

# Material extendido da disciplina

De populações aos marcadores  
moleculares

# Populacoes e Conservacao Genetica

Sintese geral

# Etapas de um programa de Melhoramento Florestal

Das populações naturais ao uso  
final em populações comerciais

# Principais etapas

- Amostragem de populações naturais
- Montagem de populações base
- Testes de procedências e progênies
- Seleção e recombinação

# Definições importantes

- Populações
- Sub-populações
- Metapopulações
  
- Dificuldades operacionais para uso dos conceitos genéticos de populações na coleta de material genético a campo:
  - a) As populações não são coetâneas;
  - b) Falta e baixa qualidade das informações sobre a distribuição espacial das populações
  - c) Tamanho dos indivíduos
  - d) Fenologia da floração e frutificação

# Dinâmicas de Metapopulação

## Conceitos

Hanski e Gilpin (1991)

### PATCH E POPULAÇÃO

METAPOPOPULAÇÃO →

Conjunto de populações locais as quais interagem via indivíduos que se movem entre populações

DINÂMICA →

Metapopulações não são estáticas

Dinâmica de metapopulações estuda como os processos chaves de extinção e colonização ocorrem nas metapopulações.....Porque é importante ?

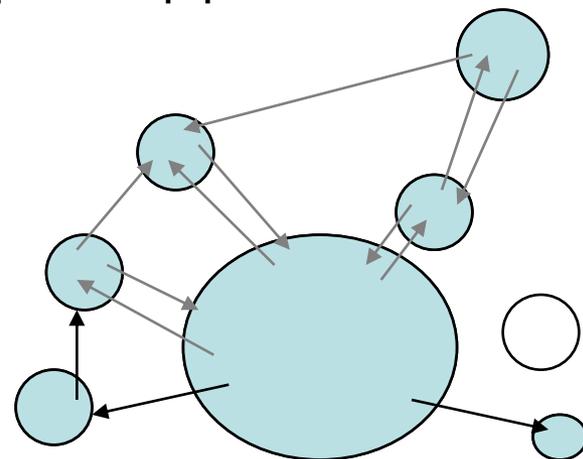
ORIGEM: Levins (1969)

$$dp:dt = mp(1-p) - ep$$

$p$  = fração de patch ocupados pela sp  
 $e$  = processos individuais  
 $m$  = processos populacionais

### Terminologia:

- Modelo de ocupação
- Estrutura de Metapopulação
- Modelo de estrutura de metapopulação



# *Linhas abordadas*

1. Metapopulação de espécies: usando o modelo de Levins
2. Metacomunidades

} TIPOS DE ESTUDOS

3. Metapopulação e a biogeografia de ilhas
4. Metapopulação e ambientes fragmentados

} LIGAÇÕES

5. Metapopulação e o uso
6. Metapopulação e a conservação

} APLICAÇÕES PRÁTICAS



## 1. *Metapopulação de espécies: usando o modelo de Levins*

- Modelo Levins é limitado, mas nenhum modelo generalidade, realismo e precisão
- Modelo Hanski (1985), inclui imigração, e Lande(1987), território individual
- O modelo Levins peca pouco para a realidade da maioria das metapopulações
- Geralmente há relação entre  $p$  e probabilidade de local extinção ( $p$  e tamanho)
  - comportamento de dispersão e de movimentação animal
  - colonização por populações adjacentes (stepping stones)

## 2. *Metacomunidades ou comunidade de metapopulações*

- Duas ou mais espécies confinadas em um mesmo conjunto de *patches* de habitat
- Possibilita conhecer a distribuição delas e a probabilidade de ocorrerem juntas
- A presença ausência de 1 influencia na prob. de extinção ou colonização da outra

## 3. *Metapopulação e a biogeografia de ilhas*

- Trabalham os mesmos processos: probabilidade de colonização e extinção
- Modelo satélite = continente é ilha principal
- Foco pode ser a população (efeito da area e distancia de isolamento)

## 4. *Metapopulação e ambientes fragmentados*

- Ambientes fragmentados – indivíduos dispersam de um comum pool a cd geração
- Metapopulação – tem uma estrutura hierárquica populacional (coesão)

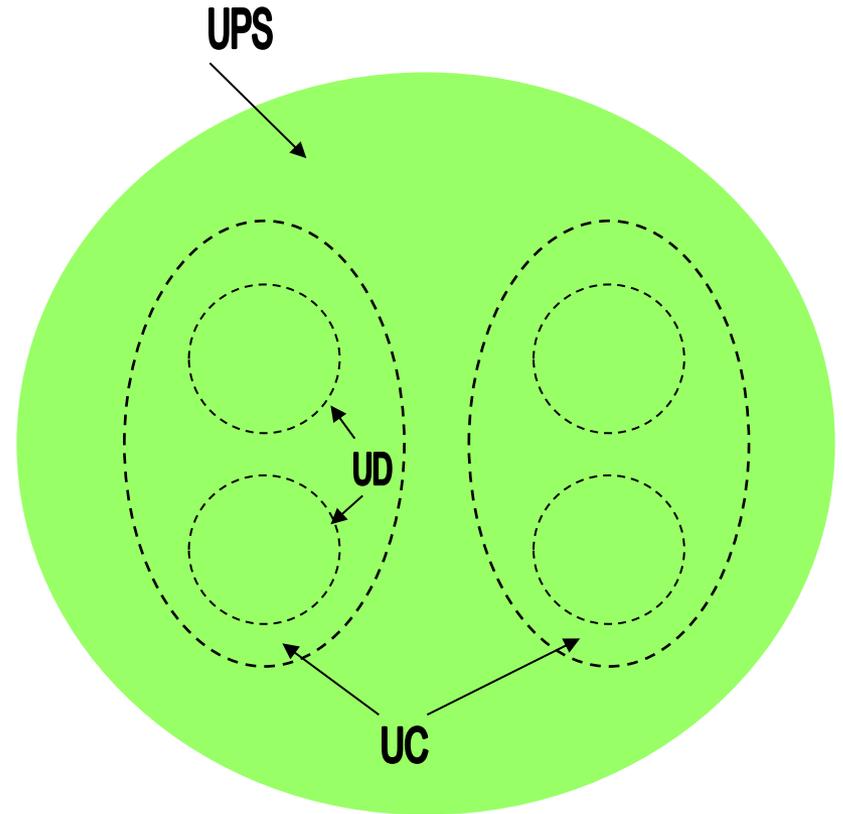
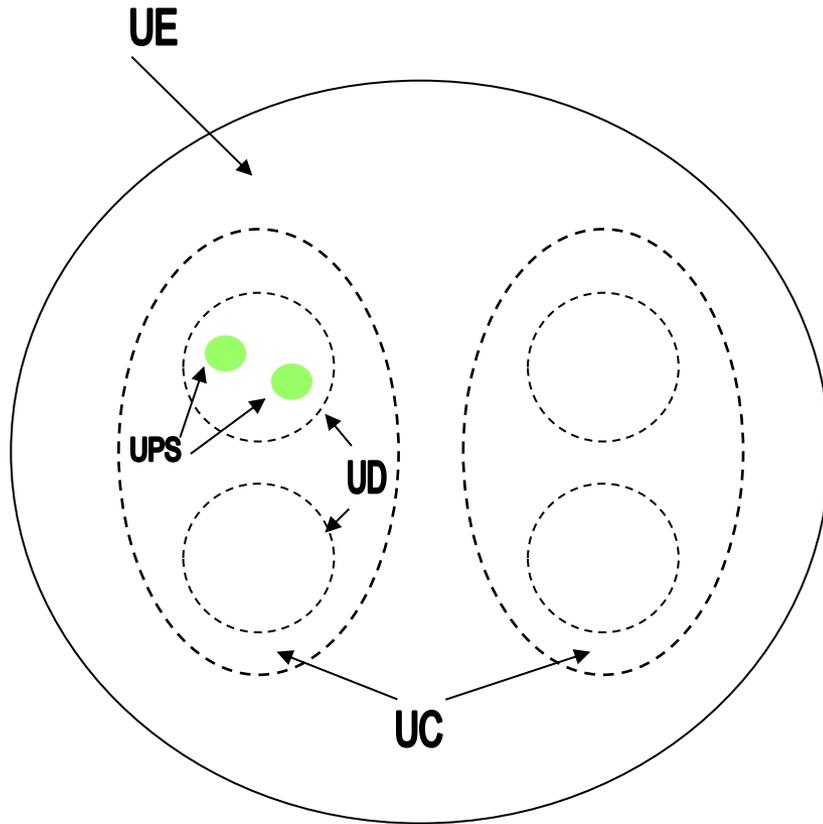
## 5. Metapopulação e Ecologia de Paisagem

- Possuem linguagens e interesses comuns
- Foco no papel humano no desenvolvimento e manejo da paisagem
- A fusão das duas possibilitam sintetizar o assunto como um todo.

## 6. Metapopulação e a Conservação

- Aumento na fragmentação aumenta a importância dos estudos de metapop.
- Entender a capacidade de dispersão sobre essa nova condição
- Predizer as consequências sobre genética e vulnerabilidade das populações
- Orienta como devem ser manejadas as populações
- Orienta o estabelecimento de diretrizes e limites de UCs (SLOSS)

# Nova categorização para população



**UE = Unidade Evolucionária**

**UC = Unidade de Conservação**

**UD = Unidade Demográfica**

**UPS = Unidade Provedora de Serviço**

# Nova definição para diversidade populacional

**Quatro componentes chave a serem considerados:**

- **Riqueza da população**
- **Tamanho da população**
- **Distribuição da População**
- **Diferenciação genética das populações**

# Amostragem de populações naturais para conservação genética e melhoramento – 1/2

- Aumento da base genética para as gerações futuras –  $N_e$  – tamanho efetivo da população
- Características para seleção: doença, pragas, forma: critérios para eliminação
- Altura é indicador de qualidade de sítio
- Baixa intensidade de seleção: ampla população base: coletar maior número possível de indivíduos dentro de cada população

# Amostragem de populações naturais para conservação genética e melhoramento – 2/2

- Fatores que afetam o número de árvores a serem coletadas por população:
  - a) Sistema reprodutivo
  - b) Grau de isolamento dos indivíduos
  - c) Grau de proximidade ou distância genética entre os indivíduos
  - d) Objetivos ou interesse da coleta

# Conservação genética: principais estratégias

- In-situ
- Ex-situ
- Conservação pelo uso – circa-situ
  
- Por que das diferentes estratégias de conservação?

