ANÁLISES DE TÉTRADES E BIOMÉTRICA COMBINADAS
PARA O ESTUDO DA PRODUÇÃO DE ETANOL
EM *Saccharomyces cerevisiae*

EDERSON AKIO KIDO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Agosto - 1990

ANÁLISES DE TÉTRADES E BIOMÉTRICA COMBINADAS
PARA O ESTUDO DA PRODUÇÃO DE ETANOL
EM *Saccharomyces cerevisiae*

ÉDERSON AKIO KIDO
(Engenheiro Agrônomo)

Orientador: Prof. Dr. FLÁVIO C.A. TAVARES

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Agosto - 1990

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

K46a Kido, Ederson Akio
Análises de tétrades e biométrica combinadas para
o estudo da produção de etanol em Saccharomyces
cerevisiae. Piracicaba, 1990.
160p.

Diss. (Mestre) - ESALQ
Bibliografia.

1. Etanol - Produção 2. Genética quantitativa 3.
Levedura - Genética I. Escola Superior de Agricultu
ra Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CDD 589.23

ANÁLISES DE TÉTRADES E BIOMÉTRICA COMBINADAS
PARA O ESTUDO DA PRODUÇÃO DE ETANOL
EM *Saccharomyces cerevisiae*

ÉDERSON AKIO KIDO

Aprovada em: 24.09.1990

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Flávio César Almeida Tavares	ESALQ/USP
Prof. Dr. João Rubens Zinsly	ESALQ/USP
Prof. Dr. Jorge Horii	ESALQ/USP

Prof. Dr. Flávio César Almeida Tavares
Orientador

Aos meus pais, aos meus irmãos

DEDICO

À Márcia

OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

Manifestamos agradecimentos sinceros a todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho, especialmente:

- Prof. Dr. Flávio César Almeida Tavares
- Prof. Dr. Roland Vencovsky
- Dr. Sérgio Echeverrigaray Laguna
- Analista de Sistemas Gabriel Adrian Sarriês
- Engenheiro Agrônomo Francisco Terasawa Júnior
- Engenheiro Agrônomo Luiz Gimanez Júnior
- Bióloga Mônica Rosa Bertão
- Professores do Departamento de Genética - ESALQ/USP
- Funcionários do Departamento de Genética - ESALQ/USP
- Funcionários do Setor de Genética de Microrganismos do Departamento de Genética - ESALQ/USP: Paulo Ortolan Fº, Ana Maria Brancallion Giacomelli, Francisco Pelissari, Luiz Humberto Gomes
- Colegas do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Genética - ESALQ/USP
- Srs. Jorge Luiz Diorio e Gerson Luiz Diorio pelos serviços de datilografia
- Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xvii
RESUMO	xviii
SUMMARY	xx
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. Aspectos Biológicos de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	04
2.1.2. Ciclo Celular	05
2.1.3. Esporulação	06
2.1.4. Hibridização	09
2.2. Análise de Tétrades e Recombinação Meiótica	11
2.3. Abordagem Metodológica da Genética Quantitativa	14
2.4. Estudos da Variação Contínua em Microrganismos	17
2.5. Aspectos do Melhoramento de Caracteres Quantitativos em Leveduras	19
2.6. Melhoramento em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para a pro- dução de etanol	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. Linhagens	23
3.2. Meios de Cultura	24
3.2.1. Meio Completo (YEPS)	24
3.2.2. Meio de esporulação (RA)	24
3.2.3. Meio YEPS de multiplicação	25
3.2.4. Meio YEPS de alimentação	25
3.2.5. Meio YEPS de fermentação	26

	Página
3.3. Soluções	26
3.3.1. Solução de sais	26
3.3.2. Solução lítica	27
3.4. Esterilização e Incubação.....	27
3.5. Obtenção dos Híbridos	27
3.5.1. Micromanipulação dos híbridos	28
3.5.2. Esporulação dos híbridos	28
3.5.3. Determinação da reação sexual dos esporos segregantes	29
3.6. Cruzamentos efetuados com os esporos segregantes	29
3.6.1. Retrocruzamentos	29
3.6.2. Cruzamentos intrameióticos	29
3.7. Avaliação da Capacidade Fermentativa	31
3.7.1. Preparo do inóculo	31
3.7.2. Fermentação	33
3.7.3. Análise do vinho por cromatografia gasosa	33
3.8. Delineamento Experimental e Modelos Estatísticos	33
3.9. Decomposição da Variância Genética	38
3.10. Composição Genotípica e Frequência Haplóide	40
3.10.1. Decomposição fenotípica em haplóides	40
3.10.2. Determinação da variância genética total em haplóides (σ_{TH}^2)	41
3.10.3. Modelo genético	43
3.10.4. Decomposição da variância genética total em haplóides	43
3.10.5. Determinação da variância genética em haplóides des "Entre os ascos" (σ_{aH}^2)	44
3.10.6. Determinação da variância genética em haplóides des "Dentro dos ascos" (σ_{WH}^2)	44

3.11. Composição Genotípica dos Híbridos de Retrocruzamentos	45
3.12. Modelo com um loco em Segregação	45
3.12.1. Retrocruzamentos possíveis para a constituição de uma população diplóide	45
3.12.2. Retrocruzamentos limitados pelas reações sexuais para a constituição de uma população diplóide	47
3.12.3. Determinação da variância genética total em diplóides para os híbridos de retrocruzamentos (σ_{TD}^2)	49
3.12.4. Decomposição da variância genética total em diplóides (σ_{TD}^2)	51
3.12.5. Determinação da variância genética em diplóides "Entre os ascos" (σ_{aD}^2)	51
3.12.6. Determinação da variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2)	51
3.12.7. Decomposição da variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2)	52
3.12.8. Determinação da variância genética entre as linhagens parentais recorrentes - "Entre retos" (σ_R^2)	52
3.12.9. Determinação da variância genética interativa dos ascos e retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes (σ_{RA}^2)	52
3.12.10. Determinação da variância genética entre híbridos de retrocruzamentos de esporos de mesmo asco com um dos parentais recorrentes ($\sigma_{Hib/A/R}^2$)	53

3.12.11. Modelo genético	53
3.12.12. Causas da variação e as variâncias genéticas esperadas	54
3.13. Modelo com dois locos em Segregação combinado ao tipo de reação sexual	54
3.13.1. Formação dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes com os locos em associação	56
3.13.2. Formação dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes com locos em repulsão	63
3.13.3. Determinação da variância genética total em diplóides, para os híbridos de retrocruzamentos com os locos em associação ou repulsão (σ^2_{TD})	70
3.13.4. Determinação da variância genética em diplóides "Entre os ascas" (σ^2_{aD})	72
3.13.5. Determinação da variância genética em diplóides "Dentro dos ascas" (σ^2_{WD})	79
3.13.6. Decomposição da variância genética em diplóides "Dentro dos ascas" (σ^2_{WD})	80
3.13.7. Determinação da variância genética entre as linhagens parentais recorrentes - "Entre retos" (σ^2_R)	87
3.13.8. Determinação da variância genética interativa dos ascas e retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes em associação ou repulsão dos locos (σ^2_{RA})	88

3.13.9. Determinação da variância genética entre híbridos de retrocruzamentos de esporos de mesmo asco com um dos parentais recorrentes com os locos em associação ou repulsão ($\sigma^2_{\text{Hib/A/R}}$)	89
3.13.10. Causas da variação e as variâncias genéticas esperadas	90
3.13.11. Obtenção das estimativas das variâncias genéticas aditiva (σ^2_A) e dominante (σ^2_D)	92
3.14. Composição genotípica dos híbridos intrameióticos	94
3.14.1. Formação e decomposição decomposição fenotípica dos híbridos intrameióticos	94
3.14.2. Determinação da variância genética total em diplóides para os híbridos intrameióticos (σ^2_{TD})	98
3.14.3. Decomposição da variância genética total em diplóides (σ^2_{TD})	98
3.14.4. Determinação da variância genética em <u>di</u> plóides "Entre os ascos" (σ^2_{ad})	99
3.14.5. Determinação da variância genética em <u>di</u> plóides "Dentro dos ascos" (σ^2_{WD})	99
3.14.6. Causas da variação e as variâncias genéticas esperadas	102
3.14.7. Modelo genético	102
3.15. Determinação do grau médio de dominância (gmd)	103

3.16. Ganhos de seleção e coeficientes de herdabilidade ao nível haplóide	103
3.17. Ganhos de seleção e coeficientes de herdabilidade ao nível diplóide	105
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
4.1. Ensaio de fermentação envolvendo as linhagens pa- rentais recorrentes X2180-1B e AH22, o híbrido XAHI, seus esporos segregantes (n), respectivos híbridos de retrocruzamentos (2n) e testemunhas	107
4.1.1. Contraste de ploidia: Haplóide versus Di- plóide	109
4.1.2. Condição haplóide (segregantes de XAHI)	110
4.1.3. Estimativas das variâncias genéticas em ha- plóides	113
4.1.4. Estimativas dos ganhos de seleção e coe- ficientes de herdabilidade em linhagens haplóides (segregantes de XAHI)	114
4.1.5. Condição diplóide dos híbridos de retro- cruzamentos	115
4.1.6. Estimativas das variâncias genéticas em diplóides	118
4.1.7. Estimativa do grau médio de dominância (gmd)	119
4.1.8. Estimativa do ganho de seleção e coefi- ciente de herdabilidade para as linha- gens diplóides (híbridos de retrocruza- mentos)	121

4.2. Ensaio de fermentação envolvendo as linhagens parentais M304-2C e X2180-1B, o híbrido MXI, seus esporos segregantes (n), respectivos híbridos intrameióticos (2n) e testemunhas	121
4.2.1. Contraste de ploidia: Haplóide versus Diplóide	124
4.2.2. Condição haplóide (segregantes de MXI)	126
4.2.3. Estimativas das variâncias genéticas em haplóides	128
4.2.4. Estimativas dos ganhos de seleção e coeficientes de herdabilidade em linhagens haplóides (segregantes de MXI)	129
4.2.5. Condição diplóide dos híbridos intrameióticos	130
4.2.6. Estimativas das variâncias genéticas em diplóides	132
4.2.7. Estimativa do grau médio de dominância (gmd)	133
4.2.8. Estimativa do ganho de seleção e do coeficiente de herdabilidade para as linhagens diplóides (híbridos intrameióticos)	134
5. CONCLUSÕES	136
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
APÊNDICE	146

LISTA DE TABELAS

Tabela nº		Página
1	Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, suas causas de variação e as respectivas esperanças dos quadrados médios ($E(QM)$)	37
2	Análise de variância das linhagens diplóides (híbridos de retrocruzamentos), decomposições e respectivas esperanças dos quadrados médios ($E(QM)$)	39
3	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos esporos segregantes das tétrades PD, NPD e T, de um híbrido heterozigoto (BC x bc) para dois locos, com segregações independentes	42
4	Valores fenotípicos (Y) para híbridos de retrocruzamentos possíveis, ou seja, para cada arranjo combinado com os possíveis esporos. Os valores correspondem a diferença do valor fenotípico dos tipos homozigotos e heterozigotos em relação ao valor fenotípico médio dos parentais homozigotos	46
5.	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) para combinações entre os arranjos possíveis com cada tipo parental. Y_A corresponde ao valor fenotípico médio por arranjo e Y_r o valor fenotípico médio por parental. As frequências de cada classe pode ser calculada multiplicando-se as respectivas frequências de cada arranjo pela frequência de cada tipo-parental	48

Tabela nº

Página

6	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos obtidos de esporos <u>a</u> e <u>α</u> , de tétrades PD, NPD e T, combinados com as linhagens parentais <u>αB</u> e <u>ab</u> ou <u>aB</u> e <u>αb</u>	50
7	Reunião dos híbridos de retrocruzamentos conforme o tipo de ascos (tétrades PD, NPD e T), suas frequências (f) e valores fenotípicos médios dos ascos (Y_A), das linhagens parentais (Y_r) e do asco por linhagem parental retrocruzada (Y)	50
8	Componentes da variância genética esperados para os híbridos de retrocruzamentos (diplóides) e decomposições	55
9	Arranjos sexuais possíveis para uma téttrade de esporos definidos (A, B, C, D)	55
10	Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos PD, dos ascos por parental recorrente com os locos em associação (Y(BC) e Y(bc)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" parentais ditípicos (σ_{PD}^2)	73
11	Frequências (f), valores fenotípicos médio (Y) dos ascos NPD, dos ascos por parental recorrente com os locos em associação (Y(BC) e Y(bc)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" não parentais ditípicos (σ_{NPD}^2)	74

Tabela nº

Página

12	Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos T, dos ascos por parental recorrente com os <u>lo</u> cos em associação (Y(BC) e Y(bc)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" tetratípicos (σ_T^2)	75
13	Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos PD, dos ascos por parental recorrente com os locos em repulsão (Y(Bc) e Y(bC)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" parentais ditípicos (σ_{PD}^2)	76
14	Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos NPD, dos ascos por parental recorrente com os locos em repulsão (Y(Bc) e Y(bC)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" não parentais ditípicos (σ_{NPD}^2)	77
15	Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos T, dos ascos por parental recorrente com os <u>lo</u> cos em repulsão (Y(Bc) e Y(bC)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" tetratípicos (σ_T^2)	78
16	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em associação dos locos (BC e bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco parental ditípico (PD)	81

Tabela nº

Página

17	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em associação dos locos (BC e bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco não parental ditípico (NPD)	82
18	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em associação dos locos (BC e bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco tetratípico (T)	83
19	Frequências (f) - e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em repulsão dos locos (bC e Bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco parental ditípico (PD)	84
20	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em repulsão dos locos (bC e Bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco não parental ditípico (NPD)	85
21	Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em repulsão dos locos (bC e Bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco tetratípico (T)	86

Tabela nº		Pagina
22	Componentes da variância genética em diplóides (híbridos de retrocruzamentos) e suas decomposições, derivadas a partir de dois locos em associação ou repulsão	91
23	Componentes da variância genética esperada e derivada para muitos locos, em diplóides (híbridos de retrocruzamentos)	93
24	Valor fenotípico médio (Y) dos ascos (tétrades) para os híbridos intrameióticos e frequências (f)	100
25	Variâncias genéticas dentro de cada asco (tétrades) suas frequências (f) e a variância genética "Dentro dos ascos" para os híbridos intrameióticos	101
26	Componentes esperados da variância genética para os híbridos intrameióticos (diplóides) e suas decomposições	102
27	Análise de variância em blocos ao acaso em parcelas subdivididas envolvendo as linhagens parentais X2180-1B e AH22, o híbrido XAHI, esporos segregantes, híbridos de retrocruzamentos e testemunhas	108
28	Análise de variância parcial (ao nível de parcelas) e decomposição da causa de variação "Linhagens" em "Haplóides" e "Diplóides" e seus ascos	110
29	Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e decomposição das linhagens "Haplóides" (segregantes de XAHI)	112

Tabela nº

Página

30	Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e decomposição das linhagens "Diplóides" (híbridos de retrocruzamentos)	117
31	Análise de variância parcial (ao nível de parcelas) envolvendo as linhagens "Diplóides" e os retrocruzamentos efetuados	118
32	Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, envolvendo as linhagens parentais M304-2C e X2180-1B, o híbrido MXI, esporos segregantes, híbridos intrameióticos e testemunhas	123
33	Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, compreendendo as linhagens "Haplóides" (segregantes de MXI) e as linhagens "Diplóides" (híbridos intrameióticos)	125
34	Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas das linhagens "Haplóides" (esporos segregantes de MXI) e suas decomposições	127
35	Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas das linhagens "Diplóides" (híbridos intrameióticos) e suas decomposições	131

LISTA DE FIGURAS

Figura nº		Página
1	Nomenclatura e formação de híbridos de retrocruzamentos a partir de um asco (tétrade) segregante do híbrido XAHI, resultante do cruzamento das linhagens parentais recorrentes X2180-1B e AH22	30
2	Nomenclatura e formação de híbridos intrameióticos a partir de um asco (tétrade) segregante do híbrido MXI resultante do cruzamento das linhagens parentais X2180-1B e M. 304-2C	32

ANÁLISES DE TÉTRADES E BIOMÉTRICA COMBINADAS
PARA O ESTUDO DA PRODUÇÃO DE ETANOL
EM *Saccharomyces cerevisiae*

Autor: Éderson Akio Kido

Orientador: Prof. Dr. Flávio C.A. Tavares

RESUMO

A maioria dos caracteres de interesse econômico, tanto em organismos superiores, quanto em microrganismos são de base genética quantitativa. Entretanto, poucos trabalhos dessa natureza têm sido desenvolvidos em *Saccharomyces cerevisiae*, apesar da possibilidade de cruzamentos planejados e de análise de tétrades, o que individualiza as meioses e os seus produtos, situação esta que não é possível em organismos superiores. No entanto, as meioses e os gametas de eucariotos superiores devem comportar-se como os ascos (tétrades) e os esporos de *S. cerevisiae*, organismo que permite estimar e decompor a variabilidade existente entre e dentro de ascos. O presente trabalho consistiu em aproveitar recursos biológicos de *S. cerevisiae* para analisar a variação contínua do caráter produção do etanol, caracterizando a sua base genética e sugerindo estratégias para o melhoramento. Isto foi possível comparando-se em esquema hierárquico e delineamento adequado, linhagens parentais, híbridos, linhagens haplóides (esporos) e diplóides (híbridos de retrocruzamentos ou de cruzamentos entre esporos de mesmo asco), combinados à análise de tétrades e aos princípios biométricos comumente aplicados no melhoramento animal e vegetal.

As análises dos dados de produção de etanol permitiram estimar variâncias e parâmetros genéticos. Assim, os coeficientes de herdabilidade (maiores do que 70%) para as linhagens haplóides e diplóides demonstraram que a seleção fenotípica foi eficiente, correspondendo os melhores fenótipos aos melhores genótipos. Da variância genética total entre as linhagens haplóide, cerca de 60% correspondeu à variância genética aditiva e os 40% restantes à variância genética aditiva por aditiva. Ao nível diplóide, 55 a 65% da variância genética total foi devida à variância aditiva e 35-45% à variância dominante. Estimou-se também o grau médio de dominância, sugerindo dominância completa (em média) para os alelos dos locos controladores do caráter, e os ganhos esperados por seleções simuladas, aos níveis haplóide e diplóide. Efeitos de ploidia e/ou interações alélicas expressivas não foram observados, comparando-se o híbrido inicial (MXI) com linhagem homozigota (MXV) em 96% dos locos com relação ao parental maior.

Os resultados indicam que para a produção de etanol, a seleção ao nível haplóide de fenótipos superiores (recombinantes com maior número de alelos favoráveis que as linhagens parentais) e sua hibridização pode resultar em acúmulo de alelos favoráveis na condição diplóide.

O modelo de análise biométrica proposto pode ser aplicado para outros caracteres de variação contínua em *S. cerevisiae*, ou em qualquer organismo que apresente as fases n e $2n$ estáveis, apresente meios individualizados e permita a realização de cruzamentos planejados.

BIOMETRIC AND TETRAD ANALYSIS COMBINED FOR THE STUDY
OF ETHANOL PRODUCTION IN *Saccharomyces cerevisiae*

Author: Ederson Akio Kido
Advisor: Prof. Dr. Flávio C.A. Tavares

SUMMARY

Most economically important characters of industrial organisms, superior eucariotes and microorganisms, have polygenic nature and are subject of quantitative genetic analysis. Few works in *S. cerevisiae* considered polygenic traits analysis although the organism is amenable for such procedure. Planned crosses and tetrad analysis can give a strong support in studying quantitative traits besides the biological favourable properties of haploid and diploid state clonal viability, which in addition permits to estimate and decompose the existent variability among and within meiotic products (ascospores of complete asci). Such studies are not possible in superior eucariotes where the gametes cannot be analysed the same way. Thus the present work aimed in developing a combined methodology of quantitative genetic analysis and tetrad analysis for the study of the polygenic trait ethanol production which can also be applied to other polygenic traits. The experimental assays were planned accordingly being present parental strains, hybrid, haploid strain from this hybrid (originated from ascospores of complete tetrads) and diploid strains originated from backcrosses to both parents and crosses among ascospores from the same asci. Ethanol production of such strain measured

under standardized conditions were statistically analysed which allowed to estimate genetic variances and genetic parameters. Heritabilities estimated for haploid and diploid states were high (more than 70%) indicating good environmental control and the possibility of efficient phenotypic selection. Among haploids approximately 60% total genetic variance was related to additive effects and the remaining 40% due to the epistatic effect of additive x additive nature. At the diploid level from 55 to 65% of total genetic variance was related to additive variance and 35-45% to the dominant variance. Complete dominance in average must be predominant for the loci controlling the character and ploidy or expressive allelic interaction effects were not detected. Expected genetic gains in simulated selection at haploid and diploid were estimated. The results suggests a great possibility to obtain superior hybrids intercrossing haploid strains of high ethanol production taking advantage of the higher level of dominance. It is also to be stressed that the combined methodology of analysis developed and applied to *S. cerevisiae* can be used to any other polygenic trait as well as to other organisms where planned crosses can be made and haploid and diploid phases are stable. Such studies give also an insight on what must be happening in superior eucariotic organisms where the gametes cannot be analysed the same way.

1. INTRODUÇÃO

Apesar da importância industrial e do conhecimento científico, os estudos genéticos de caracteres economicamente importantes são limitados em leveduras. Geralmente, estes estudos envolvem genes principais ou caracteres de diferenças discretas, cujas transmissões podem ser acompanhadas de uma maneira qualitativa e poucos são os exemplos de análise genética de caracteres poligênicos ou quantitativos.

Ao contrário, para organismos superiores, métodos biométricos baseados na comparação de médias e variâncias têm sido desenvolvidos para medir a variação, interpretá-los em termos genéticos e melhorar a precisão de avaliação dos genótipos como recurso auxiliar ao melhoramento. Assim, com o conhecimento da base genética de caracteres relacionados ao processo produtivo tem sido possível desenvolver métodos de melhoramento mais eficazes, com maiores ganhos genéticos e consequente obtenção de genótipos superiores.

A levedura, principalmente a espécie *Saccharomyces cerevisiae*, organismo experimental por excelência e modelo de célula eucariótica

para geneticistas e bioquímicos, satisfaz as condições para o desenvolvimento da genética quantitativa, possuindo fase diplóide estável, sistema de recombinação meiótica, ciclo sexual, segregação imparcial e recuperação dos genótipos em proporções determinadas. Outra vantagem é a condição haplóide estável, possibilitando o estudo dos produtos gaméticos, com a expressão de seus genótipos. Alia-se a isto, o fato de ser um microrganismo industrial, cujos produtos de fermentação são de grande importância.

Este trabalho tem como objetivo analisar a variação contínua em microrganismo onde é possível comparar em esquema hierárquico, fases haplóide e diplóide, compreendendo produtos meióticos e cruzamentos planejados, utilizando os recursos da análise de tétrades e métodos biométricos comumente aplicados no melhoramento animal e vegetal. A metodologia utilizada poderá fornecer estimativas com maior precisão e informações que não são possíveis de serem obtidas em eucariotos superiores, permitindo caracterizar a base genética do caráter poligênico produção de etanol por *Saccharomyces cerevisiae* e sugerir estratégias para o seu melhoramento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A genética microbiana como um todo, vem sendo foco de muitas pesquisas atuais, principalmente em função das potencialidades científicas e econômicas apresentadas pelos mais diversos microrganismos. Dentro destas perspectivas torna-se importante salientar que alguns caracteres econômicos encontrados em leveduras estão relacionados com variações contínuas e que requerem o desenvolvimento de métodos de melhoramento eficazes e obtenção de linhagens melhoradas (TAVARES, 1974). Tendo em vista, o melhoramento genético da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, através do aproveitamento da variabilidade e dos métodos recombinatórios por cruzamentos direcionados, é necessário, a priori, o conhecimento da biologia da espécie, enfatizando-se as características favoráveis ao estudo genético e posteriormente, a análise de aspectos relacionados ao desenvolvimento dos métodos biométricos.

2.1. Aspectos Biológicos de *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura como um microrganismo predominantemente unicelular, apresenta um grau de complexidade intermediário entre as bactérias e os fungos filamentosos. Desta forma, esta única célula tem capacidade de existência independente, onde todas as reações químicas essenciais à sua vida, à sua reprodução e à transmissão de suas características hereditárias são executadas harmoniosamente. Em função dessas propriedades, as bactérias e leveduras constituem-se em organismos atraentes e promissores para as pesquisas bioquímicas. No entanto, em se tratando de células eucarióticas, a levedura é o modelo mais simples, apresentando núcleo verdadeiro, mitocôndrias estruturadas e um sistema intracelular limitado por membranas (ROMAN, 1981). Apresenta um ciclo de reprodução bastante curto, onde o tempo de geração, a facilidade de manipulação e de manutenção em condições estabelecidas proporcionam rápida produção de biomassa e disponibilidade de material para análises genéticas e bioquímicas (ROSE, 1975; FOWELL, 1969).

Outro atrativo para os estudos científicos, além da propagação clonal (assexual), que possibilita a multiplicação e perpetuação do genótipo, é a reprodução sexual, que possibilita um aumento da variabilidade através dos processos recombinatórios e permite uma análise genética mais detalhada. Esta potencialidade é ainda maior considerando-se que as células em fases haplóide e diplóide são estáveis e que vários clones de classes de mutantes são conhecidos, sendo estes facilmente obtidos, isolados e caracterizados a partir de protocolos e metodologias desenvolvidas para elu

cidaçãõ de muitos problemas genéticos e bioquímicos (STRATHEN *et alii*, 1981; FOWELL, 1969; HARBER & HALVORSON, 1975; ROSE, 1975).

2.1.2. Ciclo Celular

O ciclo celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é caracterizado principalmente por uma base vegetativa diplóide, onde a meiose precede a esporulação, formando os quatro esporos haplóides, que permanecem encerrados numa estrutura denominada asco, até a fase de liberação para o meio (ESPOSITO & KLAPHOLZ, 1981; PRINGLE & HARTWELL, 1981).

A partir do momento em que se processa a liberação dos esporos, se as linhagens forem do tipo heterotáticas, a haplofase pode se estabelecer mais ou menos indefinidamente, multiplicando-se os esporos por mitoses sucessivas. Estes, quando confrontados com esporos de reação sexual contrária (a com α , ou vice-versa) formam híbridos diplóides, iniciando assim a diplofase. Tal fase pode se perpetuar através de divisões mitóticas, até que condições adversas se estabeleçam, induzindo os híbridos ($2n$) a entrarem em meiose, produzindo novos ascos e esporos (n) (ROMAN, 1981).

No caso das linhagens homotáticas, as células da haplofase não são estáveis. Nas primeiras divisões, após a germinação, ocorre a modificação do tipo de reação sexual em uma das células, permitindo o cruzamento e restituindo a diplofase, que é estável e se estabelece por mitoses sucessivas. Como no heterotalismo, a diplofase pode ser interrompida a qualquer momento, induzindo os eventos meióticos e restaurando os ascos. Es

te fenômeno é bem compreendido e descrito, através do modelo "cassete", de controle da reação sexual, apresentado por KERSKOWITZ & OSHIMA (1981).

2.1.3. Esporulação

A esporulação de leveduras se refere a formação de esporos dentro de um asco por um processo meiótico. A habilidade de esporular, o número de esporos por asco, seu formato e o modo como os ascos e esporos são formados, são características importantes utilizadas na classificação e subdivisão das leveduras ascoporogêneas *Saccharomycetaceae* (FOWELL, 1969).

Em *Saccharomyces*, o número de esporos por asco varia de um a quatro, sendo estes normalmente de formato esférico. Para se ter uma idéia da variabilidade numérica dos esporos, estima-se que o asco de *Kluyveromyces polysporus* contenha mais de 100 esporos. Frequentemente, assume-se que as leveduras são capazes de sobreviverem em condições adversas, sob a forma de esporos, mas, ao contrário dos esporos bacterianos, são pouco mais resistentes ao calor e ao álcool, do que as células vegetativas (FOWELL, 1969).

ESPOSITO & KLAPHOLZ (1981) apresentam algumas características que tornam as leveduras atrativas para uma análise da célula meiótica. Destacam-se: genética e bioquímica desenvolvidas; indução de meiose; recuperação dos produtos gaméticos; indução, obtenção e caracterização de mutantes defectivos na formação de produtos meióticos finais, ou mutantes alterados na disjunção cromossômica, além dos eventos recombinativos bem caracterizados.

Desta forma, este microrganismo abre a oportunidade de se estudar a meiose e o desenvolvimento gamético, em um organismo que possui to-

das as vantagens técnicas de um sistema microbiano unicelular, enquanto exibe comportamento típico de células eucarióticas superiores (ROMAN, 1981).

Métodos visando melhorar a eficiência da esporulação e a obtenção de mutantes específicos (para a esporulação) são apresentados por HARBER & HALVORSON (1975), enquanto uma lista, contendo a descrição desses mutantes, é dada por ESPOSITO & KLAPHOLZ (1981).

Tanto a meiose quanto a esporulação requerem a presença dos alelos para a reação sexual (MAT a e MAT α) e ambas ocorrem quando há condições de escassez, principalmente de nitrogênio e na presença de uma fonte de carbono não fermentável, como o acetato (HARBER & HALVORSON, 1975).

Otimização da esporulação pode ser conseguida transferindo-se células diplóides, de um meio completo para um meio de esporulação, contendo 1% de acetato de potássio e os requerimentos mínimos da linhagem, permitindo algumas divisões antes da esporulação. O pH deve ser próximo da neutralidade e a temperatura ao redor de 30°C. A ausência de nitrogênio combinado com uma fonte escassa de carbono causa um desbalanço metabólico, no qual o ciclo glioxalato falha em produzir níveis de aminoácidos suficientes para a síntese protéica, desencadeando a meiose (ESPOSITO & KLAPHOLZ, 1981; FOWELL, 1969).

Com relação ao comportamento cromossômico na meiose, ressalta-se que, em *Saccharomyces cerevisiae* e em outros ascomicetos, a segregação da cromatina ocorre sem a dissolução ou divisão dos núcleos parentais (ESPOSITO & KLAPHOLZ, 1981).

