

Efeito da redução da variação da duração de lactação na avaliação genética de bovinos leiteiros mestiços¹

Effect of reduction of lactation length variation on genetic evaluation of crossbred dairy cattle

Olivardo Facó^{2*}, Raimundo Martins Filho³, Raimundo Nonato Braga Lobo⁴, Danielle Maria Machado Ribeiro Azevedo⁵ e Sônia Maria Pinheiro de Oliveira⁶

Resumo - A partir de dados de controle leiteiro obtidos junto à Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, os efeitos da remoção da variação na duração da lactação sobre a comparação de desempenho produtivo de vários grupos genéticos Holandês x Gir, foram estudados através da comparação dos resultados obtidos a partir das três metodologias mais utilizadas: (a) ajuste da produção para a duração da lactação; (b) exclusão das lactações curtas (<120 dias de duração) sem ajuste para a duração da lactação e (c) uso de todas as observações sem ajuste para a duração da lactação. Estimativas dos componentes de (co)variância foram obtidas pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) sob modelo animal. As estimativas de herdabilidade para produção de leite pelo uso das metodologias “a”, “b” e “c” foram de $0,24 \pm 0,029$, $0,31 \pm 0,034$ e $0,27 \pm 0,029$, respectivamente. Conclui-se que o ajuste da produção de leite para a duração da lactação pode levar a práticas equivocadas na comparação de grupos genéticos Holandês x Gir para a produção de leite e na classificação dos animais por mérito genético. Porém, a eliminação das lactações curtas mostrou-se decisão adequada uma vez que não reduziu a variabilidade genética e diminuiu a variância residual, contribuindo para a melhoria da qualidade das avaliações genéticas.

Palavras-chaves - Correlação de Spearman. Correlação genética. Cruzamentos. Lactações curtas. Herdabilidade.

Abstract - From data of milk control obtained from Brazilian Association of Girolando Breeders, the effects of removing variation in lactation length on the comparison of productive performance of various Holstein x Gir crossbred genetic groups were studied through comparison of results obtained from the use of three methods: (a) adjusting milk yield by lactation length; (b) excluding short lactations (<120 days of length); (c) use of all records not adjusting by lactation length. Estimates of (co)variance components were obtained through the method of the Restricted Maximum Likelihood (REML) under animal model. The heritability estimates for milk yield by the use of the methodologies “a”, “b” and “c” were of 0.24 ± 0.029 , 0.31 ± 0.034 and 0.27 ± 0.029 , respectively. It was concluded that the adjustment of milk yield by lactation length could take to mistaken practices in the comparison of Holstein x Gir genetic groups for milk yield and in the ranking of the animals by genetic merit. However, the exclusion of the short lactations was shown appropriate decision once it did not reduce the genetic variability and it reduces the residual variance, contributing to the improvement of the quality of the genetic evaluations.

Key words - Crossbreeding. Genetic correlations. Short lactations. Heritability. Spearman’s correlations.

*Autor para correspondência

¹Recebido para publicação em 30/10/2006; aprovado em 10/02/2009

Parte integrante da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentado ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia (PDIZ), sub-programa UFC.

²Méd. Veterinário, D. Sc., Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Estrada Sobral Groairas, km, 4, caixa postal: 145, CEP: 62 011-970, Sobral, CE, faco@cnpq.embrapa.br

³Méd. Veterinário, D. Sc., Bolsista PV/FUNCAP/UECE, rmartinsfilho@yahoo.com.br

⁴Méd. Veterinário, D. Sc., Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos, Bolsista CNPq, lobo@cnpq.embrapa.br

⁵Méd. Veterinária, D. Sc., Pesquisadora da Embrapa Meio-Norte, danielle@cnpq.embrapa.br

⁶Eng. Agrônoma, Profa. do Depto. de Zootecnia, CCA/UFC, soniace@ufc.br

Introdução

Várias metodologias são comumente adotadas quando do processamento das informações de controle leiteiro para a avaliação da capacidade de produção de leite dos animais. Dentre estas, destacam-se: (a) ajuste da produção para a duração da lactação; (b) exclusão das lactações curtas e (c) uso de todas as observações sem ajustar para a duração da lactação.