Distintos graus de risco das espécies e necessidades ou demandas para conservação - uso

# Conservação ex-situ

- Conservação por espécie
- Fora do local de ocorrência natural
- Primeiras tentativas para evitar a extinção de populações ou espécies
- Possível para pequeno número de espécies: custos
- Bancos de germoplama bancos de sementes

# Conservação in-situ

- Manutenção dos processos evolutivos
- Grande número de espécies ao mesmo tempo
- Conservação de ecossistemas e serviços associados
- Maior eficiência para áreas com baixo impacto ou pouco alteradas
- Dentro de uma estratégia para áreas protegidas

# Conservação circa-situ

- Principais usos – em sistemas de produção: agrobiodiversidade
- Conservação pelo uso
- Monitoramento constante, mas incorpora o conhecimento tradicional
- Valido para especies coem inicio de processo de domesticacao: racas locais

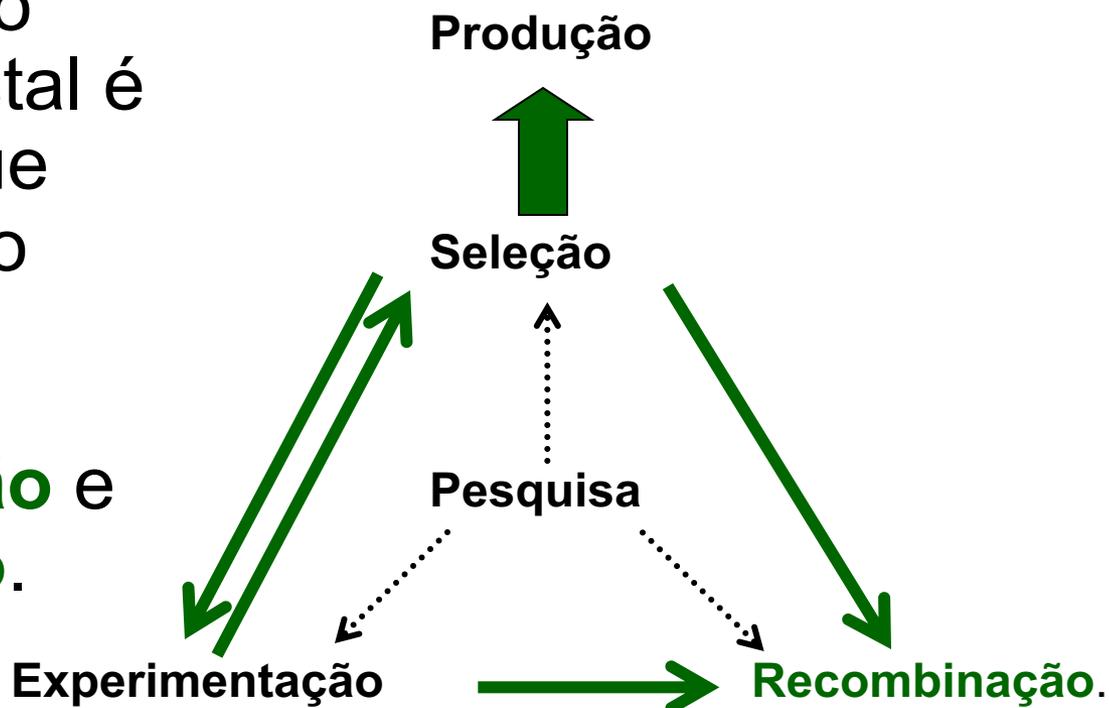
Slide de transicao

# O Fator Tempo no Melhoramento Genético Florestal

Weber Amaral  
LCF

# Introdução

O Melhoramento Genético Florestal é um processo que envolve um ciclo contínuo entre **Seleção**, **Experimentação** e **Recombinação**.



# Introdução (cont)

Formas como o tempo influencia os processos de melhoramento florestal:

tempo de desenvolvimento



tempo de colheita



tempo para atingir a estabilidade fenotípica



tempo para atingir a maturidade reprodutiva



# Introdução (cont)

Além disso....

Experimentação  
com resultados  
úteis

→ 6 a 8 anos

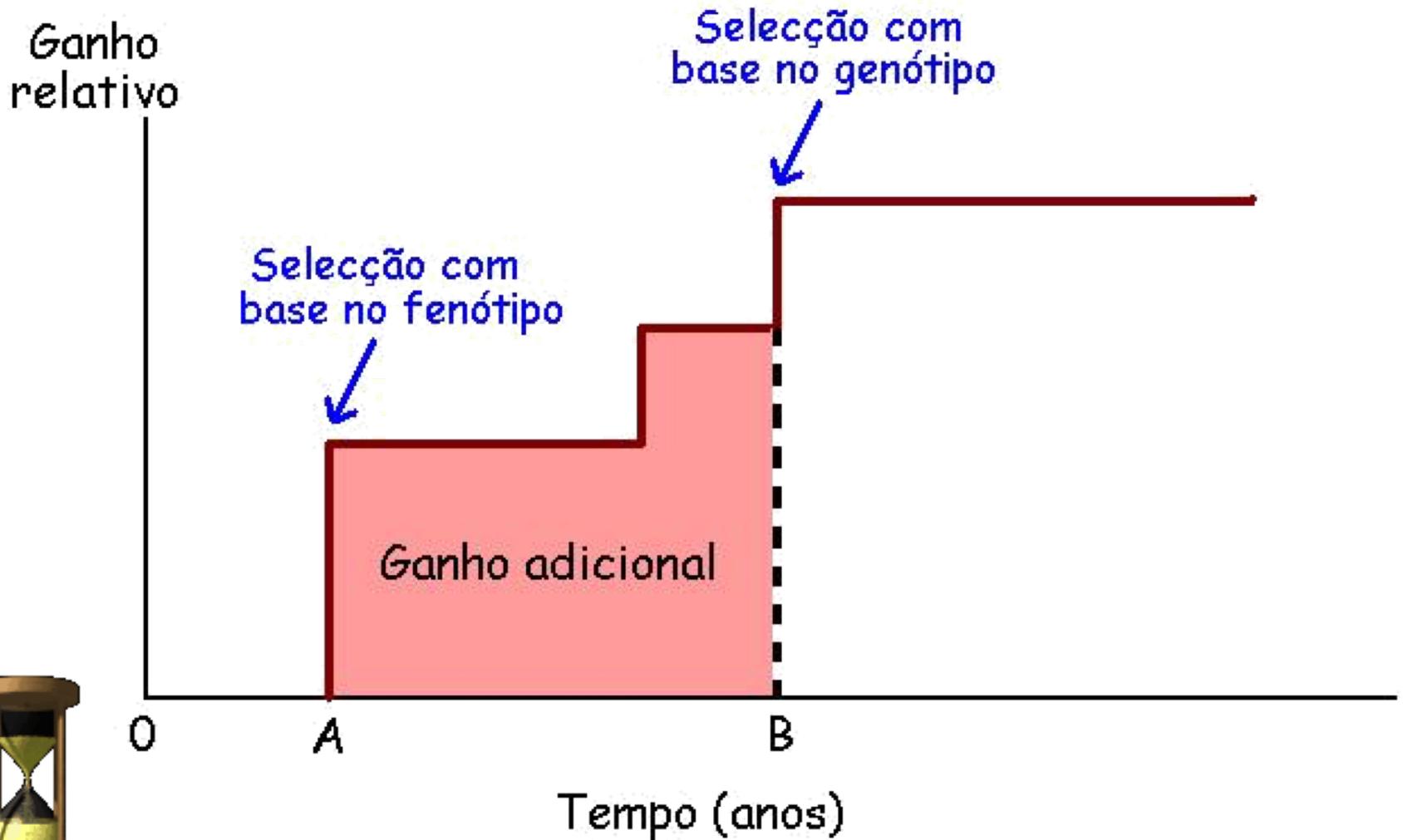
Produções  
significativas

→ cerca de 10  
anos

# O valor do tempo

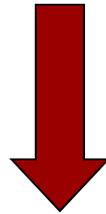
Na maior parte das espécies os parâmetros necessários a uma seleção eficiente não podem ser medidos antes do meio do tempo de geração

# O valor do tempo (cont)



# Estratégias de Reprodução

O objetivo principal do melhoramento florestal é de otimizar a produção de recursos por unidade de tempo



Há que tomar decisões críticas que incluem:

- a escolha do melhor modo de acasalamento
- a escolha de um método de seleção eficiente

# Estratégias de Reprodução (cont)

- **EXEMPLO:**

- 4 modos de acasalamento
- 1 método de selecção (**Índices combinados**)



Comparação quanto aos **Ganhos por Geração** e quanto aos **Ganhos por Década**



## Dialelos semi desconectados

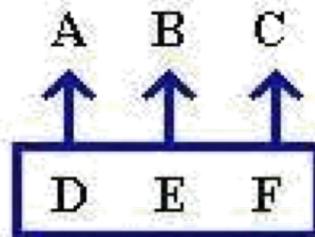
	B	C	D	E	F
A	x	x	x	x	x
B		x	x	x	x
C			x	x	x
D				x	x
E					x