A recuperação dos esporos (produtos gaméticos) pode ser feita de várias maneiras, de acordo com o propósito da pesquisa científica. FOWELL (1969), HARBER & HALVORSON (1975) citam metodologias para separação

e preparação de massas de esporos para estudos bioquímicos, baseados em diferenças de propriedades eletroforéticas das células vegetativas e esporos e de aderência a óleo-parafina líquida (onde os esporos lipofílicos se aderem à fase oleosa e as células vegetativas à fase aquosa). O uso de filtros sobrepostos para isolar os esporos e tratamentos térmicos entre outros, também são citados.

O rompimento da parede do asco pode ser físico (com uma leve pressão externa) o que pode danificar os esporos, ou enzimático (extrato de *Bacillus polymixa*, extrato digestivo de *Helix pomaxia* ou protease de *Streptomyces griseus*) que podem afetar a viabilidade (FOWELL, 1969; HARBER & HALVORSON, 1975).

A dissecação do asco para estudos genéticos ou análises meiôticas de *Saccharomyces cerevisiae*, pode ser feita manualmente (MUNZ, 1975) ou com a ajuda de um micromanipulador (SHERMAN, 1975).

SHERMAN (1975) enfatiza o uso de micromanipuladores em estudos genéticos de leveduras, não somente para fins de separação de esporos dos ascos individuais, fundamentais para análises de têtrades, num processo de mapeamento (MORTIMER & HAWTHORNE, 1975; MORTIMER & SHILD, 1981) como também para a separação dos zigotos da mistura de células haplóides parentais. Essas metodologias tornam-se de grande valia para o melhoramento, na recuperação do híbrido e de seus esporos. Como as frequências de esporulações são variáveis, o que em certos casos pode comprometer a obtenção de têtrades completas necessárias à análise genética, devida a inviabilidade de esporos ou taxas reduzidas de ascos completos, estes fatores tendem a dificultar a obtenção de híbridos em um programa de melhoramento.

Sendo a esporulação em leveduras um processo meiótico, dois eventos de importância ocorrem durante suas fases: a recombinação genética e a segregação cromossômica. Ambos participam na geração de novos genótipos durante a reprodução sexual e contribuem com a variabilidade genética. Assim, a esporulação e a hibridização têm se mostrado processos valiosos no melhoramento, conforme demonstram os trabalhos de TAVARES (1974) e TAVARES & ECHEVERRIGARAY (1987).

2.1.4. Hibridização

Sob condições nutritivas desejáveis, os esporos podem se fundir aos pares formando zigotos (híbridos), nos quais, seguido da fusão nuclear, a condição diplóide é restaurada (FOWELL, 1969; ROSE, 1975).

LINDEGREN & LINDEGREN (1943) foram os primeiros a mostrar que esporos de leveduras possuíam dois tipos de reação sexual ($\underline{a}$ e $\underline{\alpha}$) e que a fusão nuclear somente ocorria com esporos de tipos de reação sexual diferentes, caracterizando o heterotalismo. As fusões que ocorriam entre as células haplóides de um mesmo esporo, originando células diplóides, sem a formação dos zigotos e capazes de esporularem, caracterizavam o homotalismo (HERSKOWITZ & OSHIMA, 1981; ROMAN, 1981).

A ação entre células de tipos de reação sexual contrárias é mediada por um peptídeo difusível no meio (THROM & DUNTZE, 1970). Dessa forma, células $\underline{\alpha}$ produzem um fator $\underline{\alpha}$ que inibe a replicação do DNA de células $\underline{a}$, simultaneamente com a ocorrência de sincronização dessas células tornan-

do- as competentes para a conjugação, plasmogamia e cariogamia (THORNER, 1981; ROMAN, 1981).

FOWELL (1969) menciona a transformação com DNA como um método alternativo de recombinação, para leveduras que não esporulam, ou cujos esporos são inviáveis, possibilitando o seu aproveitamento em programas de melhoramento. Este mesmo autor apresenta três métodos principais de hibridização: (a) O método pareamento de esporos: tem a vantagem de distinguir sob microscopia os zigotos formados por fusão de esporos recém-germinados. A maior desvantagem deste método é a baixa taxa de fusão entre os pares de esporos pareados.

(b) No método do pareamento de células haplóides, a formação dos zigotos, também observada microscopicamente, tem como vantagem em relação ao anterior, o fato de que os clones de mesmo genótipo podem ser usados em vários cruzamentos. Entretanto, algumas desvantagens são observadas, tais como: o "enfraquecimento" da reação sexual quando várias células estão pareadas juntas e a inconstância da fusão de células haplóides para a formação de zigotos.

(c) No cruzamento massal, um grande número de células de reações sexuais contrárias são misturadas e os zigotos posteriormente avaliados quanto a esporulação. A distinção com a autodiploidização não pode ser feita, de modo que o método deve ser utilizado com leveduras onde este processo é raro ou se apresenta de maneira insignificante. O cruzamento massal é comumente recomendado para a hibridização de linhagens industriais e tem sido utilizado em diversos programas de melhoramento (TAVARES, 1974).

2.2. Análise de Tétrades e Recombinação Meiótica

Em *Saccharomyces cerevisiae*, os quatro esporos pertencentes ao mesmo asco podem ser isolados e analisados. Os ascus formados são classificados como tétrades não ordenadas, pois a sequência de seus esporos não fornece informação alguma a respeito dos eventos meióticos, como acontece com as tétrades de *Neurospora crassa* (BURNETT, 1975; FINCHAM *et alii*, 1979).

Análises de tétrades em *Saccharomyces cerevisiae* têm sido exaustivamente realizadas, com importantes contribuições para o mapeamento genético, conforme demonstram os trabalhos de MORTIMER & HAWTHORNE, 1969, 1975; MORTIMER & SCHILD, 1981, 1985; MORTIMER *et alii*, 1989). Tais análises fornecem maiores informações genéticas do que uma simples análise de esporos ao acaso. Em particular, pode-se determinar a ligação entre genes e de um gene com o centrômero, detectar interferência cromatídica e reconhecer a letalidade quando associada com aberrações cromossômicas e mutações, conversão gênica, etc. (MORTIMER & HAWTHORNE, 1975; MORTIMER & SCHILD, 1981).

Embora não pretendendo detalhar a análise de tétrades, considera-se importante demonstrar como aparecem os diferentes genótipos e frequências em uma população esperada, como é dado a seguir:

Cruzamento Monofatorial

Do cruzamento de duas células haplóides, contrastantes em um loco cromossômico B (de dois alelos), forma-se híbrido heterozigoto (B/b), que segrega 2B:2b numa meiose normal. Desvios nessa segregação esperada

podem ocorrer (3:1; 4:0; 0:4 e 1:3), devido a vários fatores como: poliploidia, conversão gênica, segregações pós-meióticas, crossing-over mitótico, segregação de supressores, entre outros, dificultando a interpretação das relações gênicas e a real causa desses desvios.

Cruzamento Multifatorial

Se um híbrido é heterozigoto em mais de um loco, cada par de genes alelomórficos em segregação pode ser considerado independentemente. Analisando o cruzamento (BC x bc) se ambos B/b e C/c segregam 2:2; três tipos de ascas ou tétrades podem ser produzidos (MORTIMER & HAWTHORNE, 1969, 1975; BURNETT, 1975 e MORTIMER & SCHILD, 1981). Estes tipos são:

BC	Bc	BC
BC	Bc	Bc
(1) bc	(2) bC	(3) bC
bc	bC	bc

- (1) Tétrade parental ditípica (PD): dois dos produtos meióticos têm o genótipo de um pai e dois do outro.
- (2) Tétrade parental não ditípica (NPD): dois genótipos diferentes constituem a tetrade, sendo diferentes dos genótipos parentais.
- (3) Tétrade tetratípica (T): quatro genótipos diferentes, sendo dois idênticos aos genótipos parentais ditípicos e os outros dois, idênticos aos parentais não ditípicos.

A frequência de cada tipo depende dos locos estarem ou não segregando independentemente (BURNETT, 1975; MORTIMER & HAWTHORNE, 1969 e 1975).

Quando os genes estão segregando independentemente, as frequências de tétrades PD e NPD são iguais e independem da frequência de T. MORTIMER & HAWTHORNE (1975) estabeleceram que o critério para ligação é a relação entre as frequências PD/NPD maior que 1 (um).

Estando os genes ligados, os ascos NPD e T resultarão de permutas entre esses genes, enquanto a ausência de permuta está associada aos ascos PD. Uma simples permuta conduz a ascos T e permuta dupla conduz a qualquer um dos 3 tipos de ascos, dependendo do número de cromátides envolvidas. Sendo duas, três ou quatro cromátides, relacionadas com a dupla permuta, esta resultará em ascos PD, T ou NPD, respectivamente (MORTIMER, 1969). SNOW (1979) discorre a este respeito, confirmando que se a tetrade não sofre permuta, naturalmente ela será PD, mas também serão PD, aquelas tétrades com duas ou mais permutas, cujo efeito seja equivalente a uma permuta dupla, envolvendo duas cromátides. Enquanto isso, as tétrades T serão originadas de bivalentes com uma permuta simples, ou daqueles com duas ou mais permutas, equivalentes ao efeito de uma permuta dupla, envolvendo três cromátides. As tétrades NPD seriam originadas de permutas equivalentes a uma dupla permuta, envolvendo as quatro cromátides. Assim, estando as frequências (p) dos ascos PD, NPD e T na dependência do número de permuta (r) e em ausência de interferência cromatídica, a proporção de ascos PD e NPD poderia ser expressa, conforme SNOW (1979) como:

$$p(\text{PD}) = p(\text{NPD}) = \frac{1}{6} + \frac{1}{3} \cdot \left(-\frac{1}{2}\right)^r$$

A frequência dos ascos T, para qualquer número de permutas (r), seria expressa como:

$$p(\text{T}) = \frac{2}{3} \left[1 - \left(-\frac{1}{2}\right)^r \right]$$

MORTIMER & HAWTHORNE (1975) apresentam as frequências esperadas dos ascos PD, NPD e T, variando o número de permutas até infinitas, o que corresponde, teoricamente à segregação independente. Essas frequências, livres de interferência das cromátides e sem troca de material genético entre cromátides irmãs seriam PD(1/6), NPD(1/6) e T(4/6).

2.3. Abordagem metodológica da Genética Quantitativa

A genética quantitativa tem sua origem nos trabalhos de Galton, em 1889, em estudos de hereditariedade. Os caracteres estudados apresentaram distribuição contínua o que exigiu o desenvolvimento de métodos de análise especiais. Estes fundamentaram o desenvolvimento da estatística relacionada aos estudos biológicos. Através da correlação entre parentes, Galton demonstrou a existência de um componente herdável presente na variação contínua. Este componente herdável podia ser explicado em termos mendelianos, o que foi realizado por Fisher, em 1918, fortalecendo as bases da genética biométrica.

No estudo da herança poligênica, as classes fenotípicas não possibilitam a separação em classes genotípicas e suas frequências. Portanto

to, caracteriza-se esta distribuição fenotípica em termos estatísticos, cujos parâmetros biométricos (médias, variâncias, covariâncias, correlações, etc) refletem as propriedades do sistema poligênico, do qual se origina o componente herdável da variação. Assim, estes parâmetros biométricos podem ser interpretados em função de fenômenos genéticos como: efeitos devidos à ação gênica aditiva, dominante e epistática (MATHER & JINKS, 1984). Deste modo, obtêm-se informações relativas não de um único gene, mas dos efeitos médios dos genes envolvidos nesta variação contínua (FALCONER, 1976; CATEN & JINKS, 1976; MATHER & JINKS, 1984).

Segundo MATHER & JINKS (1984) as diferenças fenotípicas entre os genótipos (AA, Aa e aa) podem ser dadas pelo valor $\underline{d}$, medindo-se o afastamento de cada homozigoto da média ($\underline{m}$) dos pais (homozigotos) e pelo valor $\underline{h}$, medindo-se o afastamento do heterozigoto da mesma média ($\underline{m}$). Note que $\underline{d}$ e $\underline{h}$ apresentam o mesmo significado que os valores $\underline{u}$ e $\underline{au}$, do simbolismo de COMSTOCK & ROBINSON (1952).

Da relação dos valores esperados (em função da decomposição fenotípica) com os valores observados (em função dos dados experimentais), obtêm-se estimativas de parâmetros estatísticos que em parte refletem os fenômenos genéticos envolvidos no caráter. Dessa forma, é provável que nos confrontemos com uma complexidade de fenômenos genéticos, dadas as relações intra e inter-alélicas entre os genes envolvidos. Tal complexidade leva a uma multiplicidade de parâmetros a serem considerados ao formular os esperados para os dados observados.

Uma abordagem simplificada com parâmetros representativos dos efeitos aditivos dos genes (isto é, as diferenças fenotípicas entre os homozigotos correspondentes AA e aa, etc.) e suas propriedades de dominância pode ser satisfatória, se o material for suficiente, o experimento adequadamente planejado e a análise estatística apropriada (MATHER & JINKS, 1984).

A idéia de Fisher de decomposição da variância entre as várias causas de variação tem sido de grande utilidade para o entendimento da genética quantitativa.

Em um trabalho clássico, COMSTOCK & ROBINSON (1952) investigaram o grau de dominância envolvido na ação média dos genes afetando caracteres quantitativos de plantas economicamente importantes, cuja magnitude desse grau médio pode ser classificada em ausência de dominância, dominância parcial, dominância completa ou sobredominância. Esses autores também estimaram a variância genética aditiva, variância devido aos desvios de dominância, covariâncias genéticas e fenotípicas, além de correlações para pares de caracteres.

COMSTOCK & ROBINSON (1952) levaram em conta certas considerações quando das interpretações genéticas dos componentes de variância, tais como, condição diplóide com meiose regular, frequência gênica igual a $1/2$, ausência de alelismo múltiplo, ausência de ligação dos genes afetando o caráter (se esta existir, deverá haver equilíbrio das fases de associação e repulsão desses genes) e ausência de epistasia. Considerou-se também, com relação as derivações das esperanças dos quadrados médios, a ocorrên-

cia de cruzamentos ao acaso, distribuição randômica dos genótipos no meio e não ocorrência de efeito maternal. Implicações com relação a estas considerações também foram discutidas.

De acordo com CATEN & JINKS (1976), as considerações relacionadas impedem a aplicação de conceitos e princípios de genética quantitativa e de biometria em muitos microrganismos, principalmente naqueles não possuidores de sistemas recombinatórios, necessitando do desenvolvimento de metodologias próprias.

2.4. Estudos da Variação Contínua em Microrganismos

CATEN & JINKS (1976) comentaram as dificuldades encontradas para a aplicação de princípios da genética quantitativa aos sistemas de recombinação não meióticas, devido à natureza seletiva dos segregantes e recombinantes recuperados. Desta forma, os componentes de médias e variâncias entre gerações, não poderiam ser aplicados, necessitando de novas metodologias envolvendo marcadores genéticos.

Dificuldades no melhoramento do título da penicilina, por *Penicillium chrysogenum*, como: baixa frequência de recuperação dos segregantes e recombinantes, instabilidade mitótica, aberrações cromossômicas devidas ao uso de mutagênicos, entre outras, foram citadas por MERRICK (1975b, 1976) que sugeriu o *Aspergillus nidulans* como microrganismo modelo para a aplicação de princípios biométricos na produção desse antibiótico.

Neste sistema, MERRICK (1975a) indicou a hibridização e as análises quantitativas como recurso para o melhoramento e observou que a diminuição da variação genética com o passar dos ciclos estava associada com um decréscimo na resposta à seleção, o que vai de acordo com o esperado para os organismos superiores (CATEN & JINKS, 1976; FALCONER, 1976). A introdução de linhagens de origens diversas previamente selecionadas, restaurando a variância genética, se faz necessária a partir de algumas gerações.

Baseado em médias de gerações, MERRICK (1975b) encontrou uma ação gênica predominantemente aditiva, sugerindo que o melhoramento devesse incrementar o número de alelos favoráveis em um único indivíduo e que a hibridização não fosse tão importante.

De acordo com os resultados de MERRICK (1976) a produção de penicilina em *A. nidulans* é controlada por muitos genes, sendo as técnicas biométricas importantes nas análises dos caracteres quantitativos. Este autor enfatizou também o conhecimento preliminar da base genética de um caráter, de tal forma a auxiliar na escolha do método de melhoramento a ser empregado, e no melhor aproveitamento da variabilidade genética natural, não descartando a sua indução por mutagênese (SIMPSON & CATEN, 1979).

A genética quantitativa também fornece informações sobre processos evolucionários ocorrendo na natureza. SIMCHEN (1967) reportou experimentos destinados ao estudo da relação entre sistemas gênicos de natureza poligênica que evoluíram separadamente, no fungo *Schizophyllum commune*.

Assim, é possível deduzir do controle genético de um caráter, a natureza das forças seletivas a que este caráter esteve sujeito. Este mesmo autor analisou os caracteres taxa de crescimento micelial de dicários, constatando efeitos aditivos e dominantes e tempo e peso de frutificação, de natureza genética mais complexa (SIMCHEN, 1966).

2.5. Aspectos do Melhoramento de Caracteres Quantitativos em Leveduras

Poucos trabalhos relacionados com caracteres de variação contínua foram abordados em microrganismos. CATEN & JINKS (1976) justificaram este fato alegando a íntima associação do desenvolvimento da genética quantitativa com o melhoramento vegetal e animal (ver ALLARD, 1960; FALCONER, 1976; WAGONER, 1978), a necessidade de sistemas meióticos, ao uso de poucas linhagens relacionadas, a avaliação de caracteres qualitativos e ao descarte de linhagens difíceis de serem classificadas.

O melhoramento de organismos superiores possui métodos que podem ser prontamente adaptados em microrganismos com sistemas de recombinação (CATEN & JINKS, 1976).

Com este intuito, TAVARES (1974), detectando diferenças significativas entre linhagens e entre colônias de leveduras *Saccharomyces uvarum*, para o caráter produção de biomassa, propôs métodos de seleção e determinou os progressos esperados e os coeficientes de herdabilidade. O progresso esperado foi calculado para a seleção "entre linhagens" (+29,6%

de acréscimo), "dentro de linhagens" (+6,5%), "entre e dentro de linhagens" (+36,3%) e "entre colônias" (+49,9%). A herdabilidade foi calculada para o método "seleção entre colônias" (41,0%) e "seleção entre e dentro de linhagens" (74,5%). Tais resultados inferem o aproveitamento da variabilidade natural com ganhos genéticos satisfatórios.

TAVARES & ECHEVERRIGARAY (1987) adaptaram alguns esquemas de cruzamentos do melhoramento de plantas. Assim, o esquema "policruzamento" foi adaptado para leveduras homotáticas e heterotáticas, visando o melhoramento de caracteres quantitativos. Este esquema consistiu em um cruzamento massal de linhagens, esporulação, tratamento térmico (onde os esporos sobrevivem) cruzamento massal dos esporos, seleção por tamanho de colônia com posterior seleção dos melhores híbridos fermentadores, esporulação destes híbridos e novo cruzamento massal, reiniciando outro ciclo. Tal método capitalizou um ganho de 20% com relação a produção de etanol das linhagens testemunhas (industriais).

Outro método apresentado, consistiu em "autofecundações", visando obter linhagens haplóides e diplóides superiores. Assim, um híbrido selecionado foi esporulado, seus esporos após o tratamento térmico foram cruzados massalmente e os híbridos resultantes selecionados por tamanho de colônia e avaliados em fermentações. Estes híbridos foram novamente esporulados começando um novo ciclo. Com a aplicação deste método contabilizou-se diferentes ganhos na produção de etanol (de +6,4% até +16,1%).

O esquema de retrocruzamento consistiu em um cruzamento inicial de duas linhagens haplóides, esporulação do híbrido e retrocruzamento de um esporo ao acaso mas, de reação sexual contrária ao parental recorrente e assim sucessivamente. Este método permitiu a recuperação do genótipo

recorrente e a formação de linhagens isogênicas no decorrer dos ciclos.

O conhecimento da base genética do caráter possibilitará inferir a respeito das melhores estratégias para o melhoramento.

2.6. Melhoramento em *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de etanol

A partir do momento em que a levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta reações sexuais e que cruzamentos planejados podem ser efetuados (com fases haplóides e diplóides estáveis) é possível a aplicação dos princípios da genética quantitativa no estudo de caracteres de variação contínua e no melhoramento.

Muitos caracteres de interesse em organismos superiores e microrganismos variam de forma contínua. Tais variações, ou são determinadas por muitos genes cromossômicos, cujos efeitos individuais não podem ser discriminados, e/ou estão sob forte influência ambiental, dificultando a seleção de linhagens superiores (CATEN & JINKS, 1976; FALCONER, 1976).

No melhoramento de leveduras destaca-se o caráter produção de etanol, a partir da fermentação da sacarose da cana-de-açúcar por *Saccharomyces cerevisiae*. Essa fermentação industrial, de grande escala, é de vital importância para a economia brasileira, pois o etanol transformado em álcool carburante foi o combustível líquido escolhido na tentativa de minimizar a dependência do petróleo, em plena crise dos anos 70.

Após a implantação do programa PROÁLCOOL, com apoio governamental, ocorreu um aumento na demanda de combustíveis no decorrer dos anos, o que tornou o sistema de produção obsoleto, provocando nova

crise, abalando profundamente o setor (1989-1990). Este fato amplifica a necessidade de melhoramentos no setor produtivo. Uma das principais maneiras de salientar a capitalização de ganhos na produção de etanol pode ser feita através do melhoramento genético de linhagens de leveduras e/ou da otimização das condições de fermentação nas usinas (melhoramento ambiental).

O conhecimento da base genética e da herança de um caráter têm permitido a fundamentação do melhoramento em bases mais científicas. Tem se observado que variações qualitativas ou quantitativas não são propriedades de caracteres particulares, mas dependentes da complexidade da situação genética em cada caso (MATHER & JINKS, 1984).

TAVARES & ECHEVERRIGARAY (1987) obtiveram informações a respeito de parâmetros industriais importantes relacionados às propriedades biológicas da levedura. Assim, a correlação positiva entre a qualidade da cana e do mosto, com a produção de etanol mostrou ser significativa. Entre a acidez do mosto e a produção de etanol, a correlação foi negativa, com inibição do brotamento e decréscimo da viabilidade celular. Outras variáveis como o tempo de fermentação ou bateladas processadas por dia, revelaram correlações negativas, ao passo que a viabilidade, brotamento e concentração celular, apresentaram, geralmente, correlações positivas com a produção de etanol.

Os diferentes parâmetros relacionados são importantes tanto no aspecto biológico do melhoramento, quanto cinético da produção. Dessa forma, devido a complexidade das características envolvidas, na produção de etanol, faz-se necessário o estabelecimento de critérios adequados, para a discriminação do valor genotípico da variação ambiental, que mascara o genótipo de uma dada linhagem.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Linhagens

As linhagens parentais *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas no presente trabalho foram:

- a) M304-2C (reação sexual a), obtida no Laboratório de Genética de Leveduras do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- b) X2180-1B (reação sexual α), cedida pelo Dr. Robert K. Mortimer, Yeast Stock Center, Universidade da Califórnia, USA.
- c) AH22 (reação sexual a, leu 2⁻ his 4⁻).

Estas linhagens e as linhagens testemunhas (M300A, ATCC26603, E202IV36, H065, Montrachet e Fleischmann) são mantidas e fazem parte da coleção do Laboratório de Genética de Leveduras do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", - USP.

3.2. Meios de Cultura

Os seguintes meios foram utilizados:

3.2.1. Meio Completo (YEPS)

Extrato de levedura	5g
Peptona	5g
Sacarose	20g
Ágar	20g (quando sólido)
Água destilada até	1000 ml

Meio completo utilizado para a manutenção das culturas, realização de cruzamentos e isolamentos de híbridos ou segregantes micromanipulados.

3.2.2. Meio de esporulação (RA)

Rafinose	0,22g
Acetato de potássio	30g
Ágar	20g
Água destilada até	1000ml

Meio indutor de esporulação das linhagens híbridas (2n) para obtenção de segregantes (n)

3.2.3. Meio YEPS de multiplicação

Extrato de levedura	10g
Peptona	10g
Sacarose	20g
Água destilada até	1000ml

Meio líquido utilizado no preparo de pré-inóculos e inóculos, para os ensaios de fermentação, envolvendo as linhagens oriundas do cruzamento das linhagens parentais M304-2C e X2180-1B. Para as linhagens resultantes do cruzamento das linhagens parentais X2180-1B e AH22, este meio foi enriquecido em peptona (15g), solução de sais (10ml) e casaminoácidos (2g), completando com água destilada até o volume de 1000ml.

3.2.4. Meio YEPS de alimentação

Extrato de levedura	10g
Peptona	10g
Sacarose	200g
Solução de sais	100ml
Água destilada até	1000ml

Meio líquido adicionado em meio YEPS de multiplicação, para a alimentação dos inóculos das linhagens oriundas do cruzamento das linhagens parentais M304-2C e X2180-1B. Para os inóculos das linhagens resultantes do cruzamento das linhagens parentais X2180-1B e AH22, o meio YEPS de alimentação foi enriquecido em casaminoácidos (4g/l).

3.2.5. Meio YEPS de fermentação

Extrato de levedura	5g
Peptona	5g
Sacarose	200g
Solução de sais	10ml
Água destilada até	1000ml
pH	4,0

Meio líquido utilizado nos ensaios de fermentação, envolvendo as linhagens oriundas do cruzamento das linhagens parentais M304-2C e X2180-1B. Para os ensaios de fermentação envolvendo as linhagens resultantes do cruzamento das linhagens parentais X2180-1B e AH22, este meio foi enriquecido em casaminoácidos (2g/l).

3.3. Soluções

3.3.1. Solução de sais

Fosfato monobásico de potássio	2%
Sulfato de amônio	5%
Sulfato de magnésio	1%
Sulfato de manganês	0,1%
Sulfato de zinco	0,1%

Sais dissolvidos em água e a solução esterilizada por autoclavagem.

3.3.2. Solução lítica

Utilizou-se para a liberação dos esporos, dos respectivos ascos, uma solução lítica (1%), dissolvendo o suco digestivo liofilizado de *Megalobolinus paranaguensis* em água estéril e filtrando em Millipore de 0,45µm. A enzima foi cedida pelo Dr. G.D.Fontana, da Universidade Federal do Paraná.

Em alguns casos, foi utilizada com o mesmo propósito, uma solução de 0,5mg/ml de Zimoliase 5000 (Kirim Brewing Co.).

3.4. Esterilização e Incubação

Os meios sólidos foram esterilizados por autoclavagem por 15 minutos a 1 atm de pressão e, os meios líquidos por 35 minutos a 0,5 atm de pressão.

As linhagens (em placas de Petri) e os ensaios de fermentação foram incubados em estufas do tipo B.O.D (Fanem), a 30 e 35°C respectivamente.

3.5. Obtenção dos Híbridos

As linhagens a serem cruzadas, portadoras de reações sexuais diferentes (a ou α), foram estriadas em placas de Petri contendo o meio YEPS, e incubadas a 30°C em estufa B.O.D. por 24h. Posteriormente, uma pequena quantidade de células, de cada linhagem, foi misturada e espalhada sobre nova placa de Petri com o meio YEPS, de tal forma que se formasse uma pequena película. A placa foi então incubada em estufa

B.O.D. a 30°C por 4h, podendo os zigotos serem micromanipulados, ou observados sob microscópio, após decorrido este tempo.

3.5.1. Micromanipulação dos híbridos

Uma estria, com número reduzido de células da placa de cruzamento (item 3,5), foi feita sobre uma nova placa de Petri contendo o meio YEPS. Esta placa foi colocada invertida sob um microscópio óptico (Olympus), ao qual encontrava-se adaptado um micromanipulador com agulha de vidro. Os zigotos identificados pela sua morfologia peculiar (após 4h da mistura de células de reações sexuais a e α) foram micromanipulados, e isolados à distâncias regulares, na própria placa de Petri.

3.5.2. Esporulação dos híbridos

As linhagens híbridas (2n) foram estriadas em placas de Petri contendo o meio YEPS, e incubadas em estufas B.O.D. a 30°C por 24h. Posteriormente, foram repicadas em placas de Petri, contendo o meio de esporulação (RA), e incubadas em estufas B.O.D. a 30°C por 2 a 3 dias. Misturou-se uma gota da solução lítica com uma alçada de células (da placa com o meio RA) em placa de Petri estéril, incubando por 40 minutos a temperatura ambiente. Após este tempo, estriou-se, com esta mistura, uma placa de Petri contendo o meio YEPS, de tal modo, que as células permanecessem isoladas. Esta placa foi invertida sob o microscópio com o micromanipulador adaptado e os quatro esporos de ascos completos (tétrades) foram transferidos para posições isoladas e determinadas na placa.

3.5.3. Determinação da reação sexual dos esporos segregantes

Após a esporulação do híbrido ($2n$) e a micromanipulação dos esporos segregantes (n) procedeu-se à determinação do tipo de reação sexual destas linhagens, cruzando-as com linhagens de reações sexuais conhecidas como: X2180-1Bα, M304-2Ca e AH22a . A formação do híbrido e o reconhecimento do zigoto, de formato peculiar, 4h após o cruzamento, foi indicativo do tipo de reação sexual contrária ao da linhagem testadora.

3.6. Cruzamentos efetuados com os esporos segregantes.

Aplicação de dois esquemas

3.6.1. Retrocruzamentos

As linhagens parentais X2180-1Bα e AH22a foram cruzadas naturalmente, tendo-se micromanipulado um de seus híbridos, denominado XAHI. Este sofreu esporulação e micromanipulação de seus esporos. Após a determinação das reações sexuais, os esporos dos ascos completos (tétrades) foram retrocruzados com as linhagens parentais recorrentes, obedecendo as reações sexuais (Figura 1). Os híbridos assim obtidos, num total de 56 híbridos viáveis, originados de 14 tétrades, foram isolados e ensaiados.

