

Precisão Experimental na Ciência das Plantas Daninhas

Dilermando Perecin (UNESP-Jaboticabal)

Introdução

A experimentação com plantas daninhas segue de maneira geral os princípios básicos comuns a todas as áreas. Há necessidade de planejar os experimentos, a partir de hipóteses claras e definidas, com adequadas escolhas dos tratamentos e do delineamento experimental; bem como, com planejamento das análises estatísticas a serem realizadas.

Na escolha ou delineamento dos tratamentos é fundamental a inclusão de bons pontos de referência ou de testemunhas. A escolha do delineamento dependerá da disponibilidade e uniformidade das parcelas e do material para realização do experimento. A escolha da análise estatística dependerá principalmente das hipóteses a serem testadas, do tipo de variável amostrada e do delineamento experimental implantado; havendo frequentemente diversas alternativas; daí a importância do planejamento. Bons livros sobre delineamento de experimentos (p. ex., Box et al., 1978; Gomes, 2000) tratam muito bem de todos esses aspectos gerais. Aqui serão abordados alguns aspectos mais específicos com plantas daninhas.

Repetição e Casualização

Especialmente em experimentos de campo os materiais (tanto tratamentos como plantas daninhas) estão sujeitos as variações de diversas naturezas: solo, fertilidade e adubações, pragas e doenças etc. Para poder compensar os efeitos dessas variabilidades típicas das culturas no campo, os experimentos devem ser implantados com repetições e essas devem ser casualizadas. Sem isso, um material ou tratamento poderá ser alocado em um nicho particular do terreno, sendo então beneficiado ou prejudicado.

Parcela

A parcela é constituída pela área (ou canteiro) em que cada repetição do tratamento é alocado. As parcelas devem ser preferencialmente todas do mesmo tamanho. Sem isso haverá heterogeneidade da variância, o que não é desejável. No geral, com culturas, são constituídas de 4 a 8 linhas e com comprimento preferencialmente maior que a largura. Se fizermos a extrapolação para 1 hectare, o fator de multiplicação é no geral superior a 100. Portanto, uma diferença de apenas 1m na parcela, seja por falha ou por problemas de instalação, pode representar bom percentual em termos da produção expandida para hectare.

Trabalhos experimentais com várias culturas demonstram que no geral é mais conveniente reduzir o tamanho da parcela e aumentar o número de repetições.

Bordadura e área útil da parcela

Para que não haja influência de fatores de borda, especialmente maior luminosidade, ventos e competição por luz e nutrientes com material na parcela adjacente, é necessário separar a Bordadura e colher só materiais da área útil da parcela. Para isso toda área experimental deve ser plantada com bordadura, especialmente parcelas de borda.

A não observância desse fato pode aumentar a variabilidade, subjetivamente avalia-se em mais de 30%. Ainda, devido as dificuldades práticas, é preciso muita atenção para não misturar linhas de materiais ou tratamentos diferentes ou mesmo da bordadura, na hora da colheita.

Estande da cultura e das plantas daninhas

O problema do estande é sério e não há uma maneira segura de fazer correção. Análises de covariância e outras técnicas de correção de estande dificilmente melhoram os resultados. Alguns materiais fazem certa correção do estande por si só, através do perfilhamento ou brotação; outros materiais, não tem essa capacidade, o que complica qualquer tentativa de correção. A uniformidade das plantas daninhas na área experimental é também aspecto complexo e será discutido adiante.

Delineamento das parcelas no campo

Todo experimento de campo deve ser instalado e conduzido segundo um delineamento preestabelecido. No geral, por questões técnicas e também por tradição e comodidade, o delineamento mais utilizado é o Blocos Casualizados Completos, com uma repetição de cada tratamento em cada bloco, e com 4 a 6 blocos por local.

No geral, cada bloco deve localizar-se com as linhas acompanhando a curva de nível e as parcelas devem ser homogêneas para solo, declividade, fertilidade etc. Outro bloco, pode localizar na mesma curva de nível ou em curva de nível diferente. Embora teoricamente um bloco possa ser diferente de outro, há que se ter certos limites, pois teoricamente os efeitos de blocos devem ser manifestados de forma aditivamente similar em todos materiais. Não pode ocorrer interação genótipos x bloco; o que fatalmente acontecerá se os blocos forem muito diferentes (interação genótipo x ambiente).