# Modos de Acasalamento

## Cruzamento simples



## Poli cruzamento

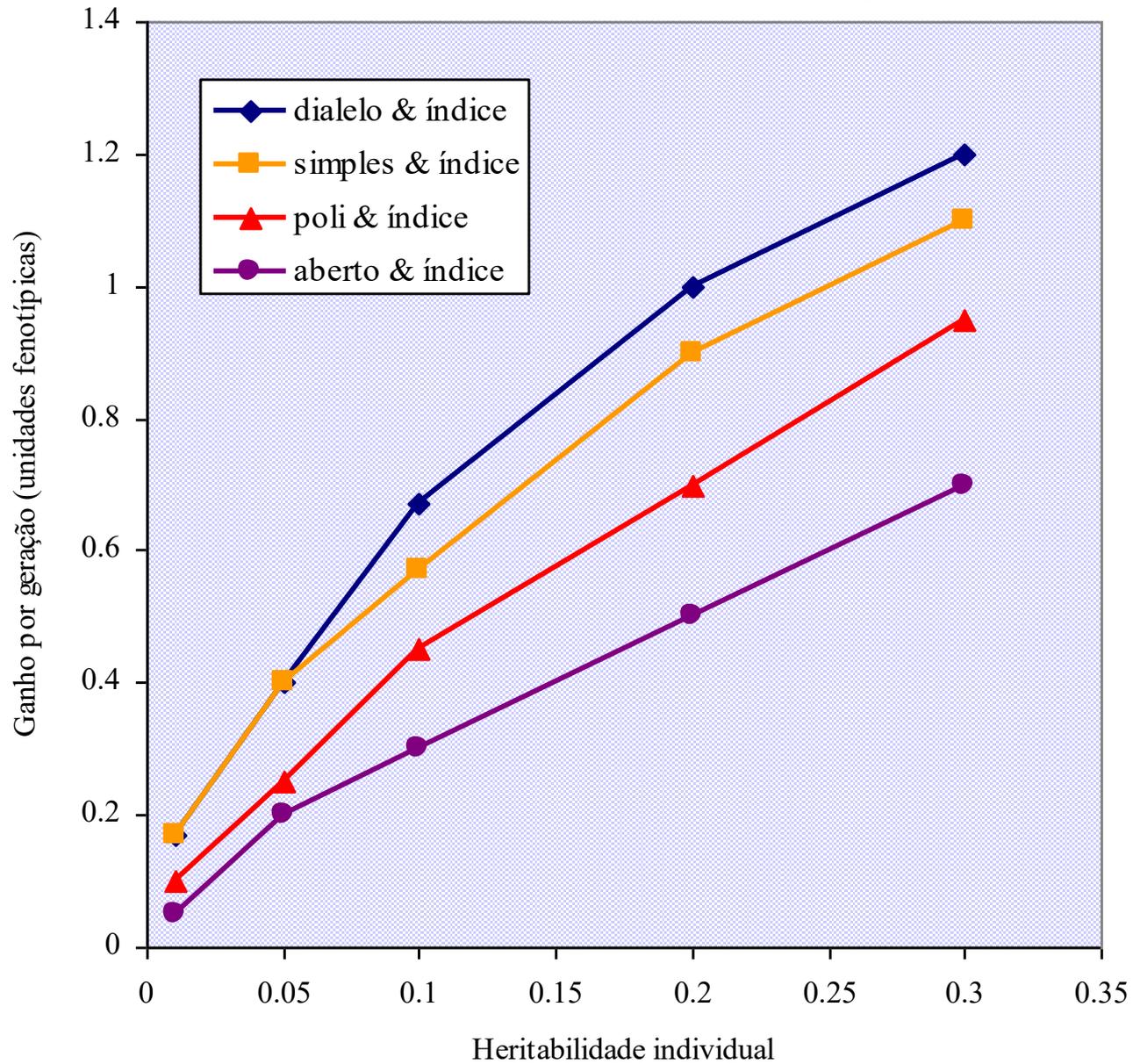


Mistura de pólen

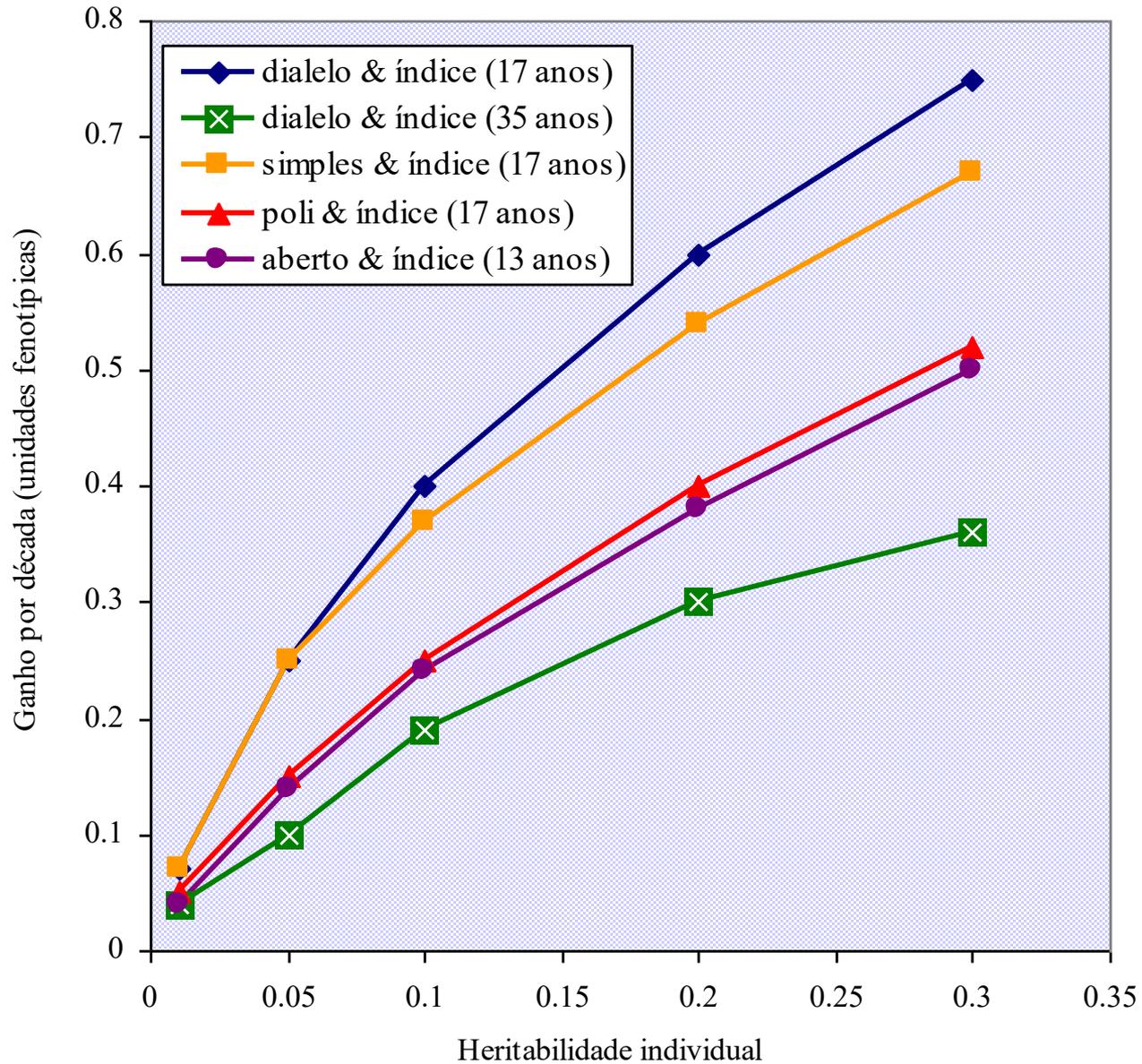
## Cruzamento aberto



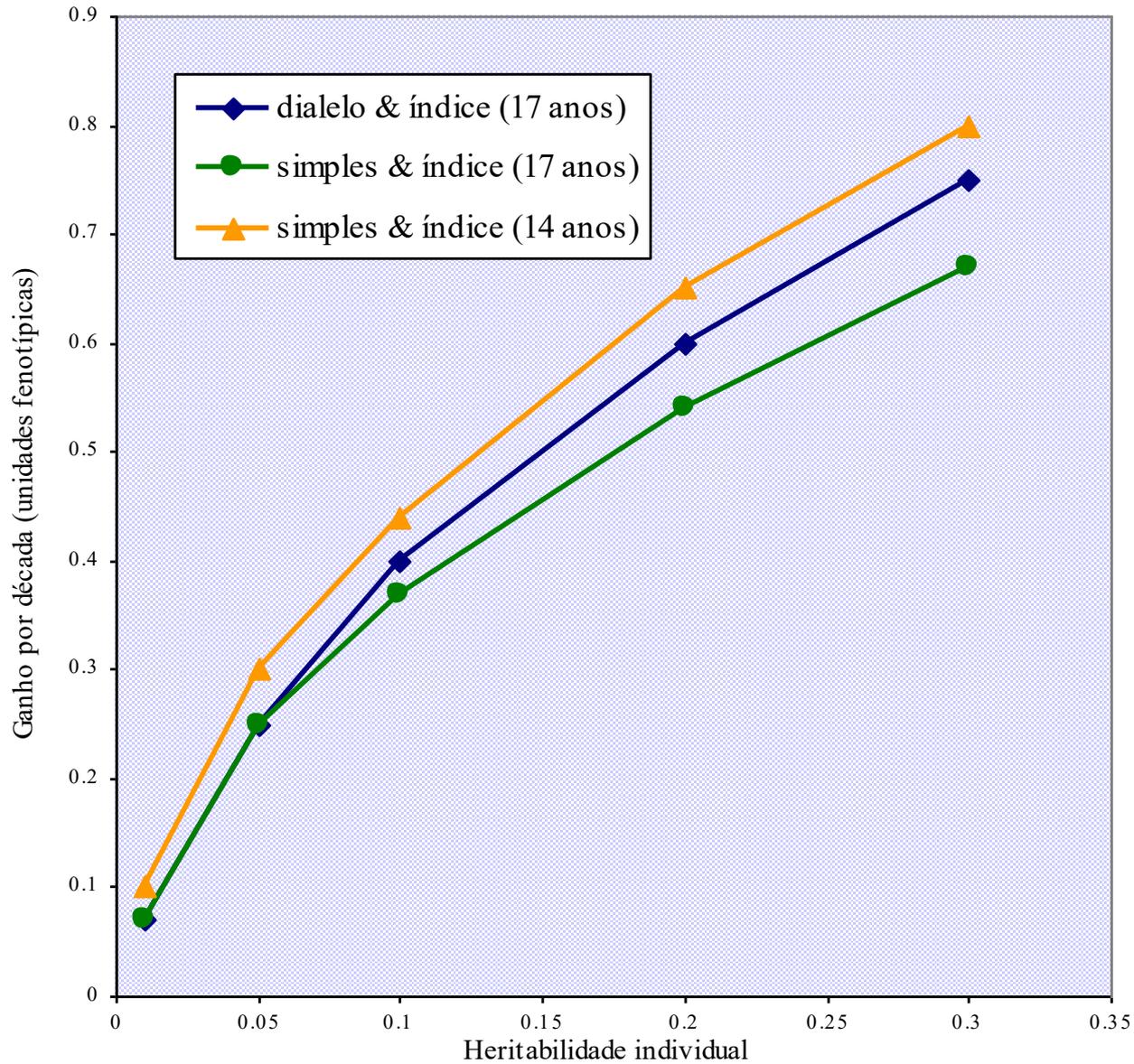
# GANHO POR GERAÇÃO



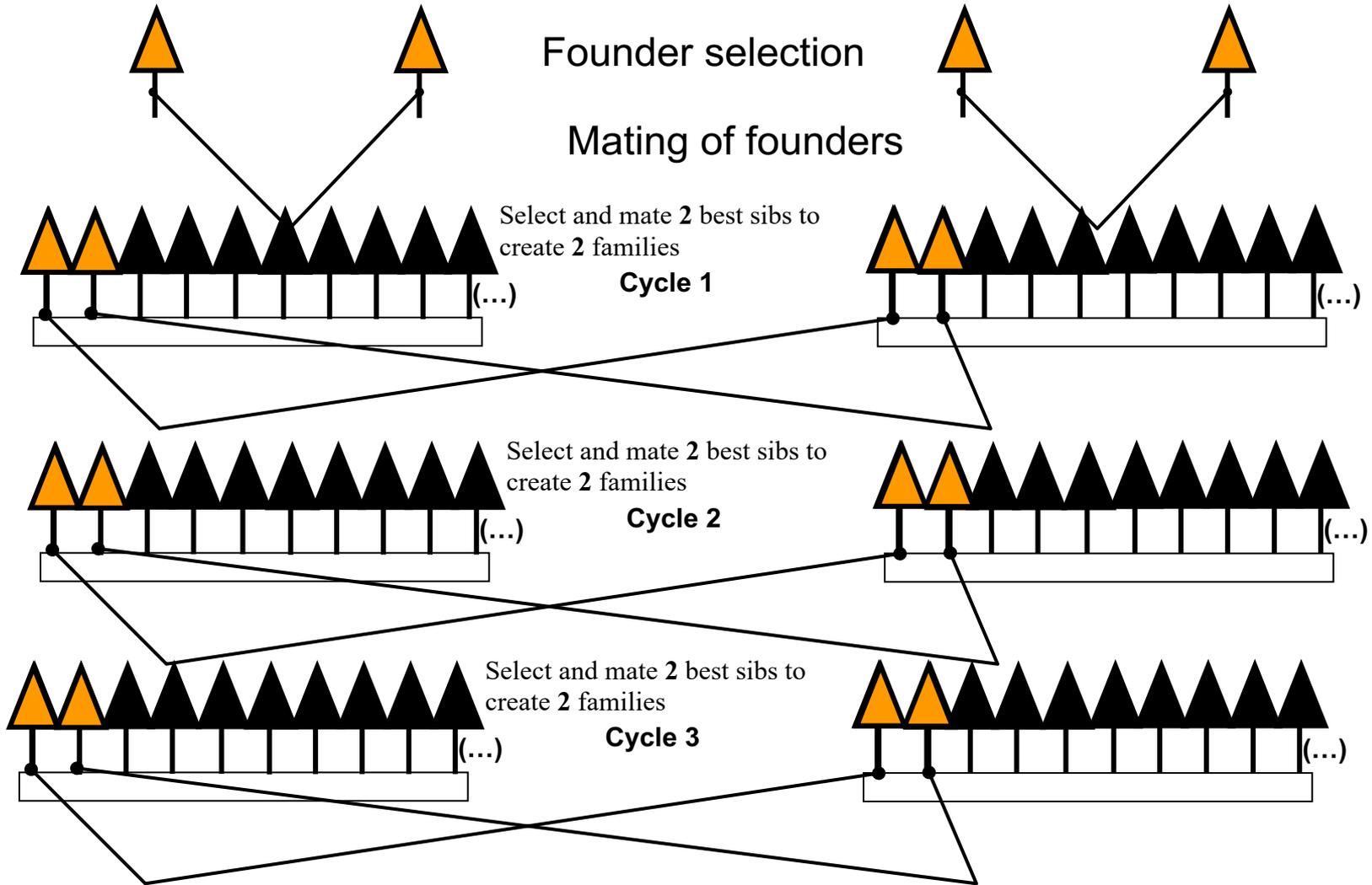
# GANHO POR DÉCADA



# GANHO POR DÉCADA

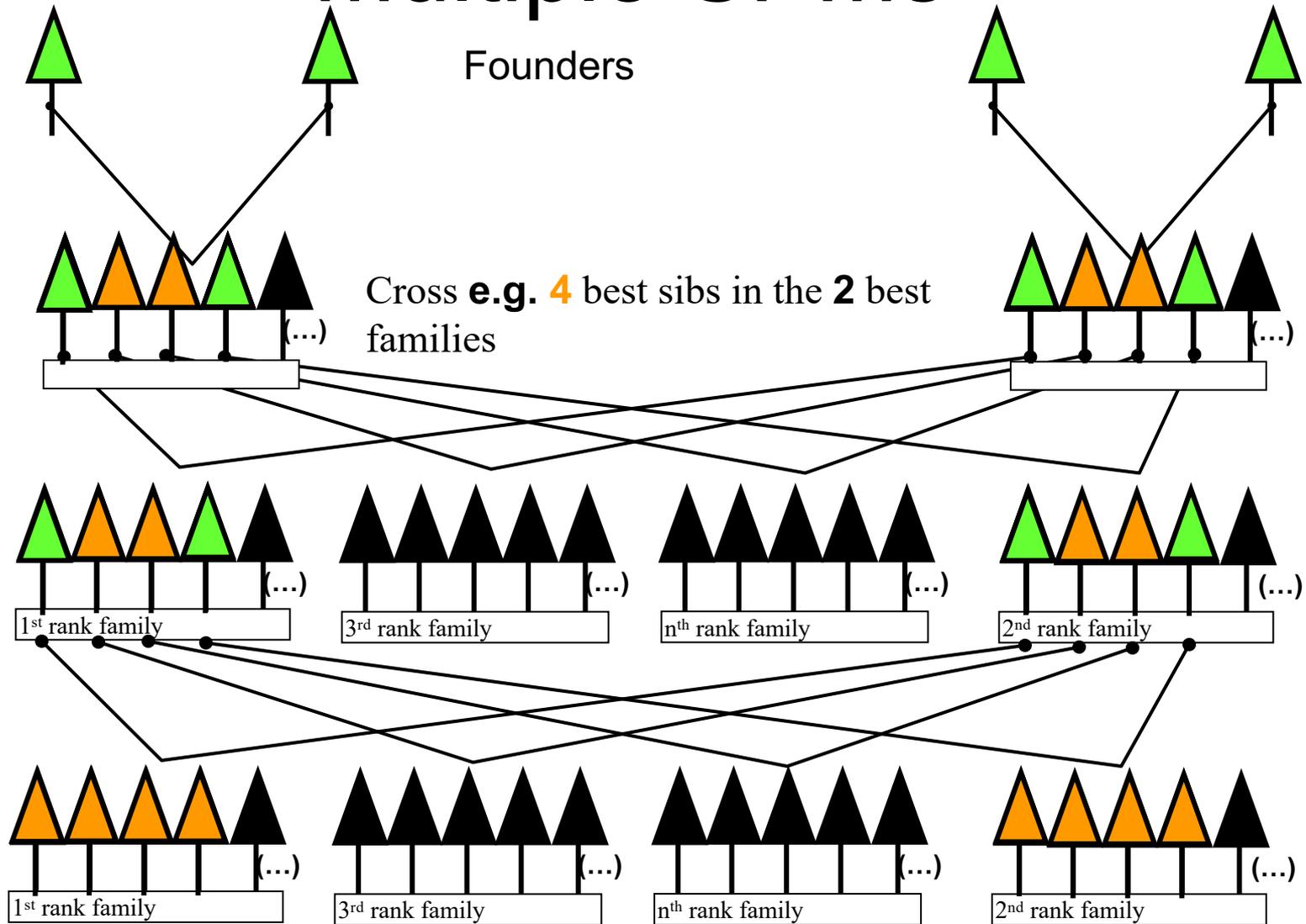


# SPM parental balance



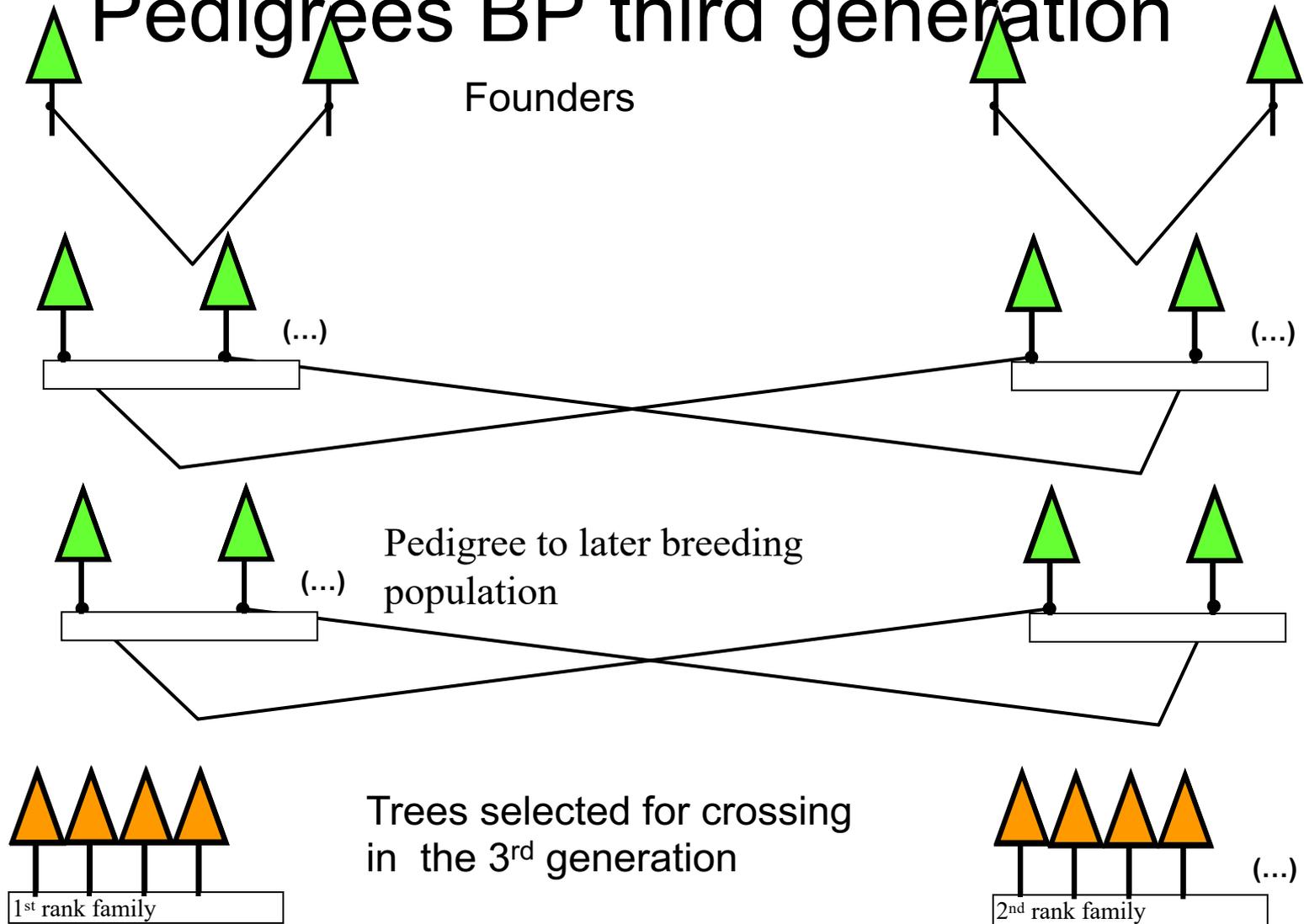
 Green trees  
↑ show pedigree

# Multiple SPMs



# Multiple SPMs

## Pedigrees BP third generation



# Conclusão

- Utilizar uma estratégia simples pode levar a melhores resultados em menos tempo
- Devemos manter uma produção constante em quantidade e qualidade para maximizar os ganhos.

Slide de transicao

# Teste de Progenies

Prof. Weber Amaral

# Teste de Progenies

- Objetivos
- Delineamentos
- Calculo dos parametros geneticos
- Exercício prático

# Parâmetros Genéticos

- É utilizado para caracterizar uma população utilizadas em melhoramento, particularmente a média, a variância e quanto delas poderá ser herdável. componentes.
- Os parâmetros de interesse são de duas naturezas: genética e não genética.
- A estimação dos parâmetros genéticos é necessária para: (a) obter informações sobre a natureza da ação dos genes envolvidos na herança dos caracteres sob investigação; (b) escolha dos métodos de melhoramento aplicáveis à população e c) estimar os ganhos genéticos possíveis de serem obtidos.