3.6.2. Cruzamentos intrameióticos

A partir do cruzamento das linhagens parentais M304-2Ca com X2180-1Bα obteve-se um híbrido denominado MXI. Este sofreu esporulação, micromanipulação e determinação do tipo de reação sexual de seus esporos em ascos completos (tétrades). Os esporos foram cruzados, de acordo

Figura 1. Nomenclatura e formação de híbridos de retrocruzamentos a partir de um asco (tétrade) segregante do híbrido XAHI, resultante do cruzamento das linhagens parentais recorrente X2180-1B e AH22.

com as reações sexuais, com esporos do mesmo asco, originando os híbridos, denominados de intrameióticos (Figura 2). Esta figura ilustra um asco hipotético, com a formação dos possíveis híbridos intrameióticos, a partir de seus esporos originais e a nomenclatura empregada. Os híbridos, assim obtidos, foram micromanipulados, totalizando 20 híbridos viáveis, originados de 5 ascas completos (tétrades).

3.7. Avaliação da Capacidade Fermentativa

Avaliou-se a capacidade fermentativa das linhagens através de ensaios de fermentação controlados e com inóculos padronizados, conforme discriminados a seguir.

3.7.1. Preparo do inóculo

Preparou-se um pré-inóculo em tubos de ensaio contendo 10ml do meio YEPS de multiplicação. Após a inoculação das linhagens, os tubos foram incubados em estufa B.O.D., a 35°C por 24h. Estes tubos foram vertidos completamente em frascos de Erlenmeyer de 250ml, contendo 80ml do mesmo meio e incubados, sob agitação rotatória, a 35°C por 62 horas. Suplementações de 10ml do meio YEPS de alimentação (por linhagem) foram realizadas a intervalos de aproximadamente 15h.

O inóculo foi preparado em tubos de centrífugas de 10ml, após centrifugações (ao redor de 4000G) e pesagens do material centrifugado, na razão de 10%, em relação ao volume final de mosto a ser fermentado (5ml).

Figura 2. Nomenclatura e formação de híbridos intrameióticos a partir de um asco (tétrade) segregante do híbrido MXI resultante do cruzamento das linhagens parentais X2180-1B e M304-2C.

3.7.2. Fermentação

As fermentações foram realizadas em tubos de centrífuga de 10ml, com tampas de papel alumínio estéreis, contendo o volume final de 5ml do meio YEPD fermentação e inóculo de 10%, conforme o item anterior. Após as inoculações, os tubos foram incubados em estufa B.O.D., a 35°C durante 15h. O vinho foi coletado por centrifugação (4000G), permanecendo as células em B.O.D. (35°C), em repouso durante aproximadamente 9h. Posteriormente, adicionou-se novo meio, iniciando uma segunda fermentação, totalizando três fermentações consecutivas com o mesmo inóculo.

3.7.3. Análise do vinho por cromatografia gasosa

Foi realizada diluição 1:100 do vinho, analisando-se o teor alcoólico, em cromatógrafo gasoso CG, modelo 37-D, com sistema de ionização de chama e coluna PAC-2694. O cálculo do teor alcoólico foi realizado em integrador CG-100, programado com padrão 10% de etanol (vol/vol).

3.8. Delineamento Experimental e Modelos Estatísticos

Os ensaios de fermentação foram planejados segundo o delineamento experimental de blocos ao acaso, e arranjo das parcelas subdivididas no tempo. Os tratamentos primários ou parcelas constituíram os vários tratamentos genéticos: linhagens parentais, linhagens testemunhas, linhagens haplóides (esporos segregantes) e linhagens diplóides (híbridos intrameióticos ou de retrocruzamentos). Os tratamentos secundários foram as três fermentações consecutivas e as repetições, os blocos casualizados.

As análises de variância (Teste F) e os testes de comparação de médias (Teste de Tukey) foram realizados de acordo com STEEL & TORRIE, 1980 e GOMES, 1985.

Desenvolveram-se as esperanças dos quadrados médios, considerando um modelo misto, sendo as linhagens de efeito aleatório, e as fermentações consecutivas de efeito fixo. O modelo linear utilizado para o caráter produção de etanol foi:

$$y_{imn} = \mu + L_i + B_m + E_{(im)} + F_n + LF_{in} + K_{(imn)}$$

onde:

y_{imn} = produção de etanol ($^{\circ}\text{GL}$) observada na linhagem i , na repetição m e fermentação n

μ = média

L_i = efeito devido a linhagem i
 $i = 1, \dots, l$ linhagens

B_m = efeito da repetição m
 $m = 1, \dots, r$ repetições

$E_{(im)}$ = efeito do resíduo, ao nível de parcelas

F_n = efeito devido a fermentação n
 $n = 1, \dots, f$ fermentações

LF_{in} = efeito da interação da linhagem i com a fermentação n

$K_{(imn)}$ = efeito do resíduo, ao nível de subparcelas.

Atenção especial foi dada para a decomposição dos tratamentos primários (linhagens) em linhagens haplóides (H) e diplóides (D),

e ao contraste de ploidia H vs D. As linhagens haplóides (esporos segregantes) e as diplóides (híbridos intrameióticos ou de retrocruzamentos) foram decompostas hierarquicamente, nas causas de variação "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos".

Os ascos foram considerados de efeito aleatório, com a ressalva de que dentro do asco, a população é finita, e todos os quatro esporos ou híbridos recuperados.

O modelo decomposto, ao nível de parcelas, para a produção de etanol nas linhagens haplóides e diplóides foram:

$$y_{ij} = \mu + (H_{i(j)} + A_j) \theta + (D_{i(j)} + A_j) \gamma + E_{(ij)}$$

onde:

$\theta = 1$ e $\gamma = 0$ para as linhagens haplóides (H) e

$\theta = 0$ e $\gamma = 1$ para as linhagens diplóides (D) e

y_{ij} = produção de etanol ($^{\circ}\text{GL}$) observada na linhagem i haplóide ou diplóide, do asco j haplóide ou diplóide

μ = média

$H_{i(j)}$ = efeito da linhagem i haplóide, do asco j haplóide

$i = 1, \dots, l_1$ linhagens haplóides

$D_{i(j)}$ = efeito da linhagem i diplóide, do asco j diplóide

$i = 1, \dots, l_2$ linhagens diplóides

A_j = efeito do asco j (haplóide ou diplóide)

$j = 1, \dots, o$ ascos (haplóides ou diplóides)

$E_{(ij)}$ = efeito do resíduo, ao nível de parcelas

A Tabela 1 apresenta as causas de variação e as respectivas esperanças dos quadrados médios ($E(QM)$), para o delineamento e as decomposições sugeridas.

Para as linhagens diplóides, oriundas de esporos segregantes do híbrido XAHI, retrocruzados com as linhagens parentais recorrentes (X2180-1B e AH22), realizou-se uma decomposição adicional, cujas causas de variação foram:

- "Entre retros"(R) = contraste entre os híbridos de retrocruzamentos realizados com uma linhagem parental recorrente versus os híbridos de retrocruzamentos com a outra linhagem parental recorrente.
- "R x A" = interação do asco com as linhagens parentais recorrentes.
- "Hib/A/R" = Entre híbridos de retrocruzamentos de esporos de mesmo asco com um dos parentais recorrentes.

Assim, o modelo linear proposto para a produção de etanol ($^{\circ}GL$) das linhagens diplóides (D), híbridas de retrocruzamentos foi:

$$y_{djgmn} = \mu + R_g + A_j + RA_{gj} + S_d(gj) + B_m + E(dgjm) + F_n + FD_{dgjn} + K(gjdmn)$$

onde:

y_{djgmn} = produção de etanol ($^{\circ}GL$) observado no híbrido d, do asco j, do retrocruzamento g, na fermentação n e repetição m

μ = média

R_g = efeito devido ao retrocruzamento com o parental g

$g = 1, \dots, p$ e $p = 2$ parentais recorrentes

A_j = efeito devido ao asco j diplóide

$j = 1, \dots, o$ o ascas diplóides

Tabela 1. Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, suas causas de variação e as respectivas esperanças dos quadrados médios ($E(QM)$).

CV	QM	$E(QM)$	F
Blocos	Q_1	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + \ell f\sigma_C^2$	Q_1/Q_{10}
Linhagens (L)	Q_2	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + r f\sigma_L^2$	Q_2/Q_{10}
Haplóides (H)	Q_3	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + r f\sigma_{TH}^2$	Q_3/Q_{10}
Entre os ascos	Q_4	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + 4r f\sigma_{aH}^2$	Q_4/Q_{10}
Dentro dos ascos	Q_5	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + r f\sigma_{WH}^2$	Q_5/Q_{10}
Diplóides (D)	Q_6	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + r f\sigma_{TD}^2$	Q_6/Q_{10}
Entre os ascos	Q_7	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + 4r f\sigma_{aD}^2$	Q_7/Q_{10}
Dentro dos ascos	Q_8	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + r f\sigma_{WD}^2$	Q_8/Q_{10}
H vs D	Q_9		Q_9/Q_{10}
Erro (a)	Q_{10}	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2$	
(Parcelas)			
Fermentações (F)	Q_{11}	$\sigma_B^2 + \ell r V_F$	Q_{11}/Q_{13}
L x F	Q_{12}	$\sigma_B^2 + r \left(\frac{f}{f-1} \right) \sigma_{LF}^2$	Q_{12}/Q_{13}
Erro (b)	Q_{13}	σ_B^2	
Total	Q_{14}		

sendo:

ℓ = número de linhagens haplóides e diplóides

f = número de fermentações

r = número de repetições

σ_C^2 = variância devida ao efeito de blocos

σ_L^2 = variância genética entre as linhagens

$\sigma_{aH}^2, \sigma_{aD}^2$ = variância genética "Entre os ascos" (haplóide ou diplóide)

$\sigma_{WH}^2, \sigma_{WD}^2$ = variância genética "Dentro dos ascos" (haplóide ou diplóide)

σ_B^2, σ_e^2 = variâncias ambientais

V_F = variância devida ao efeito de fermentações

σ_{LF}^2 = variância devida ao efeito da interação linhagens e fermentações

σ_{TH}^2 = variância genética total em haplóides

σ_{TD}^2 = variância genética total em diplóides

RA_{gj} = efeito da interação do asco j com o retrocruzamento com o parental g

$S_{d(gj)}$ = efeito do híbrido d , do asco j , do retrocruzamento com o parental g

B_m = efeito devido a repetição m

$m = 1, \dots r$ repetições

$E_{(dgjm)}$ = efeito do resíduo, ao nível de parcelas

F_n = efeito devido a fermentação n

$n = 1, \dots f$ fermentações

FD_{dgjn} = efeito devido a interação de híbrido d do asco j , retrocruzamento com o parental g e a fermentação n

$K_{(dgjmn)}$ = efeito do resíduo, ao nível de subparcelas

Deste modo, determinaram-se as esperanças dos quadrados médios das causas de variação citadas conforme BENNETT & FLANKLIN (1963). A partir destas esperanças isolaram-se as variâncias genéticas contidas nas causas de interesse, conforme a Tabela 2.

3.9. Decomposição da Variância Genética

As variâncias genéticas foram decompostas nas variâncias genéticas aditiva e epistática do tipo aditiva por aditiva, ao nível haplóide e nas variâncias aditiva e dominante ao nível diplóide.

Tabela 2. Análise de variância das linhagens diplóides (híbridos de retrocruzamentos), decomposições e respectivas esperanças dos quadrados médios (E(QM))

CV	QM	E(QM)	F
Blocos	Q_1	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + 4of\sigma_C^2$	Q_1/Q_7
Diplóides (D)	Q_2	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + rf\sigma_{TD}^2$	Q_2/Q_7
Entre retros (R)	Q_3	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + 2rf\sigma_{RA}^2 + 2orf\sigma_R^2$	$\frac{Q_3+Q_6}{Q_5+Q_7}$
Entre os ascos (A)	Q_4	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + 4rf\sigma_{aD}^2$	Q_4/Q_7
R x A	Q_5	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + rf\sigma_{Hib/A/R}^2 + 2rf\sigma_{RA}^2$	Q_5/Q_6
Hib/A/R	Q_6	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2 + rf\sigma_{Hib/A/R}^2$	Q_6/Q_7
Erro (a)	Q_7	$\sigma_B^2 + f\sigma_e^2$	
(Parcelas)			
Fermentações (F)	Q_8	$\sigma_B^2 + 4or V_F$	Q_8/Q_{10}
D x F	Q_9	$\sigma_B^2 + r(\frac{f}{f-1})\sigma_{DF}^2$	Q_9/Q_{10}
Erro (b)	Q_{10}	σ_B^2	
Total	Q_{11}		

sendo:

o = número de ascos diplóides

r = número de repetições

f = número de fermentações

σ_C^2 = variância devida ao efeito de blocos

σ_{TD}^2 = variância genética total em diplóides

σ_R^2 = variância genética entre os retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes

σ_{aD}^2 = variância genética em diplóides "Entre os ascos"

σ_{RA}^2 = variância genética interativa ascos e retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes

$\sigma_{Hib/A/R}^2$ = variância genética entre híbridos de retrocruzamentos de esporos com um dos parentais recorrentes

σ_B^2, σ_e^2 = variâncias ambientais

V_F = variância devida ao efeito fermentações

σ_{DF}^2 = variância devida a interação linhagens (2n) e fermentações

3.10. Composição Genotípica e Frequência Haplóide

Em meiose normal de indivíduos diplóides, cada gene nuclear em heterozigose (B/b) é esperado segregar $2B:2b$. Se um diplóide é heterozigoto em mais de um loco, como no cruzamento $BC \times bc$, a combinação de cada par pode ser considerada independentemente. Se ambos B/b e C/c segregam 2:2, três tipos de tetrades podem ser originados:

Parental Ditípico (PD): BC, BC, bc, bc

Parental não Ditípico (NPD): Bc, Bc, bC, bC

Tetratípico (T): BC, Bc, bC, bc

As frequências relativas de PD, NPD e T dependerão da situação de ligação ou não dos locos envolvidos. Assumindo segregação independente ou distância tal entre os locos, na qual o número de permutação seja elevado e que não ocorram interferências das cromátides, as frequências serão: PD(1/6); NPD(1/6) e T(4/6).

3.10.1. Decomposição fenotípica em haplóides

Admitindo-se que a diferença fenotípica entre $B-b$ e $C-c$ seja de $2\alpha_B$ e $2\alpha_C$, respectivamente, de tal modo que os alelos B e C incrementem a expressão fenotípica em $+\alpha_B$ e $+\alpha_C$, e b e c decrementem em $-\alpha_B$ e $-\alpha_C$, com relação às respectivas médias fenotípicas (o) entre os alelos de cada loco, teremos:

Os esporos segregantes ou produtos meiôticos das tétrades PD, NPD e T, oriundos de um híbrido heterozigoto para dois locos, nas condições mencionadas, foram decompostos fenotipicamente, conforme a Tabela 3.

3.10.2. Determinação da variância genética total em haplóides (σ_{TH}^2)

Agrupando-se os esporos segregantes ou produtos meiôticos (decompostos fenotipicamente na Tabela 3) de acordo com os genótipos e as frequências, obteve-se:

Genótipos	Frequência (f)	Valores fenotípicos(Y)
BC	1/4	$+ \alpha_B + \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$
Bc	1/4	$+ \alpha_B - \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$
bC	1/4	$- \alpha_B + \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$
bc	1/4	$- \alpha_B - \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$

Nesta tabela tem-se para cada genótipo a sua frequência(f) e respectivo valor fenotípico (Y), cujos dados foram aplicados na expressão I, para o cálculo da variância, a partir de classes e frequências (SPIEGEL, 1977; STEEL & TORRIE, 1980).

$$\sigma_Y^2 = \frac{\sum fY^2}{N} - \bar{Y}^2 \quad \text{e} \quad \bar{Y} = \frac{\sum fY}{N} \quad (I)$$

Note-se que, nos somatórios acima, foram adotadas as formas abreviadas nas quais Y e f substituem Y_j e f_j , Σ substitui $\sum_{j=1}^k$ e $\sum_{j=1}^k f_j = N$, obtendo-se a variância genética total em haplóides (α_{TH}^2)

$$\alpha_{TH}^2 = \alpha_B^2 + \alpha_C^2 + (\alpha_B \alpha_C)^2 \quad (II)$$

Tabela 3. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos esporos segregantes das tétrades PD, NPD e T, de um híbrido heterozigoto (BC x bc) para dois locos, com segregações independentes.

Téttrade (f)	Esporo	Y	f
PD (1/6)	BC	$+ \alpha_B + \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$	1/24
	BC	$+ \alpha_B + \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$	1/24
	bc	$- \alpha_B - \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$	1/24
	bc	$- \alpha_B - \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$	1/24
NPD (1/6)	Bc	$+ \alpha_B - \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$	1/24
	Bc	$+ \alpha_B - \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$	1/24
	bC	$- \alpha_B + \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$	1/24
	bC	$- \alpha_B + \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$	1/24
T (4/6)	BC	$+ \alpha_B + \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$	4/24
	Bc	$+ \alpha_B - \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$	4/24
	bC	$- \alpha_B + \alpha_C - \alpha_B \alpha_C$	4/24
	bc	$- \alpha_B - \alpha_C + \alpha_B \alpha_C$	4/24

sendo:

α_B = incremento ou decremento na expressão fenotípica devido aos alelos B ou b, respectivamente

α_C = incremento ou decremento na expressão fenotípica devido aos alelos C ou c, respectivamente

$\alpha_B \alpha_C$ = produto interativo das contribuições alélicas. A ocorrência de um alelo que decremente e outro que incremente, implica em interação negativa e a ocorrência de alelos que incrementem ou decrementem em interação positiva.

3.10.3. Modelo genético

Como a variância genética total em haplóides (σ_{TH}^2) é composta da variância genética aditiva (σ_{AH}^2) e da variância genética aditiva por aditiva em haplóides (σ_{AAH}^2):

$$\sigma_{AH}^2 = \sigma_{AH}^2 + \sigma_{AAH}^2 \quad (III)$$

Por analogia das expressões II e III, definiu-se:

$$\sigma_{AH}^2 = \alpha_B^2 + \alpha_C^2 \quad \text{e} \quad \sigma_{AAH}^2 = (\alpha_B \alpha_C)^2$$

ou seja, a variância genética aditiva em haplóides é o somatório das variâncias genéticas entre os alelos de cada loco, pois:

Loco	alelo	f	Y	Variância genética
B	B	1/2	$+\alpha_B$	$\sigma_B^2 = \alpha_B^2$
	b	1/2	$-\alpha_B$	
C	C	1/2	$+\alpha_C$	$\sigma_C^2 = \alpha_C^2$
	c	1/2	$-\alpha_C$	

$$\text{Assim, } \sigma_{AH}^2 = \alpha_B^2 + \alpha_C^2$$

Observa-se que nesta derivação Y corresponde ao valor fenotípico médio de cada alelo.

3.10.4. Decomposição da variância genética total em haplóides

A variância genética total em haplóides (σ_{TH}^2) foi decomposta nas variâncias genéticas em haplóides "Entre os ascas" (σ_{aH}^2) e "Dentro dos ascas" (σ_{WH}^2).

$$\sigma_{TH}^2 = \sigma_{aH}^2 + \sigma_{WH}^2 \quad (IV)$$

3.10.5. Determinação da variância genética em haplóides "Entre os ascos" (σ_{aH}^2)

Os ascos (tétrades) foram agrupados quanto aos tipos, frequências (f) e respectivos valores fenotípicos (Y).

Tétrade	f	Y
PD	1/6	$+\alpha_B \alpha_C$
NPD	1/6	$-\alpha_B \alpha_C$
T	4/6	0

Aplicando-se esses dados na expressão I (item 3.10.2), para o cálculo de variância, obteve-se a variância genética em haplóides "Entre os ascos" (σ_{aH}^2).

$$\sigma_{aH}^2 = \frac{1}{3}(\alpha_B \alpha_C)^2 \text{ sendo } \sigma_{AAH}^2 = (\alpha_B \alpha_C)^2 \text{ (conforme o item 3.10.3)}$$

$$\text{Logo: } \sigma_{aH}^2 = \frac{1}{3} \sigma_{AAH}^2$$

3.10.6. Determinação da variância genética em haplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WH}^2)

A variância genética em haplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WH}^2) foi determinada pela diferença das expressões III e IV (item 3.10.4).

$$\sigma_{WH}^2 = \sigma_{AH}^2 + \sigma_{AAH}^2 - \frac{1}{3} \sigma_{AAH}^2$$

$$\sigma_{WH}^2 = \sigma_{AH}^2 + \frac{2}{3} \sigma_{AAH}^2$$

3.11. Composição Genotípica dos Híbridos de Retrocruzamentos

Análise dos modelos com um ou dois locos em segregação.

3.12. Modelo com um loco em Segregação

Este modelo pode considerar ou não as reações sexuais das linhagens segregantes e parentais recorrentes, nos retrocruzamentos efetuados..

3.12.1. Retrocruzamentos possíveis para a constituição de uma população diplóide

Considerou-se as linhagens parentais B e b, com relação a um par de alelos (para um loco B) onde B é o alelo responsável pelo acrêscimo na expressão fenotípica do caráter e b, o alelo responsável pelo decrêscimo. Após o cruzamento forma-se um híbrido heterozigoto para o loco. O híbrido (B/b) segregando 2B:2b em uma meiose normal, tiveram esporos combinados com as linhagens parentais recorrentes, em sistemas de retrocruzamentos (dispostos na Tabela 4), efetuando-se a decomposição fenotípica em função do valor que mede o afastamento do homozigoto com relação a diferença fenotípica média dos pais homozigotos (a) e do valor que mede o afastamento do heterozigoto da mesma média (d). Por esta tabela observa-se também, que todas as combinações dos quatro esporos com as linhagens parentais estiveram presentes nos seis arranjos possíveis, portanto, as reações sexuais não foram consideradas.

Tabela 4. Valores fenotípicos (Y) para híbridos de retrocruzamentos possíveis, ou seja, para cada arranjo combinado com os possíveis esporos. Os valores correspondem a diferença do valor fenotípico dos tipos homozigotos e heterozigotos em relação ao valor fenotípico médio dos parentais homozigotos.

	Arranjo 1	Arranjo 2	Arranjo 3	Arranjo 4	Arranjo 5	Arranjo 6
Parental						
Asco	B b	B b	B b	B b	B b	B b
B	$+a_B$	d_B	$+a_B$	d_B	$+a_B$	d_B
B	$+a_B$	d_B	d_B	$+a_B$	d_B	$+a_B$
b	$-a_B$	d_B	d_B	$-a_B$	$-a_B$	d_B
b	$-a_B$	d_B	$-a_B$	d_B	d_B	$-a_B$

(Y)

onde:

$+a_B$ = afastamento do homozigoto BB com relação a diferença fenotípica média (0) entre os parentais homozigotos.

$-a_B$ = afastamento do homozigoto bb com relação a mesma média (0).

$+d_B$ = afastamento do heterozigoto Bb com relação a mesma média (0) (No caso, d_B foi considerado positivo).

Os híbridos, assim formados, foram agrupados de acordo com os arranjos de retrocruzamentos efetuados e as respectivas frequências e valores fenotípicos médios dos ascas obtidos. Assim, a Tabela 5 apresenta os valores fenotípicos médios dos híbridos (média geral), dos híbridos retrocruzados com cada linhagem parental (valor fenotípico médio das linhagens parentais), dos híbridos pertencentes ao mesmo arranjo de retrocruzamento (valor fenotípico médio dos ascas) e dos híbridos pertencentes ao mesmo arranjo e retrocruzados com a mesma linhagem parental.

O que aconteceria com esses valores fenotípicos médios e suas frequências se considerássemos as reações sexuais dos esporos segregantes e das linhagens parentais, nos retrocruzamentos efetuados será discutido no item a seguir.

3.12.2. Retrocruzamentos limitados pelas reações sexuais para a constituição de uma população diplóide

Considerou-se, além dos alelos B e b para o caráter em questão, um marcador genético, como a reação sexual, segregando $2a:2\alpha$. Se partíssemos dos cruzamentos das linhagens parentais haplóides ($\alpha B \times ab$) ou ($aB \times \alpha b$), obteríamos um híbrido heterozigoto, cujas meioses (ascas) poderiam ser classificadas em PD, NPD e T, com as frequências de 1/6, 1/6 e 4/6, respectivamente, caso ocorressem segregações independentes ou ligação tal, que o número de permutas fosse elevado mas, sem interferências das cromátides.

Tabela 5. Frequências (f) e valores fenotípicos médios (Y) para combinações entre os arranjos possíveis com cada tipo parental. Y_A corresponde ao valor fenotípico médio por arranjo e Y_r o valor fenotípico médio por parental. As frequências de cada classe pode ser calculada multiplicando-se as respectivas frequências de cada arranjo pela frequência de cada tipo parental.

Arranjo	(f)	Parental (f)		Y_A
		B(1/2)	b(1/2)	
1	(1/6)	$+a_B$	$-a_B$	0 (zero)
2	(1/6)	d_B	d_B	d_B
3	(1/6)	$+a_{B/2} + d_{B/2}$	$-a_{B/2} + d_{B/2}$	$d_{B/2}$
4	(1/6)	$+a_{B/2} + d_{B/2}$	$-a_{B/2} + d_{B/2}$	$d_{B/2}$
5	(1/6)	$+a_{B/a} + d_{B/2}$	$-a_{B/2} + d_{B/2}$	$d_{B/2}$
6	(1/6)	$+a_{B/2} + d_{B/2}$	$-a_{B/2} + d_{B/2}$	$d_{B/2}$
Y_r		$+a_{B/2} + d_{B/2}$	$-a_{B/2} + d_{B/2}$	$d_{B/2}$ (média geral)

Esses produtos meióticos, correspondentes aos esporos segregantes, quando retrocruzados com as respectivas linhagens parentais e respeitadas as reações sexuais, originam os híbridos de retrocruzamentos (Tabela 6). Nesta tabela 6, os valores fenotípicos ($\bar{Y}$) de todos os híbridos possíveis de serem formados, encontram-se decompostos em função dos parâmetros $\underline{a}$ e $\underline{d}$ definidos no item anterior.

Estes híbridos foram agrupados de acordo com o tipo de tetrade (asco), obtendo-se seus valores fenotípicos médios ($\bar{Y}$). A Tabela 7 apresenta os valores fenotípicos médios dos híbridos (média geral), dos híbridos retrocruzados com cada linhagem parental (valor fenotípico médio das linhagens parentais), dos híbridos originários de mesmo asco (valor fenotípico médio do asco) e dos híbridos de mesmo asco, retrocruzados com a mesma linhagem parental.

Os valores fenotípicos médios independem do tipo de reação sexual das linhagens parentais (B e b), pois a Tabela 7 foi resultante tanto de cruzamento $\underline{a}B \times \underline{a}b$ como de $\underline{a}B \times \underline{a}b$. Observa-se também, que os valores fenotípicos médios e suas frequências (f), foram as mesmas encontradas anteriormente, para a população de híbridos derivados de retrocruzamentos, desconsiderando-se as reações sexuais, conforme a Tabela 5.

Portanto, todas as possibilidades teóricas de formação dos híbridos de retrocruzamentos foram representadas nos dois casos.

3.12.3. Determinação da variância genética total em diplóides para os híbridos de retrocruzamentos (σ_{TD}^2)

A variância σ_{TD}^2 foi calculada através dos valores fenotípicos ($\bar{Y}$) e das frequências (f) dos híbridos apresentados na Tabela 6 e

Tabela 6. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retro cruzamentos obtidos de esporos $\underline{a}$ e $\underline{\alpha}$, de tétrades PD, NPD e T, combinados com as linhagens parentais $\underline{\alpha B}$ e $\underline{ab}$ ou $\underline{aB}$ e $\underline{\alpha b}$.

Téttrade (f)	Esporos	Parental		Esporos	Parental	
		$\underline{\alpha B}$	$\underline{ab}$		$\underline{aB}$	$\underline{\alpha b}$
PD(1/6)	$\underline{\alpha B}$		d_B (Y)	$\underline{aB}$		d_B
	$\underline{\alpha B}$		d_B	$\underline{aB}$		d_B
	$\underline{ab}$	d_B		$\underline{\alpha b}$	d_B	
	$\underline{ab}$	d_B		$\underline{\alpha b}$	d_B	
NDP(1/6)	$\underline{\alpha b}$		$-a_B$	$\underline{ab}$		$-a_B$ (Y)
	$\underline{\alpha b}$		$-a_B$	$\underline{ab}$		$-a_B$
	$\underline{aB}$	$+a_B$		$\underline{\alpha B}$	$+a_B$	
	$\underline{aB}$	$+a_B$		$\underline{\alpha B}$	$+a_B$	
T(4/6)	$\underline{\alpha B}$		d_B	$\underline{\alpha B}$	$+a_B$	
	$\underline{aB}$	$+a_B$		$\underline{aB}$		d_B
	$\underline{\alpha b}$		$-a_B$	$\underline{\alpha b}$	d_B	
	$\underline{ab}$	d_B		$\underline{ab}$		$-a_B$

Tabela 7. Reunião dos híbridos de retrocruzamentos conforme o tipo de asco (tétrades PD, NDP e T), suas frequências (f) e valores fenotípicos médios dos ascos (Y_A), das linhagens parentais (Y_r) e do asco por linhagem parental retrocruzada (Y).

Tétrades (f) (ascos)	Parental (f)		Y_A
	B (1/2)	b (1/2)	
PD(1/6)	d_B	d_B	d_B
NDP(1/6)	(Y) $+a_B$	$-a_B$	0
T(4/6)	$+a_{B/2} + d_{B/2}$	$-a_{B/2} + d_{B/2}$	$d_{B/2}$
Y_r	$+a_{B/2} + d_{B/2}$	$-a_{B/2} + d_{B/2}$	$d_{B/2}$ (média geral)

aplicados na expressão I (item 3.10.2)

$$\sigma_{TD}^2 = \frac{1}{2} a_B^2 + \frac{1}{4} d_B^2$$

3.12.4. Decomposição da variância genética total em diplóides (σ_{TD}^2)

Esta variância σ_{TD}^2 foi decomposta nas variâncias genéticas em diplóides "Entre os ascos" (σ_{aD}^2) e "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2).