A importância do conceito de bloco

O Bloco não pode ser confundido com repetição. O Bloco tem que ser entendido como um conjunto de parcelas uniformes, quanto a sua disposição no campo, no geral na mesma curva de nível, e também para outros fatores. O ideal é que tanto o plantio como a colheita sejam feitos por Bloco, pois isso manterá a uniformidade. Não há problemas se o plantio ou se a colheita de um Bloco como um todo não for processado no mesmo dia, mas pode alterar a uniformidade, se isso acontecer em só parte do Bloco.

O Bloco pode ser completo com uma ou mais repetição de cada genótipo, embora o usual seja uma repetição; mas pode ser incompleto faltando tratamentos (exemplo, blocos de Federer e outros delineamentos similares). Esses delineamentos também conhecidos como blocos aumentados, são muito usuais nas fases iniciais do melhoramento de várias culturas. As variedades padrões ou testemunhas são instaladas em blocos casualizados e cada bloco recebe um número adicional de clones (uma ou mais repetições, dependendo da disponibilidade de material). Na análise estatística haverá ajustes, os clones que ficam nos melhores blocos serão penalizados e os que ficam nos piores blocos serão bonificados; exigindo comparações ajustadas, ver Scott e Milliken (1993).

Experimentos com parcelas grandes

Algumas técnicas empregadas no manejo, preparo do solo ou colheita da cultura, podem exigir parcelas grandes para a sua própria execução. Com isso, se forem feitas todas repetições necessárias, o experimento pode ficar muito grande e por problemas de custo ou de uniformidade da área, inviável.

Uma alternativa, é a subdivisão da parcela grande em subparcelas menores. Estas serão então colhidas de forma separada.

Na análise estatística serão levadas em conta a variabilidade experimental (entre parcelas grandes) e a variabilidade amostral entre subparcelas (dentro). Frequentemente as relações entre essas variabilidades são não significativas. Nesse caso, elas funcionam como "repetições" e podem ser reunidas, aumentando a representatividade

das variações ambientais. Quando a variabilidade experimental (entre) é muito maior que a variabilidade amostral (dentro) é forte indicador de que o conceito de bloco não foi adequadamente aplicado. O contrário (maior variabilidade amostral) é forte indicador da não adequação ou da representatividade da subparcela amostrada.

Número de repetições

O número de repetições depende basicamente da diferença que se quer detectar e/ou do parâmetro que se quer estimar. Quanto menor a diferença que se quer detectar, maior o número de repetições e isso pode ser calculado caso a caso.

De modo geral, para razoável estimação das variações ambientais, que servirão para estimar o erro padrão associado às médias, o experimento não pode ser muito pequeno (o usual é um mínimo de 20 parcelas) e também o grau de liberdade associado à variação ambiental ou Resíduo também não pode ser muito baixo (o usual é exigir um mínimo de 10).

É mais ou menos clássico na experimentação, que é mais eficiente aumentar o número de repetições e diminuir o tamanho da parcela do que o contrário. A diminuição do tamanho da parcela em função dos efeitos de borda, das dificuldades práticas da instalação e da representatividade do estande pode ser problemática. Para a maioria dos experimentos, 4 a 6 repetições é um número bastante razoável. Por outro lado, o número de repetições pode depender do parâmetro a estimar. Para estudos de genética quantitativa, o número de repetições pode ser bem maior. Estimadores do componentes de variância, por exemplo, possuem variância proporcional ao quadrado do próprio valor; exigindo para confiabilidade maiores graus de liberdade associados, o que pode ser conseguido pelo adequado dimensionamento do número de repetições. Representação da variabilidade genética natural ou em progênies de uma família também são exemplos em que o número de repetições ou de indivíduos deve ser maior (Resende, 2002).

Interação genótipo com ambiente

Todo experimento é avaliado de forma comparativa, para isso é necessário que tenha bons pontos de referência ou testemunhas (padrões). Os materiais biológicos interagem com o ambiente e isso pode resultar respostas diferentes do fenótipo observado em cada local.

Do ponto de vista prático, interessam materiais robustos quanto a pequenas variações do ambiente. Por essa razão, os experimentos devem ser repetidos em vários ambientes e em vários anos, para que haja condição efetiva de manifestação dos efeitos e avaliação dos materiais.