# Pomar de Sementes e testes de progenies

- Conceitos da aula anterior – Metodos de Producao de Sementes
- Pomar de Sementes por Mudas
- Pomar de Sementes Clonal

Um dos delineamentos mais usados em um programa de melhoramento é o teste de progênie, no qual são avaliados por exemplo:

- A) progênies de meio-irmãos,
- B) de irmãos completos ou
- C) de plantas resultantes da autofecundação.

Os modelos fixos e aleatórios, no caso de delineamentos inteiramente ao acaso, apresentam as mesmas estimativas para o coeficiente de determinação ( $H^2$ ) e herdabilidade ( $h^2$ ) e para o componente quadrático que expressa a variabilidade genotípica ( $\Phi_g$ ) e a variância genotípica ( $\sigma^2$ ), porém cada valor tem seu significado biológico diferenciado.

A variância genotípica, por sua vez, é estabelecida por três outros componentes, conforme descrito a seguir:

$$\sigma^2_g = \sigma^2_A + \sigma^2_D + \sigma^2_I$$

em que:

$\sigma^2_A$ : variância aditiva;

$\sigma^2_D$ : variância atribuída aos desvios da dominância ou proporcionada pelas interações intra-alélicas (ou entre alelos de um mesmo loco);

$\sigma^2_I$ : variância atribuída aos efeitos epistáticos resultantes de interações inter-alélicas (ou entre alelos de diferentes locos).

# Esquema da análise de variância para experimentos em blocos ao acaso

FV	GL	QM	E (QM)
Blocos	$r-1$	QMB	$\sigma^2 + g \sigma^2_b$
Progênies	$g-1$	QMG	$\sigma^2 + r \sigma^2_g$
Resíduos	$(r-1)(g-1)$	QMR	$\sigma^2$

Esquema da análise de variância de um experimento em blocos ao acaso envolvendo a avaliação de (g) genótipos em (r) blocos e respectivas esperanças dos quadros médios.

FV	GL	QM	E (QM)	
Blocos	$r - 1$	QMB	$\sigma^2 + g \sigma^2_b$	
Tratamentos	$g - 1$	QMT	$\sigma^2 + r \sigma^2_g$	
Resíduo	$(r - 1) (g - 1)$	QMR	$\sigma^2$	

Resultado da análise de variância de uma característica hipotética avaliada em dez genótipos, em experimento em blocos:

FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	2	708,0667	354,0333	
Genótipos	9	6307,6333	700,8481	4,73**
Resíduo	18	2663,2667	147,9538	
Total	29	9678,9667		

# Esquema da análise de variância para experimento em bloco ao acaso com informações dentro da parcela

FV	GL	SQ	QM
Blocos	$r - 1$	SQB	QMB
Tratamentos	$g - 1$	SQT	QMT
Entre parcelas	$(r - 1)(g - 1)$	SQE	QME
Dentro de parcelas	$(n - 1)rg$	SQD	QMD

# Esquema da análise de variância de um experimento em bloco casualizado com informações de plantas dentro das parcelas

FV	GL	QM	E (QM)
Blocos	$r - 1$	QMB	$\sigma^2 + n \sigma^2_e + ng \sigma^2_b$
Progênies	$g - 1$	QMG	$\sigma^2_d + n \sigma^2_e + nr \sigma^2_e$
Entre Parcelas	$(g-1)(r - 1)$	QME	$\sigma^2_d + n \sigma^2_e$
Dentro de Parcela	$(n - 1)gr$	QMD	$\sigma^2_d$

Slide de transicao

# Uso de Marcadores Moleculares no Melhoramento Florestal e na Conservação Genética

Prof. Weber A. N. Amaral

Melhoramento Florestal

# Definição

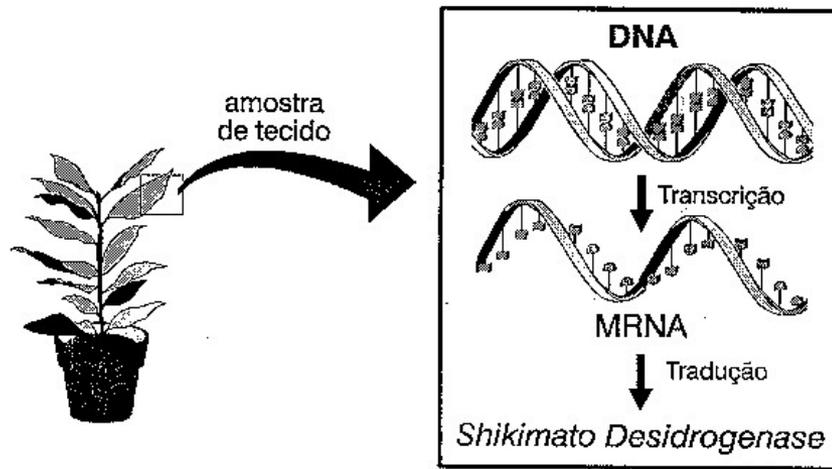
- Fenótipo molecular oriundo de um gene expresso - isoenzimas
- Segmento específico de DNA.
  - seqüência de nucleotídeos podem ou não ser conhecidas
  - próximo ou não de regiões expressas do genoma

# Histórico

- Até meados de 60 - marcadores morfológicos
- Década de 60 - marcadores isoenzimáticos
- Década de 80 - amplificação de DNA via PCR e descoberta das SSR
  - mudança no paradigma genético básico
  - “genética mendeliana” para a “genética genômica”
- Hoje é um dos ramos da genética que

# Principais Técnicas de Biologia Molecular

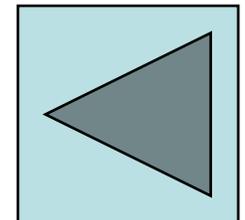
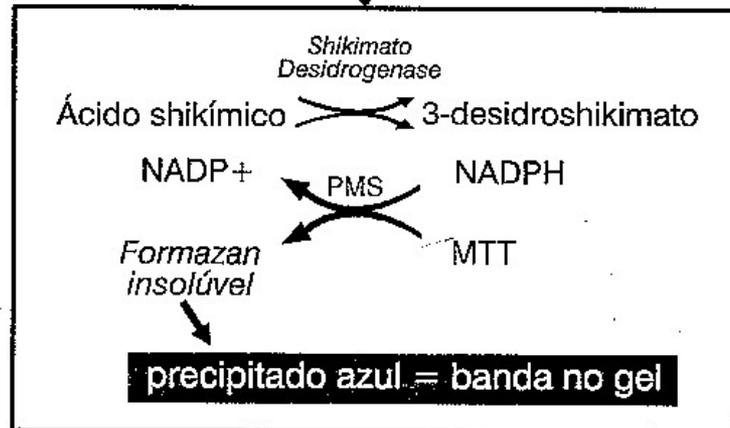
- Isoenzimas - genes expressos na forma de enzimas
- RFLP - fragmento de restrição de DNA detectado por hibridação com sonda
- RAPD - segmentos de DNA amplificados arbitrariamente
- Microsatélite - amplificação específica de região contendo seqüência repetitiva
- AFLP - segmento amplificado via PCR após digestão de DNA com enzima

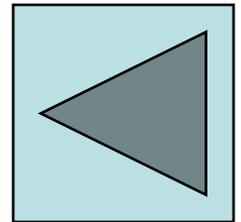
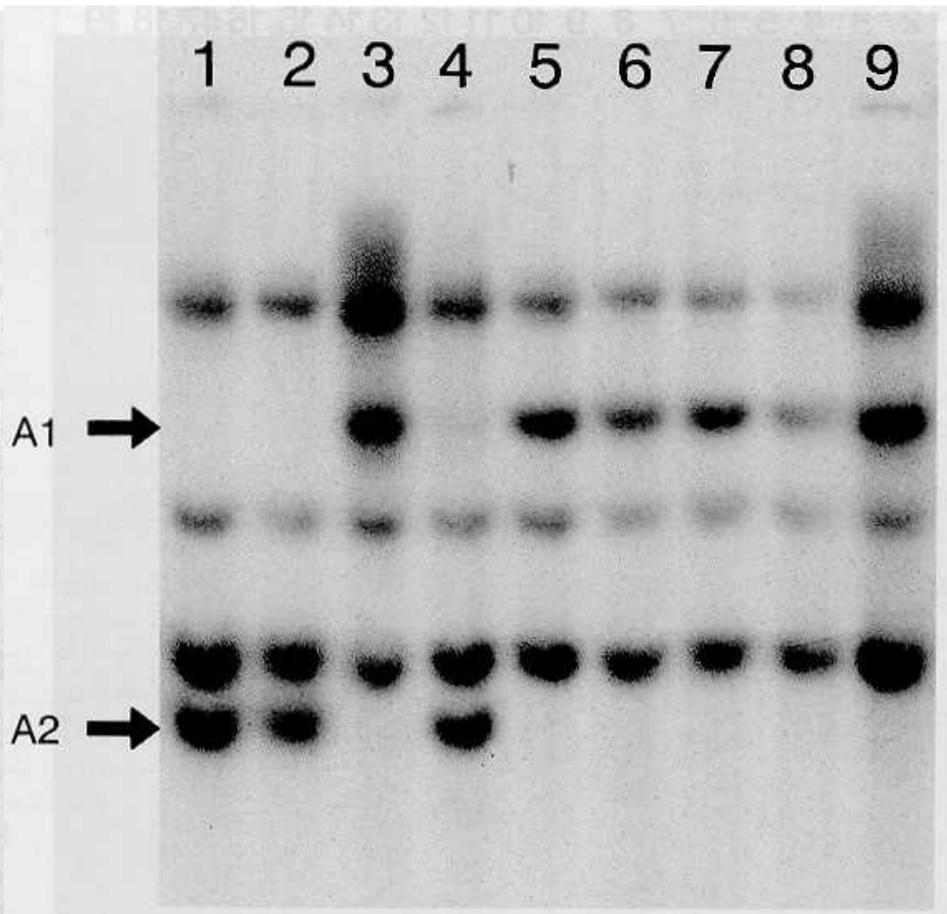
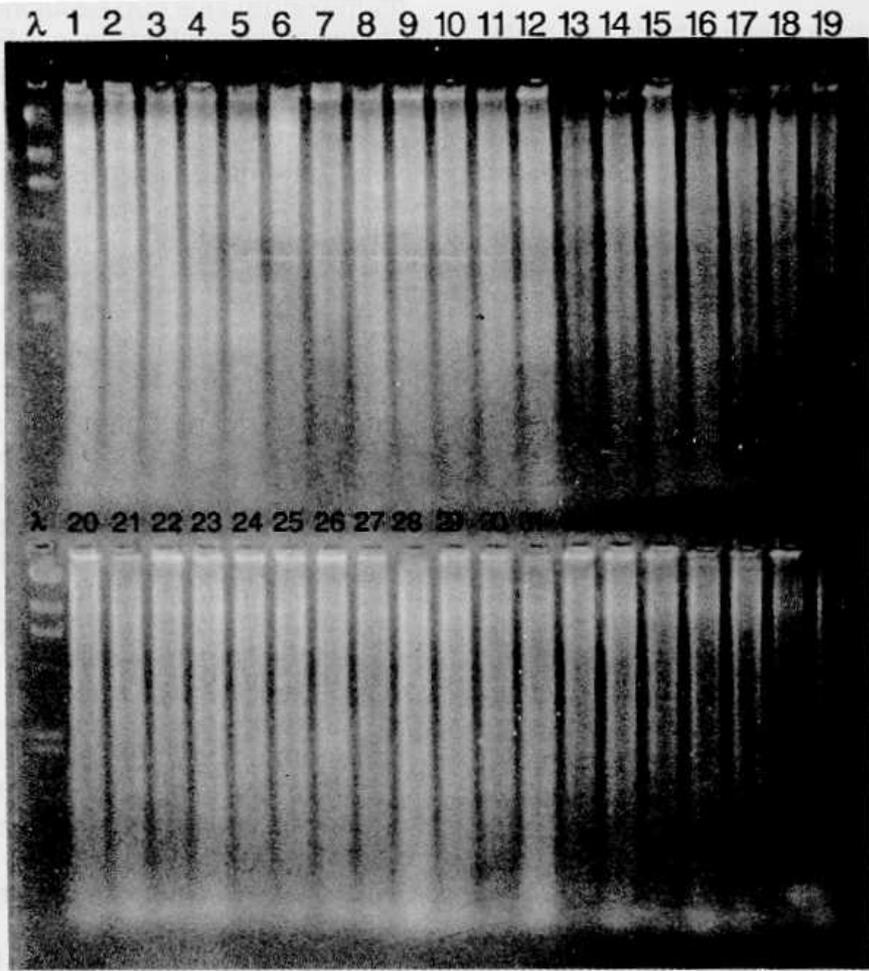


