em vírgula. Desse modo, para abrir a planilha com os números corretamente representados, deverá ser utilizado um artifício conforme demonstrado na sequência (sequência de figuras 15 a 19).

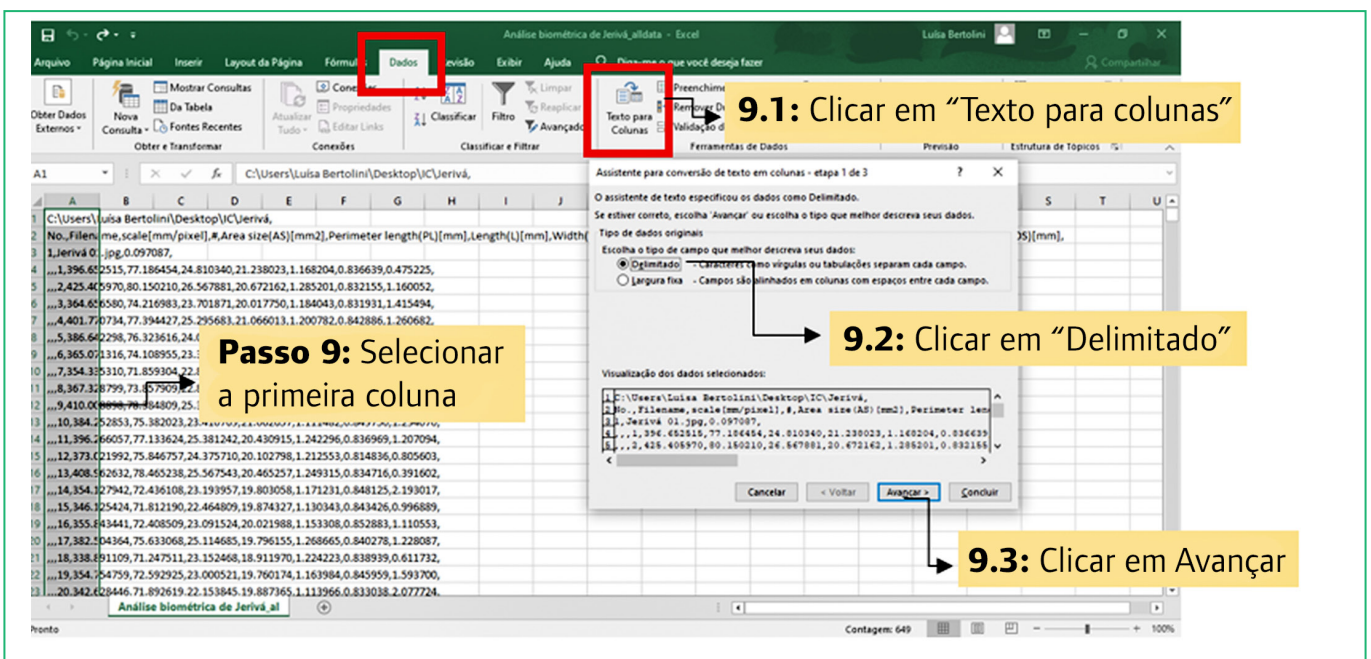


Figura 15.
Abrindo arquivo .csv e realizando os ajustes necessários.

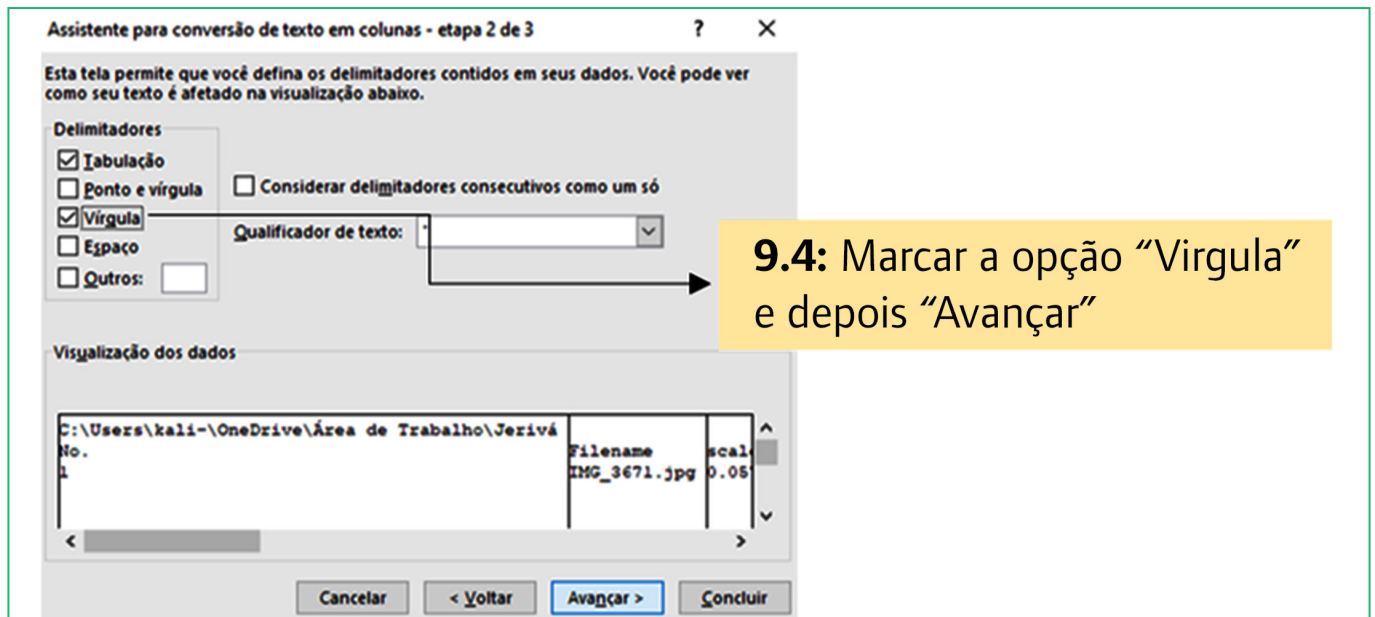


Figura 16.