Os experimentos devem ser conduzidos com muito cuidado em todos locais. Sendo muito usual fazer inicialmente uma análise conjunta, que será discutida em item adiante.

Do ponto de vista teórico, admitindo-se que as respostas (Y) e os ambientes (X) possuem distribuições normais (binormais), demonstra-se que a função que relaciona o valor esperado de Y para cada X conhecido é uma reta. Isso é um teorema clássico em probabilidade.

Na aplicação prática desse teorema uma dificuldade é medir o ambiente (X). Uma idéia, atribuída a Eberhart e Russel (1966), é tomar uma amostra de ambientes e definir X como a diferença entre o Y médio de cada local e o Y médio geral. Originam-se assim os ambientes bons (acima da média geral) e os ambientes ruins (abaixo da média geral). Um defeito desse método é que X é função direta do próprio Y e defeito agrava-se se os ambientes e/ou os genótipos não forem escolhidos de forma aleatória, o que é muito comum. Há, então, diversas outras maneiras de analisar as interações do genótipo com o ambiente (Crossa, 1990).

Uniformidade na condução e na avaliação do experimento. coeficiente de variação

A questão fundamental nos experimentos é que se controle a uniformidade e para isso os experimentos devem ser bem conduzidos e a amostra de cada parcela deve ser adequada para que os materiais manifestem seus verdadeiros valores.

Uma interessante maneira de avaliar a uniformidade do experimento é através do coeficiente de variação, definido como o quociente porcentual entre o desvio padrão e a média do experimento.

O desvio padrão é uma medida internacionalmente usada, da variabilidade entre repetições do mesmo material e depende da maneira criteriosa de conduzir o experimento e amostrá-lo. Serve para avaliar indiretamente se o experimento foi bem conduzido e se as respostas foram boas.

Para chamar atenção, na Tabela 1 são mostrados os DMS (diferença mínima significativa, no caso, T 5%) necessários para que um material possa ser considerado superior a outro em termos de produção de cana (t/ha), a partir de experimentos conduzidos em blocos casualizados com 4 repetições.

A fórmula, em forma descritiva, é :

$$DMS = \text{Valor tabelado} \times \text{Média geral} \times (CV / 100) / (\text{raiz quadrada do nº de repetições}).$$

Nota-se pela fórmula e pela Tabela 1, a conveniência de se trabalhar com CV baixos (preferencialmente menores que 5%); caso contrário, fica muito difícil concluir se a diferença observada é realmente de superioridade ou de simples acaso.

TABELA 1 - Diferença mínima significativa pelo T (LSD) 5% para comparar produção de cana em de tratamentos, em função do coeficiente de variação(CV), para 10 tratamentos em 1 e 5 ambientes e produção média do experimento, em blocos casualizados com 4 repetições.

Coef. Variação	10 trat. em 1 só ambiente			10 trat. em 5 ambientes		
	70 t/ha	80 t/ha	90 t/ha	70 t/ha	80 t/ha	90 t/ha
2 %	2,0	2,3	2,6	0,9	1,0	1,1
5 %	5,0	5,7	6,4	2,1	2,5	2,8
10 %	10,0	11,4	12,9	4,3	4,9	5,5
15%	15,0	17,1	19,3	6,4	7,4	8,3
20 %	20,0	22,9	25,3	8,6	9,8	11,0

Por exemplo, para um CV de 15%, a Tabela 1 mostra que só se provará a superioridade de um tratamento se no experimento apresentar uma diferença superior a 15 t/ha; se estiver em apenas um ambiente! Mas isso baixa para menos de 3 t/ha, se o CV for de 5% e estiver em 5 ambientes.

Portanto, os benefícios da repetição em vários ambientes, especialmente se não ocorrer forte interação (genótipo x ambiente), podem ser visualizados também na Tabela 1.

Embora existam testes mais adequados que o T-LSD, para situações específicas (O'Neill & Wetherill, 1971; Percin e Barbosa, 1988), a Tabela 1 mostra claramente as vantagens de se trabalhar com CV baixos e para isso é necessário que a parte experimental de campo e as amostragens sejam feitas com muito cuidado e adequação.

Plantas daninhas no campo

No geral, se trabalha com contagens. A disposição das plantas na área pode ser de três tipos: ao acaso ou aleatória, com agregação ou em reboleiras, uniforme ou regular.