3.12.5. Determinação da variância genética em diplóides "Entre os ascos" (σ_{aD}^2)

A partir dos valores fenotípicos médios dos ascos (Y_A) e das frequências (f) das tetrades PD, NPD e T, dados pela Tabela 7 e que foram aplicados na expressão I (item 3.10.2), calculou-se a variância σ_{aD}^2 .

$$\sigma_{aD}^2 = \frac{1}{12} d_B^2$$

3.12.6. Determinação da variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2)

A variância σ_{WD}^2 foi obtida diretamente por diferença das variâncias σ_{TD}^2 e σ_{aD}^2 , conforme o item 3.12.4.

$$\sigma_{WD}^2 = \sigma_{TD}^2 - \sigma_{aD}^2$$

$$\sigma_{WD}^2 = \frac{1}{2} a_B^2 + \frac{1}{6} d_B^2$$

3.12.7. Decomposição da variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2)

Essa variância σ_{WD}^2 foi decomposta nas seguintes variâncias genéticas, determinadas a seguir:

3.12.8. Determinação da variância genética entre as linhagens parentais recorrentes - "Entre retos" (σ_R^2)

A variância σ_R^2 , ou seja, entre as linhagens parentais recorrentes, foi calculada a partir dos valores fenotípicos médios para cada linhagem parental (Y_P) (Tabela 7) e das frequências (f) iguais a 1/2, aplicados na expressão I (item 3.10.2)

$$\sigma_R^2 = \frac{1}{4} a_B^2$$

3.12.9. Determinação da variância genética interativa dos ascos e retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes (σ_{RA}^2)

Essa variância σ_{RA}^2 foi obtida por diferença da variância genética devida às fontes ascos e retrocruzamentos ($\sigma_{R,A}^2$) menos as variâncias individuais em diplóides "Entre os ascos" (σ_{aD}^2) e "Entre retos" (σ_R^2).

$$\sigma_{RA}^2 = \sigma_{R,A}^2 - \sigma_{aD}^2 - \sigma_R^2 \quad (VI)$$

Através dos valores fenotípicos médios (Y) dos ascos por linhagem parental retrocruzada (B ou b) e respectivas frequências (f), dados pela Tabela 7 e que foram aplicados na expressão I (item 3.10.2), obteve-se a variância $\sigma_{R,A}^2$.

$$\sigma_{R,A}^2 = \frac{1}{3} a_B^2 + \frac{1}{12} d_B^2$$

Portanto, a variância σ_{RA} , de acordo com a expressão VI, foi determinada como sendo:

$$\sigma_{RA}^2 = \frac{1}{12} a_B^2$$

3.12.10. Determinação da variância genética entre híbridos de retrocruzamentos de esporos de mesmo asco com um dos parentais recorrentes ($\sigma_{Hib/A/R}^2$)

Sendo a variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2) composta das variâncias genéticas devidas aos efeitos dos retrocruzamentos com as linhagens parentais (σ_R^2), da interação dos ascos com os retrocruzamentos efetuados (σ_{RA}^2) e, dos híbridos de mesmo asco e de retrocruzamentos com o mesmo parental recorrente ($\sigma_{Hib/A/R}^2$), obteve-se a variância $\sigma_{Hib/A/R}^2$ por diferença

$$\sigma_{Hib/A/R}^2 = \sigma_{WD}^2 - \sigma_R^2 - \sigma_{RA}^2 \quad (VII)$$

$$\sigma_{Hib/A/R}^2 = \frac{1}{6} a_B^2 + \frac{1}{6} d_B^2$$

3.12.11. Modelo genético

Definiu-se a variância genética total em diplóides para os híbridos de retrocruzamentos (σ_{TD}^2) como sendo composta das variâncias genéticas aditiva (σ_A^2) e dominante (σ_D^2). Assim:

$$\sigma_{TD}^2 = \frac{1}{2} a_B^2 + \frac{1}{4} d_B^2 \quad (\text{item 3.12.3}) \quad e$$

$$\sigma_{TD}^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2, \quad \text{logo:}$$

$$\sigma_A^2 = \frac{1}{2} a_B^2 \quad e \quad \sigma_D^2 = \frac{1}{4} d_B^2$$

3.12.12. Causas da variação e as variâncias genéticas esperadas

A Tabela 8 resume os principais componentes da variância genética presentes nos híbridos de retrocruzamentos e suas respectivas causas de variação.

3.13. Modelo com dois locos em Segregação combinado ao tipo de reação sexual

Acrescentando-se um loco C, nas mesmas condições do loco B, anteriormente citado (item 3.12.1), teremos um caráter controlado por 2 locos de 2 alelos cada (B,b e C,c), segregando 1:1, onde B e C são os alelos que incrementam a expressão fenotípica e b,c são os alelos que decrementam. Em um híbrido heterozigoto para esses locos, as tétrades PD, NPD e T segregariam nas proporções de 1/6, 1/6 e 4/6, respectivamente, se considerássemos segregações independentes ou ligação com infinitas permutas, sem interferências das cromátides.

Se uma tétrede (PD, NPD ou T) segrega $2a:2\alpha$, com relação às reações sexuais, teremos seis arranjos possíveis de segregações para cada tipo de tétrede (Tabela 9). A constituição genotípica dos esporos segregantes e a classificação das tétrades em PD e NPD dependerá dos alelos estarem em associação ou repulsão nas linhagens parentais, conforme se discrimina a seguir.

Tabela 8. Componentes da variância genética esperados para os híbridos de retrocruzamentos (diplóides) e decomposições

CV	variâncias genéticas esperadas	
Diplóides	$1/2 a_B^2 + 1/4 d_B^2$	$\sigma_A^2 + \sigma_D^2$
Entre os ascos (A)	$1/12 d_B^2$	$1/3 \sigma_D^2$
Dentro dos ascos	$1/2 a_B^2 + 1/6 d_B^2$	$\sigma_A^2 + 2/3 \sigma_D^2$
Entre retos (R)	$1/4 a_B^2$	$1/2 \sigma_A^2$
R x A	$1/12 a_B^2$	$1/6 \sigma_A^2$
Hib/A/R	$1/6 a_B^2 + 1/6 d_B^2$	$1/3 \sigma_A^2 + 2/3 \sigma_D^2$

Tabela 9. Arranjos sexuais possíveis para uma tetrade de esporos definidos (A, B, C, D)

Esporos	Arranjo I	Arranjo II	Arranjo III	Arranjo IV	Arranjo V	Arranjo VI
A	α	a	α	a	a	α
B	α	a	a	α	α	a
C	a	α	α	a	α	a
D	a	α	a	α	a	α

3.13.1. Formação dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes com locos em associação

Partindo de um cruzamento de duas linhagens haplóides, com os locos B e C em associação (BC e bc), obtém-se um híbrido heterozigoto em associação (BC/bc), cuja segregação produz tétrades parentais ditípicas (PD), não parentais ditípicas (NPD) e tetratípicas (T).

Para efeito de composição desta população considerou-se parceladamente a combinação dos tipos de tétrades com os arranjos sexuais, conforme a Tabela 9, em retrocruzamentos com os tipos parentais possíveis respeitados os tipos de reação sexual (MT). Em cada caso, em que se representa cada maiose individualizada com respectivos esporos e seus retrocruzamentos com os possíveis parentais, é feita a estimativa dos valores fenotípicos dos híbridos de retrocruzamentos possíveis de serem obtidos (Y). Para melhor visualização, separam-se os casos numerados de 1 a 12 para cada tipo de tétrede.

a) Arranjo sexual I, tétrede parental ditípico

PD ₁			
I	MT	a	α
	PD	BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	
α	BC	$a_B + a_C$	(Y)
a	bc		$-a_B - a_C$
a	bc		$-a_B - a_C$

PD ₂			
I	MT	α	a
	PD	BC	bc
α	BC		$d_B + d_C$
α	BC		$d_B + d_C$ (Y)
a	bc	$d_B + d_C$	
a	bc	$d_B + d_C$	

b) Arranjo sexual II, téttrade parental ditípico

PD ₃			
	MT	a	α
II	PD	BC	bc
a	BC		$d_B + d_C$
a	BC		$d_B + d_C$ (Y)
α	bc	$d_B + d_C$	
α	bc	$d_B + d_C$	

PD ₄			
	MT	α	a
II	PD	BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	
a	BC	$a_B + a_C$	(Y)
α	bc		$-a_B - a_C$
α	bc		$-a_B - a_C$

c) Arranjo sexual III, téttrade parental ditípico

PD ₅			
	MT	a	α
III	PD	BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	
a	BC		$d_B + d_C$ (Y)
α	bc	$d_B + d_C$	
a	bc		$-a_B - a_C$

PD ₆			
	MT	α	a
III	PD	BC	bc
α	BC		$d_B + d_C$
a	BC	$a_B + a_C$	(Y)
α	bc		$-a_B - a_C$
a	bc	$d_B + d_C$	

d) Arranjo sexual IV, téttrade parental ditípico

PD ₇			
	MT	a	α
IV	PD	BC	bc
a	BC		$d_B + d_C$
α	BC	$a_B + a_C$	(Y)
a	bc		$-a_B - a_C$
α	bc	$d_B + d_C$	

PD ₈			
	MT	α	a
IV	PD	BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	
α	BC		$d_B + d_C$ (Y)
a	bc	$d_B + d_C$	
α	bc		$-a_B - a_C$

e) Arranjo sexual V, téttrade parental ditípico

PD ₉			
	MT	a	α
V	PD	BC	bc
a	BC		$d_B + d_C$
α	BC	$a_B + a_C$	(Y)
α	bc	$d_B + d_C$	
a	bc		$-a_B - a_C$

PD ₁₀			
	MT	α	a
V	PD	BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	
α	BC		$d_B + d_C$ (Y)
α	bc		$-a_B - a_C$
a	bc	$d_B + d_C$	

f) Arranjo sexual VI, téttrade parental ditípico

PD ₁₁			
	MT	a	α
VI	PD	BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	
a	BC		$d_B + d_C$ (Y)
a	bc		$-a_B - a_C$
α	bc	$d_B + d_C$	

PD ₁₂			
	MT	α	a
VI	PD	BC	bc
α	BC		$d_B + d_C$
a	BC	$a_B + a_C$	(Y)
a	bc	$d_B + d_C$	
α	bc		$-a_B - a_C$

g) Arranjo sexual I, téttrade não parental ditípico

NPD ₁			
	MT	a	α
I	NPD	BC	bc
α	Bc	$a_B + d_C$	
α	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
a	bC		$-a_B + d_C$
a	bC		$-a_B + d_C$

NPD ₂			
	MT	α	a
I	NPD	BC	bc
α	Bc		$d_B - a_C$
α	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
a	bC	$d_B + a_C$	
a	bC	$d_B + a_C$	

h) Arranjo sexual II, téttrade não parental ditípico

NPD ₃			
II	MT		α
	a		
NPD		BC	bc
a	Bc		$d_B - a_C$
a	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
α	bC	$d_B + a_C$	
α	bC	$d_B + a_C$	

NPD ₄			
II	MT		a
	α		
NPD		BC	bc
a	Bc	$a_B + d_C$	
a	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
α	bC		$-a_B + d_C$
α	bC		$-a_B + d_C$

i) Arranjo sexual III, téttrade não parental ditípico

NPD ₅			
III	MT		α
	a		
NPD	BC		bc
α	Bc	$a_B + d_C$	
a	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
α	bC	$d_B + a_C$	
a	bC		$-a_B + d_C$

NPD ₆			
III	MT		a
	α		
NPD	BC		bc
α	Bc		$d_B - a_C$
a	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
α	bC		$-a_B + d_C$
a	bC	$d_B + a_C$	

j) Arranjo sexual IV, téttrade não parental ditípico

NPD ₇			
IV	MT		α
	a		
NPD	BC		bc
a	Bc		$d_B - a_C$
α	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
a	bC		$-a_B + d_C$
α	bC	$d_B + a_C$	

NPD ₈			
IV	MT		a
	α		
NPD	BC		bc
a	Bc	$a_B + d_C$	
α	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
a	bC	$d_B + a_C$	
α	bC		$-a_B + d_C$

k) Arranjo sexual V, téttrade não parental ditípico

NPD ₉			
	MT	a	α
V	NPD	BC	bc
a	Bc		$d_B - a_C$
α	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
α	bC	$d_B + a_C$	
a	bC		$-a_B + d_C$

NPD ₁₀			
	MT	α	a
V	NPD	BC	bc
a	Bc	$a_B + d_C$	
α	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
α	bC		$-a_B + d_C$
a	bC	$d_B + a_C$	

l) Arranjo sexual VI, téttrade não parental ditípico

NPD ₁₁			
	MT	a	α
VI	NPD	BC	bc
α	Bc	$a_B + d_C$	
a	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
a	bC		$-a_B + d_C$
α	bC	$d_B + a_C$	

NPD ₁₂			
	MT	α	a
VI	NPD	BC	bc
α	Bc		$d_B - a_C$
a	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
a	bC	$d_B + a_C$	
α	bC		$-a_B + d_C$

m) Arranjo sexual I, téttrade tetratípico

T ₁			
	MT	a	α
I	T	BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	
α	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
a	bC		$-a_B + d_C$
a	bc		$-a_B - a_C$

T ₂			
	MT	α	a
I	T	BC	bc
α	BC		$d_B + d_C$
α	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
a	bC	$d_B + a_C$	
a	bc	$d_B + d_C$	

n) Arranjo sexual II, ttrade tetratpico

T_3			
	MT	a	α
II	T	BC	bc
a	BC		$d_B + d_C$
a	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
α	bC	$d_B + a_C$	
α	bc	$d_B + d_C$	

T_4			
	MT	α	a
II	T	BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	
a	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
α	bC		$-a_B + d_C$
α	bc		$-a_B - a_C$

o) Arranjo sexual III, ttrade tetratpico

T_5			
	MT	a	α
III	T	BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	
a	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
α	bC	$d_B + a_C$	
a	bc		$-a_B - a_C$

T_6			
	MT	α	a
III	T	BC	bc
α	BC		$d_B + d_C$
a	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
α	bC		$-a_B + d_C$
a	bc	$d_B + d_C$	

p) Arranjo sexual IV, ttrade tetratpico

T_7			
	MT	a	α
IV	T	BC	bc
a	BC		$d_B + d_C$
α	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
a	bC		$-a_B + d_C$
α	bc	$d_B + d_C$	

T_8			
	MT	α	a
IV	T	BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	
α	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
a	bC	$d_B + a_C$	
α	bc		$-a_B - a_C$

q) Arranjo sexual V, ttrade tetratpico

T_9			
	MT	a	α
V	T	BC	bc
a	BC		$d_B + d_C$
α	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
α	bC	$d_B + a_C$	
a	bc		$-a_B - a_C$

T_{10}			
	MT	α	a
V	T	BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	
α	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
α	bC		$-a_B + d_C$
a	bc	$d_B + d_C$	

r) Arranjo sexual VI, ttrade tetratpico

T_{11}			
	MT	a	α
VI	T	BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	
a	Bc		$d_B - a_C$ (Y)
a	bC		$-a_B + d_C$
α	bc	$d_B + d_C$	

T_{12}			
	MT	α	a
VI	T	BC	bc
α	BC		$d_B + d_C$
a	Bc	$a_B + d_C$	(Y)
a	bC	$d_B + a_C$	
α	bc		$-a_B - a_C$

3.13.2. Formação dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes com locos em repulsão

O híbrido heterozigoto, originado do cruzamento de linhagens haplóides com os locos B e C em repulsão (Bc e bC), ao esporular produz diferentes tipos de tétrades classificados como parental ditípico (PD), não parental ditípico (NPD) e tetratípico (T). Em comparação com a segregação de híbridos em que os locos estão em associação, verifica-se que a constituição genética destes tipos fica diferente. Para fins de representação da condição em repulsão obteve-se também a população de híbridos e os respectivos valores fenotípicos em que são combinados os arranjos sexuais (Tabela 9), tipos de tétrades e linhagens parentais empregadas no retrocruzamento obedecendo-se aos tipos de reação sexual possíveis. Para melhor visualização separam-se os casos numerados de 1 a 12 para cada tipo de tétrede.

a) Arranjo sexual I, tétrede parental ditípico

PD₁

		MT	a	α
I	PD		Bc	bC
α	Bc		$a_B - a_C$	
α	Bc		$a_B - a_C$	(Y)
a	bC			$-a_B + a_C$
a	bC			$-a_B + a_C$

PD₂

		MT	α	a
I	PD		Bc	bC
α	Bc			$d_B + d_C$
α	Bc			$d_B + d_C$ (Y)
a	bC		$d_B + d_C$	
a	bC		$d_B + d_C$	

b) Arranjo sexual II, ttrade parental ditpico

PD ₃			
	MT	a	α
II	PD	Bc	bC
a	Bc		d_B+d_C
a	Bc		d_B+d_C (Y)
α	bC	d_B+d_C	
α	bC	d_B+d_C	

PD ₄			
	MT	α	a
II	PD	Bc	bC
a	Bc	a_B-a_C	
a	Bc	a_B-a_C	(Y)
α	bC		$-a_B+a_C$
α	bC		$-a_B+a_C$

c) Arranjo sexual III, ttrade parental ditpico

PD ₅			
	MT	a	α
III	PD	Bc	bC
α	Bc	a_B-a_C	
a	Bc		d_B+d_C (Y)
α	bC	d_B+d_C	
a	bC		$-a_B+a_C$

PD ₆			
	MT	α	a
III	PD	Bc	bC
α	Bc		d_B+d_C
a	Bc	a_B-a_C	(Y)
α	bC		$-a_B+a_C$
a	bC	d_B+d_C	

d) Arranjo sexual IV, ttrade parental ditpico

PD ₇			
	MT	a	α
IV	PD	Bc	bC
a	Bc		d_B+d_C
α	Bc	a_B-a_C	(Y)
a	bC		$-a_B+a_C$
α	bC	d_B+d_C	

PD ₈			
	MT	α	a
IV	PD	Bc	bC
a	Bc	a_B-a_C	
α	Bc		d_B+d_C (Y)
a	bC	d_B+d_C	
α	bC		$-a_B+a_C$

e) Arranjo sexual V, téttrade parental ditípico

PD ₉			
	MT	a	α
V	PD	Bc	bC
a	Bc		$d_B + d_C$
α	Bc	$a_B - a_C$	(Y)
α	bC	$d_B + d_C$	
a	bC		$-a_B + a_C$

PD ₁₀			
	MT	α	a
V	PD	Bc	bC
a	Bc	$a_B - a_C$	
α	Bc		$d_B + d_C$ (Y)
α	bC		$-a_B + a_C$
a	bC	$d_B + d_C$	

f) Arranjo sexual VI, téttrade parental ditípico

PD ₁₁			
	MT	a	α
VI	PD	Bc	bC
α	Bc	$a_B - a_C$	
a	Bc		$d_B + d_C$ (Y)
a	bC		$-a_B + a_C$
α	bC	$d_B + d_C$	

PD ₁₂			
	MT	α	a
VI	PD	Bc	bC
α	Bc		$d_B + d_C$
a	Bc	$a_B - a_C$	(Y)
a	bC	$d_B + d_C$	
α	bC		$-a_B + a_C$

g) Arranjo sexual I, téttrade não parental ditípico

NPD ₁			
	MT	a	α
I	NPD	Bc	bC
α	BC	$a_B + d_C$	
α	BC	$a_B + d_C$	(Y)
a	bc		$-a_B + d_C$
a	bc		$-a_B + d_C$

NPD ₂			
	MT	α	a
I	NPD	Bc	bC
α	BC		$d_B + a_C$
α	BC		$d_B + a_C$ (Y)
a	bc	$d_B - a_C$	
a	bc	$d_B - a_C$	

h) Arranjo sexual II, téttrade não parental ditípico

NPD ₃			
II	MT	a	α
	NPD	Bc	bC
a	BC		$d_B + a_C$
a	BC		$d_B + a_C$ (Y)
α	bc	$d_B - a_C$	
α	bc	$d_B - a_C$	

NPD ₄			
II	MT	α	a
	NPD	Bc	bC
a	BC	$a_B + d_C$	
a	BC	$a_B + d_C$	(Y)
α	bc		$-a_B + d_C$
α	bc		$-a_B + d_C$

i) Arranjo sexual III, téttrade não parental ditípico

NPD ₅			
III	MT	a	α
	NPD	Bc	bC
α	BC	$a_B + d_C$	
a	BC		$d_B + a_C$ (Y)
α	bc	$d_B - a_C$	
a	bc		$-a_B + d_C$

NPD ₆			
III	MT	α	a
	NPD	Bc	bC
α	BC		$d_B + a_C$
a	BC	$a_B + d_C$	(Y)
α	bc		$-a_B + d_C$
a	bc	$d_B - a_C$	

j) Arranjo sexual IV, téttrade não parental ditípico

NPD ₇			
IV	MT	a	α
	NPD	Bc	bC
a	BC		$d_B + a_C$
α	BC	$a_B + d_C$	(Y)
a	bc		$-a_B + d_C$
α	bc	$d_B - a_C$	

NPD ₈			
IV	MT	α	a
	NPD	Bc	bC
a	BC	$a_B + d_C$	
α	BC		$d_B + a_C$ (Y)
a	bc	$d_B - a_C$	
α	bc		$-a_B + d_C$

k) Arranjo sexual V, ttrade no parental ditpico

NPD₉

		MT	a	α
V	NPD		Bc	bC
a	BC			$d_B + a_C$
α	BC		$a_B + d_C$	(Y)
α	bc		$d_B - a_C$	
a	bc			$-a_B + d_C$

NPD₁₀

		MT	α	a
V	NPD		Bc	bC
a	BC		$a_B + d_C$	
α	BC			$d_B + a_C$ (Y)
α	bc			$-a_B + d_C$
a	bc		$d_B - a_C$	

l) Arranjo sexual VI, ttrade no parental ditpico

NPD₁₁

		MT	a	α
VI	NPD		Bc	bC
α	BC		$a_B + d_C$	
a	BC			$d_B + a_C$ (Y)
a	bc			$-a_B + d_C$
α	bc		$d_B - a_C$	

NPD₁₂

		MT	α	a
VI	NPD		Bc	bC
α	BC			$d_B + a_C$
a	BC		$a_B + d_C$	(Y)
a	bc		$d_B - a_C$	
α	bc			$-a_B + d_C$

m) Arranjo sexual I, ttrade tetratpico

T₁

		MT	a	α
I	T		Bc	bC
α	BC		$a_B + d_C$	
α	Bc		$a_B - a_C$	(Y)
a	bC			$-a_B + a_C$
a	bc			$-a_B + d_C$

T₂

		MT	α	a
I	T		Bc	bC
α	BC			$d_B + a_C$
α	Bc			$d_B + d_C$ (Y)
a	bC		$d_B + d_C$	
a	bc		$d_B - a_C$	

n) Arranjo sexual II, téttrade tetratípico

T_3			
	MT	a	α
II	T	Bc	bC
a	BC		$d_B + a_C$
a	Bc		$d_B + d_C$ (Y)
α	bC	$d_B + d_C$	
α	bc	$d_B - a_C$	

T_4			
	MT	α	a
II	T	Bc	bC
a	BC	$a_B + d_C$	
a	Bc	$a_B - a_C$	(Y)
α	bC		$-a_B + a_C$
α	bc		$-a_B + d_C$

o) Arranjo sexual III, téttrade tetratípico

T_5			
	MT	a	α
III	T	Bc	bC
α	BC	$a_B + d_C$	
a	Bc		$d_B + d_C$ (Y)
α	bC	$d_B + d_C$	
a	bc		$-a_B + d_C$

T_6			
	MT	α	a
III	T	- Bc	bC
α	BC		$d_B + a_C$
a	Bc	$a_B - a_C$	(Y)
α	bC		$-a_B + a_C$
a	bc	$d_B - a_C$	

p) Arranjo sexual IV, téttrade tetratípico

T_7			
	MT	a	α
IV	T	Bc	bC
a	BC		$d_B + a_C$
α	Bc	$a_B - a_C$	(Y)
a	bC		$-a_B + a_C$
α	bc	$d_B - a_C$	

T_8			
	MT	α	a
IV	T	Bc	bC
a	BC	$a_B + d_C$	
α	Bc		$d_B + d_C$ (Y)
a	bC	$d_B + d_C$	
α	bc		$-a_B + d_C$

q) Arranjo sexual V, ttrade tetratpico

T_9			
	MT	a	α
V	T	Bc	bC
a	BC		$d_B + a_C$
α	Bc	$a_B - a_C$	(Y)
α	bC	$d_B + d_C$	
a	bc		$-a_B + d_C$

T_{10}			
	MT	α	a
V	T	Bc	bC
a	BC	$a_B + d_C$	
α	Bc		$d_B + d_C$ (Y)
α	bC		$-a_B + a_C$
a	bc	$d_B - a_C$	

r) Arranjo sexual VI, ttrade tetratpico

T_{11}			
	MT	a	α
VI	T	Bc	bC
α	BC	$a_B + d_C$	
a	Bc		$d_B + d_C$ (Y)
a	bC		$-a_B + a_C$
α	bc	$d_B - a_C$	

T_{12}			
	MT	α	a
VI	T	Bc	bC
α	BC		$d_B + a_C$
a	Bc	$a_B - a_C$	(Y)
a	bC	$d_B + d_C$	
α	bc		$-a_B + d_C$

3.13.3. Determinação da variância genética total em diplóides, para os híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes com os locos em associação ou repulsão (σ_{TD}^2)

Agrupando os híbridos de retrocruzamentos em associação e repulsão com relação aos genótipos (G), valores fenotípicos (Y) e frequências (f), obteve-se para cada caso:

a) Locos em associação:

G	Y	f
BbCc	$d_B + d_C$	72/288
BBCC	$a_B + a_C$	36/288
bbcc	$-a_B - a_C$	36/288
BBCc	$a_B + d_C$	36/288
bbCc	$-a_B + d_C$	36/288
BbCC	$d_B + a_C$	36/288
Bbcc	$d_B - a_C$	36/288

Aplicando estes dados na expressão I (item 3.10.2) calculou-se a variância genética total em diplóides, para os híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes de locos em associação (σ_{TD1}^2)

$$\sigma_{TD1}^2 = \frac{1}{2} (a_B^2 + a_C^2 + a_B a_C) + \frac{1}{4} (d_B^2 + d_C^2)$$

b) Locos em repulsão:

G	Y	f
BbCc	$d_B + d_C$	72/288
bbCC	$-a_B + a_C$	36/288
BBcc	$a_B - a_C$	36/288
BBCc	$a_B + d_C$	36/288
bbCc	$-a_B + d_C$	36/288
BbCC	$d_B + a_C$	36/288
Bbcc	$d_B - a_C$	36/288

Estes dados aplicados na expressão I (item 3.10.2) permitiu o cálculo da variância genética total em diplóides, para os híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes de locos em repulsão (σ_{TD2}^2)

$$\sigma_{TD2}^2 = \frac{1}{2} (a_B^2 + a_C^2 - a_B a_C) + \frac{1}{4} (d_B^2 + d_C^2)$$

A variância genética total em diplóides foi decomposta nas variâncias genéticas em diplóides "Entre os ascas" (σ_{aD}^2) e "Dentro dos ascas" (σ_{WD}^2).

3.13.4. Determinação da variância genética em diplóides "Entre os ascos" (σ_{AD}^2)

Inicialmente, determinou-se a variância genética em diplóides "Entre os ascos", para cada tipo de tetrade (PD, NPD e T), oriundos de retrocruzamentos com as linhagens parentais de locos em associação, aplicando os valores fenotípicos médios dos ascos (Y) e suas frequências (f) na expressão I (item 3.10.2). Esses valores e as respectivas variâncias genéticas encontram-se nas Tabelas 10, 11 e 12.

Do mesmo modo, determinou-se as variâncias genéticas "Entre os ascos" diplóides PD, NPD e T, oriundos de retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes, possuidoras dos locos B e C em repulsão, conforme as Tabelas 13, 14 e 15, respectivamente.

Observa-se que as variâncias genéticas em diplóides "Entre os ascos" PD, NPD e T em associação ou repulsão, são de mesma natureza e proporções. Portanto, independem da associação ou repulsão dos locos, nas linhagens parentais recorrentes.

Sendo a variância genética diplóide "Entre os ascos" (σ_{AD}^2) a soma das variâncias genéticas "entre os ascos para cada tipo de tetrade" (PD, NPD e T), obteve-se:

$$\sigma_{AD}^2 = \frac{1}{12} (d_B^2 + d_C^2)$$

Tabela 10. Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos PD, dos ascos por parental recorrente com os locos em associação (Y(BC) e Y(bc)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" parentais ditípicos (σ_{PD}^2).

Asco	f	Y	Y(BC)	Y(bc)
PD ₁	1/72	0 (zero)	$a_B + a_C$	$-a_B - a_C$
PD ₂	1/72	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$
PD ₃	1/72	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$
PD ₄	1/72	0 (zero)	$a_B + a_C$	$-a_B - a_C$
PD ₅	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
PD ₆	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
PD ₇	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
PD ₈	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
PD ₉	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
PD ₁₀	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
PD ₁₁	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
PD ₁₂	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$

$$\sigma_{PD}^2 = \frac{1}{72} (d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$$

Tabela 11. Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos NPD, dos ascos por parental recorrente com os locos em associação (Y(BC) e Y(bc)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" não parentais ditípicos (σ_{NPD}^2).

Asco	f	Y	Y(BC)	Y(bc)
NPD ₁	1/72	d _C	a _B +d _C	-a _B +d _C
NPD ₂	1/72	d _B	d _B +a _C	d _B -a _C
NPD ₃	1/72	d _B	d _B +a _C	d _B -a _C
NPD ₄	1/72	d _C	a _B +d _C	-a _B +d _C
NPD ₅	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)
NPD ₆	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)
NPD ₇	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)
NPD ₈	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)
NPD ₉	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)
NPD ₁₀	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)
NPD ₁₁	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)
NPD ₁₂	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B +a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B -a _C +d _B +d _C)

$$\sigma_{\text{NPD}}^2 = \frac{1}{72} (d_B^2 + d_C^2 - 2d_B d_C)$$

Tabela 12. Frequências(f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos T, dos ascos por parental recorrente com os locos em associação (Y(BC) e Y(bc)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" tetratípicos (σ_T^2).