Ajuste necessário devido à vírgula e ponto em números da língua portuguesa e inglesa, respectivamente (início).

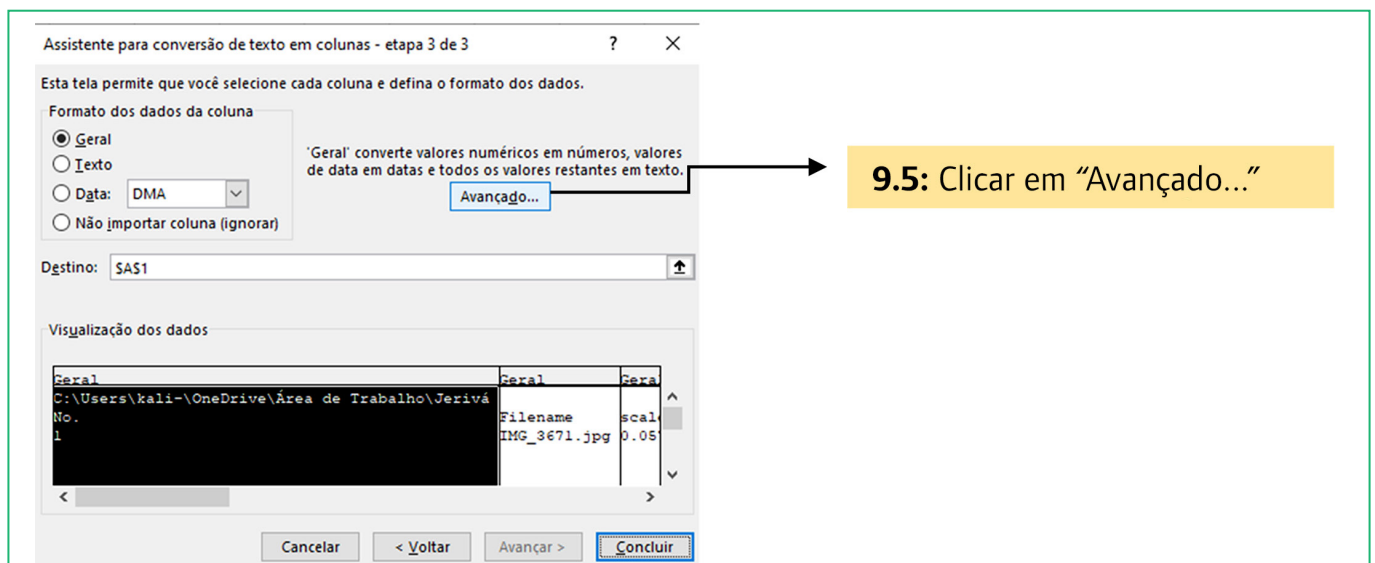


Figura 17.

Ajuste necessário devido à vírgula e ponto em números da língua portuguesa e inglesa, respectivamente (continuação).

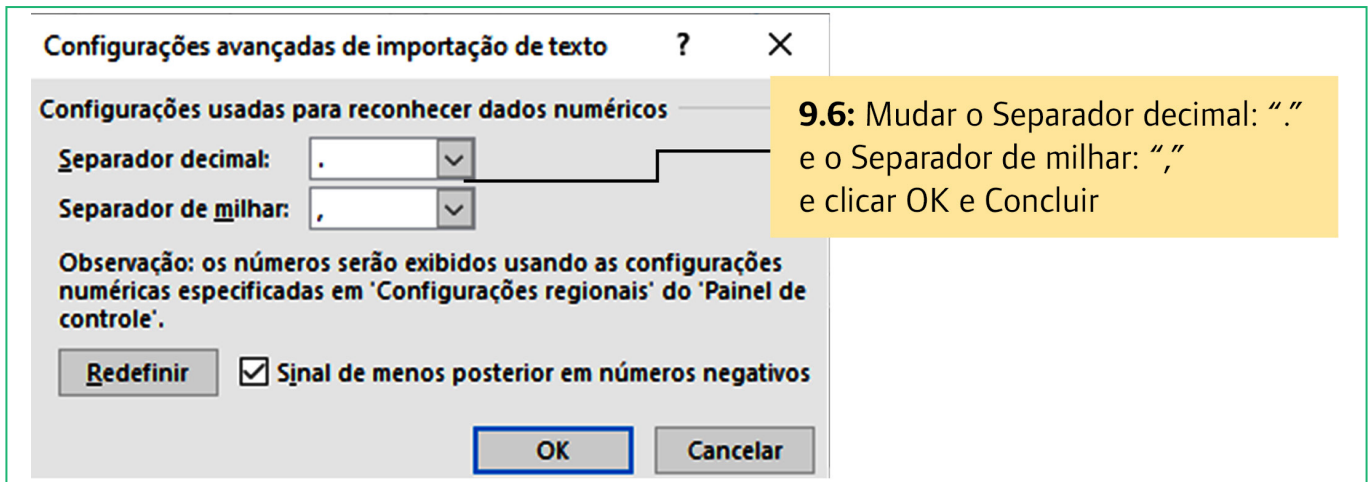


Figura 18.