Há uma relação esperada entre a variância (V) e a média (M) das contagens: ao acaso ou aleatória, V=M, com agregação ou em reboleiras, V>M (sobredispersão), uniforme ou regular, V<M (subdispersão).

Outra forma usual para avaliar essa dispersão é pelos semivariogramas e mapas, obtidos com auxílio da geoestatística (Vieira et al., 1983).

Dinâmica a infestação

Embora possam existir outros casos, no geral a infestação iniciase ao acaso ou aleatória, em pontos isolados da área, multiplica-se de forma agregada ou em reboleiras, com o tempo toma-se toda área, tornando-se uniforme. Nesse processo, a variância inicia-se igual a média, aumenta até um máximo, e diminui até a uniformização.

Com semeadura, a infestação pode ficar uniforme!!! Portanto, semear plantas daninhas na área experimental, é uma boa estratégia para melhorar a precisão experimental.

Amostragem da infestação

A amostragem é fortemente dependente da dinâmica e depende do seu estágio, sendo mais complexa no caso agregada.

Se as unidades de amostragem forem pequenas e bem distribuídas na área, a distribuição amostral se comporta como aleatória (aleatorização por construção). Se a sobredispersão for de até 20% ($(V/M) < 1,2$), pode-se trabalhar, para fins práticos, como se fosse aleatória (Perecin & Barbosa, 1994).

Os pesquisadores procuram encontrar o tamanho da amostra (número de repetições ou tamanho da amostra) e também em métodos expeditos e precisos para estimação da resposta dos tratamentos, tanto em áreas experimentais como também em áreas comerciais.

Uma estratégia interessante : Encontrar área de amostragem em que ($(V/M) < 1,2$) e o CV esteja entre 20-30%. O CV para amostra composta por m dessas áreas originais, pode ser estimado por $CV = 25/(m) - 2$. Para um $CV = 10\%$, $m = 252/(102) = 6$ pontos.

Ou seja, a precisão experimental pode ser pré-escolhida !!!

Isso é válido para parcelas ou para talhões uniformes.

Parcelas pareadas

Uma estratégia interessante é construir delineamentos com parcelas pareadas, uma tratada (T) e outra pareada (P) para controle.

Trabalhar com as diferenças (T-P) e testar se as médias das diferenças é zero. Para isso: Construir a estatística $TC = \text{dif}(T-P) / (\text{QMRes}/\text{rep})^{1/2}$, onde rep= (repetições), QMRes=Quadrado médio do resíduo.

Usando a distribuição t, o valor mínimo significativo para diferir de zero (em valor absoluto) deve ser menor que o valor de referência (~2, para nível de significância de 5%).

Detalhes dessa técnica podem ser vistos em Perecin et al. (2011).

Transformações para análise dos dados

Para análise de variância há necessidade de vários pré-requisitos, sendo importante a homogeneidade da variância. As variâncias das contagens dependem da distribuição das plantas daninhas no campo: Se aleatória, $V=M$, a variância depende da média do tratamento e não haverá homogeneidade se os tratamentos tiverem médias diferentes, usa-se raiz quadrada para homogeneizar as variância; Se agregada ou sobredispersa, $V \gg M$, usa-se logarítmica (contagem +1); Se regular ou subdispersa, não há necessidade de transformações para esse propósito.

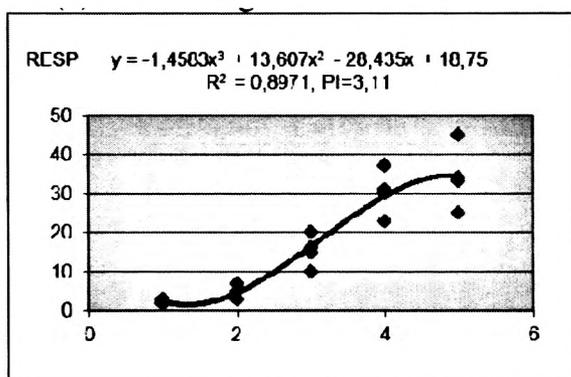
Algumas variáveis respostas (RESP), mesmo contagens, mostram desvio padrão proporcional à média. Pode-se verificar essa relação pelo diagrama de dispersão, determinar a reta $y = a + b x$, plotando-se: $x = \log(\text{média})$ versus $y = \log(\text{desvio padrão})$. Box et al. (1978) mostram as transformações que estabilizam a variância, para esses casos:

$b=2,0$, recíproca : $RESPT(1) = RESP-1$;
 $b=1,5$, recíproca da raiz quadrada : $RESPT(2) = RESP-1/2$;
 $b=1,0$, logarítmica : $RESPT(3) = \text{LOG} (RESP)$;
 $b=0,5$, raiz quadrada : $RESPT(4) = \text{RESP}^{1/2}$;
 $b=0$, não use transformação .