Dentre os fatores que podem levar a lactações curtas, podemos destacar: doença, morte e potencial genético limitado. Nos casos de lactações curtas em função de doença ou morte, é razoável que tais registros sejam excluídos, pois podem prejudicar as análises. No entanto, nos casos de lactações curtas em função de limitação genética, tais registros não devem ser excluídos, pois desta forma estar-se-á retirando variação genética, podendo, conseqüentemente, levar a conclusões distorcidas na comparação do desempenho dos diversos grupos genéticos estudados. Além disso, a susceptibilidade a doenças e a mortalidade são fatores muitas vezes associados ao grupo genético (MADALENA et al., 1989).

Madalena et al. (1992), estudaram o resultado do uso destas três metodologias e concluíram: (1) a remoção da variação na duração da lactação reduzirá a diferença na produção de leite entre os grupos genéticos, exceto em casos onde a correlação entre produção de leite e duração da lactação for baixa; (2) o ajuste da produção para a duração da lactação produzirá estimativas viesadas e reduzidas da diferença aditiva entre as raças, quando estas diferirem na duração da lactação e produzirá estimativas viesadas e reduzidas da heterose quando existir heterose para a duração da lactação; (3) estimativas viesadas semelhantes são esperadas a partir da exclusão das lactações curtas, estando a magnitude do viés dependendo da proporção de registros excluídos e (4) uma avaliação mais realística de raças e mestiços será obtida se não houver ajuste da produção para a duração da lactação, nem exclusão de lactações “anormais” (curtas). Mello et al. (1994), concluíram que a duração da lactação nos zebus é uma característica com variação genética e que a eliminação de lactações curtas e o ajuste para duração da lactação reduzem a variação genética existente na produção de leite. Freitas et al. (1995), observaram que o ajuste para a duração da lactação provocou uma diminuição das estimativas de herdabilidade para as características produção total de leite por lactação e produção até os 305 dias de lactação, quando comparadas com aquelas obtidas sem tal ajuste, evidenciando uma redução da variabilidade genética provocada pelo ajuste.

Por outro lado, Mackinnon et al. (1996) não observaram diferenças apreciáveis sobre as estimativas de variação genética ou de parâmetros de cruzamentos quando consideraram ou não nas análises as lactações inferiores a 180 dias. Freitas et al. (1998), observaram que

o ajuste dos registros para duração da lactação teve pouco efeito sobre a magnitude das diferenças entre os grupos genéticos e não afetou a interpretação dos resultados.

Facó (2001), a exemplo de Madalena et al. (1992), verificou que a correção da produção de leite para a duração da lactação levou redução da variação entre grupo genético, tendo a eliminação das lactações curtas apresentado efeito semelhante, porém mais suave. Neste estudo, o objetivo foi, verificar qual a metodologia mais adequada, no tocante à variação na duração da lactação, para o tratamento das informações de produção de leite visando a avaliação do potencial genético de animais mestiços de vários grupos genéticos Holandês x Gir.

Material e métodos

Dados de produção total de leite por lactação (PL) e duração da lactação (DL) foram obtidos junto à Associação Brasileira dos Criadores de Girolando.

As análises descritivas dos dados foram realizadas por meio dos procedimentos estatísticos contidos no Statistical Analysis System - SAS (1999), verificando restrições, limitações e a consistência das informações.

O total de lactações presentes nos dados era inicialmente de 17.164. Foram excluídas informações de lactações com duração superior a 730 dias, com produção diária média inferior a 2 kg e superior a 65 kg, com produção total por lactação superior a 24.000 kg, provenientes de vacas em que a idade ao parto não apresentava coerência com a ordem de parto e de vacas de grupos genéticos com poucas informações (3/8; 7/16 e 13/16 de genes da raça Holandesa). Com estas restrições, o número de lactações caiu para 16.335.

Foram definidos como grupo de contemporâneas as vacas com lactações iniciadas no mesmo ano de parto (1991 a 2003), estação de parto (1-janeiro a março, 2-abril a junho, 3-julho a setembro e 4-outubro a dezembro) e rebanho (75). Utilizou-se uma matriz de parentesco completa, contendo um total de 10.315 animais, sendo 688 touros.