Ajuste necessário devido à vírgula e ponto em números da língua portuguesa e inglesa, respectivamente (continuação).

Filename	scale[mm,#]	Area size(AS)[mm2]	Perimeter length(PL)[mm]	Length(L)[mm]	Width(W)[mm]	Length-to-width ratio(LWR)	Circularity(CS)	Distance between IS and CG (DS)[mm]
IMG_3671	0,057139							
		1	405,871886	80,142187	25,441352	20,768245	1,225012	0,794102
		2	409,045349	83,56299	27,470196	20,674733	1,328684	0,736128
		3	442,048386	80,18378	25,80469	22,402764	1,151853	0,863986
		4	451,630807	83,685798	28,003827	21,605089	1,296168	0,810382
		5	434,103301	79,239446	26,203445	21,933388	1,194683	0,868801
		6	437,799145	80,827856	25,532048	22,204267	1,149871	0,842098
		7	451,8267	81,393505	26,951563	21,860103	1,232911	0,857042
		8	454,438604	83,894747	27,951489	22,045116	1,267922	0,811364
		9	406,09553	78,940175	25,333004	21,001796	1,20623	0,818921
		10	447,166084	80,816371	25,070992	23,124904	1,084156	0,86036
		11	465,934245	96,727791	27,101359	22,355715	1,212279	0,625795
		12	445,476509	80,676743	25,931156	22,811969	1,136735	0,860078
		13	406,580365	80,357864	26,718881	19,97893	1,337353	0,791224
		14	372,650103	75,611256	25,550455	18,774094	1,360942	0,819102
		15	420,142675	77,982386	25,902244	20,81402	1,244461	0,868188
		16	391,424793	77,412965	25,410727	20,131307	1,262249	0,820788
		17	374,163375	73,540383	23,590987	20,453014	1,153424	0,869399
		18	387,554279	75,697806	24,447334	20,457084	1,195055	0,849916
		19	408,762937	79,702302	25,584359	20,833226	1,228056	0,808611
		20	402,780525	77,658244	24,605228	21,462406	1,141731	0,842528
		21						0,224748

Figura 19.

Tabela finalizada com os dados para análises.

Como determinar a variância genética para variáveis biométricas de frutos?

Posteriormente, como determinar a herdabilidade?

Já descrevemos antes, mas cabe ressaltar e agora detalhar um pouco mais sobre herdabilidade. A herdabilidade é determinada a partir da divisão entre a variância genética e a variância fenotípica. A variância fenotípica inclui o efeito ambiental, ou seja, é a variância genética mais variância ambiental (aqui estamos desconsiderando efeitos de interação).

$$H^2 = \frac{\text{var genética}}{\text{var fenotípica}}$$

Para fazermos esses cálculos, vamos utilizar uma análise estatística chamada análise de variância (ANOVA). Essa análise permitirá determinar a variância devida ao genótipo (variância genotípica), ao fenótipo (variância fenotípica) e ao ambiente (variância ambiental). A variância genotípica pode ser entendida como a variabilidade devida aos genótipos que vamos analisar, assim é uma maneira de verificar que há variabilidade genética em uma população que está sendo estudada. A variância fenotípica é usada para medir a variabilidade fenotípica. O mesmo é válido para a variância ambiental, como medida da variabilidade ambiental. Basicamente, demonstra-se uma análise que permite identificar uma variação total (fenotípica), quanto dessa variação é genética e quanto é ambiental, chegando-se à herdabilidade.

Genericamente, a variância é uma medida de dispersão na estatística. É uma forma de medir o desvio que um conjunto de dados apresenta em relação à média do conjunto. Vamos supor que medimos cinco frutos, que tenham os comprimentos: 1 cm, 2 cm, 3 cm, 4 cm e 5 cm. O comprimento médio é dado por:

$$\bar{X} = \frac{1 + 2 + 3 + 4 + 5}{5} = 3 \text{ cm}$$

A variância será calculada como a soma dos quadrados do desvio de cada valor em relação

à média (3 cm), o que corresponde à soma de quadrados. Esta é então dividida pelo número de frutos. O desvio de cada valor anterior em relação à média é:

$$\text{Fruto 1} = 1 - 3 = -2$$

$$\text{Fruto 2} = 2 - 3 = -1$$

$$\text{Fruto 3} = 3 - 3 = 0$$

$$\text{Fruto 4} = 4 - 3 = 1$$

$$\text{Fruto 5} = 5 - 3 = 2$$

Para evitar desvios negativos e maximizar as diferenças entre cada fruto, elevam-se os desvios ao quadrado.

$$\text{Fruto 1} = (-2)^2 = 4$$

$$\text{Fruto 2} = (-1)^2 = 1$$

$$\text{Fruto 3} = (0)^2 = 0$$

$$\text{Fruto 4} = (1)^2 = 1$$

$$\text{Fruto 5} = (2)^2 = 4$$

Os valores dos quadrados dos desvios são somados: $4 + 1 + 0 + 1 + 4 = 10$. A soma é dividida pelo número de elementos (5). A variância será igual a 2.