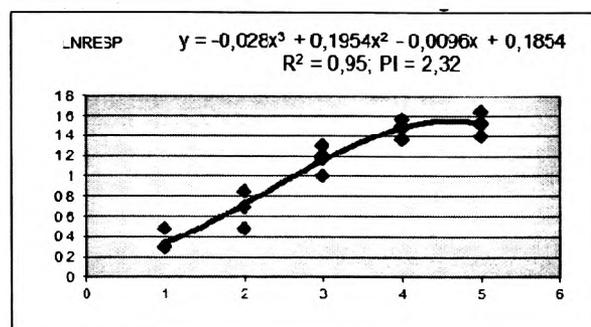
Exemplo: Seja um caso hipotético, em que se avalia o crescimento de uma espécie de planta daninha ao longo de 5 tempos, com 4 repetições por tempo. Na Figura (a), dados originais, verifica-se que não há homogeneidade de variância para a resposta (RESP), eixo das ordenadas, dentro de cada um dos tempos, eixo da abscissa. A relação entre $x = \log(\text{média})$ versus $y = \log(\text{desvio padrão})$, não apresentadas aqui, mostram ($b \sim 1$) e sugerem, pelo critério do item anterior, a transformação logarítmica. Isso foi feito e é mostrado na Figura (b).

Nota-se na Figura (b), a homogeneidade de variância para o logaritmo da resposta (LNRESP), eixo das ordenadas, dentro de cada um dos tempos, eixo da abscissa. Nota-se também na Figura (b) que o R^2 melhora e que o ponto de inflexão (PI) diminui.

(a) Dados originais



(b) Dados transformados em logaritmo



Bibliografia

- BOX, G. E. P., HUNTER, W. G., and HUNTER, J. S. *Statistics for experimenters: An introduction to design, data analysis, and model building*. John Wiley, 1978.
- CROSSA, J. *Statistical analysis of multilocation trials*. *Advances Agronomy*, v. 44, p.55-85, 1990.
- EBERHART, S. A.; RUSSEL, W. A. *Stability parameters for comparing varieties*. *Crop Sci.*, v.6, p.36-40, 1966.
- GOMES, F. P. *Curso de Estatística Experimental*. 14ª Edição. Piracicaba, ESAL/USP. 477 p.
- O'NEILL, R.; WETHERILL, G.B. *The present state of multiple comparison methods*. *J. Royal Stat. Soc., B*, v.33, p.218-250, 1971.
- PERECIN, D.; BARBOSA, J.C. *Uma avaliação de seis procedimentos para comparações múltiplas*. *Rev. Mat. Estat., São Paulo*, v.6, p.95- 103, 1988.
- PERECIN, D.; BARBOSA, J.C. *Afinidade entre distribuições de contágio e Poisson para fins práticos de amostragem*. *Rev. Mat. Estat., São Paulo*, v.12, p.107-112, 1994.
- PERECIN, D.; AZANIA, C.A.M.; FERRAUDO, G.M.; SCHIAVETTO, A.R. *Delineamento com parcelas pareadas. Usos e análises estatísticas*. In: *Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, 56, e Simpósio de Estatística Aplicada a Agronomia, 14., 2011, Maringá, PR. ANAIS... Un. Estadual de Maringá, PR, 2011.*
- REZENDE, M. D. V. *Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes*. Brasília, Embrapa. 2002. 975p.
- SCOTT, R. A.; MILLIKEN, G. A *SAS program for analysing augmented randomized complete-block designs*. *Crop Science*, v. 33, p.865-867, 1993.
- VIEIRA, S.R.; HATFIELD, J.L.; NIELSEN, D.R.; BIGGAR, J.W. *geoestatistical theory and application to variability of some agronomical properties*. *Hilgardia*, v. 51, p.1-75, 1983.