Maceração do tecido e obtenção de extrato vegetal

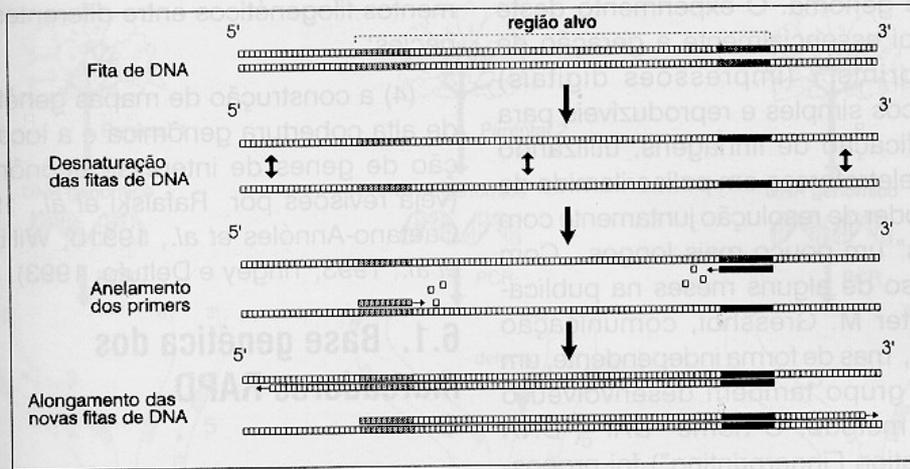
eletroforese do extrato vegetal em gel de amido

Reação enzimática catalisada pela *Shikimate Desidrogenase* no gel de amido

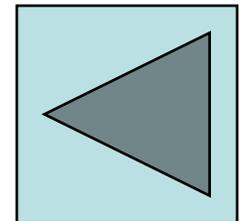
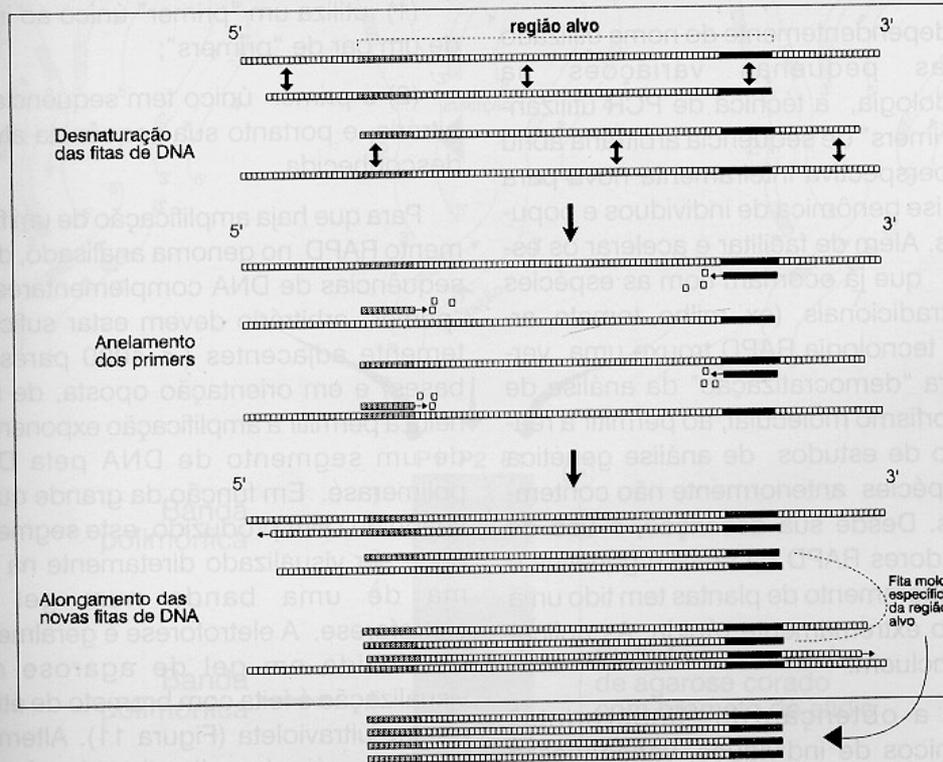




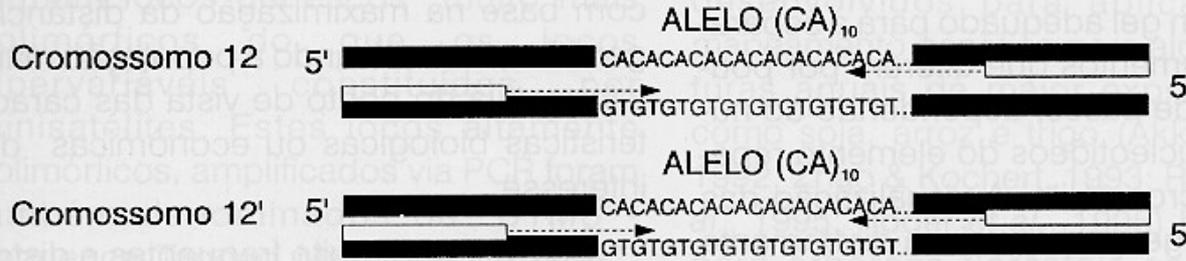
### CICLO 1



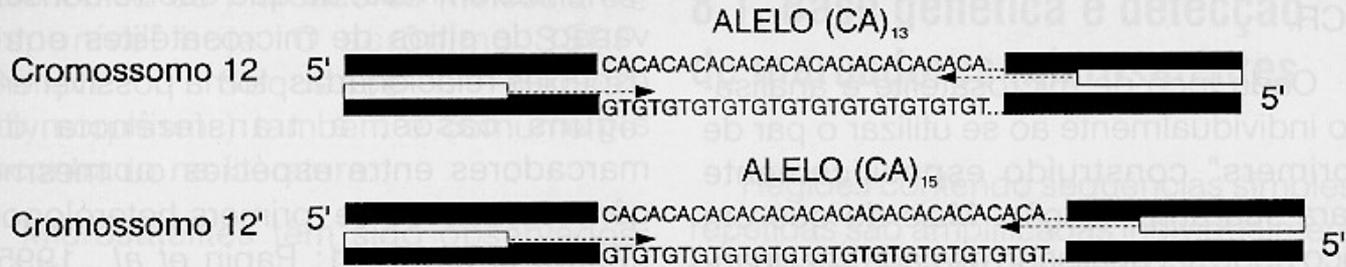
### CICLO 2



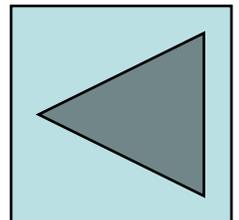
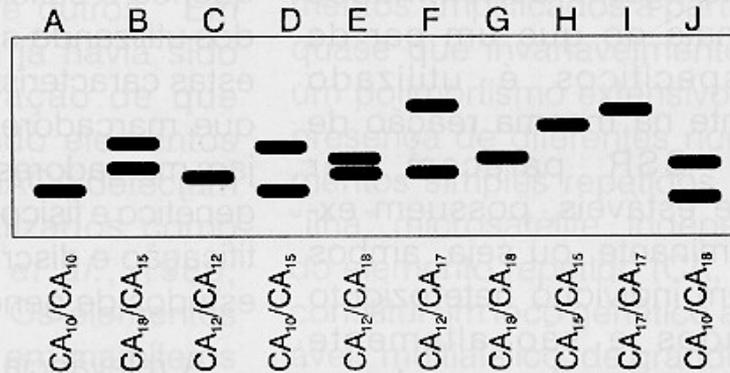
**A** Indivíduo HOMOZIGOTO (CA)<sub>10</sub>/(CA)<sub>10</sub>



**B** Indivíduo HETEROZIGOTO (CA)<sub>13</sub>/(CA)<sub>15</sub>



**C** FENÓTIPOS / GENÓTIPOS NA ELETROFORESE



Raro 5' \_\_\_\_\_ Raro 3'  
 CTTAAG \_\_\_\_\_ GAATTC

Frequente \_\_\_\_\_ Raro  
 TTAA \_\_\_\_\_ GAATTC

Frequente \_\_\_\_\_ Frequente  
 TTAA \_\_\_\_\_ TTAA

## 1 CLIVAGEM DNA GENÔMICO COM ENZIMAS DE RESTRIÇÃO

Enzima de corte frequente:  
 ex. *MseI* 5' TTAA 3'  
 Enzima de corte raro:  
 ex. *EcoRI* 5' GAATTC 3'

adaptador AATT C \_\_\_\_\_ G adaptador 3'  
 G \_\_\_\_\_ C TTAA 5'

adaptador TA A \_\_\_\_\_ G adaptador 3'  
 T \_\_\_\_\_ C TTAA 5'

adaptador TA A \_\_\_\_\_ T adaptador 3'  
 T \_\_\_\_\_ A AT 5'

## 2 LIGAÇÃO DE ADAPTADORES ESPECÍFICOS

Adaptadores específicos são ligados em cada terminal clivado pelas diferentes enzimas de restrição. Estes adaptadores possuem sequências específicas complementares a diferentes primers para PCR

a) adaptador TA A \_\_\_\_\_ G adaptador 3'  
 T \_\_\_\_\_ C TTAA 5'

↓

adaptador TA A \_\_\_\_\_ G adaptador 3'  
 ← GC 5'

adaptador AC → \_\_\_\_\_ C TTAA

b) adaptador TA A \_\_\_\_\_ G adaptador 3'  
 T \_\_\_\_\_ C TTAA 5'

↓

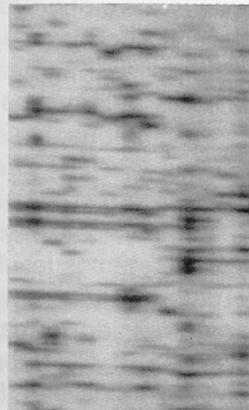
adaptador TA A \_\_\_\_\_ G adaptador 3'  
 ← ATGC 5'

adaptador ACGT → \_\_\_\_\_ C TTAA

marcação radioativa

## 3 PCR SELETIVA DE FRAGMENTOS COM PRIMERS ESPECÍFICOS E BASES ARBITRÁRIAS NOS TERMINAIS 3'

Os primers utilizados possuem sequências específicas complementares aos adaptadores e algumas bases arbitrárias no terminal 3' que cumprem uma função seletiva. O processo de seleção via PCR é feito em duas etapas: (a) seleção branda com apenas 1 base arbitrária utilizando primers não marcados com radioisótopos e (b) uma seleção final com 3 bases arbitrárias e o primer para o terminal de corte raro marcado com radioisótopo.