Mas há um detalhe importante. No exemplo, consideramos como se fossem os únicos frutos que podíamos medir, ou seja, uma população de cinco frutos. Geralmente trabalhamos com amostras e, então, calculamos os graus de liberdade. Os graus de liberdade são utilizados em estatística para designar o número de observações que podem variar quando se estimam parâmetros estatísticos, de maneira simplificada, expressos por $n - 1$, em que n é o número de observações. Assim, para uma amostra de $n = 5$, o número de graus de liberdade será $GL = 5 - 1 = 4$. A variância, portanto, será $10/4 = 2,5$.

Resumindo esta explicação, a variância é calculada como:

$$Var = \frac{\sum(x_i - \bar{X})^2}{n - 1}$$

Lê-se: somatório dos quadrados da diferença de cada observação (x_i) pela média dividido pelo número de graus de liberdade ($n - 1$).

Utilizando essa expressão para representar o cálculo realizado anteriormente, temos:

$$Var = \frac{(1-3)^2 + (2-3)^2 + (3-3)^2 + (4-3)^2 + (5-3)^2}{5 - 1}$$

A partir da compreensão do significado de variância, a análise de variância é uma forma de dividir a variância total em suas partes: a parte da variância que é genética e a parte que é ambiental. Com isso, pode-se estimar a herdabilidade.

Os passos a seguir vão conduzir ao cálculo das variâncias fenotípica, genética e ambiental, assim como a herdabilidade. Os dados do exemplo são medidas do comprimento de frutos, uma das variáveis que o programa SmartGrain fornece. As medidas foram tomadas seguindo os mesmos passos descritos anteriormente, mas com uma amostra pequena, desta vez frutos de butiazeiro, os butiás, da espécie *Butia catarinensis* (Figura 20).

Vamos supor que estamos avaliando quatro genótipos (plantas diferentes geneticamente). Coletamos butiás de cada uma dessas plantas. Para cada planta, avaliamos quatro repetições (quatro frutos). É importante ressaltar que esta é uma amostra muito pequena, apenas para fins didáticos. Em um experimento real, vários genótipos e repetições seriam necessários para obter estimativas precisas de variância genética e de herdabilidade.

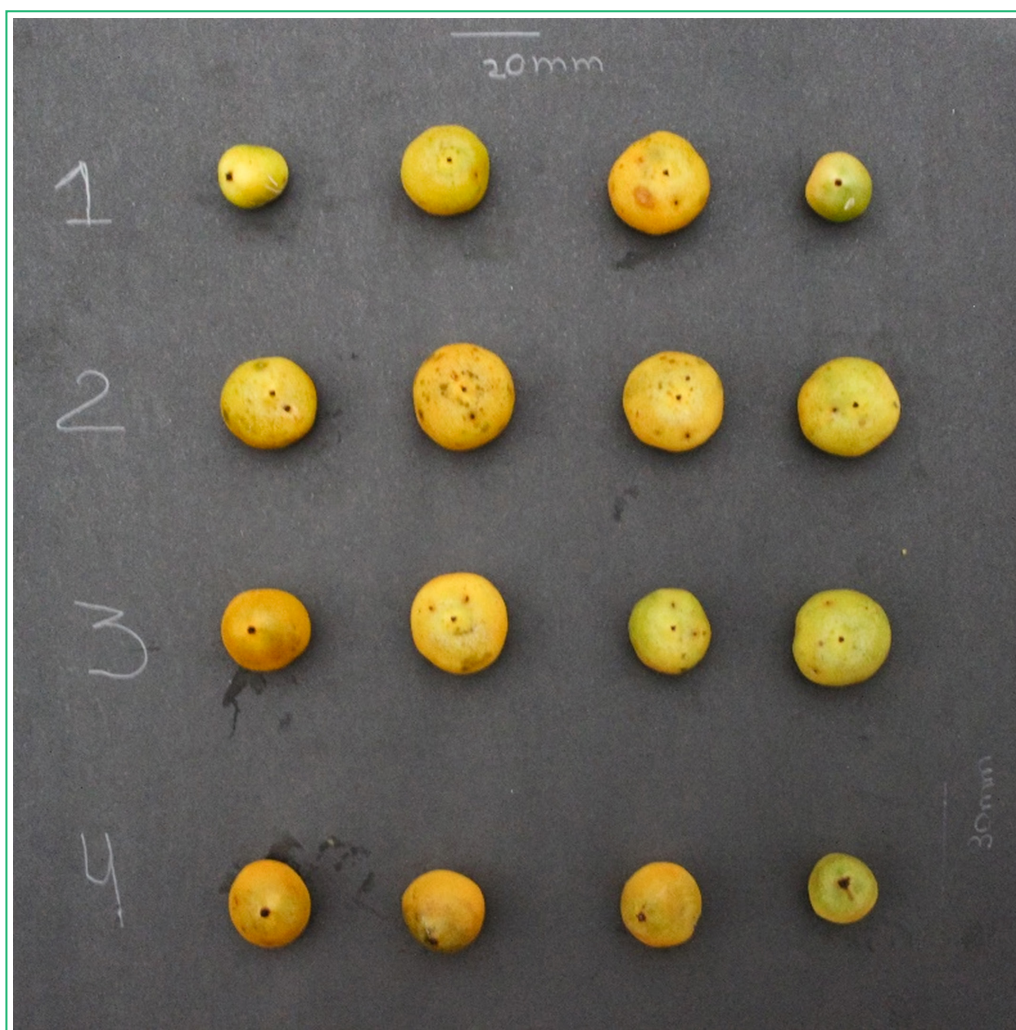


Figura 20.

Imagem que foi utilizada para demonstrações dos procedimentos de cálculo de variâncias fenotípica, genética e herdabilidade. Corresponde a frutos de butiazeiro (*Butia catarinensis*).