Com o objetivo de garantir uma melhor conectabilidade dos dados, foram excluídas informações de lactações provenientes de grupos contemporâneos que não tinham nenhum animal com informação de parentesco e de vacas que não tinham informação de parentesco nem eram mães de outras vacas com informação de produção de leite. Tais exclusões reduziram o número de lactações para 14.150. Por fim, foram eliminadas aquelas lactações provenientes de grupos contemporâneos com menos de cinco observações, restando um total de 13.176 lactações para análise.

A frequência de lactações curtas (<120 dias de duração) nos vários grupos genéticos foi comparada pelo

teste qui-quadrado (SNEDECOR; COCHRAN, 1967), utilizando-se tabelas 2 x 2, sendo dois grupos genéticos de cada vez e duas classes de duração da lactação (<120 dias e maior ou igual a 120 dias).

O estudo do efeito da remoção da variação na duração da lactação foi realizado por meio da comparação dos resultados obtidos a partir de três metodologias: (a) ajuste da produção para a duração da lactação; (b) exclusão das lactações curtas sem ajuste para a duração da lactação e (c) uso de todas as observações sem ajuste para a duração da lactação. A metodologia “a” foi aplicada pela inclusão da duração da lactação como uma covariável no modelo descrito abaixo, enquanto na metodologia “b” foram excluídas as lactações com duração inferior a 120 dias.

As estimativas dos componentes de (co)variância e de parâmetros genéticos para as características produção total de leite e duração da lactação foram obtidas pelo método da máxima verossimelhança restrita (REML), sob um modelo animal, por meio do sistema computacional MTDFREML (BOLDMAN et al., 1995), sendo as mesmas obtidas pela utilização das três metodologias. O modelo padrão utilizado incluiu os efeitos fixos de grupo genético e de grupo de contemporâneas, a covariável idade da vaca ao parto (linear e quadrático) e os efeitos aleatórios genético aditivo e de ambiente permanente, além do efeito aleatório residual.

As correlações genéticas entre a produção de leite e a duração da lactação foram estimadas em análises bicaráter pelos métodos “b” e “c”. Também utilizando o programa MTDFREML, desenvolvido por Boldman et al. (1995), foram obtidas predições dos valores genéticos de cada animal, estimativas dos efeitos dos grupos genéticos e calculados os contrastes entre os diversos grupos genéticos, buscando a comparação de desempenho entre os mesmos.

Com o objetivo de verificar possíveis alterações na ordem dos animais com bases em seus valores genéticos, foram calculadas as correlações de Spearman entre estes valores preditos pela aplicação das três metodologias, sendo para tal, utilizado o procedimento Proc Corr do pacote estatístico SAS (1999).

Resultados e discussão

O valor do teste qui-quadrado (χ^2) no rodapé da Tabela 1 indica que, nas condições deste estudo, existiu uma associação entre grupo genético e o tipo de lactação, ou seja, a frequência de lactações curtas dependeu do grupo genético. Observa-se que os animais do grupo genético 1/4 apresentaram uma incidência de lactações curtas (<120 dias) bem superior aos demais grupos, enquanto que aqueles dos grupos 7/8 e 5/8 foram os que apresentaram menor incidência deste tipo de lactação.

Madalena et al. (1983), trabalhando com animais 3/4; 7/8 e Holandês (PC e PO), não observaram associação entre lactações curtas e grupo genético. Por outro lado, Madalena et al. (1992) observaram maior frequência de lactações curtas para os grupos genéticos 1/4 e 5/8 sob alto nível de manejo, enquanto sob baixo nível de manejo o grupo Holandês apresentou maior incidência de lactações curtas.

É importante destacar que, ao contrário do observado por Madalena et al. (1992), a frequência de lactações curtas no grupo genético 5/8 foi menor do que na maioria dos outros grupos.

As correlações fenotípicas entre a produção de leite e a duração da lactação foram calculadas em 0,80 e 0,73 quando da utilização dos métodos “c” e “b”, respectivamente. Percebe-se uma redução de 0,07 pontos no coeficiente de correlação quando as lactações curtas foram excluídas. Já as correlações genéticas estimadas em análises bicaráter foram de 0,90 e 0,88 para os métodos “c” e “b”, respectivamente, evidenciando uma alta associação genética entre as duas características, com uma redução de 0,02 pontos no coeficiente de correlação quando as lactações curtas foram excluídas. Estes resultados podem ser indicativos de que a exclusão das lactações curtas tem maior efeito sobre a variação ambiente do que sobre a variação genética, uma vez que promoveu maior redução na correlação fenotípica do que da correlação genética.