Asco	f	Y	Y(BC)	Y(bc)
T ₁	4/72	$1/2d_C$	$a_B+1/2(a_C+d_C)$	$-a_B+1/2(-a_C+d_C)$
T ₂	4/72	$d_B+1/2d_C$	$d_B+1/2(a_C+d_C)$	$d_B+1/2(-a_C+d_C)$
T ₃	4/72	$d_B+1/2d_C$	$d_B+1/2(a_C+d_C)$	$d_B+1/2(-a_C+d_C)$
T ₄	4/72	$1/2d_C$	$a_B+1/2(a_C+d_C)$	$-a_B+1/2(-a_C+d_C)$
T ₅	4/72	$1/2d_B$	$a_C+1/2(a_B+d_B)$	$-a_C+1/2(-a_B+d_B)$
T ₆	4/72	$d_C+1/2d_B$	$d_C+1/2(a_B+d_B)$	$d_C+1/2(-a_B+d_B)$
T ₇	4/72	$d_C+1/2d_B$	$d_C+1/2(a_B+d_B)$	$d_C+1/2(-a_B+d_B)$
T ₈	4/72	$1/2d_B$	$a_C+1/2(a_B+d_B)$	$-a_C+1/2(-a_B+d_B)$
T ₉	4/72	$1/2(d_B+d_C)$	$1/2(a_B+a_C+d_B+d_C)$	$1/2(-a_B-a_C+d_B+d_C)$
T ₁₀	4/72	$1/2(d_B+d_C)$	$1/2(a_B+a_C+d_B+d_C)$	$1/2(-a_B-a_C+d_B+d_C)$
T ₁₁	4/72	$1/2(d_B+d_C)$	$1/2(a_B+a_C+d_B+d_C)$	$1/2(-a_B-a_C+d_B+d_C)$
T ₁₂	4/72	$1/2(d_B+d_C)$	$1/2(a_B+a_C+d_B+d_C)$	$1/2(-a_B-a_C+d_B+d_C)$

$$\sigma_T^2 = \frac{4}{72} (d_B^2 + d_C^2)$$

Tabela 13. Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos PD, dos ascos por parental recorrente com os locos em repulsão (Y(Bc) e Y(bC)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" parentais ditípicos (σ_{PD}^2).

Asco	f	Y	Y(Bc)	Y(bC)
PD ₁	1/72	0 (zero)	$a_B - a_C$	$-a_B + a_C$
PD ₂	1/72	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$
PD ₃	1/72	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$
PD ₄	1/72	0 (zero)	$a_B - a_C$	$-a_B + a_C$
PD ₅	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
PD ₆	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
PD ₇	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
PD ₈	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
PD ₉	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
PD ₁₀	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
PD ₁₁	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
PD ₁₂	1/72	$1/2(d_B + d_C)$	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$

$$\sigma_{PD}^2 = \frac{1}{72} (d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$$

Tabela 14. Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos NPD dos ascos por parental recorrente com os locos em repulsão (Y(Bc) e Y(bC)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" não parentais ditípicos (σ_{NPD}^2).

Asco	f	Y	Y(Bc)	Y(bC)
NPD ₁	1/72	d _C	a _B +d _C	-a _B +d _C
NPD ₂	1/72	d _B	d _B -a _C	d _B +a _C
NPD ₃	1/72	d _B	d _B -a _C	d _B +a _C
NPD ₄	1/72	d _C	a _B +d _C	-a _B +d _C
NPD ₅	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
NPD ₆	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
NPD ₇	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
NPD ₈	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
NPD ₉	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
NPD ₁₀	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
NPD ₁₁	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
NPD ₁₂	1/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)

$$\sigma_{\text{NPD}}^2 = \frac{1}{72} (d_B^2 + d_C^2 - 2d_B d_C)$$

Tabela 15. Frequências (f), valores fenotípicos médios (Y) dos ascos T, dos ascos por parental recorrente com os locos em repulsão (Y(Bc) e Y(bC)) e a variância genética em diplóides "Entre os ascos" tetratípicos (σ_T^2).

Asco	f	Y	Y(Bc)	Y(bC)
T ₁	4/72	1/2d _C	a _B +1/2(-a _C +d _C)	-a _B +1/2(a _C +d _C)
T ₂	4/72	d _B +1/2d _C	d _B +1/2(-a _C +d _C)	d _B +1/2(a _C +d _C)
T ₃	4/72	d _B +1/2d _C	d _B +1/2(-a _C +d _C)	d _B +1/2(a _C +d _C)
T ₄	4/72	1/2d _C	a _B +1/2(-a _C +d _C)	-a _B +1/2(a _C +d _C)
T ₅	4/72	d _C +1/2d _B	d _C +1/2(a _B +d _B)	d _C +1/2(-a _B +d _B)
T ₆	4/72	1/2d _B	-a _C +1/2(a _B +d _B)	a _C +1/2(-a _B +d _B)
T ₇	4/72	1/2d _B	-a _C +1/2(a _B +d _B)	a _C +1/2(-a _B +d _B)
T ₈	4/72	d _C +1/2d _B	d _C +1/2(a _B +d _B)	d _C +1/2(-a _B +d _B)
T ₉	4/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
T ₁₀	4/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
T ₁₁	4/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)
T ₁₂	4/72	1/2(d _B +d _C)	1/2(a _B -a _C +d _B +d _C)	1/2(-a _B +a _C +d _B +d _C)

$$\sigma_T^2 = \frac{4}{72} (d_B^2 + d_C^2)$$

3.13.5. Determinação da variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2)

A variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" foi determinada por diferença da variância genética total em diplóides, menos a variância genética em diplóide "Entre os ascos", conforme o item 3.12.4. Como a variância genética total em diplóides para os retrocruzamentos com as linhagens parentais em associação ou repulsão dos locos são diferentes, a variância σ_{WD}^2 , também diferirá, de acordo com os locos, portanto:

a) Locos em associação:

$$\sigma_{WD1}^2 = \sigma_{TD1}^2 - \sigma_{aD}^2$$

$$\sigma_{WD1}^2 = \left\{ \frac{1}{2} (a_B^2 + a_C^2 + a_B a_C) + \frac{1}{4} (d_B^2 + d_C^2) \right\} - \frac{1}{12} (d_B^2 + d_C^2)$$

$$\sigma_{WD1}^2 = \frac{1}{2} (a_B^2 + a_C^2 + a_B a_C) + \frac{1}{6} (d_B^2 + d_C^2)$$

b) Locos em repulsão:

$$\sigma_{WD2}^2 = \sigma_{TD2}^2 - \sigma_{aD}^2$$

$$\sigma_{WD2}^2 = \left\{ \frac{1}{2} (a_B^2 + a_C^2 - a_B a_C) + \frac{1}{4} (d_B^2 + d_C^2) \right\} - \frac{1}{12} (d_B^2 + d_C^2)$$

$$\sigma_{WD2}^2 = \frac{1}{12} (a_B^2 + a_C^2 - a_B a_C) + \frac{1}{6} (d_B^2 + d_C^2)$$

Outro modo de determinar a variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" foi através do somatório das variâncias genéticas diplóides, "dentro de cada asco" individual. Nas Tabelas 16, 17 e 18, os va-

lores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos de esporos, de ascos PD, NPD e T, respectivamente, com as linhagens parentais em associação (dos locos B e C), e suas frequências (f), relativas a um asco, quando aplicados na expressão I (item 3.10.2), permitiram determinar a variância genética dentro deste asco, conforme apresentado nestas mesmas tabelas.

Do mesmo modo, para os ascos de híbridos de retrocruzamentos, derivados de esporos de tétrades PD, NPD e T com as linhagens parentais recorrentes com os locos B e C em repulsão, os dados relativos as Tabelas 19, 20 e 21, respectivamente, permitiram determinar as variâncias genéticas "dentro de cada asco" específico.

O somatório dessas variâncias corresponderam às variâncias genéticas em diplóides "Dentro dos ascos", em associação ou repulsão dos locos, encontrados anteriormente.

3.13.6. Decomposição da variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2)

A variância σ_{WD}^2 foi decomposta nas variâncias genéticas: "Entre retros" (σ_R^2), interativa dos ascos e retrocruzamentos com as linhagens parentais (σ_{RA}^2), e entre híbridos de retrocruzamentos de esporos de mesmo asco com um dos parentais recorrentes ($\sigma_{Hib/A/R}^2$).

$$\sigma_{WD}^2 = \sigma_R^2 + \sigma_{RA}^2 + \sigma_{Hib/A/R}^2 \quad (VIII)$$

Tabela 16. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em associação dos locos (BC e bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco parental ditípico (PD).

Asco	f	BC	f	bc	f	variância genética dentro de asco
PD ₁	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	$a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C$
		$a_B + a_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₂	$\frac{1}{72}$	$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	0 (zero)
		$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	
PD ₃	$\frac{1}{72}$	$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	0 (zero)
		$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	
PD ₄	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	$a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C$
		$a_B + a_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₅	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₆	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₇	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₈	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₉	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₁₀	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₁₁	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	
PD ₁₂	$\frac{1}{72}$	$a_B + a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B - a_C$	1/4	

Tabela 17. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em associação dos locos (BC e bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco não parental ditípico (NPD).

Asco	f	BC	f	bc	f	variância genética dentro do asco
NPD ₁	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	a_B^2
		$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₂	$\frac{1}{72}$	$d_B + a_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	a_C^2
		$d_B + a_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	
NPD ₃	$\frac{1}{72}$	$d_B + a_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	a_C^2
		$d_B + a_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	
NPD ₄	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	a_B^2
		$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₅	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₆	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₇	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₈	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₉	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₁₀	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₁₁	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₁₂	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B - a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	

Tabela 18. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em associação dos locos (BC e bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco tetratípico (T).

Asco	f	BC	f	bc	f	variância genética dentro do asco
T ₁	$\frac{4}{72}$	$a_B + a_C$ $a_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$-a_B + d_C$ $-a_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$a_B^2 + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_C^2}{4}$
T ₂	$\frac{4}{72}$	$d_B + a_C$ $d_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B + d_C$ $d_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{d_B^2}{4}$
T ₃	$\frac{4}{72}$	$d_B + a_C$ $d_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B + d_C$ $d_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{d_B^2}{4}$
T ₄	$\frac{4}{72}$	$a_B + a_C$ $a_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$-a_B + d_C$ $-a_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$a_B^2 + \frac{a_C^2}{2} + a_B a_C + \frac{d_C^2}{4}$
T ₅	$\frac{4}{72}$	$a_B + a_C$ $d_B + a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B - a_C$ $-a_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + a_C^2 + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4}$
T ₆	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B + d_C$ $-a_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{d_B^2}{4}$
T ₇	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B + d_C$ $-a_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{d_B^2}{4}$
T ₈	$\frac{4}{72}$	$a_B + a_C$ $d_B + a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B - a_C$ $-a_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + a_C^2 + a_B a_C + \frac{d_B^2}{4}$
T ₉	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B + a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B + d_C$ $-a_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{a_C d_B}{2} + \frac{a_B d_C}{2}$
T ₁₀	$\frac{4}{72}$	$a_B + a_C$ $d_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B - a_C$ $-a_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{a_C d_B}{2} - \frac{a_B d_C}{2}$
T ₁₁	$\frac{4}{72}$	$a_B + a_C$ $d_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B - a_C$ $-a_B + d_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{a_C d_B}{2} - \frac{a_B d_C}{2}$
T ₁₂	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B + a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$d_B + d_C$ $-a_B - a_C$	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{4}$	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{a_C d_B}{2} + \frac{a_B d_C}{2}$

Tabela 19. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em repulsão dos locos (bC e Bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco parental ditípico (PD).

Asco	f	Bc	f	bC	f	variância genética dentro do asco
PD ₁	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	$a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C$
		$a_B - a_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₂	$\frac{1}{72}$	$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	0 (zero)
		$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	
PD ₃	$\frac{1}{72}$	$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	0 (zero)
		$d_B + d_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	
PD ₄	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	$a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C$
		$a_B - a_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₅	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₆	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₇	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₈	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₉	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₁₀	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₁₁	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	
PD ₁₂	$\frac{1}{72}$	$a_B - a_C$	1/4	$d_B + d_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B + d_C$	1/4	$-a_B + a_C$	1/4	

Tabela 20. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em repulsão dos locos (bC e Bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco não parental ditípico (NPD).

Asco	f	Bc	f	bC	f	variância genética dentro do asco
NPD ₁	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	a_B^2
		$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₂	$\frac{1}{72}$	$d_B - a_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	a_C^2
		$d_B - a_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	
NPD ₃	$\frac{1}{72}$	$d_B - a_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	a_C^2
		$d_B - a_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	
NPD ₄	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	a_B^2
		$a_B + d_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₅	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₆	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₇	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₈	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₉	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₁₀	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₁₁	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	
NPD ₁₂	$\frac{1}{72}$	$a_B + d_C$	1/4	$d_B + a_C$	1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} - \frac{d_B d_C}{2}$
		$d_B - a_C$	1/4	$-a_B + d_C$	1/4	

Tabela 21. Frequências (f) e valores fenotípicos (Y) dos híbridos de retrocruzamentos com as linhagens parentais em repulsão dos locos (bC e Bc) e as variâncias genéticas dentro de cada asco tetratípico (T).

Asco	f	Bc	f	bC	f	variância genética dentro do asco
T ₁	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $a_B - a_C$	1/4 1/4	$-a_B + a_C$ $-a_B + d_C$	1/4 1/4	$a_B^2 + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_C^2}{4} - a_B a_C$
T ₂	$\frac{4}{72}$	$d_B + d_C$ $d_B - a_C$	1/4 1/4	$d_B + a_C$ $d_B + d_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + a_C^2 - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4}$
T ₃	$\frac{4}{72}$	$d_B + d_C$ $d_B - a_C$	1/4 1/4	$d_B + a_C$ $d_B + d_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + a_C^2 - a_B a_C + \frac{d_B^2}{4}$
T ₄	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $a_B - a_C$	1/4 1/4	$-a_B + a_C$ $-a_B + d_C$	1/4 1/4	$a_B^2 + \frac{a_C^2}{2} + \frac{d_C^2}{4} - a_B a_C$
T ₅	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B + d_C$	1/4 1/4	$d_B + d_C$ $-a_B + d_C$	1/4 1/4	$\frac{a_C^2}{2} + \frac{d_C^2}{4}$
T ₆	$\frac{4}{72}$	$a_B - a_C$ $d_B - a_C$	1/4 1/4	$d_B + a_C$ $-a_B + a_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{d_B^2}{4}$
T ₇	$\frac{4}{72}$	$a_B - a_C$ $d_B - a_C$	1/4 1/4	$d_B + a_C$ $-a_B + a_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{d_B^2}{4}$
T ₈	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B + d_C$	1/4 1/4	$d_B + d_C$ $-a_B + d_C$	1/4 1/4	$\frac{a_C^2}{2} + \frac{d_C^2}{4}$
T ₉	$\frac{4}{72}$	$a_B - a_C$ $d_B + d_C$	1/4 1/4	$d_B + a_C$ $-a_B + d_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{a_C d_B}{2} - \frac{a_B d_C}{2}$
T ₁₀	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B - a_C$	1/4 1/4	$d_B + d_C$ $-a_B + a_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{a_B d_C}{2} - \frac{a_C d_B}{2}$
T ₁₁	$\frac{4}{72}$	$a_B + d_C$ $d_B - a_C$	1/4 1/4	$d_B + d_C$ $-a_B + a_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{a_B d_C}{2} - \frac{a_C d_B}{2}$
T ₁₂	$\frac{4}{72}$	$a_B - a_C$ $d_B + d_C$	1/4 1/4	$d_B + a_C$ $-a_B + d_C$	1/4 1/4	$\frac{a_B^2}{2} + \frac{a_C^2}{2} - \frac{a_B a_C}{2} + \frac{d_B^2}{4} + \frac{d_C^2}{4} + \frac{a_C d_B}{2} - \frac{a_B d_C}{2}$

3.13.7. Determinação da variância genética entre as linhagens parentais recorrentes - "Entre retos" (σ_R^2)

A variância genética entre os retrocruzamentos realizados com as linhagens parentais recorrentes em associação ou repulsão dos locos B e C foi determinada a partir dos valores fenotípicos médios (Y) e frequências (f) para cada linhagem parental recorrente (R).

Portanto:

a) Locos em associação:

(R)	BC	bc
(Y)	$1/2(a_B + a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B - a_C + d_B + d_C)$
(f)	1/2	1/2

Estes dados aplicados na expressão I (item 3.10.2) permitiram calcular a variância genética entre as linhagens parentais recorrentes em associação (σ_{R1}^2):

$$\sigma_{R1}^2 = 1/4 (a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C)$$

b) Locos em repulsão:

(R)	Bc	bC
(Y)	$1/2(a_B - a_C + d_B + d_C)$	$1/2(-a_B + a_C + d_B + d_C)$
(f)	1/2	1/2

Aplicando os dados acima na expressão I (item 3.10.2), calculou-se a variância genética entre as linhagens parentais recorrentes em repulsão (σ_{R2}^2).

$$\sigma_{R2}^2 = 1/4(a_B^2 + a_C^2 - 2a_B a_C)$$

3.13.8. Determinação da variância genética interativa dos ascos e retrocruzamentos com as linhagens parentais recorrentes em associação ou repulsão dos locos (σ_{RA}^2)

A variância genética devida a interação "asco x retro" (σ_{RA}^2) foi obtida por diferença da variância genética total devida as fontes ascos e retrocruzamentos efetuados ($\sigma_{R,A}^2$), menos as variâncias individuais: σ_{aD}^2 ("Entre os ascos" em diplóides) e σ_R^2 ("Entre os retros"), conforme a expressão VI (item 3.12.9).

$$\sigma_{RA}^2 = \sigma_{R,A}^2 - \sigma_{aD}^2 - \sigma_R^2$$

Através das frequências (f) e dos valores fenotípicos médios (Y) dos ascos PD, NPD e T por linhagem parental retrocruzada, com os locos em associação (BC e bc) ou repulsão (Bc e bC), determinou-se a variância $\sigma_{R,A}^2$. Portanto:

a) Locos em associação:

Os dados das Tabelas 10, 11 e 12 foram aplicados na expressão I (item 3.10.2) e a variância $\sigma_{R,A1}^2$ determinada.

$$\sigma_{R,A1}^2 = \frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{1}{2} a_B a_C + \frac{1}{12} (d_B^2 + d_C^2)$$

Substituindo $\sigma_{R,A1}^2$; σ_{R1}^2 e σ_{AD}^2 , na expressão VI (item 3.12.9) obteve-se a variância interativa σ_{RA1}^2 , para os locos em associação.

$$\sigma_{RA1}^2 = \frac{1}{12} (a_B^2 + a_C^2)$$

b) Locos em repulsão:

Os dados das Tabelas 13, 14 e 15 foram aplicados na expressão I (item 3.10.2) e a variância $\sigma_{R,A2}^2$ determinada.

$$\sigma_{R,A2}^2 = \frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) - \frac{1}{2} a_B^2 a_C^2 + \frac{1}{12} (d_B^2 + d_C^2)$$

Substituindo $\sigma_{R,A2}^2$; σ_{R2}^2 e σ_{AD}^2 na expressão VI (item 3.12.9) obteve-se a interação σ_{RA2}^2 , para os locos em repulsão

$$\sigma_{RA2}^2 = \frac{1}{12} (a_B^2 + a_C^2)$$

Conforme demonstrado, essa variância σ_{RA}^2 independe dos locos estarem em associação ou repulsão.

3.13.9. Determinação da variância genética entre híbridos de retrocruzamentos de esporos de mesmo asco com um dos parentais recorrentes com os locos em associação ou repulsão ($\sigma_{Hib/A/R}^2$)

Do mesmo modo que no modelo com um loco em segregação, obteve-se a variância $\sigma_{Hib/A/R}^2$ por diferença (item 3.12.10). As substituições consideraram o fato dos locos estarem em associação ou repulsão nas linhagens parentais.

a) Locos em associação:

Substituindo as variâncias da expressão VII (item 3.12.10) pelas variâncias correspondentes em associação (σ_{WD1}^2 , σ_{R1}^2 e σ_{RA1}^2), obteve-se:

$$\sigma_{Hib/A/R1}^2 = \sigma_{WD1}^2 - \sigma_{R1}^2 - \sigma_{RA1}^2$$

$$\sigma_{Hib/A/R1}^2 = \frac{1}{6} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{1}{6} (d_B^2 + d_C^2)$$

b) Locos em repulsão:

Substituindo as variâncias da expressão VII (item 3.12.10) pelas variâncias correspondentes em repulsão (σ_{WD2}^2 , σ_{R2}^2 e σ_{RA2}^2), obteve-se:

$$\sigma_{Hib/A/R2}^2 = \sigma_{WD2}^2 - \sigma_{R2}^2 - \sigma_{RA2}^2$$

$$\sigma_{Hib/A/R2}^2 = \frac{1}{6} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{1}{6} (d_B^2 + d_C^2)$$

Esta variância genética $\sigma_{Hib/A/R}^2$ também independe dos locos estarem em associação ou repulsão, nas linhagens parentais recorrentes.

3.13.10. Causas da variação e as variâncias genéticas esperadas

A Tabela 22 resume os principais componentes da variância genética, presentes nos híbridos de retrocruzamentos, derivados a partir do modelo de segregação de dois locos (em associação ou repulsão) e suas respectivas causas da variação. Além de tais componentes estarem em função dos valores de desvios fenotípicos ao quadrado (a^2 e d^2), definidos anteriormente (conforme o item 3.12.1), foi observada uma correlação dos des

Tabela 22. Componentes da variância genética em diplóides (híbridos de retrocruzamentos) e suas decomposições, derivadas a partir de dois locos em associação ou repulsão

C.V.	Componentes da variância genética	
	Locos em associação	Locos em repulsão
Diplóides	$1/2(a_B^2 + a_C^2) + 1/2a_B a_C + 1/4(d_B^2 + d_C^2)$	$1/2(a_B^2 + a_C^2) - 1/2a_B a_C + 1/4(d_B^2 + d_C^2)$
Entre os ascos (A)	$1/12(d_B^2 + d_C^2)$	$1/12(d_B^2 + d_C^2)$
Dentro dos ascos	$1/2(a_B^2 + a_C^2) + 1/2a_B a_C + 1/6(d_B^2 + d_C^2)$	$1/2(a_B^2 + a_C^2) - 1/2a_B a_C + 1/6(d_B^2 + d_C^2)$
Entre retos (R)	$1/4(a_B^2 + a_C^2) + 1/2a_B a_C$	$1/4(a_B^2 + a_C^2) - 1/2a_B a_C$
R x A	$1/12(a_B^2 + a_C^2)$	$1/12(a_B^2 + a_C^2)$
Hib/A/R	$1/6(a_B^2 + a_C^2) + 1/6(d_B^2 + d_C^2)$	$1/6(a_B^2 + a_C^2) + 1/6(d_B^2 + d_C^2)$

vios em relação aos homozigotos ($a_p a_c$), cujo sinal dependia dos locos estarem em associação ou repulsão, nas linhagens parentais recorrentes.

Admitindo um sistema onde o mesmo número de locos divergentes (controlando o caráter) nas linhagens parentais ocorressem em associação e repulsão, essas correlações se anulariam, podendo ser o modelo extrapolado para muitos locos (Tabela 23).

Definindo a variância genética aditiva (σ_A^2), em função dos efeitos de a^2 , e a variância genética dominante (σ_D^2), em função dos efeitos de d^2 , obteve-se os componentes esperados da variância genética presentes nas causas de variação, conforme a mesma Tabela 23.

A partir do momento em que não se conhecem os locos em associação e/ou repulsão, ou suas frequências de ocorrência, e para que isto não interferisse nas estimativas das variâncias genéticas, optou-se por obter essas estimativas (de σ_A^2 e σ_D^2) a partir das causas de variação cujos os componentes esperados fossem somente em função dos parâmetros a^2 e d^2 .

3.13.11. Obtenção das estimativas das variâncias genéticas

aditiva (σ_A^2) e dominante (σ_D^2)

Deste modo, utilizando-se das causas de variação que não dependessem da associação ou repulsão dos locos, nas linhagens parentais, observou-se que a causa da variação "Entre os ascos" em diplóides fornecia uma primeira estimativa da variância genética dominante; a interação "RxA", uma primeira estimativa da variância genética aditiva e "Hib/A/R", uma segunda estimativa de ambas as variâncias (Tabela 23).

Tabela 23. Componentes da variância genética esperada e derivada para muitos locos, em diplóides (híbridos de retrocruzamentos).

C.V.	Componentes da variância genética	
	Muitos locos	esperada
Diplóides	$1/2\Sigma a^2 + 1/4\Sigma d^2$	$\sigma_A^2 + \sigma_D^2$
Entre os ascos (A)	$1/12\Sigma d^2$	$1/3\sigma_D^2$
Dentro dos ascos	$1/2\Sigma a^2 + 1/6\Sigma d^2$	$\sigma_A^2 + 2/3\sigma_D^2$
Entre retros (R)	$1/4\Sigma a^2$	$1/2\sigma_A^2$
R x A	$1/12\Sigma a^2$	$1/6\sigma_A^2$
Hib/A/R	$1/6\Sigma a^2 + 1/6\Sigma d^2$	$1/3\sigma_A^2 + 2/3\sigma_D^2$

Como há duas maneiras de estimarmos cada variância σ_A^2 e σ_D^2 , aplicou-se o método de quadrados mínimos, conforme STEEL & TORRIE (1980), visando um melhor ajuste.

3.14. Composição genotípica dos híbridos intrameióticos

As considerações apresentadas para os híbridos de retrocruzamentos no modelo com dois locos em segregação (ver o item 3.13), são válidas também para este caso.

3.14.1. Formação e decomposição fenotípica dos híbridos intrameióticos

De forma similar àquela efetuada para a população de retrocruzamentos, obteve-se a população de híbridos intrameióticos. Desta forma, combinaram-se tétrades, arranjos sexuais (Tabela 9) e todos os possíveis cruzamentos dentro de cada asco, respeitando-se o tipo de reação sexual dos esporos. Os híbridos intrameióticos derivados de tétrades PD, NPD e T foram decompostos fenotipicamente em função do valor (a), que mede o afastamento de cada loco homozigoto com relação a diferença fenotípica média (o) de seus pais homozigotos, e do valor (d), que mede o afastamento do loco heterozigoto da mesma média. Assim:

a) Formação de híbridos intrameióticos obedecendo a natureza sexual dos esporos segregantes em combinações de diferentes tétrades parentais ditípicos (PD):

Tétrade PD Genótipos	arranjos sexuais					
	I	II	III	IV	V	VI
BC	α	a	α	a	a	α
BC	α	a	a	α	α	a
bc	a	α	α	a	α	a
bc	a	α	a	α	a	α

Arranjo I x I

		a	a
		bc	bc
α	BC	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$
α	BC	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$

Arranjo II x II

		α	α
		bc	bc
a	BC	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$
a	BC	$d_B + d_C$	$d_B + d_C$

Arranjo III x III

		a	a
		BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	$d_B + d_C$
α	bc	$d_B + d_C$	$-a_B - a_C$

Arranjo IV x IV

		α	α
		BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	$d_B + d_C$
a	bc	$d_B + d_C$	$-a_B - a_C$

Arranjo V x V

		a	a
		BC	bc
α	BC	$a_B + a_C$	$d_B + d_C$
α	bc	$d_B + d_C$	$-a_B - a_C$

Arranjo VI x VI

		α	α
		BC	bc
a	BC	$a_B + a_C$	$d_B + d_C$
a	bc	$d_B + d_C$	$-a_B - a_C$

b) Formação de híbridos intrameióticos obedecendo a natureza sexual dos esporos segregantes em combinações de diferentes tétrades não parentais ditípicas (NPD).

Genótipos	Tétrade NPD					
	arranjos sexuais					
	I	II	III	IV	V	VI
bC	α	a	α	a	a	α
bC	α	a	a	α	α	a
Bc	a	α	α	a	α	a
Bc	a	α	a	α	a	α

Arranjo I x I

	a	a
	Bc	Bc
α bC	d_B+d_C	d_B+d_C
α bC	d_B+d_C	d_B+d_C

Arranjo II x II

	α	α
	Bc	Bc
a bC	d_B+d_C	d_B+d_C
a bC	d_B+d_C	d_B+d_C

Arranjo III x III

	a	a
	bC	Bc
α bC	$-a_B+a_C$	d_B+d_C
α Bc	d_B+d_C	a_B-a_C

Arranjo IV x IV

	α	α
	bC	Bc
a bC	$-a_B+a_C$	d_B+d_C
a Bc	d_B+d_C	a_B-a_C

Arranjo V x V

	a	a
	bC	Bc
α bC	$-a_B+a_C$	d_B+d_C
α Bc	d_B+d_C	a_B-a_C

Arranjo VI x VI

	α	α
	bC	Bc
a bC	$-a_B+a_C$	d_B+d_C
a Bc	d_B+d_C	a_B-a_C

c) Formação de híbridos intrameióticos obedecendo a natureza sexual dos esporos segregantes em combinações de diferentes tétrades tetratípicos.