Primeira etapa: organização dos dados e operações iniciais

O primeiro passo, ao obter as medidas, é organizá-las (PASSO 1) de modo que se identifiquem os indivíduos dos quais os frutos foram coletados (Figura 21). A variável que será estudada será o comprimento dos frutos. Os indivíduos serão os genótipos, no exemplo, quatro plantas diferentes de que foram coletados os frutos. De cada genótipo, foram coletados quatro frutos. Depois disso, deve-se somar as quatro medidas de compri-

mento de cada genótipo (PASSO 2). Desse modo, se obterá um total para genótipos. Além disso, pode-se calcular a média (PASSO 3) usando a função conforme mostra a figura seguinte (Figura 21). Ao analisar os dados, note que os valores dos comprimentos dos frutos são mais semelhantes entre os frutos dentro de cada genótipo. Isso é refletido na soma para cada genótipo. Note que as somas são diferentes, em princípio, numericamente. Isso já sinaliza diferenças entre os genótipos, que serão verificadas adequadamente pela ANOVA.

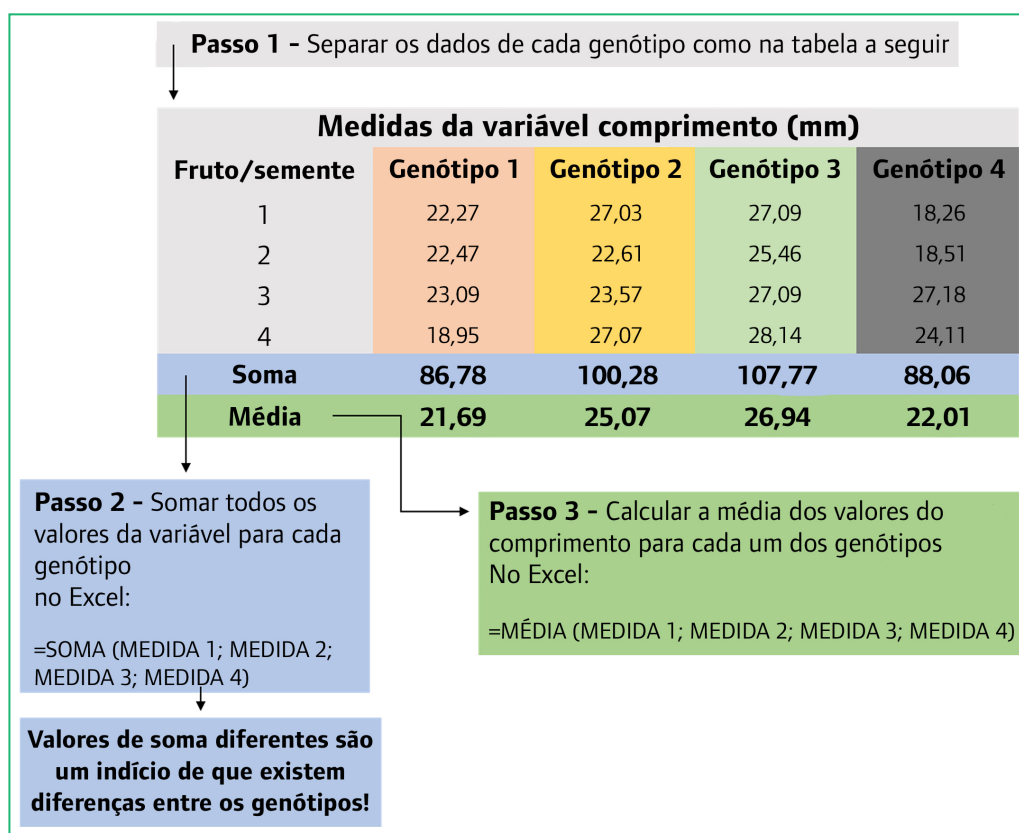


Figura 21.

Preparando os dados para análise.

Segunda etapa: cálculo dos graus de liberdade

A próxima etapa consiste em calcular os graus de liberdade para cada um dos fatores que estão envolvidos no conjunto de dados: genótipo (quatro genótipos), ambiente (ambiente em que os genótipos cresceram) e o fenótipo (total que representa a soma do genótipo e do ambiente, desconsiderando o efeito de interação por estarmos tratando de apenas um

ambiente hipotético e uniforme). Para o caso de genótipos, o número de graus de liberdade (GL) será: $4 - 1 = 3$. No total, há 16 frutos médios. O número de graus de liberdade para o total é: $16 - 1 = 15$. Ainda precisamos determinar o número de graus de liberdade para o ambiente, que será o que falta em relação ao genótipo para completar o GL total. Portanto, será a diferença $15 - 3 = 12$. Verifique a sequência de passos para cálculos de GL na figura 22 (PASSOS 4, 5 e 6).