Tabela 1 - Distribuição de frequências dos registros (percentagens entre parênteses) segundo o tipo de lactação e o grupo genético

Tipo de Lactação	Grupo Genético							Total
	Gir	1/4 ^d	1/2 ^c	5/8 ^{ab}	3/4 ^c	7/8 ^a	Hol. ^{bc}	
Curta	62 (16,1)	164 (21,1)	608 (13,9)	200 (11,1)	630 (13,6)	73 (9,1)	55 (13,5)	1.792 (13,6)
Normal	324 (83,9)	615 (78,9)	3.759 (86,1)	1.600 (88,9)	4.005 (86,4)	730 (90,9)	351 (86,5)	11.384 (86,4)
Total	386	779	4.367	1.800	4.635	803	406	13.176

$\chi^2 = 62,58$ ($P < 0,0001$); a, b, c ... Grupos genéticos seguidos por letras diferentes apresentam frequências de lactações curtas estatisticamente diferentes pelo teste χ^2 ($P < 0,05$)

Na Tabela 2, observou-se que o ajuste da produção de leite para a duração da lactação (metodologia “a”) resultou em estimativas de componentes de variância para a característica produção de leite bem mais reduzidas que aquelas obtidas pela aplicação das outras metodologias, sendo esta redução proporcionalmente maior para às variâncias genética aditiva (67%) e de ambiente permanente (68%) do que para a variância residual (61%). Tal fato se reflete nas reduzidas estimativas de herdabilidade e repetibilidade quando comparadas àquelas obtidas pelas metodologias “b” e “c”. Assim, conclui-se que o ajuste da produção de leite para a duração da lactação remove mais variabilidade genética do que ambiente, não sendo, portanto, indicada para tratar os dados presentes.

Comparando-se os resultados obtidos pelas metodologias “b” e “c”, observa-se na Tabela 2 que a eliminação das lactações curtas (metodologia “b”) levou à produção de estimativas de componentes de variância inferiores àquelas obtidas quando foram utilizadas todas as lactações (metodologia “c”). No entanto, foi menor a redução para as variâncias genética aditiva (4%) e de ambiente permanente (10%), do que para o componente residual (24%). Como consequência, as estimativas de herdabilidade e de repetibilidade foram maiores quando do uso da metodologia “b”. Logo, a eliminação de lactações curtas mostrou-se decisão adequada, uma vez que removeu principalmente variação residual, com pouco efeito sobre a variação genética, contribuindo para uma avaliação mais correta dos genótipos.

Quanto à característica duração da lactação, de acordo com os resultados presentes na Tabela 2, percebe-se que os componentes de variância estimados através da utilização da metodologia “b” foram inferiores àquelas obtidos quando não houve eliminação das lactações curtas. Tal inferioridade foi proporcionalmente semelhante para os componentes de variância genético aditivo (39%) e residual (34%), sendo menor para o componente de ambiente permanente (18%). Como consequência, estimativas de herdabilidade e repetibilidade foram muito próximas.

Em função destes resultados, pode-se concluir que a eliminação das lactações curtas não levou a redução expressiva da variabilidade genética quanto à produção de leite, logo, não parece comprometer a adequada comparação entre os vários genótipos.

Observando as estimativas dos efeitos de grupo genético, contidas na Tabela 3, pode-se verificar que em qualquer das três metodologias o grupo genético de pior desempenho foi o Gir, seguido dos grupos 1/4 e 1/2. No entanto, quando são comparados os demais grupos genéticos, o resultado varia com a metodologia utilizada.