## 4 ELETROFORESE DE FRAGMENTOS AMPLIFICADOS

Fragments de tamanho grande (raro/raro) marcados com radioisótopos não são adequadamente separados e visualizados na eletroforese

Fragments de tamanho médio (raro/frequente) marcados com radioisótopos são adequadamente separados e visualizados na eletroforese

Fragments menores (frequente/frequente) não são visualizados na eletroforese pois somente o primer para o adaptador do terminal de corte raro é marcado com radioisótopo

# Usos no Melhoramento Florestal

- Problemas na análise fenotípica
  - herdabilidade do caráter
  - influência do ambiente
  - tempo necessário para avaliação em perenes
- Identificação direta dos genótipos  
soluciona este problema

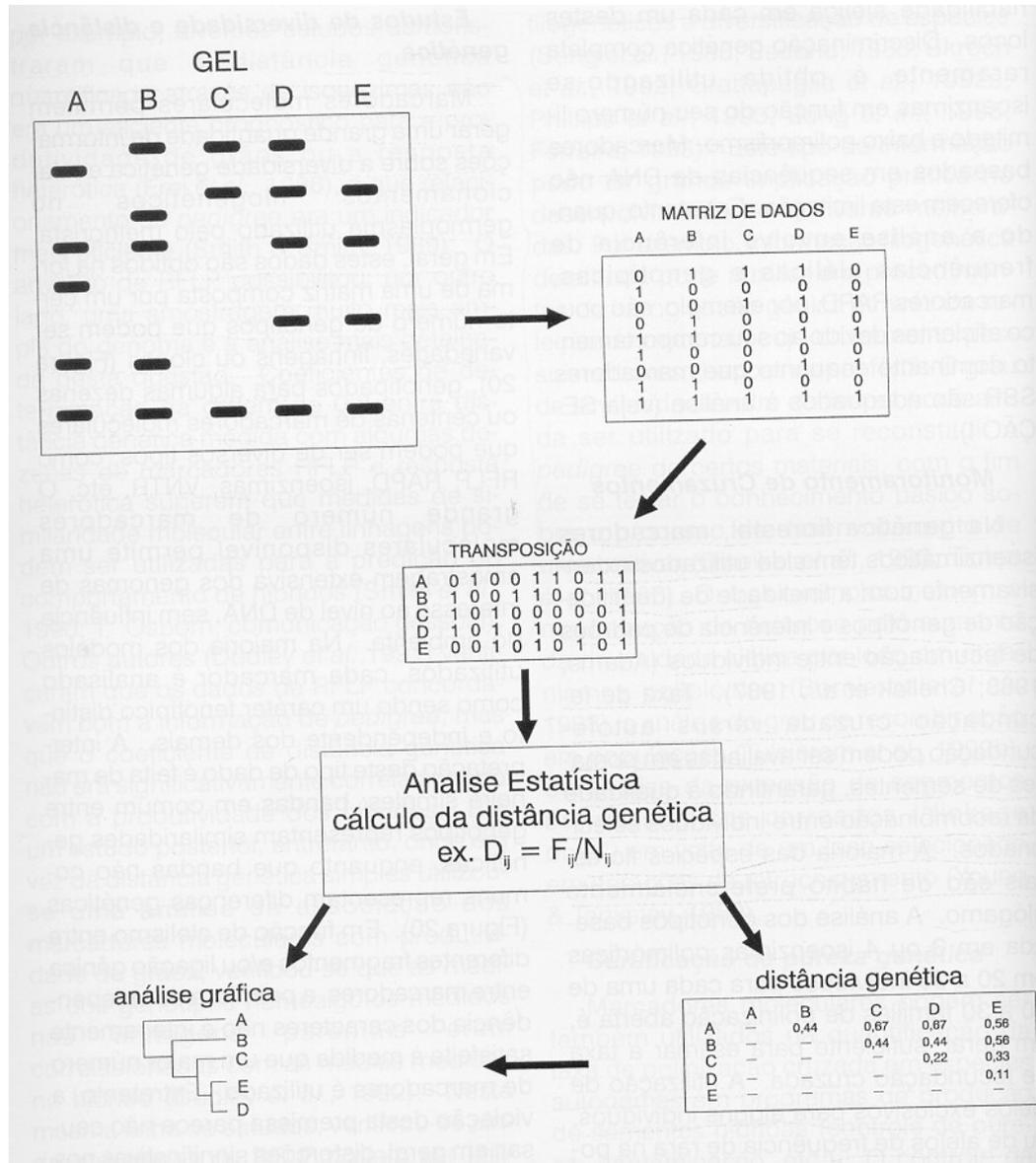
# Usos no Melhoramento Florestal

- **Identificação de indivíduos (“fingerprinting”)**
  - resolver problemas de instalação de pomares de sementes e plantios clonais
- **Identificação de origem parental**
  - detecção de combinações específicas de genitores
    - útil para fazer desbaste seletivo em pomares de sementes
- **Monitoramento de cruzamentos**

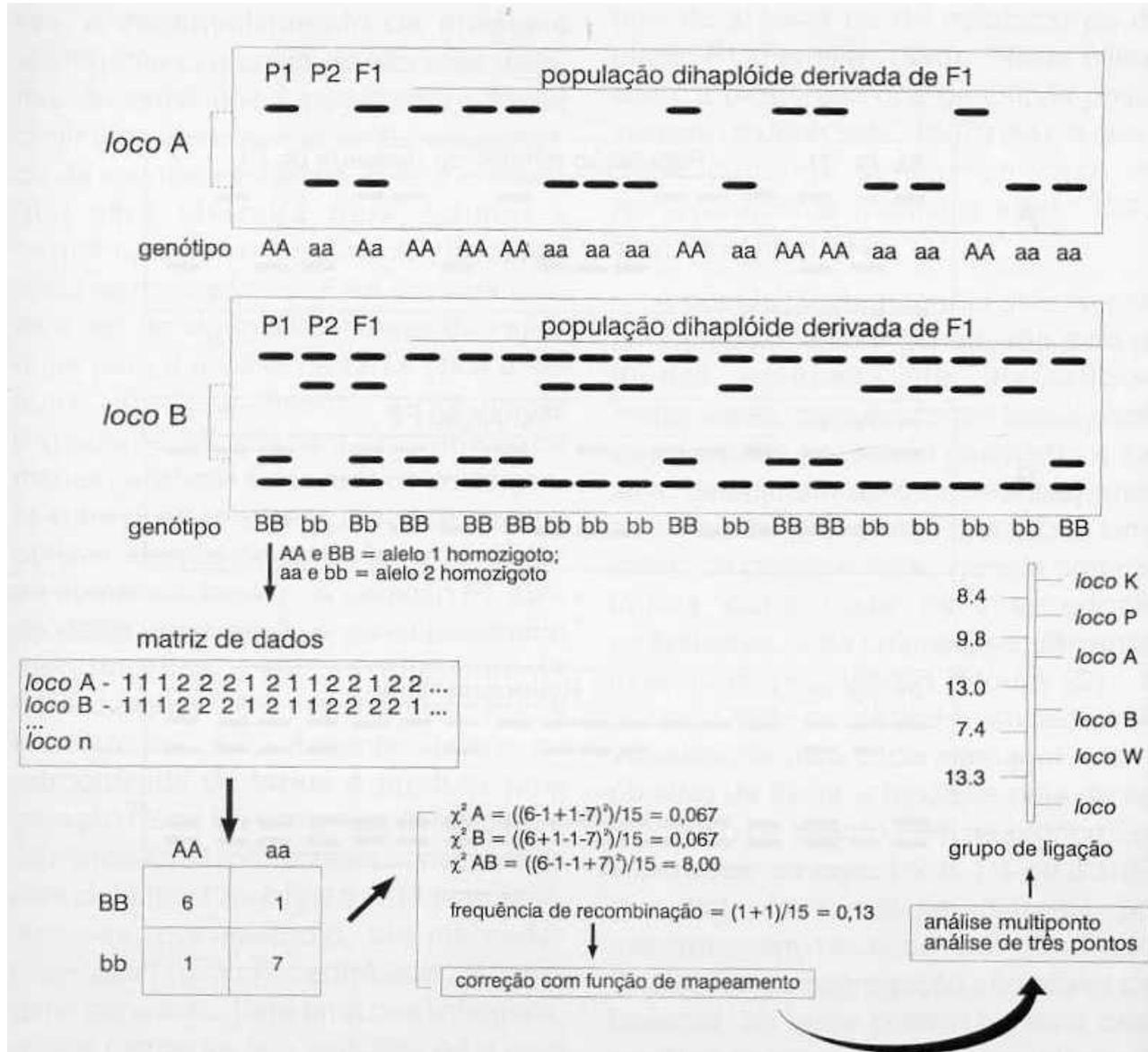
# Usos no Melhoramento Florestal

- **Estudos de diversidade**
  - coleta de sementes de forma representativa para o estabelecimento de uma pop. base
  - monitoramento da base genética de uma pop. de melhoramento durante os vários ciclos
- **Estudo de distância genética entre indiv.**
  - produção de híbridos - maximização da

# Metodologia para Estudos de Diversidade e Distância Genética



# Construção de Mapas Gênicos



# Construção de Mapas Gênicos

- Utilidades

- decomposição de características complexas nos seus componentes Mendelianos
- localização das regiões que controlam caracteres de interesse
- quantificação do efeito destas regiões na característica estudada
- auxílio em programas de melhoramento (SAM)
- mapeamento comparativo para estudos a

# Mapeamento de QTLs

- Maioria dos caracteres de importância econômica são poligênicos
- Metodologia: busca para encontrar associações entre marcadores e característica de interesse na pop. segregante
- QTL de grande efeito - muito difícil de ser encontrado
  - efeito do ambiente
- Perspectiva muito promissora no melhoramento florestal - seleção precoce