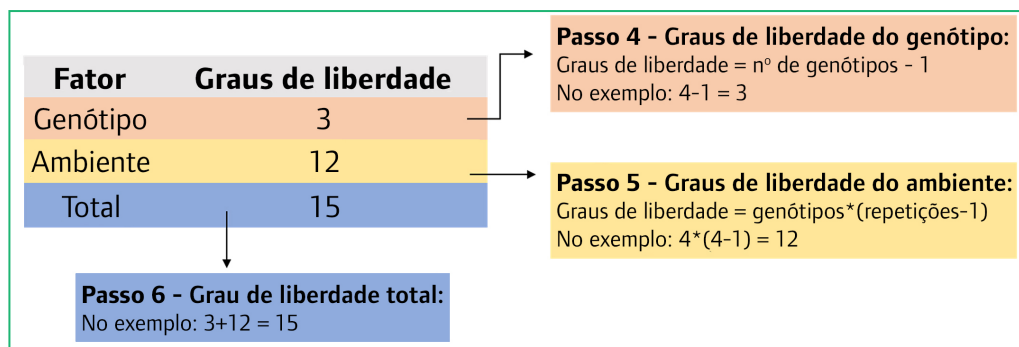


Figura 22. Calculando os graus de liberdade.

Terceira etapa: cálculo da variabilidade genotípica, ambiental e total

Nesta etapa, calculam-se as somas de quadrados. No Excel, a soma de quadrados é calculada usando a fórmula SOMAQUAD, selecionando-se os dados envolvidos, e mais alguns procedimentos. A soma de quadrados dos genótipos será calculada utilizando os quatro valores do PASSO 2 (soma dos efeitos de cada genótipo) e dividindo-se pelo número de genótipos, conforme indica o PASSO 7 na Figura 23. Além disso, será necessário aplicar um fator de correção, considerando que a análise de variância, ao dividir em fatores (genótipo, total e ambien-

te), implica em perda de graus de liberdade. Esse fator de correção, representado por C no PASSO 8, é calculado através do somatório dos quadrados de cada indivíduo (da variável examinada) dividido pelo número total de amostras (n = 16 no nosso caso). Assim, o valor final da soma de quadrados de genótipos será obtido mediante a subtração do fator de correção da soma de quadrados executada no PASSO 7.

A soma de quadrados total será obtida com a fórmula SOMAQUAD aplicada a todos os valores individuais selecionados (os 16 frutos), descontada do fator C, para capturar a variabilidade total entre eles, conforme PASSO 9 da Figura 23.

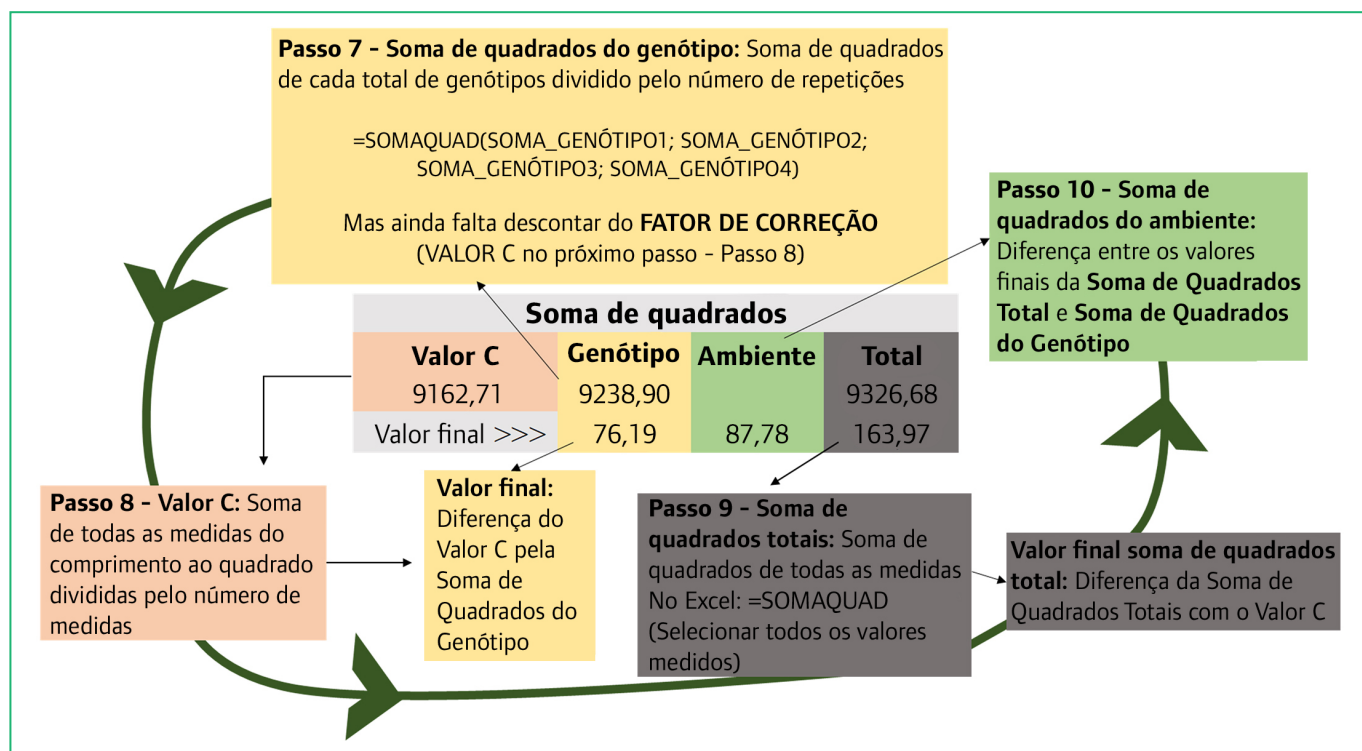


Figura 23. Calculando as somas de quadrados da ANOVA.