A correção da produção de leite pela duração da lactação (metodologia “a”) promoveu uma redução das diferenças entre os grupos genéticos de maneira que não foram verificadas diferenças significativas entre os grupos 5/8; 3/4; 7/8 e Holandês. Além disso, ao contrário dos

Tabela 2 - Estimativas de componentes de variância e de parâmetros genéticos e fenotípicos para as características produção de leite e duração da lactação, de acordo com a metodologia adotada no tratamento das informações de produção de leite

Componente ou Parâmetro	Metodologia ¹		
	a	b	c
	Produção de Leite		
Genético Aditivo (kg ²)	211.665	619.943	643.687
Ambiente Permanente (kg ²)	110.715	307.828	342.452
Residual (kg ²)	546.955	1.051.068	1.388.004
Fenotípico (kg ²)	869.335	1.978.839	2.374.143
Herdabilidade	0,24 ± 0,029	0,31 ± 0,034	0,27 ± 0,029
Repetibilidade	0,37 ± 0,028	0,47 ± 0,033	0,42 ± 0,029
	Duração da Lactação		
Genético Aditivo (kg ²)		581	953
Ambiente Permanente (kg ²)		439	533
Residual (kg ²)		3.603	5.496
Fenotípico (kg ²)		4.623	6.982
Herdabilidade		0,13 ± 0,026	0,14 ± 0,023
Repetibilidade		0,22 ± 0,028	0,21 ± 0,024

¹ a) ajustando as produções para a duração da lactação; b) eliminando as lactações inferiores a 120 dias sem ajustar para a duração da lactação; c) todas as lactações e sem ajustar para a duração da lactação

resultados obtidos pelo uso das metodologias “b” e “c”, o desempenho do grupo genético 1/2 foi equivalente ao Holandês. Estes resultados são coerentes com a redução da variabilidade genética proporcionada pela metodologia “a”, evidenciada na Tabela 2.

Comparando os resultados obtidos pelo uso das metodologias “b” e “c”, constata-se que embora os resultados sejam bastante semelhantes e o grupo genético 7/8 seja o de

melhor desempenho, pela metodologia “b” este grupo foi equivalente ao grupo genético Holandês, enquanto que pela metodologia “c” tal equivalência se deu com o grupo genético 5/8. Portanto, houve diferença entre as duas metodologias quando da classificação dos grupos genéticos.

Observando-se os coeficientes de correlação de Spearman apresentados na Tabela 4, pode-se verificar que, de uma maneira geral, à medida que a intensidade

Tabela 3 - Estimativas dos efeitos de grupo genético para a característica produção de leite, expressas como desvio em relação ao grupo genético 1/2, de acordo com a metodologia adotada no tratamento das informações de produção de leite

Grupo Genético	Metodologia ¹		
	a	b	c
Gir	-1.187 ^d	-1.895 ^e	-1.993 ^e
1/4	-595 ^c	-965 ^d	-983 ^d
1/2	0 ^b	0 ^c	0 ^c
5/8	99 ^a	278 ^b	375 ^{ab}
3/4	97 ^a	317 ^b	258 ^b
7/8	146 ^a	591 ^a	545 ^a
Holandês	117 ^{ab}	455 ^{ab}	267 ^b

¹ a) ajustando as produções para a duração da lactação; b) eliminando as lactações inferiores a 120 dias sem ajustar para a duração da lactação; c) todas as lactações e sem ajustar para a duração da lactação

Tabela 4 - Coeficientes de correlação de Spearman (acima das diagonais) entre os valores genéticos preditos pelas três metodologias estudadas e número de observações utilizadas (abaixo das diagonais), de acordo com o grupo de animais considerados

Metodologia ¹	Metodologia ¹		
	a	b	c
	todos os animais		
a		0,70***	0,63***
b	9.495		0,89***
c	10.315	9.495	
	todos os touros		
a		0,69***	0,63***
b	638		0,86***
c	688	638	
	10% dos animais superiores		
a		0,51***	0,52***
b	1.020		0,73***
c	1.031	1.020	
	10 melhores touros		
a		-0,09 ^{ns}	-0,16 ^{ns}
b	10		0,59 ^{ns}
c	10	10	

¹ a) ajustando as produções para a duração da lactação; b) eliminando as lactações inferiores a 120 dias de duração sem ajustar para a duração da lactação; c) todas as lactações e sem ajustar para a duração da lactação. *** coeficiente de correlação estatisticamente diferente de zero (P<0,0001); ns coeficiente de correlação estatisticamente não diferente de zero (P>0,05)

de seleção é elevada os coeficientes de correlação de Spearman têm menor magnitude, sendo muito baixos e estatisticamente não diferentes de zero quando foram considerados apenas os dez melhores touros.