Genótipos	Tétrede T arranjos sexuais					
	I	II	III	IV	V	VI
BC	α	a	α	a	a	α
bC	α	a	a	α	α	a
Bc	a	α	α	a	α	a
bc	a	α	a	α	a	α

Arranjo I x I

		a	a
		Bc	bc
α	BC	$a_B + d_C$	$d_B + d_C$
α	bC	$d_B + d_C$	$-a_B + d_C$

Arranjo II x II

		α	α
		Bc	bc
a	BC	$a_B + d_C$	$d_B + d_C$
a	bC	$d_B + d_C$	$-a_B + d_C$

Arranjo III x III

		a	a
		bC	bc
α	BC	$d_B + a_C$	$d_B + d_C$
α	Bc	$d_B + d_C$	$d_B - a_C$

Arranjo IV x IV

		α	α
		bC	bc
a	BC	$d_B + a_C$	$d_B + d_C$
a	Bc	$d_B + d_C$	$d_B - a_C$

Arranjo V x V

		a	a
		BC	bc
α	bC	$d_B + a_C$	$-a_B + d_C$
α	Bc	$a_B + d_C$	$d_B - a_C$

Arranjo VI x VI

		α	α
		BC	bc
a	bC	$d_B + a_C$	$-a_B + d_C$
a	Bc	$a_B + d_C$	$d_B - a_C$

3.14.2. Determinação da variância genética total em diplóides para os híbridos intrameiótico (σ_{TD}^2)

Os híbridos intrameióticos foram agrupados pelos genótipos (G), seus valores fenotípicos (Y) e frequências (f), que aplicados na expressão I (item 3.10.2) de cálculo de variância forneceu a variância genética total em diplóides para os híbridos intrameióticos (σ_{TD}^2). Portanto:

G	Y	f
BBCC	$a_B + a_C$	4/144
Bbcc	$-a_B - a_C$	4/144
BBcc	$a_B - a_C$	4/144
bbCC	$-a_B + a_C$	4/144
BbCc	$d_B + d_C$	64/144
BBCc	$a_B + d_C$	16/144
BbCC	$d_B + a_C$	16/144
bbCc	$-a_B + d_C$	16/144
Bbcc	$d_B - a_C$	16/144

$$\sigma_{TD}^2 = \frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{2}{9} (d_B^2 + d_C^2)$$

3.14.3. Decomposição da variância genética total em diplóides

A variância genética σ_{TD}^2 foi decomposta nas variâncias genéticas em diplóides "Entre os ascas" (σ_{ad}^2) e "Dentro dos ascas" (σ_{WD}^2), para os híbridos intrameióticos.

3.14.4. Determinação da variância genética em diplóides

"Entre os ascos" (σ_{aD}^2)

Os híbridos intrameióticos agrupados em seus ascos originais apresentam um valor fenotípico médio do asco (Y) e frequência (f) (Tabela 24), que aplicados na expressão I (item 3.10.2) possibilitou a determinação da variância genética em diplóides "Entre os ascos" (σ_{aD}^2)

$$\sigma_{aD}^2 = \frac{1}{18} (d_B^2 + d_C^2)$$

3.14.5. Determinação da variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2)

A variância genética em diplóides "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2), para os híbridos intrameióticos foi isolada a partir da variância genética em diplóides (σ_{TD}^2) menos a variância genética em diplóides "Entre os ascos" (σ_{aD}^2)

$$\sigma_{WD}^2 = \frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{1}{6} (d_B^2 + d_C^2)$$

Isso foi comprovado calculando-se a variância dentro de cada asco individual através dos valores fenotípicos (Y) de cada híbrido e frequência (f) de 1/4. Os valores relativos a cada asco, aplicados na expressão I (item 3.10.2), permitiram calcular a variância dentro do asco em questão. O somatório dessas variâncias individuais ponderadas pelas respectivas frequências de ocorrência dos ascos forneceu a variância genética em diplóides "Dentro dos casos" (σ_{WD}^2), de acordo com a Tabela 25.

Tabela 24. Valor fenotípico médio (Y) dos ascos(tétrades) para os híbridos intrameióticos e frequências (f)

Asco (tétrade)	Y	f
PD _I	$d_B + d_C$	1/36
PD _{II}	$d_B + d_C$	1/36
PD _{III}	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
PD _{IV}	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
PD _V	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
PD _{VI}	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
NPD _I	$d_B + d_C$	1/36
NPD _{II}	$d_B + d_C$	1/36
NPD _{III}	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
NPD _{IV}	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
NPD _V	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
NPD _{VI}	$1/2(d_B + d_C)$	1/36
T _I	$d_C + \frac{1}{2} d_B$	4/36
T _{II}	$d_C + \frac{1}{2} d_B$	4/36
T _{III}	$d_B + \frac{d_C}{2}$	4/36
T _{IV}	$d_B + \frac{d_C}{2}$	4/36
T _V	$1/2(d_B + d_C)$	4/36
T _{VI}	$1/2(d_B + d_C)$	4/36

Tabela 25. Variâncias genéticas dentro de cada asco (tétrade), suas frequências (f) e a variância genética "Dentro dos ascos" para os híbridos intrameióticos.

Asco (tétrade)	f	Variância genética dentro do asco
PD _I	1/36	0 (zero)
PD _{II}	1/36	0 (zero)
PD _{III}	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
PD _{IV}	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
PD _V	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
PD _{VI}	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 + 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
NPD _I	1/36	0 (zero)
NPD _{II}	1/36	0 (zero)
NPD _{III}	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 - 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
NPD _{IV}	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 - 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
NPD _V	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 - 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
NPD _{VI}	1/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2 - 2a_B a_C) + 1/4(d_B^2 + d_C^2 + 2d_B d_C)$
T _I	4/36	$a_C^2/2 + d_C^2$
T _{II}	4/36	$a_C^2/2 + d_C^2$
T _{III}	4/36	$a_B^2/2 + d_B^2$
T _{IV}	4/36	$a_B^2/2 + d_B^2$
T _V	4/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2) + d_B^2 + d_C^2 - 2d_B d_C$
T _{VI}	4/36	$1/2(a_B^2 + a_C^2) + d_B^2 + d_C^2 - 2d_B d_C$
Variância genética "Dentro dos ascos"		$\frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{1}{6} (d_B^2 + d_C^2)$

3.14.6. Causas da variação e as variâncias genéticas esperadas

A Tabela 26 resume os principais componentes da variância genética total para os híbridos intrameióticos (diplóides) e as decomposições "entre e dentro dos ascos", a partir da segregação de dois locos e sua derivação para muitos locos.

Tabela 26. Componentes esperados da variância genética para os híbridos intrameióticos (diplóides) e suas decomposições.

	Componentes da variância genética	
	Dois locos	Muitos locos
Diplóides	$1/3(a_B^2 + a_C^2) + 2/9(d_B^2 + d_C^2)$	$1/3\sum a^2 + 2/9\sum d^2$
Entre os ascos	$1/18(d_B^2 + d_C^2)$	$1/18\sum d^2$
Dentro dos ascos	$1/3(a_B^2 + a_C^2) + 1/6(d_B^2 + d_C^2)$	$1/3\sum a^2 + 1/6\sum d^2$

3.14.7. Modelo genético

Definiu-se a variância genética total para os híbridos intrameióticos (σ_{TD}^2) como sendo composta das variâncias genéticas: aditiva (σ_A^2) e dominante (σ_D^2):

$$\sigma_{TD}^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2$$

Os componentes da variância aditiva e dominante foram expressos em função dos valores de desvios fenotípicos ao quadrado (a^2 e d^2).

$$\sigma_{TD}^2 = \frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{2}{9} (d_B^2 + d_C^2) \quad (\text{item 3.14.2}). \quad \text{Logo:}$$

$$\sigma_A^2 = \frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) \quad \text{e} \quad \sigma_D^2 = \frac{2}{9} (d_B^2 + d_C^2)$$

Portanto, as variâncias genéticas "Entre ascos" (σ_{aD}^2) e "Dentro dos ascos" (σ_{WD}^2) foram definidas como:

$$\sigma_{aD}^2 = \frac{1}{18} (d_B^2 + d_C^2) \quad (\text{item 3.14.4}) \quad \text{Logo:}$$

$$\sigma_{aD}^2 = \frac{1}{4} \sigma_D^2$$

$$\text{e } \sigma_{WD}^2 = \frac{1}{3} (a_B^2 + a_C^2) + \frac{1}{6} (d_B^2 + d_C^2) \quad (\text{item 3.14.5}) \quad \text{Logo:}$$

$$\sigma_{WD}^2 = \sigma_A^2 + \frac{3}{4} \sigma_D^2.$$

3.15. Determinação do grau médio de dominância (gmd)

O grau médio de dominância (gmd) para os híbridos de retrocruzamentos ou intrameióticos foi determinado de acordo com COMSTOCK & ROBINSON (1952).

$$gmd = \sqrt{\frac{\sum d^2}{\sum a^2}}$$

3.16. Ganhos de seleção e coeficientes de herdabilidade ao nível haplóide

Os componentes da variância genética foram utilizados para estimar os ganhos por seleção (Gs) em linhagens segregantes haplóides, assumindo-se que os tipos superiores reproduzem-se assexuadamente.

Dois esquemas de seleção foram simulados, onde as médias dos tratamentos genéticos constituíram as unidades de seleção. Os

coeficientes de herdabilidade associados aos esquemas de seleção e os respectivos ganhos por seleção foram determinados :

- a) Seleção de esporos segregantes superiores ou seleção ignorando-se os ascas

Coeficiente de herdabilidade (h^2)

$$h^2 = \frac{\sigma_{AH}^2 + \sigma_{AAH}^2}{\sigma_{AH}^2 + \sigma_{AAH}^2 + \frac{\sigma_{e1}^2}{rf}} \cdot 100$$

Ganho de seleção (G_s) :

$$G_s = \frac{k(\sigma_{AH}^2 + \sigma_{AAH}^2)}{\sqrt{\sigma_{AH}^2 + \sigma_{AAH}^2 + \frac{\sigma_{e1}^2}{rf}}}$$

- b) Seleção de esporos segregantes superiores, de ascas superiores ou seleção considerando-se os ascas.

Coeficiente de herdabilidade explorando a variância genética "Entre os ascas" (h_a^2)

$$h_a^2 = \frac{\sigma_{aD}^2}{\sigma_{aD}^2 + \frac{\sigma_{e1}^2}{4rf}} \cdot 100$$

Coeficiente de herdabilidade explorando a variância genética "Dentro dos ascas" (h_W^2)

$$h_W^2 = \frac{\sigma_{WD}^2}{\sigma_{WD}^2 + \frac{\sigma_{e1}^2}{rf}} \cdot 100$$

Ganho de seleção combinado (G_{s_c}):

$$G_{s_c} = \frac{k_1 \cdot \sigma_{aD}^2}{\sqrt{\sigma_{aD}^2 + \frac{\sigma_{el}^2}{4rf}}} + \frac{k_2 \cdot \sigma_{WD}^2}{\sqrt{\sigma_{WD}^2 + \frac{\sigma_{el}^2}{rf}}}$$

onde:

$$\sigma_{el}^2 = \sigma_B^2 + f\sigma_e^2 \text{ (variância ambiental ao nível de parcelas)}$$

r = número de repetições

f = número de fermentações

k, k_1, k_2 = coeficientes de intensidade de seleção

Ignorando-se os ascos, simulou-se uma seleção de 10% das linhagens segregantes mais produtivas, sendo $k=1,64$. Para tornar os esquemas comparáveis, os coeficientes k_1 e k_2 de intensidades de seleção foram determinados considerando-se que as tétrades (ascos) constituem populações finitas. Assim, para a seleção de 20% dos ascos e de 50% dos esporos segregantes (destes ascos superiores) os coeficientes foram $k_1=1,74$ e $k_2=1,46$, de acordo com a Tabela de FISHER & YATES (1971).

3.17. Ganhos de seleção e coeficientes de herdabilidade ao nível diplóide

Através da aplicação das estimativas das variâncias genéticas aditiva (σ_A^2) e dominante (σ_D^2) na seleção simulada "entre as linhagens, ignorando-se os ascos" (seleção de híbridos superiores), determinaram-se os coeficientes de herdabilidade e o ganho por seleção para as linhagens diplóides (híbridos de retrocruzamentos ou híbridos intrameióticos).

Os coeficientes de herdabilidade neste trabalho foram baseados em médias de produção de etanol ($^{\circ}\text{GL}$) das linhagens ensaiadas, onde os genótipos superiores podem ser perpetuados por propagação clonal (mitose).

a) Seleção de híbridos superiores ("entre as linhagens, ignorando-se os ascos")

Coeficiente de herdabilidade (h^2) no sentido amplo:

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2 + \sigma_D^2}{\sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \frac{\sigma_{el}^2}{rf}} \cdot 100$$

Ganho de seleção (Gs)

$$Gs = \frac{k \cdot (\sigma_A^2 + \sigma_D^2)}{\sqrt{\sigma_A^2 + \sigma_D^2 + \frac{\sigma_{el}^2}{rf}}}$$

onde:

r = número de repetições

f = número de fermentações consecutivas

$\sigma_{el}^2 = \sigma_B^2 + f\sigma_e^2$ (variância ambiental ao nível de parcelas)

k = coeficiente de intensidade de seleção.

Para seleção de 10% das linhagens mais produtivas, $k = 1,64$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Ensaio de fermentação envolvendo as linhagens parentais recorrentes X2180-1B e AH22, o híbrido XAHI, seus esporos segregantes(n), respectivos híbridos de retrocruzamentos (2n) e testemunhas

Essas linhagens foram avaliadas quanto a produção de álcool em $^{\circ}\text{GL}$ (%vol), em experimentos de quatro repetições, e três fermentações consecutivas em cada repetição, cujos resultados encontram-se no Apêndice 1. Os dados foram analisados em análise da variância (Tabela 27), onde as linhagens ensaiadas (linhagens parentais, híbrido, esporos segregantes, híbridos de retrocruzamentos e testemunhas) foram agrupados sob a causa de variação "Linhagens". Observou-se variabilidade entre as linhagens e diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade. As causas da variação "Blocos" e "Fermentações" também mostraram diferenças significativas ao nível de 1%, enquanto a interação das linhagens com as fermentações (causa da variação L x F) não foi significativa ao nível considerado. A significância da causa de variação "Blocos" pode ser atribuída a variações não controláveis em procedimentos experimentais como na produção

de inóculos, padronização dos inóculos, sua viabilidade etc., e que parece não estar afetando as comparações entre as linhagens, visto que a interação das linhagens com os blocos (representado pelo erro (a)) apresenta um quadrado médio reduzido. Quanto a significância entre as "Fermentações", deve-se ressaltar que estas são consecutivas e portanto, espera-se uma certa variação entre elas, independentemente das linhagens. A não significância da interação "Linhagem x Fermentação" demonstra um comportamento consistente das linhagens nas fermentações consecutivas.

Tabela 27. Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas envolvendo as linhagens parentais X2180-1B e AH-22, o híbrido XAHI, esporos segregantes, híbridos de retrocruzamentos e testemunhas.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	195,5410	65,1803	107,30**
Linhagens (L)	122	841,5503	6,8980	11,36**
Erro (a)	366	222,3331	0,6075	
(Parcelas)	491	1259,4244		
Fermentações (F)	2	82,3776	41,1888	146,79**
L x F	244	79,2481	0,3248	1,16
Erro (b)	738	207,0798	0,2806	
Total	1475	1628,1300		

$\bar{X} = 6,98^{\circ}\text{GL}$ (% vol)

CV(a) = 6,45%

CV(b) = 7,59%

Aplicando-se o teste de Tukey para comparação de médias, (Apêndice 2), cuja diferença mínima significativa (DMS) ao nível de 1% foi de $1,40^{\circ}\text{GL}$ e de 5% = $1,31^{\circ}\text{GL}$, constatou-se diferenças significativas entre as médias das linhagens parentais ($\text{X2180-1B} = 7,99^{\circ}\text{GL}$ e $\text{AH22} = 6,20^{\circ}\text{GL}$) ao nível de 1%. O híbrido XAHI, de média $7,57^{\circ}\text{GL}$, não diferiu do parental X2180-1B, mas diferiu do parental AH22, ao nível de 5%. As linhagens testemunhas (M300A, Fleischmann, E202IV36, Montrachet, ATCC 26603 e HO65) não diferiram significativamente da linhagem parental X2180-1B e do híbrido XAHI. Com relação a linhagem parental AH22, as linhagens testemunhas diferiram significativamente, ao nível de 1%, exceto a testemunha HO65.

4.1.1. Contraste de ploidia: Haplóide versus Diplóide

Com a finalidade de investigar a diferença do grau de ploidia entre as linhagens, fez-se a decomposição parcial da causa de variação "Linhagens" em "Haplóides (H)" (esporos segregantes) e "Diplóides (D)" (híbridos de retrocruzamentos) e o contraste H vs D. Observa-se pela Tabela 28 que as linhagens haplóides diferiram entre si, ao nível de 1% de probabilidade, o mesmo ocorrendo com as linhagens diplóides. Estas causas de variação foram decompostas nas causas "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos", significativos ao nível de 1%, para as condições haplóide e diplóide. As linhagens parentais e testemunhas não foram consideradas nestas decomposições. O contraste de ploidia H vs D foi evidenciado pela significância ao nível de 1% de probabilidade. Este contraste de ploidia H vs D será abordado nos itens posteriores com base nos parâmetros genéticos estimados.

Tabela 28. Análise de variância parcial (ao nível de parcelas) e decomposição da causa de variação "Linhagens" em "Haplóides" e "Diplóides" e seus ascos.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Linhagens (L)	122	841,5503	6,8980	11,36**
Haplóides (H)	55	526,9192	9,5803	15,77**
Entre os ascos	13	75,8922	5,8379	9,61**
Dentro dos ascos	42	451,0270	10,7387	17,68**
Diplóides (D)	55	121,0113	2,2002	3,62**
Entre os ascos	13	32,6099	2,5085	4,13**
Dentro dos ascos	42	88,4014	2,1048	3,47**
H vs D	1	44,7198	44,7198	73,56**
Erro (a)	366	222,3331	0,6075	

4.1.2. Condição haplóide (segregantes de XAHI)

Para melhor estimar as variâncias genéticas e ambientais presentes nas variâncias fenotípicas, devido a cada nível de ploidia, analisou-se os dados somente das linhagens haplóides em novo teste F (Tabela 29). Apesar das novas estimativas dos erros, as causas de variação "Blocos" e "Fermentações" continuaram significativas ao nível de 1%. Os segregantes "Haplóides" também diferiram significativamente, ao nível de 1%, sem

interagirem com as fermentações consecutivas de tal modo que a interação "Haplóide x Fermentação" não foi significativa ao nível considerado conforme resultados previamente apresentados na Tabela 28.

A variabilidade existente entre as linhagens haplóides, decomposta nas causas de variação "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos" (significativas ao nível de 1%) e, dentro de cada asco em particular, permitem visualizar a diversidade das tétrades. De acordo com a Tabela 29, os esporos do asco 2, 4, 8, 11, 13, 22, 23, 27 e 30 diferiram entre si ao nível de 1%, os esporos do asco 21, ao nível de 5% e os esporos do asco 7, 15, 16 e 39 não diferiram entre si, ao nível considerado. Isto reflete os tipos de tétrades possíveis (PD, NPD e T) na segregação esperada de um híbrido heterozigoto para dois locos, conforme a metodologia apresentada.

Desde que o asco representa o genoma do híbrido e das linhagens parentais como um todo, visto que não há perda da informação genética durante a meiose, era de se esperar que as médias dos ascos desse híbrido não diferissem significativamente entre si, se a ação gênica predominante fosse aditiva e que a variação dentro dos ascos fosse devida a recombinação dos genes parentais. Como a variação "Entre os ascos" foi significativa, ao nível de 1%, supõem-se que outras ações gênicas estejam envolvidas. Como os efeitos de dominância não podem ser expressos ao nível haplóide, essas diferenças entre ascos podem ser atribuídas às interações não alélicas do tipo aditivo por aditivo. Conforme a metodologia apresentada (ver item 3.10.5), constatou-se que a variância genética "Entre os ascos" foi toda de natureza epistática do tipo aditivo por aditivo.

Tabela 29. Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e decomposição das linhagens "Haplóides" (segregantes da XAHI).

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	109,4411	36,4804	46,81**
Haplóides	55	526,9192	9,5803	12,29**
Entre os ascos	13	75,8922	5,8379	7,49**
Dentro dos ascos	42	451,0270	10,7387	13,78**
Dentro do asco 2	3	9,5822	3,1941	4,10**
Dentro do asco 4	3	10,9908	3,6636	4,70**
Dentro do asco 7	3	1,6042	0,5347	0,69
Dentro do asco 8	3	99,1382	33,0461	42,40**
Dentro do asco 11	3	98,5953	32,8651	42,17**
Dentro do asco 13	3	11,8462	3,9487	5,07**
Dentro do asco 15	3	1,0836	0,3612	0,46
Dentro do asco 16	3	1,4833	0,4944	0,63
Dentro do asco 21	3	7,5486	2,5162	3,23*
Dentro do asco 22	3	31,0055	10,3352	13,26**
Dentro do asco 23	3	83,6401	27,8800	35,76**
Dentro do asco 27	3	75,0413	25,0138	32,10**
Dentro do asco 30	3	17,9661	5,9887	7,68**
Dentro do asco 39	3	1,5017	0,5006	0,64
Erro (a)	165	128,5905	0,7793	
(Parcelas)	223	764,9508		
Fermentações (F)	2	45,4767	22,7383	67,95**
H x F	110	40,7707	0,3706	1,11
Erro (b)	336	112,4431	0,3347	
Total	671	963,6414		

$\bar{X} = 6,72^{\circ}\text{GL}$ (% vol)

CV(a) = 7,59%

CV(b) = 8,61%

4.1.3. Estimativas das variâncias genéticas em haplóides

Através das esperanças dos quadrados médios desenvolvidas para as causas da variação "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos", conforme a Tabela 1, estimaram-se as variâncias genéticas em haplóides "Entre os ascos" ($\hat{\sigma}_{aH}^2$) e "Dentro dos ascos" ($\hat{\sigma}_{WH}^2$) como sendo $0,1054^{\circ}\text{GL}^2$ ou 11,27% da variância genética total em haplóides ($\hat{\sigma}_{TH}^2$) e $0,8300^{\circ}\text{GL}^2$ ou 88,73% de $\hat{\sigma}_{TH}^2$, respectivamente. A variância $\hat{\sigma}_{TH}^2$ foi estimada a partir do somatório das estimativas das variâncias genéticas $\hat{\sigma}_{aH}^2$ e $\hat{\sigma}_{WH}^2$, correspondendo ao valor de $0,9354^{\circ}\text{GL}^2$.

A partir dessas variâncias genéticas, estimaram-se as variâncias genéticas aditiva (σ_{AH}^2) e aditiva por aditiva em haplóides (σ_{AAH}^2). Assim:

a) Conforme a expressão V (item 3.10.5): $\sigma_{aH}^2 = \frac{1}{3} \sigma_{AAH}^2$

Logo: $\hat{\sigma}_{AAH}^2 = 0,3162^{\circ}\text{GL}^2$ ou 33,80% de $\hat{\sigma}_{TH}^2$

b) Conforme o item 3.10.6: $\sigma_{WH}^2 = \sigma_{AH}^2 + \frac{2}{3} \sigma_{AAH}^2$

Logo: $\hat{\sigma}_{AH}^2 = 0,6192^{\circ}\text{GL}^2$ ou 66,20% de $\hat{\sigma}_{TH}^2$

A variância genética aditiva respondeu pela maior parte da variância genética total estimada em linhagens haplóides, sendo que a variância genética epistática do tipo aditivo por aditivo também foi expressiva. De modo geral, os modelos genéticos ignoram as epistasias, devido as

dificuldades em estimá-las, serem desprezíveis ou devido às próprias limitações do modelo (COMSTOCK & ROBINSON, 1952).

4.1.4. Estimativas dos ganhos de seleção e coeficientes de herdabilidade em linhagens haplóides (segregantes de XAXI)

Baseados nas estimativas das variâncias genéticas em haplóides "Entre os ascas" (σ_{aH}^2) e "Dentro dos ascas" (σ_{WH}^2), e nas variâncias genéticas aditivas (σ_{AH}^2) e aditiva por aditiva em haplóides (σ_{AAH}^2), estimaram-se os coeficientes de herdabilidade e ganhos de seleção, de acordo com os coeficientes de herdabilidade e ganhos de seleção, de acordo com a metodologia desenvolvida (item 3.13.4), e as seguintes seleções simuladas.

a) Seleção ignorando-se os ascas:

A seleção de 10% das linhagens superiores, com base na produção média de etanol ($^{\circ}\text{GL}$), independente do asco segregante, determinou um ganho por seleção de $1,53^{\circ}\text{GL}$, ou seja, um acréscimo esperado de 24,76% sobre a produção média de $6,18^{\circ}\text{GL}$ das linhagens haplóides segregantes de XAHI.

O alto coeficiente de herdabilidade estimado (93,51%) para o caráter produção de etanol, refletiu a natureza da variância genética em haplóides (constituída das variâncias genéticas aditivas e aditiva por aditiva haplóide) e ao controle ambiental empregado, possibilitando o uso da seleção fenotípica.

b) Seleção considerando-se os ascas:

A seleção de 20% dos melhores ascas, seguido da seleção de 50% dos esporos, com relação a produção média de etanol em $^{\circ}\text{GL}$, pelas li-

nhagens superiores, refletiu em um ganho de seleção de 1,69^oGL. Isto representou um acréscimo esperado de 27,30%, na média das linhagens segregantes de XAHI (6,18^oGL). Ganhos dessa magnitude foram encontrados por TAVARES & ECHERERRIGARAY (1987) aplicando outros métodos.

Os coeficientes de herdabilidade estimados, explorando a variância genética "Entre os ascos" (h_a^2) e "Dentro dos ascos" (h_w^2) foram igualmente elevados, da ordem de 86,55% e 92,74%, respectivamente. TAVARES (1974) para o caráter produção de biomassa por levedura, estimou diferentes coeficientes de herdabilidade que variaram de 41 e 74,5%, conforme o método de seleção aplicado.

4.1.5. Condição dos híbridos de retrocruzamentos

Como a análise geral contém testemunhas, linhagens parentais, segregantes haplóides e diplóides, efetuou-se nova análise para melhor estimar as variâncias genéticas e ambientais na condição diplóide, analisando-se os dados dos híbridos oriundos de retrocruzamentos (Tabela 30). Apesar das novas estimativas dos erros, as causas de variação "Blocos" e "Fermentações" apresentaram diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, conforme a análise geral apresentada anteriormente (Tabela 27).

Diferenças significativas ao nível de 1% também foram encontradas para as linhagens "Diplóides", que não interagiram com as fermentações consecutivas (D x F), ao nível considerado. Essa variabilidade entre as linhagens diplóides obtidas por retrocruzamentos esteve presente nas decomposições "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos", significativos ao nível de 1% de probabilidade. A decomposição da causa de variação "Dentro dos ascos" em híbridos dentro de cada asco, em particular, é dada pela mes-

ma Tabela 30. Assim, os híbridos de retrocruzamentos para o asco 7, 8, 21 e 23, diferiram entre si, ao nível de 1%, os híbridos do asco 4, 15 e 27, ao nível de 5% e os híbridos dos ascos 2, 11, 13, 16, 22, 30 e 39 não diferiram entre si, nestes níveis de probabilidade.

Como esperado, não há correspondência quanto à significância dos ascos nos níveis haplóide e diplóide devidos aos eventos recombina-tivos.

Dadas as variâncias genéticas esperadas para os casos de re-pulsão e associação (item 3.13.5) e a frequência de ocorrência dos vários híbridos de retrocruzamentos possíveis de serem originados, as significân-cias observadas para as causas de variação "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos" podem estar sofrendo distorções pelo número limitado de ascos amos-trados. Porém, um número maior de linhagens ensaiadas esbarra em dificulda-des de ordem prática para a boa condução dos experimentos.

A Tabela 31 mostra uma outra decomposição para a causa de va-riação "Dentro dos ascos". Por esta análise observou-se que a média dos hí-bridos de retrocruzamentos com o parental X2180-1B diferiu significativamen-te (ao nível de 5%) da média dos híbridos de retrocruzamentos com o paren-tal AH22, conforme a causa de variação "Entre retros". A interação dos as-cos com as linhagens parentais recorrentes (R x A) não foi significativa ao nível de probabilidade considerado. Através da causa da variação "Hib/A/R" constataram-se diferenças significativas (ao nível de 1%) entre os híbridos oriundos de mesmo asco e de retrocruzamentos com a mesma linhagem parental recorrente.

Tabela 30. Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e decomposição das linhagens "Diplóides" (híbridos e retrocruzamentos).

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	3	74,8928	24,9643	57,53**
Diplóides (D)	55	121,0113	2,2002	5,07**
Entre os ascos	13	32,6099	2,5085	5,77**
Dentro dos ascos	42	88,4014	2,1048	4,85**
Dentro do asco 2	3	0,3336	0,1112	0,26
Dentro do asco 4	3	3,8239	1,2746	2,94*
Dentro do asco 7	3	13,9546	4,6515	10,72**
Dentro do asco 8	3	27,1793	9,0598	20,88**
Dentro do asco 11	3	2,2561	0,7520	1,73
Dentro do asco 13	3	0,4445	0,1482	0,34
Dentro do asco 15	3	4,8346	1,6115	3,71*
Dentro do asco 16	3	2,2908	0,7636	1,76
Dentro do asco 21	3	13,1889	4,3963	10,13**
Dentro do asco 22	3	1,3973	0,4658	1,07
Dentro do asco 23	3	9,7329	3,2443	7,48**
Dentro do asco 27	3	4,7713	1,5904	3,66*
Dentro do asco 30	3	2,7420	0,9140	2,11
Dentro do asco 39	3	1,4514	0,4838	1,11
Erro (a)	165	71,6020	0,4340	
(Parcelas)	223	267,5060		
Fermentações (F)	2	39,2013	19,6006	94,73**
D x F	110	25,3920	0,2308	1,12
Erro (b)	336	69,5215	0,2069	
Total	671	401,6207		

$$\bar{X} = 7,08^{\circ}\text{GL} \cdot (\% \text{ vol})$$

$$\text{CV(a)} = 5,37\%$$

$$\text{CV(b)} = 6,42\%$$

Tabela 31. Análise de variância parcial (ao nível de parcelas) envolvendo as linhagens "Diplóides" e os retrocruzamentos efetuados

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Diplóides	55	121,0113	2,2002	5,07**
Entre os ascos (A)	13	32,6099	2,5085	5,77**
Dentro dos ascos	42	88,4014	2,1048	4,85**
Entre retros (R)	1	10,6631	10,6631	4,06*
R x A	13	33,5959	2,5843	1,64
Hib/A/R	28	44,1423	1,5765	3,63**
Erro (a)	165	71,6020	0,4340	

4.1.6. Estimativas das variâncias genéticas em diplóides

De acordo com a metodologia desenvolvida, as estimativas das variâncias genéticas aditivas (σ_A^2) e dominante (σ_D^2) foram obtidas a partir das causas da variação "Entre os ascos", "R x A" e "Hib/A/R". As respectivas variâncias genéticas observadas foram isoladas através das esperanças dos quadrados médios (Tabela 2, item 3.8).