A partir da diferença entre a soma de quadrados total e a soma de quadrados dos genótipos, determina-se a soma de quadrados do erro ou resíduo, que entendemos como a soma de quadrados devida ao erro experimental. O erro ou resíduo compreende a variabilidade que não podemos controlar, podendo ser simplesmente algum erro na medida feito pelo usuário e, no contexto dos frutos, do ambiente em que os materiais se desenvolveram. Assim, podemos chamar de soma de quadrados do ambiente, conforme PASSO 10 da Figura 23.

A partir das somas de quadrados, será possível determinar as variâncias. A variância para genótipos será calculada pela divisão entre a soma de quadrados de genótipos (o valor final, descontado do fator C) pelo número de graus de liberdade para genótipos. Mas atenção, essa ‘variância para o fator genótipo’ não é a variância genética. É ainda uma variância que contém os efeitos ambientais.

Dividindo-se a soma de quadrados do erro pelo número de graus de liberdade, obtém-se a variância devida ao erro e/ou ambiente (Figura 24).

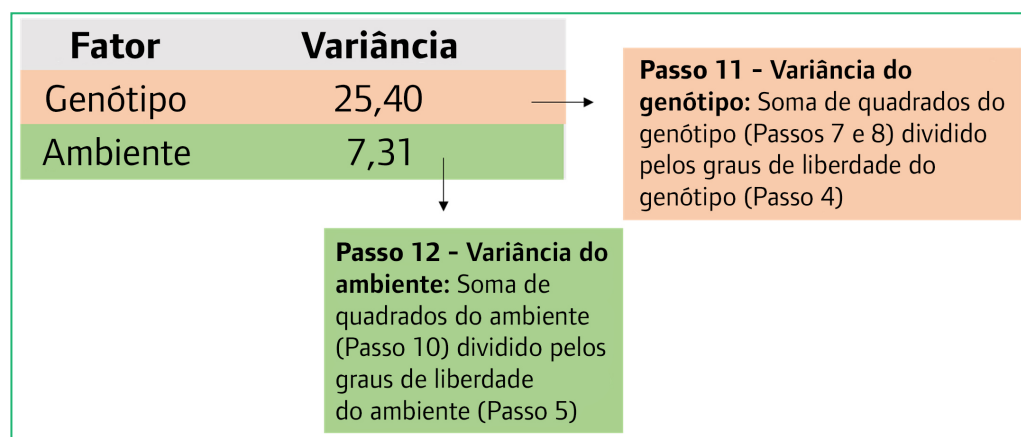


Figura 24.
Os efeitos do ambiente.

Agora, é possível finalizar os cálculos considerando as seguintes definições:

- **Variância genética:** é uma parte da variância fenotípica atribuída a componentes genéticos.
- **Variância fenotípica:** é a soma da variância genética com a variância ambiental (modelo simples que estamos aqui considerando).

Portanto, para calcular a variância genética, é necessário descontar a variância ambiental e dividir pelo número de repetições do experimento (quatro), conforme o PASSO 13 a seguir (Figura 25). Para calcular

a variância fenotípica, basta dividir a variância do fator genótipos pelo número de repetições (PASSO 14). A estimativa da variância ambiental é o erro experimental (PASSO 15). Finalmente, dividindo-se a variância genotípica pela variância fenotípica, obtém-se a herdabilidade. No exemplo fornecido, o valor de herdabilidade foi de 0,71 ou 71%. Isso significa que 71% da variância fenotípica dessa amostra é devida à variância genética. Desse modo, há uma proporção considerável de influência ambiental. Lembrando, é meramente um exemplo. Para um estudo real, muitos aspectos mais e muitas amostras a mais precisariam ser incluídas.