As correlações entre os valores genéticos preditos pela metodologia “a” e as outras duas metodologias foram sempre de menor magnitude do que aquelas entre as metodologias “b” e “c”. Tal fato, somado à redução da variabilidade genética evidenciada na Tabela 2, indica que a correção das produções de leite pela duração das lactações leva a desvios na predição dos valores genéticos dos animais.

As correlações entre os valores genéticos preditos pelas metodologias “b” e “c” foram quase sempre elevadas, apesar de se verificar uma redução à medida que a intensidade de seleção foi elevada. No entanto, quando foram selecionados apenas os dez melhores touros, observou-se grande alteração na classificação dos mesmos dependendo da metodologia adotada.

Concordando com os resultados de Madalena et al. (1992), Mello et al. (1994) e Freitas et al. (1995), os resultados obtidos neste estudo indicam que a correção da produção de leite pela duração da lactação deve ser evitada sob pena de se estar removendo variabilidade genética e, conseqüentemente, levando a conclusões equivocadas na avaliação do potencial genético dos animais e do desempenho dos grupos genéticos.

Por outro lado, ao contrário do que foi observado por Madalena et al. (1992) e Mello et al. (1994), mas concordando com o observado por Mackinnon et al. (1996), a eliminação das lactações curtas não promoveu redução na variabilidade genética e sim contribuiu para uma redução substancial da variância residual. Logo, para as condições deste estudo, a eliminação das lactações curtas se mostrou decisão correta no sentido de melhorar a qualidade das avaliações dos grupos genéticos e dos animais.

Conclusões

1. O ajuste da produção de leite para a duração da lactação pode levar a conclusões equivocadas na comparação de grupos genéticos Holandês x Gir para a produção de leite e na classificação dos animais por mérito genético.
2. Nas condições deste estudo, a eliminação das lactações curtas mostrou-se decisão adequada para a melhoria da qualidade das avaliações genéticas.

Agradecimentos

À Associação Brasileira dos Criadores de Girolando que cedeu atenciosamente os dados, motivo deste estudo, e esteve sempre disponível para eventuais esclarecimentos.

Referências

- BOLDMAN, K. G. et al. **A manual for use of MTDFREML: a set of programs to obtain estimates of variance and covariance.** Lincoln: Agricultural Research Service, 1995. 120 p.
- FACÓ, O. **Análise do desempenho produtivo de diversos grupos genéticos Holandês x Gir no Brasil.** 2001. 66 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- FREITAS, A. F.; WILCOX, C. J.; COSTA, C. N. Breed group effects on milk production of brazilian crossbred dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 08, p. 2306-2311, 1998.
- FREITAS, A. F.; WILCOX, C. J.; ROMAN, R. M. Genetic parameters for milk yield and composition of crossbred dairy cattle in Brazil. **Revista Brasileira de Genética**, v. 18, n. 02, p. 229-235, 1995.
- MADALENA, F. E.; LEMOS, A. M.; TEODORO, R. L. Consequences of removing the variation in lactation length on the evaluation of dairy cattle breeds and crosses. **Revista Brasileira de Genética**, v. 15, n. 03, p. 585-593, 1992.
- MADALENA, F. E. et al. Causes terminating lactations records in Holstein-Friesian x Guzerá crosses. **Revista Brasileira de Genética**, v. 12, n. 01, p. 161-167, 1989.
- MADALENA, F. E. et al. Produção de leite e intervalo entre partos de vacas HPB e mestiças HPB: Gir num alto nível de manejo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 18, n. 02, p. 195-200, 1983.
- MACKINNON, M. J.; THORPE, W.; BAKER, R. L. Sources of genetic variation for milk production in a crossbred herd in the tropics. **Animal Science**, v. 62, n. 01, p. 5-16, 1996.
- MELLO, A. A. et al. Efeito da eliminação de lactações curtas e do ajuste pela duração da lactação na herdabilidade da produção de leite em um rebanho Gir. **Arquivo Latinoamericano de Produccion Animal**, v. 02, n. 02, p. 117-123, 1994.
- SAS INSTITUTE. **Statistical Analysis Systems User's Guide.** Cary: SAS Institute, 1999.
- SNEDECOR, G. W.; COCHRAN, W. G. **Statistical Methods.** 6. ed. Ames: Iowa State University Press, 1967. 593 p.