# Seleção Auxiliada por Marcadores

- Paradigma
  - caracteres mono ou oligogênicos X poligênicos
- Perspectiva
  - caracteres de alta herdabilidade, porém difíceis de serem mensurados
    - Ex.: caracteres da qualidade da madeira

# Uso na Conservação Genética

- Diversidade genética
  - essencial para a sobrevivência da espécie
  - base para programas de conservação
- Marcadores
  - estudo de fluxo gênico
  - estudo da estrutura e diversidade das populações
    - informações básicas para conservação e uso sustentado

Slide de transicao

# Análise de Variância

## Material de Referencia

# Análise de variância

## ENSAIO DE HIPÓTESES

### A Análise de Variância ANOVA

**Ensaio para a diferença de  $k$  médias entre tratamentos por exemplo: diferentes procedencias ou progenies, que funcionam como tratamentos.**

# Análise de variância

## ANOVA simples

**Um fator é aplicado segundo diferentes níveis de tratamento, tendo um efeito significativo sobre uma variável dependente**

**Considerem-se  $k$  amostras independentes**

**Amostra 1 ( $X_{11}$ ,  $X_{21}$ , ...,  $X_{n1}$ )**

**Amostra 2 ( $X_{12}$ ,  $X_{22}$ , ...,  $X_{n2}$ )**

**Amostra  $k$  ( $X_{1k}$ ,  $X_{2k}$ , ...,  $X_{nk}$ )**

**$X_{ij}$  indivíduo  $i$  em  $n_j$  da amostra  $j$**

# Análise de variância

## Premissas

Populações normais

Variâncias desconhecidas mas iguais

## Hipóteses

$H_0: \mu_1 = \dots = \mu_k$

$H_a: \mu_r \neq \mu_j$  para algum par  $(r, j)$  com  $r \neq j$

## Embora se chame ANOVA

- As hipóteses referem-se às médias e não às variâncias
- As variâncias são utilizadas para definir a estatística do teste

# Análise de variância

**Análise = divisão, separação**

**Decompor a variação total (a soma dos quadrados) em duas partes:**

- A variação explicada pelo factor**
- A variação devida ao erro (não explicada pela anterior)**

# Análise de variância

**Soma total dos desvios em relação à média global**

$$SST = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (X_{ij} - \bar{X})^2 \qquad SST = SSW + SSB$$

**Soma dos quadrados devida aos erros (dentro dos grupos)**

$$SSW = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (X_{ij} - \bar{X}_j)^2$$

**Soma dos quadrados devida ao factor (entre grupos)**

$$SSB = \sum_{j=1}^k n_j \cdot (X_j - \bar{X})^2$$

# Análise de variância

**Os graus de liberdade (n-1) podem ser decompostos**  
 **$(n-1) = (n-k) + (k-1)$**

$$n = \sum_{j=1}^k n_j \quad \text{dimensão total da amostra}$$

$$T = \text{SSB}/(k-1) / \text{SSW}/(n-k) = \text{MSSB} / \text{MSSW}$$

$$\cap F(k-1, n-k)$$

**MSS = soma média dos quadrados**

**A região crítica é sempre unilateral direita**

**Rejeita-se para valores elevados da estatística, quando a variação devida ao factor é mais elevada**

# Análise de variância

## Resultados

Fontes de variação	Graus de Liberdade	SS	MSS	T
Entre grupos	$(k-1)$	SSB	$SSB/(K-1)$	<del>MSSB</del>
Dentro dos grupos	$(n-k)$	SSW	$SSW/(n-k)$	<del>MSSW</del>
Total	$(n-1)$	SST		

# Análise de variância

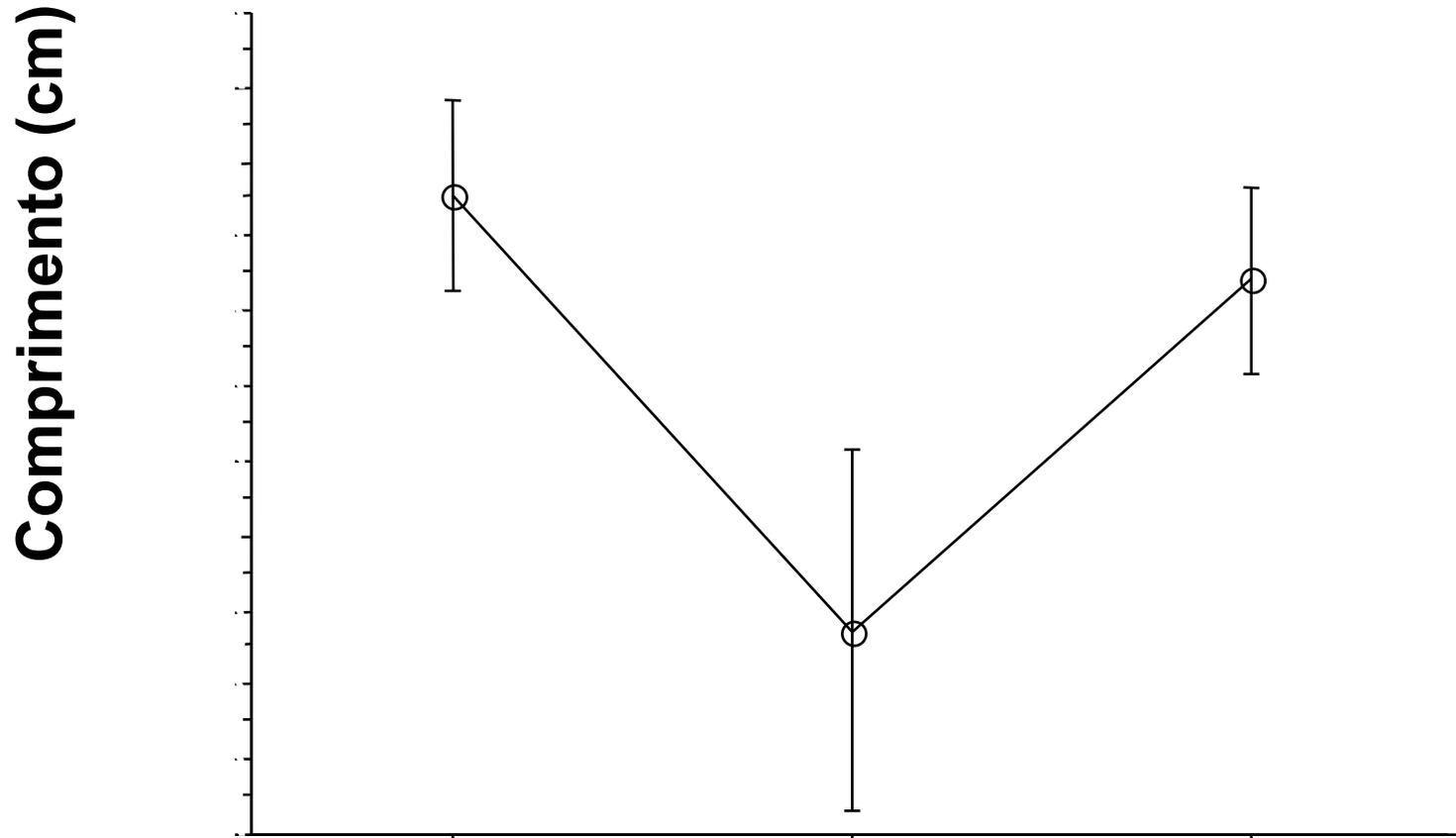
Tabela. ANOVA para altura por exemplo

	GL	SS	MSS	T	p
FATOR	2	20,491	10,245	6,322	,0021
ERRO	218	353,292	1,621		

# Análise de variância

	nj	Média	Desvio padrão	Erro padrão
1	113	13,315	1,370	0,129
2	17	12,147	0,937	0,227
3	91	13,084	1,198	0,126

# Análise de variância



# Análise de variância

Scheffé					
	Diferença média	Diferença crítica	Probabilidade		
1, 2	1,168	,816	,0024	S	
1, 3	,232	,442	,4358		
2, 3	-,936	,829	,0222	S	

# Análise de variância

## Testes de comparação múltipla

### Teste de Scheffé

- Simplicidade de cálculo
- Amostras com diferentes dimensões
- Método robusto
- É mais conservador

$H_0: \mu_i = \mu_j$

$$T_s = |\bar{X}_i - \bar{X}_j| / \sqrt{s^2 (1/n_i + 1/n_j)} \quad \cap \quad \sqrt{(k-1) F(1-\alpha, k-1, n-k)}$$

$$s^2 = 1/(n-k) \sum_{j=1}^k (n_j-1) s_j^2$$

# Análise de variância

Testes de comparação múltipla

Teste de Scheffé

Rejeita-se  $H_0$  quando

$$T_s \geq \sqrt{(k-1) F(1-\alpha, k-1, n-k)}$$

$$|\bar{X}_i - \bar{X}_j| \geq \sqrt{(k-1) F(1-\alpha, k-1, n-k) s^2 (1/n_i + 1/n_j)}$$

# Análise de variância

## Teste de Tukey

- **Muito usado**
  - **Amostras com dimensões iguais**
  - **Amostras com dimensões diferentes**
  - **Método robusto**
- **Não deve ser utilizado se existir grande heterogeneidade nas variâncias**

**H0 :  $\mu_i = \mu_j$**

**Ha :  $\mu_i \neq \mu_j$**

**Ordenar as médias por ordem crescente**

**Compara-se a média maior com a menor;**  
**Compara-se a média maior com a segunda menor...**  
**Compara-se a média maior com a segunda maior;**  
**Compara-se a segunda maior com a menor...**

# Análise de variância

$$s^2 = \text{MSSW} \quad \text{SE} = (s^2/n)^{1/2}$$

$$q = (\bar{X}_i - \bar{X}_j) / \text{SE} \quad \cap \quad q(\alpha, v, k) \quad \text{Distribuição "Studentized range"}$$

**k = número de médias a testar**

**v = graus de liberdade da ANOVA**

**Rejeita-se H0 quando**

$$(\bar{X}_i - \bar{X}_j) / \text{SE} \geq q(\alpha, v, k)$$

**Se não há diferenças entre duas médias, então não há diferenças entre quaisquer médias que se situem entre as duas primeiras.**

**Se as dimensões das amostras são diferentes:**

$$\text{SE} = \sqrt{s^2/2 \cdot (1/n_i + 1/n_j)}$$

# Análise de variância

## Teste de Bartlett

Homogeneidade de variâncias

$$H_0 : \sigma^2_i = \sigma^2_j$$

$$H_a : \sigma^2_i \neq \sigma^2_j$$

$$B = (\ln s^2) (n-k) - \sum (n_j-1) \ln s^2_j$$

$$s^2 = 1/(n-k) \cdot \sum_{j=1}^k (n_j-1) s^2_j$$

Se as amostras seguem a distribuição normal,  
B tem distribuição de  $\chi^2 (1-\alpha; k-1)$

A hipótese é rejeitada se  $B \geq \chi^2 (1-\alpha; k-1)$