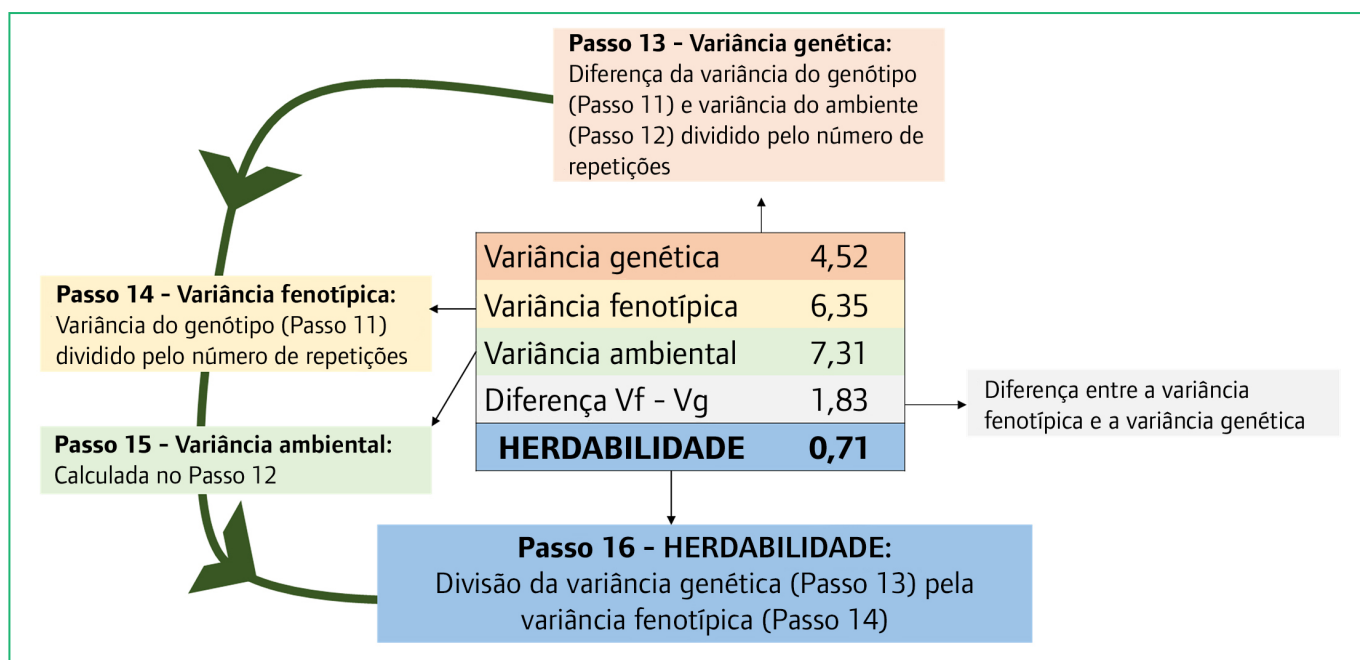


Figura 25.
Parte final: cálculo da herdabilidade.

Para realizar estas análises de forma automática, pode-se obter uma planilha pré-preenchida com os mesmos dados demonstrados neste material. A planilha pode ser baixada pelo link https://www.ufrgs.br/geneticavegetal/?page_id=94.

Considerações sobre estudos visando determinação de herdabilidade

Vários estudos mostraram herdabilidades variando de valores próximos a zero até valores próximos a 1, sendo estes últimos bem mais raros para caracteres quantitativos. Valores de herdabilidade dependerão muito do caráter quantitativo avaliado, do quanto ele varia na população e no ambiente ou ambientes em que está sendo avaliado, tudo repercutindo na proporção da variância que será devida a fatores genéticos e ambientais nessa população. Além disso, é preponderante considerarmos a espécie que está sendo avaliada, a sua forma de reprodução e o

nível de controle experimental que podemos ter pela própria natureza da espécie. Esses fatores tornam análises de herdabilidade substancialmente complexas, pois torna-se um desafio de ordem prática a separação da variância fenotípica em componentes genéticos (a variância genética) e ambientais (a variância ambiental). Alguns casos valem a pena ser apreciados, ponderando-se o nível de dificuldade:

- a) para humanos, análises de herdabilidade são feitas baseadas em gêmeos idênticos. As diferenças entre eles serão predominantemente ambientais, afinal os genótipos são os mesmos, salvo algumas mutações ou modificações de natureza epigenética. Desse modo, geralmente é mais fácil distinguir a variância genética da ambiental e determinar a herdabilidade. Mesmo assim, todos os fatores anteriormente considerados não tornam essa análise simples assim. Vários gêmeos precisam ser estudados para se obter estimativas precisas de herdabilidade para o caráter desejado;
- b) Para plantas que se propagam naturalmente ou são artificialmente propagadas de forma vegetativa, portanto, clonal, a

análise de herdabilidade pode ser relativamente mais simples. Ao tomar medidas de repetições dos mesmos clones, pode-se calcular a variância ambiental e genética (devido aos diferentes clones) e calcular a herdabilidade;

- c) Para plantas que são estudadas por linhagens, diferenças entre plantas dentro da mesma variedade ou cultivar fornecem estimativas de variância ambiental. Assim, é relativamente fácil estimar a variância genética e, conseqüentemente, a herdabilidade.
- d) Quando se trata de espécies pouco estudadas, relativamente selvagens, e especialmente as de ciclo longo, a estimativa de herdabilidade começa a ser influenciada por muitos fatores difíceis de isolar.

Resumidamente, estudar caracteres quantitativos não é uma tarefa fácil. Às vezes, até mesmo medi-los é um desafio. Um geneticista ou melhorista precisam ter bastante conhecimento da espécie que estão avaliando, lançando mão de vários experimentos com o maior controle possível, de modo que possam ser isoladas as variâncias genéticas e ambientais, para então proceder com a determinação de herdabilidades.

Considerações finais

Neste material, o intuito de utilizar variáveis biométricas foi mostrar uma maneira prática de se entender princípios básicos de genética quantitativa a partir da tomada de medidas para variáveis quantitativas, e com materiais de fácil obtenção, que frequentemente podem ser obtidos na sua cozinha, quintal ou jardim. Como se vê, pode-se explorar essas análises com frutos e sementes de uma casa. Não esquecer de que é necessário separar os frutos e sementes por planta (o genótipo), de modo que se possa calcular a variância genética e fenotípica, assim como a herdabilidade. Se forem avaliadas outras características em plantas, como do caule, das folhas, do crescimento (altura, diâmetro, circunferência do caule),

obviamente não será utilizado o programa SmartGrain, mas cabe a estas aplicar todos os procedimentos que foram demonstrados para análise de variância e o isolamento dos componentes necessários para chegar à estimativa de herdabilidade.

Para saber mais

FRANKHAM, R.; BALLOU, S. E. J. D.; BRISCOE, D. A.; BALLOU, J. D. *Introduction to conservation genetics*. Cambridge University Press, 2009.

MACEDO, M. C. D.; SCALON, S. D. P. Q.; SARI, A. P.; SCALON FILHO, H.; ROSA, Y. B. C. J.; ROBAINA, A. D. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Magonia pubescens* ST. *Plant Physiology*, v. 160, n. 4, p. 1871-1880, 2012.

TANABATA, T.; SHIBAYA, T.; HORI, K.; EBANA, K.; YANO, M. SmartGrain: high-throughput phenotyping software for measuring seed shape through image analysis. *Plant Physiology*, v.160, n.4, p.1871-1880