As causas da variação e as respectivas estimativas das variâncias genéticas observadas e esperadas estão relacionadas a seguir.

causas da variação	variância genética observada	variância genética esperada
Entre os ascos	$\hat{\sigma}_{aD}^2 = 0,0432^{\circ}\text{GL}^2$	$1/3\hat{\sigma}_D^2$
R x A	$\hat{\sigma}_{RA}^2 = 0,0420^{\circ}\text{GL}^2$	$1/6\hat{\sigma}_A^2$
Hib/A/R	$\hat{\sigma}_{\text{Hib/A/R}}^2 = 0,0952^{\circ}\text{GL}^2$	$1/3\hat{\sigma}_A^2 + 2/3\hat{\sigma}_D^2$

Estimaram-se $\hat{\sigma}_A^2$ e $\hat{\sigma}_D^2$ como sendo:

$$\hat{\sigma}_A^2 = 0,1517^{\circ}\text{GL}^2 \text{ e } \hat{\sigma}_D^2 = 0,0795^{\circ}\text{GL}^2$$

Sendo $\hat{\sigma}_{TD}^2$ a soma das variâncias $\hat{\sigma}_A^2$ e $\hat{\sigma}_D^2$, estimou-se a variância genética aditiva ($\hat{\sigma}_A^2$) para o caráter produção de etanol, correspondendo a 65,60% da variância genética total em diplóides ($\hat{\sigma}_{TD}^2 = 0,2312^{\circ}\text{GL}^2$) e a variância genética dominante ($\hat{\sigma}_D^2$) correspondente aos 34,40% restantes de $\hat{\sigma}_{TD}^2$.

4.1.7. Estimativa do grau médio de dominância (gmd)

$$\text{Sendo: } \sigma_{TD}^2 = \frac{1}{2}\Sigma a^2 + \frac{1}{4}\Sigma d^2 \quad (\text{Tab. 23, item 3.13.10})$$

$$\text{e } \sigma_{TD}^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2 \quad (\text{item 3.13.10})$$

$$\text{Logo: } \sigma_A^2 = \frac{1}{2}\Sigma a^2 \Rightarrow \Sigma a^2 = 2\sigma_A^2 \text{ e}$$

$$\sigma_D^2 = \frac{1}{4}\Sigma d^2 \Rightarrow \Sigma d^2 = 4\sigma_D^2$$

Como:

$$gmd = \frac{\sum d^2}{\sum a^2} \Rightarrow \hat{gmd} = 1,02$$

Esta estimativa do grau médio de dominância (gmd), muito próxima de 1 (um), denota em média, dominância completa nos locos envolvidos com o caráter produção de etanol, nas condições estudadas. Deste modo, viabiliza-se a realização de hibridizações e a seleção entre diplóides, na procura de linhagens superiores.

Sendo a linhagem XAHI ($2n$) o híbrido mais heterozigoto possível para os locos em divergência presentes nas linhagens parentais (n), observou-se, através do teste de comparação de médias (Apêndice 2) que o efeito de ploidia e/ou de interações alélicas não foram tão expressivo pois, a expressão fenotípica do híbrido XAHI para produção de etanol, não diferiu significativamente da linhagem parental de maior fenótipo (X2180-1B), apesar da diferença de ploidia. Ao nível haplóide, as ações gênicas presentes são de aditividade e interações não alélicas, ao passo que, no nível diplóide, além da aditividade e interações não alélicas, também as interações alélicas estão presentes. O processo de esporulação do diplóide oferece oportunidade de recombinações meiótica e aparecimento de linhagens segregantes em maior ou menor número de alelos favoráveis. Deste modo, explica-se o aparecimento de linhagens segregantes (n) significativamente inferiores do que o parental AH22, de menor expressão fenotípica (Apêndice 2). De mesmo modo, se explicaria o aparecimento de linhagens de valores fenotípicos maiores do que X2180-1B, caso tivessem aparecido. Portanto, conside-

rando, a linhagem parental X2180-1B como portadora do maior número de alelos favoráveis para o caráter produção de etanol, o híbrido XAHI como o mais heterozigoto para as duas linhagens parentais (n) e a não significância entre as médias (de X2180-1B e XAHI), conforme o Apêndice 2, concorda-se com a presença de dominância total estimada pelo grau médio de dominância para os locos controladores do caráter.

4.1.8. Estimativa do ganho de seleção e coeficiente de herdabilidade para as linhagens diplóides (híbridos de retrocruzamentos)

Aplicando a seleção simulada de 10% das linhagens mais produtivas quanto a produção de etanol ($^{\circ}\text{GL}$), conforme o item 3.17, encontrou-se um coeficiente de herdabilidade ($\hat{h}^2$), no sentido amplo, de 86,47%. Este coeficiente corresponde ao percentual da variação fenotípica possível de ser aproveitada na seleção. O ganho de seleção ($\hat{G}_s$) esperado correspondeu a $0,73^{\circ}\text{GL}$ ou seja, um acréscimo de 10,36% com relação a média de produção de etanol das linhagens diplóides ($7,08^{\circ}\text{GL}$).

Em comparação com o nível haplóide (item 4.1.4), essas estimativas de $\hat{h}^2$ e $\hat{G}_s$ (ao nível diplóide) foram menores, evidenciando um menor progresso a cada ciclo de seleção.

4.2. Ensaio de fermentação envolvendo as linhagens parentais M304-2C e X2180-1B, o híbrido MXI, seus esporos segregantes (n), respectivos híbridos intrameióticos (2n) e testemunhas

Essas linhagens foram avaliadas quanto a produção de etanol em $^{\circ}\text{GL}$ (% vol), em experimento de três repetições, e três fermentações con

secutivas em cada repetição, cujos resultados encontram-se no Apêndice 3. Os dados foram analisados em Teste F (Tabela 32), onde os tratamentos genéticos (linhagens parentais, híbrido, esporos segregantes, híbridos intrameióticos e testemunhas) foram agrupados sob a causa da variação "Linhagens". Nesta tabela observou-se variabilidade e diferenças significativas entre as linhagens, ao nível de 1% de probabilidade, com comportamentos diferenciais destas, nas fermentações consecutivas, conforme foi atestado pela interação Linhagens e Fermentações ("L x F") significativa a 1%. No entanto, as fermentações consecutivas não diferiram significativamente ao nível considerado.

Comparando as produções médias de etanol das linhagens parentais e do híbrido MXI com as linhagens testemunhas, através de um teste de comparação de médias (Teste de Tukey), cujas diferenças mínimas significativas (DMS) a 5% e 1% foram de 2,04 e 2,29^oGL respectivamente, encontrou-se que: as médias das linhagens parentais M304-2C (10,13^oGL) e X2180-1B (8,23^oGL) não diferiram significativamente entre si; o híbrido MXI (11,17^oGL) não diferiu do parental M304-2C, mas sim (significativamente a 1%) do parental X2180-1B; as linhagens testemunhas (M 300A e ATCC 26603) não diferiram das linhagens parentais, com exceção para a linhagem testemunha Fleischmann, ao nível de 1% de probabilidade, conforme demonstra o Apêndice 4.

Tabela 32. Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, envolvendo as linhagens parentais M304-2C e X2180-1B, o híbrido MXI, esporos segregantes, híbridos intrameióticos e testemunhas.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	72,9989	36,4995	32,51**
Linhagens (L)	46	457,6526	9,9490	8,86**
Erro (a)	92	103,2756	1,1226	
(Parcelas)	140	633,9271		
Fermentações (F)	2	0,4588	0,2294	1,13
L x F	92	38,2026	0,4152	2,04**
Erro (b)	188	38,2306	0,2034	
Total	422	710,8191		

$$\bar{X} = 10,55^{\circ}\text{GL} \text{ (\% vol)}$$

$$\text{CV (a)} = 5,80\%$$

$$\text{CV (b)} = 4,28\%$$

4.2.1. Contraste de ploidia: Haplóide versus Diplóide

A Tabela 33 apresenta a análise de variância dos dados de produção de etanol em $^{\circ}\text{GL}$ referentes às linhagens haplóides (esporos segregantes de MXI) e às linhagens diplóides (híbridos intrameióticos), agrupados sob a fonte de variação "segregantes". Observou-se diferenças significativas entre as linhagens mencionadas, ao nível de 1% de probabilidade, sendo esta significância apresentada também por suas decomposições "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos" nas duas condições de ploidia.

O contraste das linhagens haplóides versus as linhagens diplóides (H vs D), também foi significativo ao nível de 1% de probabilidade. De fato, a produção média de etanol das linhagens diplóides ($11,01^{\circ}\text{GL}$) superou levemente a média de produção das linhagens haplóides ($10,57^{\circ}\text{GL}$).

Estas linhagens segregantes comportaram-se diferencialmente nas fermentações consecutivas, a tal ponto da interação "S x F" ser significativa ao nível de 1% de probabilidade. No entanto, as fermentações consecutivas não diferiram significativamente, ao nível considerado. Tais comportamentos já haviam sido previamente detectados na análise geral, que compreendia também, as linhagens parentais, o híbrido e as linhagens testemunhas (Tabela 32).

Tabela 33. Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas, compreendendo as linhagens "Haplóides" (segregantes de MXI) e as linhagens "Diplóides" (híbridos intrameióticos).

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	69,4809	34,7404	45,08**
Segregantes (S)	39	114,0237	2,9237	3,79**
Haplóides (H)	19	53,3595	2,8034	3,64**
Entre os ascos	4	12,5794	3,1449	4,08**
Dentro dos ascos	15	40,7801	2,7187	3,53**
Diplóides (D)	19	43,8378	2,3072	2,99**
Entre os ascos	4	7,9759	1,9940	2,59**
Dentro dos ascos	15	35,8619	2,3908	3,10**
H vs D	1	16,8264	16,8264	21,83**
Erro (a)	78	60,1106	0,7706	
(Parcelas)	119	243,6153		
Fermentações (F)	2	0,4718	0,2359	1,11
S x F	78	30,9309	0,3965	1,86**
Erro (b)	160	34,0293	0,2127	
Total	359	309,0475		

$\bar{X} = 10,79^{\circ}\text{GL}$ (% vol)

CV(a) = 4,70%

CV(b) = 4,27%

4.2.2. Condição haplóide (segregantes de MXI)

Os dados de produção de etanol em $^{\circ}\text{Gl}$ referentes às linhagens haplóides (segregantes de MXI), quando analisados em nova análise de variância (Tabela 34) apresentaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade entre as linhagens "Haplóides". Esta significância também encontra-se nas decomposições "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos". Observa-se que diferenças significativas entre as médias de ascos, ou seja, entre as meioses, evidenciam as interações não-alélicas do tipo aditivo por aditivo, pois se somente aditividade estivesse presente, as médias não difeririam entre si. A significância dentro dos ascos foi explicada pela segregação e aparecimento de tétrades do tipo PD, NPD e T. Assim, a decomposição da causa de variação "Dentro dos ascos" apresentou diferenças significativas, ao nível de 1%, entre os esporos do asco 7 e do asco 8. Diferenças entre os esporos do asco 1, 2 e 6 não foram, por sua vez, significativos ao nível de probabilidade considerado.

A interação das linhagens haplóides com as fermentações consecutivas (H x F) também não foram significativas ao nível considerado demonstrando que o comportamento das linhagens haplóides nas fermentações consecutivas foram mais consistentes. Também, não houve diferenças significativas entre as fermentações consecutivas.

Tabela 34. Análise de variância em blocos ao acaso em parcelas subdivididas das linhagens "Haplóides" (esporos segregantes de MXI) e suas decomposições.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	70,1005	35,0506	53,21**
Haplóides (H)	19	53,3595	2,8083	4,26**
Entre os ascos	4	12,5794	3,1449	4,77**
Dentro dos ascos	15	40,7801	2,7187	4,13**
Dentro do asco 1	3	5,1292	1,7097	2,30
Dentro do asco 2	3	2,9224	0,9741	1,48
Dentro do asco 6	3	1,4868	0,4956	0,75
Dentro do asco 7	3	14,5104	4,8368	7,34**
Dentro do asco 8	3	16,7313	5,5771	8,47**
Erro (a)	38	25,0300	0,6587	
(Parcelas)	59	148,4900		
Fermentações (F)	2	0,3258	0,1629	0,89
H x F	38	11,1262	0,2928	1,60
Erro (b)	80	14,5970	0,1825	
Total	179	174,5391		

$\bar{X} = 10,57^{\circ}\text{GL}$ (% vol)

CV(a) = 4,43%

CV(b) = 4,04%

4.2.3. Estimativas das variâncias genéticas em haplóides

Estimaram-se as variâncias genéticas "Entre os ascos" ($\hat{\sigma}_{aH}^2$) e "Dentro dos ascos" ($\hat{\sigma}_{WH}^2$) através das esperanças dos quadrados médios das respectivas causas da variação, como sendo $0,0691^\circ \text{GL}^2$ ou 23,19% da variância genética total em haplóides ($\hat{\sigma}_{TH}^2$) e $0,2289^\circ \text{GL}^2$ ou 76,81% de $\hat{\sigma}_{TH}^2$, respectivamente. A variância $\hat{\sigma}_{TH}^2$ ($0,2980^\circ \text{GL}^2$) foi obtida da somatória das variâncias $\hat{\sigma}_{aH}^2$ e $\hat{\sigma}_{WH}^2$.

As variâncias genéticas em haplóides aditiva ($\hat{\sigma}_{AH}^2$) e epistática aditiva por aditiva (σ_{AA}^2), foram estimadas através das expressões:

$$\text{a) } \sigma_{aH}^2 = \frac{1}{3} \sigma_{AAH}^2 \quad (\text{item 3.10.5})$$

$$\text{Logo: } \hat{\sigma}_{AAH}^2 = 0,0907^\circ \text{GL}^2 \text{ ou } 30,44\% \text{ de } \hat{\sigma}_{TH}^2$$

$$\text{b) } \sigma_{WH}^2 = \sigma_{AH}^2 + \frac{2}{3} \sigma_{AAH}^2 \quad (\text{item 3.10.6})$$

$$\text{Logo: } \hat{\sigma}_{AH}^2 = 0,2073^\circ \text{GL}^2 \text{ ou } 69,56\% \text{ de } \hat{\sigma}_{TH}^2$$

Observou-se que os valores relativos encontrados para as variâncias $\hat{\sigma}_{AAH}^2$ e $\hat{\sigma}_{AH}^2$, com relação a $\hat{\sigma}_{TH}^2$, são bem próximos, para as populações haplóides (esporos segregantes) dos híbridos XAHI (33,80% e 66,20% respectivamente) e MXI (30,44% e 69,56%, respectivamente). Essas diferenças, em valores absolutos, devem-se às diferentes linhagens parentais empregadas e ao tamanho da população haplóide amostrada.

4.2.4. Estimativas dos ganhos de seleção e coeficientes de herdabilidade em linhagens haplóides (segregantes de MXI)

A partir das estimativas das variâncias genéticas "Entre os ascos" ($\hat{\sigma}_{aH}^2$) e "Dentro dos ascos" ($\hat{\sigma}_{WH}^2$) e suas componentes, aditiva ($\hat{\sigma}_{AH}^2$) e aditiva por aditiva em haplóides ($\hat{\sigma}_{AAH}^2$), aplicaram-se as seleções simuladas, desenvolvidas no item 3.16.

a) Seleção ignorando-se os ascos:

A seleção de 10% das linhagens superiores, com base na produção média de etanol ($^{\circ}\text{GL}$), independente do asco segregante proporcionou um ganho de seleção de $0,80^{\circ}\text{GL}$, ou seja, um acréscimo esperado de 7,57% sobre a média de produção das linhagens haplóides ($10,57^{\circ}\text{GL}$).

O alto coeficiente de herdabilidade estimado, de 80,28%, refletiu a natureza das variâncias genéticas (aditiva e aditiva por aditiva em haplóides) e o controle ambiental empregado.

b) Seleção considerando-se os ascos:

A seleção de 20% dos melhores ascos seguido da seleção de 50% dos esporos superiores, com base na média de produção de etanol ($^{\circ}\text{GL}$) de cada linhagem, proporcionou um ganho de seleção de $1,01^{\circ}\text{GL}$, o que corresponde ao acréscimo esperado de 9,56%, com relação a média de produção de etanol das linhagens haplóides segregantes de MXI ($10,57^{\circ}\text{GL}$).

Os coeficientes de herdabilidade estimados, explorando a variância genética "Entre os ascos" ($\hat{h}_a^2 = 79,06\%$) e "Dentro dos ascos" ($\hat{h}_W^2 = 75,77\%$), foram igualmente altos, quando comparados com a seleção ignorando-se os ascos. Essas estimativas são próximas dos valores estimados para os segregantes de XAHI (86 a 93%, item 4.1.4).

4.2.5. Condição diplóide dos híbridos intrameióticos

De modo a melhor estimar as variâncias genéticas e ambientais presentes ao nível diplóide, analisou-se os dados de produção de etanol ($^{\circ}\text{GL}$) somente das linhagens híbridas de cruzamentos intrameióticos. A análise de variância, dada pela Tabela 35, apresentou diferenças significativas entre as linhagens "Diplóides", ao nível de 1% de probabilidade. Estas linhagens ($2n$), ao contrário das linhagens haplóides, comentadas anteriormente (item 4.2.2), interagiram significativamente (ao nível de 1%) com as fermentações ("D x F") ou seja, essas linhagens comportaram-se diferencialmente nas fermentações consecutivas. As fermentações, por sua vez, não diferiram significativamente, ao nível considerado.

Decompondo esta variabilidade (ao nível diplóide) constataram-se diferenças significativas, ao nível de 5%, "Entre os ascos" e ao nível de 1% em "Dentro dos ascos". A decomposição dessa causa de variação apresentou diferenças significativas (ao nível de 1%) entre os híbridos do asco 1 e 6, sendo que os híbridos do asco 2, 7 e 8 não diferiram entre si. Comparando com a Tabela 25 (item 3.14.5) que apresenta as variâncias genéticas "dentro de cada asco" verificou-se a necessidade de um número maior de ascos ensaiados, para que as classes de variâncias possam ocorrer e a significância ou não "dentro de cada asco" se expressar.

ROMANO *et alii* (1985) analisaram 10 tétrades de um híbrido inicial, cujos descendentes eram diplóides por autodiplodizações, tentando obter recombinantes com características paternas. Destes somente 2 foram considerados de alta produção de etanol, com características vinícolas favoráveis, no entanto, sem a confirmação por testes de significância.

Tabela 35. Análise de variância em blocos ao acaso com parcelas subdivididas das linhagens "Diplóides" (híbridos intrameióticos) e suas decomposições.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	11,6785	5,8392	9,74**
Diplóides (D)	19	43,8378	2,3073	3,85**
Entre os ascos	4	7,9759	1,9940	3,33*
Dentro dos ascos	15	35,8619	2,3908	3,99**
Dentro do asco 1	3	8,9866	2,9955	5,00**
Dentro do asco 2	3	3,4330	1,1443	1,91
Dentro do asco 6	3	19,5185	6,5062	10,85**
Dentro do asco 7	3	1,5354	0,5118	0,85
Dentro do asco 8	3	2,3885	0,7962	1,33
Erro (a)	38	22,7827	0,5995	
(Parcelas)	59	78,2989		
Fermentações (F)	2	0,2197	0,1098	0,45
D x F	38	19,7311	0,5192	2,14**
Erro (b)	80	19,4323	0,2429	
Total	179	117,6820		

$\bar{X} = 11,01^{\circ}\text{GL}$ (% vol)

CV(a) = 4,06%

CV(b) = 4,48%

4.2.6. Estimativas das variâncias genéticas em diplóides

Através dos quadrados médios obtidos para as causas da variação "Diplóides", "Entre os ascos" e "Dentro dos ascos" e as respectivas esperanças dos quadrados médios (Tabela 1) estimaram-se as seguintes variâncias genéticas observadas experimentalmente:

- a) Variância genética total em diplóides: $\hat{\sigma}_{TH}^2 = 0,1898^{\circ}GL^2$
- b) Variância genética "Entre os ascos": $\hat{\sigma}_{aD}^2 = 0,0387^{\circ}GL^2$
- c) Variância genética "Dentro dos ascos": $\hat{\sigma}_{wD}^2 = 0,1990^{\circ}GL^2$

As respectivas variâncias genéticas esperadas (conforme o item 3.14.7) são:

- a) $\sigma_{TD}^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2$
- b) $\sigma_{aD}^2 = \frac{1}{4} \sigma_D^2$
- c) $\sigma_{wD}^2 = \sigma_A^2 + \frac{3}{4} \sigma_D^2$

Portanto, as variâncias σ_A^2 e σ_D^2 foram estimadas como sendo da ordem de:

$$\hat{\sigma}_A^2 = 0,1144^{\circ}GL^2 \text{ ou } 55,57\% \text{ de } \hat{\sigma}_{TD}^2 \text{ e}$$

$$\hat{\sigma}_D^2 = 0,0914^{\circ}GL^2 \text{ ou } 44,43\% \text{ de } \hat{\sigma}_{TD}^2 \text{ e}$$

$$\hat{\sigma}_{TD}^2 = 0,2058^{\circ}GL^2$$

Estas estimativas (para a condição diplóide de híbridos intrameióticos) em comparação com a condição diplóide de híbridos de retrocruzamentos apresentaram variações ($\hat{\sigma}_A^2$, de 55%-65% e $\hat{\sigma}_D^2$, de 45%-35%).

Tais variações, aceitáveis para os diferentes conjuntos genéticos envolvidos, demonstraram a existência de alta variância

aditiva, o que propicia respostas às pressões seletivas impostas pelo melhoramento.

4.2.7. Estimativa do grau médio de dominância ($\hat{gmd}$)

$$\text{Sendo: } \sigma_{TD}^2 = \frac{1}{3}\Sigma a^2 + \frac{2}{9}\Sigma d^2 \quad (\text{Tab. 26, item 3.14.6}) \quad e$$

$$\sigma_{TD}^2 = \sigma_A^2 + \sigma_D^2 \quad (\text{item 3.14.7})$$

$$\text{Logo: } \sigma_A^2 = \frac{1}{3}\Sigma a^2 \Rightarrow \Sigma a^2 = 3\sigma_A^2 \quad e$$

$$\sigma_D^2 = \frac{2}{9} \Sigma d^2 \Rightarrow \Sigma d^2 = 4,5\sigma_D^2$$

$$\text{Como: } gmd = \frac{\Sigma d^2}{\Sigma a^2} \Rightarrow \hat{gms} = 1,10$$

Novamente, o gmd próximo de 1 (um) evidenciou (em média) dominância completa nos locos envolvidos com o caráter produção de etanol, para as linhagens em questão, demonstrando que a hibridização pode ser viável na obtenção de linhagens superiores em programas de melhoramento.

Apesar do teste de comparação de médias envolvendo as linhagens parentais M304-2C, X2180-1B, o híbrido MXI, seus segregantes haplóides e diplóides (híbridos intrameióticos), além de testemunhas, apresentar poucas diferenças significativas (Apêndice 4), algumas observações são válidas. Assim, observa-se que a expressão fenotípica do híbrido MXI que é o híbrido mais heterozigoto possível considerando as duas linhagens paren-

tais (M304-2C e X2180-1B) é muito próxima do híbrido MXV. Essa linhagem testemunha é resultado de cinco ciclos de cruzamentos realizados com a linhagem M304-2C (retrocruzamentos), apresentando portanto, mais de 96% dos locos em homozigose. Da comparação fenotípica da linhagem diplóide MXI (heterozigota) com MXV (homozigota), observou-se a inexistência de vigor de híbrido e a presença de dominância total para os locos controladores do caráter, conforme demonstrado pelo grau médio de dominância. Também não foram observados a existência de locos em heterozigose inibindo a performance fermentativa conforme a interpretação de JOHNSTON (1965) para algumas leveduras de cervejaria.

4.2.8. Estimativa do ganho de seleção e do coeficiente de herdabilidade para as linhagens diplóides (híbridos intrameióticos)

De acordo com a seleção simulada de 10% das linhagens mais produtivas, com base em suas produções médias (item 3.17), estimou-se o coeficiente de herdabilidade (no sentido amplo) como sendo da ordem de 76,28% e um ganho de seleção esperado de $0,65^{\circ}\text{GL}$, o que correspondeu a um acréscimo de 5,87% com relação a produção média de etanol dos híbridos intrameióticos ($11,01^{\circ}\text{GL}$).

Essas estimativas de $\hat{h}^2$ e $\hat{G}_s$ foram menores que as encontradas para as linhagens haplóides, segregantes de MXI ($\hat{h}^2 = 80,28\%$ e $\hat{G}_s = 80^{\circ}\text{GL}$), devido a presença de interação alélica (nos híbridos intrameióticos) que pode dificultar o progresso a cada ciclo de seleção. Este mesmo comportamento foi constatado nos híbridos de retrocruzamentos, com relação

às linhagens segregantes de XAHI (item 4.1.8). Estes resultados sugerem uma primeira seleção, já ao nível haplóide, nas linhagens segregantes (n) de um híbrido, originado de um cruzamento biparental, de tal forma, que os indivíduos selecionados sejam recombinantes contendo alelos favoráveis de ambas as linhagens parentais. No entanto, o cruzamento de linhagens haplóides superiores não implicou, necessariamente, na formação dos melhores híbridos, conforme demonstraram as comparações de médias apresentadas (Apêndices 2 e 4). Isto foi devido a presença de interações alélicas e ao tipo de cruzamentos realizados (retrocruzamentos e cruzamentos intrameióticos). Desta maneira, o cruzamento de segregantes selecionados, originários de uma mesma base genética (mesmo híbrido, de híbridos aparentados), apresentarão alelos favoráveis comuns às linhagens parentais. Visto não serem o efeito de ploidia ($2n$ em relação a n) e as interações alélicas expressíveis, quando realizados cruzamentos envolvendo linhagens segregantes aparentadas, apesar da presença de dominância total (em média) para os alelos dos diferentes locos controladores do caráter, uma estratégia de melhoramento para o nível diplóide, deve ser através da hibridização, mas, acumulando alelos favoráveis de linhagens parentais superiores, divergentes geneticamente.

5. CONCLUSÕES

O estudo do caráter poligênico produção de etanol por leveduras *Saccharomyces cerevisiae* permitiu inferir, com base nos resultados apresentados, as seguintes conclusões:

- 1) A metodologia tanto para segregantes haplóides como os diplóides resultantes de cruzamentos e retrocruzamentos, permitiu estimar os valores fenotípicos correspondentes as diferentes classes de genótipos e suas frequências esperadas na população, e obter estimativas de parâmetros genéuticos importantes para estudo do caráter poligênico produção de etanol em *S. cerevisiae*.
- 2) Com relação as linhagens segregantes haplóides (n) estimou-se as variâncias genéticas aditiva (responsável por 60% da variância genética total) e epistática do tipo aditivo por aditivo (responsável pelos 40% restantes).

- 3) Com relação as linhagens diplóides (híbridos de retrocruzamentos e intrameióticos), estimou-se a variância genética aditiva (responsável por 65% e 55% da variância genética total, respectivamente) e a variância genética dominante (responsável pelos 35% e 45% restantes da variância genética total).
- 4) Os coeficientes de herdabilidade para médias de linhagens haplóides e diplóides foram maiores do que 70%, indicando eficiências com a seleção fenotípica.
- 5) O grau médio de dominância próximo de um (1) denotou dominância completa (em média) para os diferentes alelos e locos controladores do caráter.
- 6) Interações alélicas refletindo em vigor de híbrido (quando comparado o híbrido heterozigoto MXI com o parental maior homozigoto MXV) e efeito de ploidia nos níveis considerados (haplóide e diplóide) não foram expressivos.
- 7) Os ganhos esperados por seleção, para as linhagens diplóides (híbridos de retrocruzamentos ou híbridos intrameióticos) e respectivas estimativas de coeficientes de herdabilidade foram menores que os estimados para as linhagens haplóides (segregantes), sob mesmo esquema de seleção (seleção ignorando-se os ascos ou 10% das linhagens superiores). Is-

to se deve pela presença de interações alélicas que podem dificultar o melhoramento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLARD, R.W. *Principles of plant breeding*. New York, John Wiley & Sons, 1960, 485p.
- AZEVEDO, J.L.; TAVARES, F.C.A.; CRUZ, M.R.M. Genetic improvement of yeasts. In: BACILA, M.; HORECKER, B.L.; STOPPANI, A.O.M., ed. *Biochemistry and genetics of yeasts*, New York, Academic Press, 1978. cap. 7, p.563- 75.
- BENNETT, C.A. & FRANKLIN, N.L. *Statistical Analysis in Chemistry and the Chemical Industry*. New York, John Wiley & Sons, 1963. 724p.
- BILINSKI, T.; LITWINSKA, J.; ZUK, J.; GAJEWSKI, W. Synchronous zygote formation in yeasts. In: PRESCOTT, D.M., ed. *Methods in cell biology*. New York, Academic Press, 1975. cap. 5, p.89-96.
- BURNETT, J.H. *Mycogenetics an introduction to the general genetics of fungi*. London, John Wiley & Sons, 1975, 375p.
- CATCHESIDE, F.R.S. *The genetics of recombination*. London, William Clowes & Sons, 1977. 172p.

- CATEN, C.E. & JINKS, J.L. Quantitative genetics. *In: INTERNATIONAL SYM-
POSIUM ON THE GENETICS OF INDUSTRIAL MICROORGANISMS, 2.*, London, 1976.
London, Academic Press, 1976. p.93-111.
- COMSTOCK, R.E. & ROBINSON, H.F. Estimation of average dominance of genes.
In: GOWEN, J.W. ed. Heterosis. Ames, Iowa State College, 1952. p.
494-516.
- ESPOSITO, R.E. & KLAPHOLZ, S. Meiosis and ascospore development. *In:*
STRATHERN, J.N.; JONES, E.W.; BROACH, J.R., ed. *The molecular biology
of the yeast Saccharomyces cerevisiae.* New York, Cold Spring Harbor
Laboratory, 1981. p.211- 87.
- FALCONER, D.S. *Introduction to quantitative genetics.* London, Longman,
1976. 365p.
- FINCHAM, J.; DAY, P.R.; RADFORD, A. *Fungal genetics.* Oxford, Blackwell,
1979. 636p.
- FISHER, R.A. & YATES, F. *Tabelas estatísticas para pesquisa em biologia,
medicina e agricultura.* São Paulo, Polígono, 1971. 150p.
- FOWELL, R.R. Sporulation and hybridization of yeasts. *In: ROSE, A.H. &
HARRISON, J.S., ed. The yeasts.* New York, Academic Press, 1969. v. 1,
p.303- 84.
- FOWELL, R.R. Life cycles in yeasts. *In: ROSE, A.H. & HARRISON, J.S., ed.
The yeasts.* New York, Academic Press, 1969. v.1, p.461- 72.

- GOMES, F.P. *Curso de Estatística Experimental*. 11.ed. São Paulo, Nobel, 1985. 466p.
- HABER, J.E. & HALVORSON, H.O. Methods in sporulation and germination of yeasts. In: PRESCOTT, D.M., ed. *Methods in cell biology*, New York, Academic Press, 1975, cap. 3, p.46-67.
- HERSKOWITZ, I. & OSHIMA, Y. Control of cell type in *Saccharomyces cerevisiae*: mating type and mating-type interconversion. In: STRATHERN, J.N.; JONES, E.W.; BROACH, J.R. ed. *The molecular biology of the yeast Saccharomyces*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1981. p.181-209.
- JOHNSTON, J.R. Breeding yeasts for brewing I. Isolation of breeding strains. *J. Inst. Brew.*, London, 71: 130-5, 1965.
- LINDEGREN, C.C. & LINDEGREN, G. A new method for hybridizing yeast. *Proc Natl. Acad. Sci.* London, 29: 306, 1943.
- MATHER, K. & JINKS, J. *Introdução à genética biométrica*. Ribeirão Preto. Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242p.
- MERRICK, M.J. Hybridization and selection for increased penicillin titre in wild-type isolates on *Aspergillus nidulans*. *Journal of General Microbiology*, London, 91: 278- 86, 1975a.
- MERRICK, M.J. The inheritance of penicillin titre in crosses between lines of *Aspergillus nidulans* selected for increased productivity. *Journal of General Microbiology*, London, 91: 287- 94, 1975b.

- MERRICK, M.J. Hybridization and selection for penicillin production in *Aspergillus nidulans* - a biometrical approach to strain improvement. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON THE GENETICS OF INDUSTRIAL MICROORGANISMS, 2., London, 1976. London, Academic Press, 1976. p.229-41.
- MORTIMER, R.K. & HAWTHORNE, D.C. Yeast genetics. In: ROSE, A.H. & HARRISON, J.S., ed. *The yeasts*. New York, Academic Press, 1969, v.1, p.386-460.
- MORTIMER, R.K. & HAWTHORNE, D.C. Genetic Mapping in yeast. In: PRESCOTT, D.M., ed. *Methods in cell biology*. New York, Academic Press, 1975, cap. 12, p.221-32.
- MORTIMER, R.K.; SCHILD, D.; CONTOPOULOU, C.R.; KANS, J.A. Genetic map of *Saccharomyces cerevisiae*, *Yeasts*, 5: 321-403, 1989.
- MORTIMER, R.K. & SCHILD, D. Genetic map of *Saccharomyces cerevisiae*, edition 9. *Microbiological Reviews*, 49: 181-212, 1985.
- MORTIMER, R.K. & SCHILD, D. Genetic mapping in *Saccharomyces cerevisiae*. In: STRATHERN, J.N.; JONES, E.W.; BROACH, J.R., ed. *The molecular biology of the yeast Saccharomyces*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1981. p.11-26.
- MUNZ, P. Dissecting yeast asci without a micromanipulator. In: PRESCOTT, D.M., ed. *Methods in cell biology*, New York, Academic Press, 1975, cap. 9, p.185- 88.

- PRINGLE, J.R. & HARTWELL, L.H. The *Saccharomyces cerevisiae* cell cycle. In: STRATHERN, J.N.; JONES, E.W.; BROACH, J.R., ed. *The molecular biology of the yeast Saccharomyces*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1981. p.97-142.
- ROMAN, H. Development of yeast as an experimental organisms. In: STRATHERN, J.N.; JONES, E.W.; BROACH, J.R., ed. *The molecular biology of the yeast Saccharomyces*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1981. p.1-9.
- ROMANO, P.; SOLI, M.G.; SUZZI, G.; GRAZIA, L.; ZAMBONELLI, C. Improvement of a wine *Saccharomyces cerevisiae* strain by a breeding Program. *Appl. Environ. Microbiol.*, Baltimore, 50: 1064-87, 1985.
- ROSE, A.H. Growth and handling of yeasts. In: PRESCOTT, D.M., ed. *Methods in cell biology*. New York, Academic Press, 1975. cap. 1, p.1-15.
- SENA, E.P.; RADIN, D.N.; WELCH, J.; FOGEL, S. Synchronous mating in yeasts. In: PRESCOTT, D.M., ed. *Methods in cell biology*, New York, Academic Press, 1975. cap. 4, p.71-87.
- SHERMAN, F. Use of micromanipulators in yeast studies. In: PRESCOTT, D. M., ed. *Methods in cell biology*, New York, Academic Press, 1975. cap. 10, p.189-99.
- SHERMAN, F.; FINK, G.R.; HICKS, J.B. *Laboratory course manual for methods in yeast genetics*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1986. 186p.

- SIMCHEN, G. Fruiting and growth rate among dikaryotic progeny of single wild isolates of *Schizophyllum commune*. *Genetics*, 53: 1151- 65, 1966.
- SIMCHEN, G. Independent evolution of a polygenic system in isolated populations of the fungus *Schizophyllum commune*. *Evolution*, Lancaster, 21: 310- 5, 1967.
- SIMPSON, I.N. & CATEN, C.E. Induced quantitative variation for penicillin titre in clonal populations of *Aspergillus nidulans*. *Journal of General Microbiology*, London, 110: 1-12, 1979.
- SNOW, R. Maximum likelihood estimation of linkage and interference from tetrad data. *Genetics*, Princeton, 92: 231-45, 1979.
- SPIEGEL, M.R. *Estatística*. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1977. 580p.
- STEEL, R.G.D. & TORRIE, J.H. *Principles and procedures of statistics a biometrical approach*. 2.ed. New York, McGraw-Hill, 1980. 633p.
- STRATHERN, J.N.; JONES, E.W.; BROACH, J.R. *The molecular biology of the yeast Saccharomyces; life cycle and inheritance*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1981. 751p.
- TAVARES, F.C.A. Princípios do melhoramento em função de parâmetros biométricos aplicados a *Saccharomyces uvarum* Beijerinck. Piracicaba, 1974, 100p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).
- TAVARES, F.C.A. & ECHEVERRIGARAY, S. Yeast breeding for fuel production In: STEWART, G.G.; RUSSELL, I.; KLEIN, R.D.; HIEBSCH, R.R., ed.

Biological research on industrial yeasts, Florida, CRC Press, 1987.
v. 1, p.59-79.

THROM, E. & DUNTZE, W. Mating-type dependent inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol*, Baltimore, 104 : 1388, 1970.

THORNER, J. Pheromonal regulation of development in *Saccharomyces cerevisiae*. In: STRATHERN, J.N.; JONES, E.W.; BROACH, J.R., ed. *The molecular biology of the yeast Saccharomyces*. New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1981. p.143- 80.

WAGONER, D.M. *Equine genetics e selection procedures*, Texas, Equine Research, 1978. 542p.

APÊNDICE

Apêndice 1. Produção de etanol (°GL) em ensaios de fermentação referentes às linhagens parentais X2180-1B e AH22, o híbrido XAHI, seus segregantes haplóides (esporos) e diplóides (híbridos de retro-cruzamentos), além de testemunhas.

Repetições Fermentações	R ₁			R ₂			R ₃			R ₄		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Linhagens testemunhas												
M300A	8,09	9,22	9,28	8,98	7,80	7,66	8,20	9,44	9,34	8,53	9,41	9,45
FLEISCHMANN	8,19	9,90	9,92	9,06	7,70	7,98	8,18	8,54	7,34	8,07	8,09	8,29
ATCC 26603	8,31	9,93	9,85	8,15	7,25	7,23	7,07	7,07	6,86	7,64	7,60	8,35
M304-2C	8,08	8,69	9,04	8,13	7,15	6,01	7,49	8,24	7,21	8,20	8,03	7,99
E202IV36	6,51	8,95	9,03	8,16	7,11	6,67	8,33	9,03	7,86	6,65	8,97	8,80
HO 65	6,75	7,47	8,28	4,95	7,21	6,74	6,99	7,40	7,43	7,07	7,18	7,67
MXI	7,46	8,71	6,90	7,43	6,74	6,10	7,76	8,18	7,33	7,38	7,68	7,61
MONTRACHET	8,38	9,07	7,24	6,91	7,47	7,69	7,37	8,13	7,52	8,35	8,83	8,94
Linhagens parentais												
X2180-1B	7,20	9,08	8,29	7,85	7,60	7,95	7,92	8,40	7,46	8,14	8,23	7,76
AH22	6,38	6,77	6,18	5,49	5,79	4,56	6,64	6,84	5,96	6,92	6,52	6,37
Híbrido												
XAHI	7,45	8,49	6,87	7,92	7,30	6,66	7,49	8,16	7,16	8,07	7,78	7,51
Esporos												
XAH-2A	7,98	9,27	9,39	7,43	6,84	6,46	7,36	7,71	7,36	7,69	7,66	7,87
XAH-2B	6,89	7,62	6,29	6,58	6,53	5,38	7,00	7,56	6,79	7,89	7,89	7,53
XAH-2C	8,15	8,13	7,69	8,16	7,24	7,80	6,71	6,96	6,52	6,80	6,97	7,35
XAH-2D	7,22	6,60	5,88	6,77	6,24	5,37	6,82	6,95	5,84	6,41	7,21	7,25
XAH-4A	6,56	8,32	6,76	6,86	6,67	6,43	7,10	7,33	6,80	6,80	7,07	7,12
XAH-4B	6,89	7,37	6,05	5,89	5,68	6,34	6,10	6,28	6,09	6,00	6,05	6,36
XAH-4C	7,10	8,61	7,66	5,87	7,40	6,91	8,21	8,32	7,84	7,60	7,66	7,75
XAH-4D	6,36	6,89	5,32	7,38	7,24	6,42	7,96	7,61	7,06	7,17	8,52	8,22

Continua...

Apêndice 1. Continuação

Repetições Fermentações	R ₁			R ₂			R ₃			R ₄		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Esporos												
XAH-7A	6,03	6,73	5,25	5,96	6,11	5,11	5,99	6,57	6,69	6,73	5,86	7,34
XAH-7B	5,59	6,90	5,61	6,76	5,94	6,01	7,51	7,20	6,76	7,49	7,38	7,01
XAH-7C	8,83	9,37	7,90	6,64	6,17	6,16	6,92	6,99	6,21	4,79	4,65	4,53
XAH-7D	6,84	7,37	6,08	6,91	6,07	4,97	6,95	7,38	6,58	6,97	6,66	6,21
XAH-8A	7,01	8,52	7,34	5,78	6,45	5,73	7,59	8,34	7,80	7,27	7,35	7,41
XAH-8B	6,53	7,22	5,36	5,33	5,69	5,37	7,98	8,04	7,44	7,35	7,24	7,03
XAH-8C	4,51	5,19	2,71	4,29	3,51	3,12	4,12	4,13	3,18	4,13	3,56	3,32
XAH-8D	6,77	8,98	7,57	7,21	6,49	6,63	6,80	7,35	7,36	7,5	7,43	7,92
XAH-11A	7,48	8,42	7,18	6,67	6,40	6,14	7,07	7,34	6,73	7,16	7,29	7,28
XAH-11B	5,13	8,17	6,87	6,44	5,64	5,00	7,26	7,61	7,15	7,04	7,04	6,96
XAH-11C	6,80	8,55	7,27	6,37	6,45	6,50	7,57	7,45	6,90	7,12	6,97	7,16
XAH-11D	3,74	3,83	3,51	4,15	3,57	3,39	3,74	3,87	3,49	4,00	3,43	3,35
XAH-13A	8,02	9,28	8,66	7,12	5,24	5,37	7,60	7,47	7,07	7,59	7,61	6,81
XAH-13B	7,03	9,18	8,35	6,93	5,65	5,83	8,03	8,44	7,95	7,06	7,94	7,94
XAH-13C	5,74	7,75	7,00	5,86	5,71	4,49	6,99	6,91	6,22	6,61	5,78	5,73
XAH-13D	7,08	8,62	7,75	6,60	6,14	5,65	7,01	6,99	6,35	6,84	6,80	6,55
XAH-15A	6,29	6,76	7,52	6,83	6,50	6,19	6,87	7,23	6,39	7,85	7,31	6,84
XAH-15B	6,80	9,43	7,30	7,41	6,06	4,85	7,01	7,69	7,55	7,55	7,20	7,09
XAH-15C	6,42	8,66	7,97	6,17	5,74	5,68	7,38	7,75	7,44	6,45	7,48	6,92
XAH-15D	7,95	8,23	5,30	7,14	5,97	5,68	6,67	6,74	6,14	7,23	6,89	6,92
XAH-16A	8,51	7,56	6,24	7,36	5,36	4,46	7,37	7,22	5,82	7,60	7,41	7,72
XAH-16B	8,26	8,47	6,71	7,25	5,13	4,66	6,64	7,11	5,90	6,84	7,01	6,35
XAH-16C	7,38	8,69	8,82	6,66	6,61	6,43	6,37	7,22	6,67	6,69	7,11	7,12
XAH-16D	7,41	8,15	8,11	6,95	6,49	6,29	6,67	7,29	6,62	6,79	7,10	6,56

Continua...

Apêndice 1. Continuação.

Repetições Fermentações	R ₁			R ₂			R ₃			R ₄		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Esporos												
XAH-21A	9,38	8,16	6,77	7,89	6,18	5,73	7,52	8,00	6,70	7,73	7,85	7,30
XAH-21B	7,29	9,12	7,05	6,91	5,79	5,58	7,08	7,72	6,86	6,76	7,02	6,99
XAH-21C	6,05	6,87	6,32	6,52	5,80	4,77	6,82	6,93	6,16	7,02	6,69	6,49
XAH-21D	7,25	8,76	5,71	6,93	6,24	5,46	6,07	6,81	6,03	6,62	7,34	6,82
XAH-22A	7,00	7,95	7,23	6,89	5,82	5,59	7,18	7,68	6,53	6,95	6,88	6,53
XAH-22B	7,18	7,83	6,48	7,07	5,54	4,75	7,04	7,21	5,93	6,76	6,60	6,26
XAH-22C	6,91	6,79	5,59	6,93	4,56	4,32	4,65	5,26	4,42	4,06	3,99	3,74
XAH-22D	7,80	8,48	7,36	7,37	5,59	5,25	7,51	7,99	7,11	7,40	7,50	7,29
XAH-23A	6,62	9,72	8,35	7,24	5,96	6,11	7,57	8,04	7,42	7,46	7,59	7,89
XAH-23B	5,94	4,78	3,69	6,75	4,52	3,46	3,64	3,82	3,14	3,64	3,64	3,35
XAH-23C	7,13	7,72	6,33	7,34	5,74	5,63	6,77	7,44	5,91	6,85	6,88	6,09
XAH-23D	7,96	9,54	5,95	7,36	5,73	6,07	8,08	7,86	6,99	7,35	7,41	7,55
XAH-27A	8,14	8,88	7,18	8,29	6,82	6,34	8,51	8,82	7,71	7,31	7,90	7,89
XAH-27B	7,86	8,36	6,54	7,41	6,27	5,56	6,86	7,35	6,28	7,12	6,54	6,33
XAH-27C	8,04	5,61	4,93	4,12	3,75	3,37	3,53	3,76	2,91	4,14	4,39	4,19
XAH-27D	7,34	7,57	5,86	6,61	5,64	5,18	6,94	6,40	5,87	7,02	6,86	6,38
XAH-30A	8,49	7,55	7,64	6,53	6,35	6,04	7,16	7,03	6,61	7,32	7,64	7,49
XAH-30B	8,24	6,95	6,80	7,32	6,09	5,94	7,11	7,21	6,80	7,56	8,13	7,43
XAH-30C	6,66	6,42	5,49	5,72	5,88	5,95	5,72	5,90	5,35	5,21	5,20	5,38
XAH-30D	8,28	7,83	7,36	6,86	6,76	5,98	7,47	7,91	7,11	7,08	6,95	6,49
XAH-39A	8,11	8,12	7,63	6,93	6,72	6,60	6,60	6,93	6,37	6,37	6,74	6,53
XAH-39B	8,02	7,30	5,71	7,79	5,94	5,57	7,63	7,66	7,09	7,84	7,57	7,56
XAH-39C	7,34	7,66	7,60	7,55	6,88	6,66	7,07	7,57	7,55	7,04	7,07	7,10
XAH-39D	8,46	8,89	8,29	7,37	6,99	6,54	7,00	7,56	8,87	5,79	7,96	7,76

Continua...

Apêndice 1. Continuação

Repetições Fermentações	R ₁			R ₂			R ₃			R ₄		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Híbridos de retrocruzamentos												
XAH-2AH	7,94	8,65	8,66	7,26	6,91	6,78	6,82	7,37	7,15	6,95	7,57	7,62
XAH-2BX	8,76	8,92	6,55	6,40	6,80	7,12	7,02	7,80	7,20	7,08	7,73	7,70
XAH-2CX	8,54	8,87	6,56	7,59	6,93	6,57	7,50	7,72	7,39	7,82	7,87	8,36
XAH-2DH	9,72	8,51	6,87	8,05	6,50	6,46	7,20	7,62	6,79	7,76	7,75	7,41
XAH-4AH	9,23	7,48	6,00	7,58	6,53	6,31	7,54	8,12	7,21	7,83	7,90	7,23
XAH-4BX	9,29	8,94	7,01	7,92	7,39	7,19	7,24	8,04	7,17	8,10	8,05	7,89
XAH-4CH	8,51	7,22	7,14	7,20	6,46	6,57	7,08	7,14	6,75	7,86	7,79	7,87
XAH-4DX	8,55	7,26	6,43	7,53	5,78	5,41	6,99	7,53	7,29	7,65	7,50	7,01
XAH-7AH	7,37	6,73	6,24	6,64	5,81	5,33	6,45	6,96	6,45	7,57	7,28	7,64
XAH-7BH	6,74	8,48	5,88	6,96	6,09	5,22	6,37	6,76	5,61	6,74	6,99	5,98
XAH-7CX	8,73	8,55	7,12	8,03	7,25	6,71	7,12	7,07	6,95	7,80	8,14	7,80
XAH-7DX	9,16	8,68	7,64	7,69	6,90	6,86	7,41	7,33	6,63	8,00	8,24	8,03
XAH-8AX	8,37	8,69	7,16	7,12	6,95	6,43	7,97	7,50	6,92	7,68	7,89	7,79
XAH-8BH	7,76	8,28	6,33	7,49	6,14	5,55	6,14	6,83	6,37	7,70	7,45	7,58
XAH-8CH	6,50	5,85	5,30	6,24	5,06	4,99	5,67	5,93	4,99	5,62	5,84	5,83
XAH-8DX	9,96	7,98	7,48	7,22	6,10	6,09	7,48	7,65	7,17	7,22	7,32	7,63
XAH-11AX	7,66	7,49	7,41	7,66	6,79	6,12	7,39	7,56	6,88	7,06	6,92	7,12
XAH-11BH	7,86	7,78	6,91	7,76	6,59	6,20	7,13	7,60	6,86	7,24	7,51	7,37
XAH-11CH	7,26	7,34	7,09	8,06	7,60	7,63	7,07	7,52	6,90	7,20	7,29	7,70
XAH-11DX	7,86	7,96	6,69	6,96	5,24	5,32	7,26	7,02	6,54	7,10	6,65	6,98
XAH-13AH	6,81	8,12	7,59	7,96	6,96	6,90	8,04	7,82	7,17	7,48	7,28	7,12
XAH-13BH	7,80	7,88	6,95	7,09	6,16	5,93	7,81	7,92	7,55	7,09	7,21	7,09
XAH-13CX	7,93	7,75	5,99	7,63	7,20	7,15	7,64	7,55	6,99	7,36	7,51	7,74
XAH-13DX	8,33	9,02	7,44	7,13	6,68	6,77	7,22	7,51	6,94	7,25	7,27	7,80

Continua...

Apêndice 1. Continuação

Repetições Fermentações	R ₁			R ₂			R ₃			R ₄		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Híbridos de retrocruzamentos												
XAH-15AX	8,15	8,58	7,16	7,35	6,96	6,25	7,45	7,47	6,78	7,30	7,30	7,56
XAH-15BH	8,29	7,18	7,06	7,13	6,22	5,55	7,48	7,63	6,42	7,24	7,40	7,40
XAH-15CH	6,76	6,46	6,17	6,04	5,61	4,99	6,89	7,08	5,85	7,50	7,22	7,24
XAH-15DX	7,88	7,58	6,51	7,00	6,25	5,46	7,70	8,07	7,18	7,08	6,81	6,90
XAH-16AH	6,82	6,87	5,99	7,46	6,30	5,60	7,34	7,72	6,46	8,00	8,10	8,26
XAH-16BX	7,85	8,12	7,60	8,08	7,05	6,91	7,52	7,59	7,07	7,20	7,27	6,97
XAH-16CH	6,84	7,15	7,27	7,33	6,37	6,08	7,07	7,38	6,19	7,40	6,95	7,01
XAH-16DX	7,23	7,82	8,16	7,24	6,32	6,19	6,77	8,06	7,39	7,94	7,70	8,04
XAH-21AH	8,01	7,71	6,71	7,54	6,46	6,02	8,10	8,28	7,39	7,71	7,47	7,19
XAH-21BX	7,69	7,70	8,46	7,19	6,83	6,39	7,64	8,44	7,94	7,42	7,60	7,03
XAH-21CH	6,45	7,12	6,60	6,07	5,48	5,11	6,15	7,21	6,21	7,25	6,39	5,98
XAH-21DX	6,01	6,80	6,47	7,04	5,80	5,01	7,01	7,21	6,16	7,34	6,87	6,30
XAH-22AX	7,44	8,07	8,30	6,53	6,57	6,03	7,26	7,90	6,59	7,21	6,62	6,17
XAH-22BX	6,55	6,87	6,97	6,00	5,71	5,23	7,30	7,73	7,38	6,98	6,27	6,17
XAH-22CH	7,76	8,05	5,31	7,42	6,57	6,29	7,26	7,62	6,30	7,81	6,76	6,34
XAH-22DH	6,52	7,44	6,97	6,44	5,93	5,83	6,56	7,60	6,47	7,37	7,63	7,06
XAH-23AX	7,19	8,42	8,06	6,12	6,30	6,31	6,98	7,67	7,18	6,90	7,17	6,42
XAH-23BX	6,68	6,09	5,73	6,17	5,38	5,42	6,24	6,26	5,33	6,86	6,61	6,04
XAH-23CH	7,03	6,88	5,51	8,21	7,62	6,95	7,12	8,04	7,46	7,29	7,60	7,29
XAH-23DH	7,21	6,94	6,48	6,92	6,01	6,21	6,85	7,61	6,80	7,61	7,48	7,20

Continua...

Apêndice 1. Continuação

Repetições	R ₁			R ₂			R ₃			R ₄		
Fermentações	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Híbridos de retrocruzamentos												
XAH-27AX	7,43	7,81	7,45	6,78	6,42	6,24	6,70	7,53	7,24	7,09	7,47	7,34
XAH-27BX	7,53	8,55	7,59	5,61	6,14	5,99	7,11	8,06	7,36	6,99	6,99	6,45
XAH-27CH	7,19	7,96	6,30	6,52	6,43	6,14	6,83	7,14	6,72	6,95	6,88	6,71
XAH-27DH	6,98	6,52	5,83	5,53	5,66	5,06	6,87	7,19	6,11	7,00	6,82	6,15
XAH-30AH	6,76	6,77	6,36	5,31	6,29	5,51	6,86	7,76	6,28	6,51	6,68	6,32
XAH-30BX	6,80	6,43	6,76	6,47	6,46	6,40	7,41	7,62	7,36	6,86	7,59	7,19
XAH-30CX	7,23	7,95	7,12	6,68	7,02	7,06	6,89	7,31	7,09	7,10	7,21	7,51
XAH-30DH	6,66	7,44	5,91	6,56	6,92	6,00	7,66	7,41	7,03	7,74	7,65	7,34
XAH-39AH	7,50	6,50	5,93	6,88	7,11	6,39	7,38	7,46	6,78	8,13	8,70	8,06
XAH-39BH	7,31	7,79	7,13	5,67	6,04	5,38	6,96	7,29	6,96	7,37	7,29	6,92
XAH-39CX	7,99	7,31	7,26	6,61	6,39	6,30	7,47	7,70	7,72	7,18	7,95	7,72
XAH-39DX	7,57	7,93	7,94	7,02	6,84	6,55	7,04	7,42	6,96	6,71	7,01	6,68

Apêndice 2. Teste de Tukey envolvendo as linhagens parentais X2180-1B e AH22, o híbrido XAHT, segretantes haplóides e diplóides (híbridos de retrocruzamentos) e testemunhas. As médias são relativas a produção de etanol (°GL) em ensaio correspondendo 3 fermentações e 4 repetições.

Ordem	Linhagem	Médias	5%	1%
1	M300A	8,78	a	A
2	FLEISCHMANN	8,43	ab	AB
3	E202IV36	8,17	abc	ABC
4	MONTRACHET	7,99	abcd	ABCD
5	X2180-1B	7,99	abcd	ABCD
6	ATCC 26603	7,94	abcde	ABCDE
7	M304-2C	7,85	abcdef	ABCDEF
8	XAH-4BX	7,85	abcdefg	ABCDEF
9	XAH-27A	7,81	abcdefgh	ABCDEF
10	XAH-2A	7,75	abcdefghi	ABCDEF
11	XAH-7DX	7,71	abcdeefgi	ABCDEF
12	XAH-2CX	7,64	abcdefghij	ABCDEF
13	XAH-7CX	7,60	abcdefghijk	ABCDEF
14	XAH-4C	7,57	abcdefghijk	ABCDEF
15	XAHI	7,57	abcdefghijk	ABCDEF
16	XAH-2DH	7,55	abcdefghijkl	ABCDEF
17	XAH-8AX	7,53	abcdefghijklm	ABCDEF
18	XAH-13B	7,52	abcdefghijklm	ABCDEF
19	XAH-21BX	7,52	abcdefghijklm	ABCDEF
20	XAH-23A	7,49	abcdefghijklmn	ABCDEF
21	XAH-2AH	7,47	bcdefghijklmn	ABCDEF
22	XAH-39D	7,45	bcdefghijklmn	ABCDEF
23	XAH-13DX	7,44	bcdefghijklmn	ABCDEF
24	XAH-8DX	7,44	bcdefghijklmn	ABCDEF
25	MXI	7,44	bcdefghijklmn	ABCDEF
26	XAH-13AH	7,43	bcdefghijklmn	ABCDEF
27	XAH-16BX	7,43	bcdefghijklmn	ABCDEF
28	XAH-21A	7,43	bcdefghijklmn	ABCDEF
29	XAH-2BX	7,42	bcdefghijklmn	ABCDEF
30	XAH-4AH	7,41	bcdefghijklmn	ABCDEF
31	XAH-16DX	7,40	bcdefghijklmn	ABCDEF
32	XAH-11CH	7,38	bcdefghijklmn	ABCDEF
33	XAH-21AH	6,38	bcdefghijklmno	ABCDEF
34	XAH-2C	7,37	bcdefghijklmno	BCDEF
35	XAH-13CX	7,37	bcdefghijklmno	BCDEF
36	XAH-15AX	7,35	bcdefghijklmno	BCDEF
37	XAH-8D	7,33	bcdefghijklmno	BCDEF
38	XAH-23D	7,32	bcdefghijklmno	BCDEF
39	XAH-13A	7,32	bcdefghijklmno	BCDEF
40	XAH-39CX	7,30	bcdefghijklmno	BCDEF

Continua...

Apêndice 2. Continuação

Ordem	Linhagem	Médias	5%	1%
41	XAH-4CH	7,29	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
42	XAH-39C	7,25	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
43	XAH-23CH	7,25	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
44	XAH-11BH	7,23	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
45	XAH-39AH	7,22	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
46	XAH-22D	7,22	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
47	XAH-8A	7,21	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
48	XAH-13BH	7,20	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
49	XAH-30CX	7,18	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
50	XAH-4D	7,17	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
51	XAH-11AX	7,17	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
52	XAH-30D	7,17	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
53	XAH-30A	7,15	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
54	XAH-16C	7,14	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
55	XAH-15B	7,14	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKL
56	XAH-39B	7,14	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
57	XAH-39DX	7,13	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
58	XAH-30B	7,13	bcdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
59	XAH-27AX	7,12	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
60	XAH-11A	7,09	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
61	H065	7,09	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
62	XAH-11C	7,09	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
63	XAH-15BH	7,08	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
64	XAH-4DX	7,07	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
65	XAH-16AH	7,07	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
66	XAH-23AX	7,06	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
67	XAH-22AX	7,05	cdefghijklmno	BCDEFGHIJKLM
68	XAH-16D	7,03	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
69	XAH-15DX	7,03	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
70	XAH-27BX	7,03	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
71	XAH-30DH	7,02	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
72	XAH-21B	7,01	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
73	XAH-15C	7,00	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
74	XAH-2B	6,99	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
75	XAH-4A	6,98	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
76	XAH-39A	6,97	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
77	XAH-8BH	6,96	cdefghijklmnop	CDEFGHIJKLMN
78	XAH-30BX	6,94	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
79	XAH-23DH	6,94	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
80	XAH-22CH	6,94	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
81	XAH-16CH	6,92	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
82	XAH-16A	6,88	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
83	XAH-15A	6,88	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
84	XAH-27B	6,87	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
85	XAH-13D	6,86	cdefghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN

Continua...

Apêndice 2. Continuação

Ordem	Linhagem	Médias	5%	1%
86	XAH-22A	6,85	defghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
87	XAH-39BH	6,84	defghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
88	XAH-22DH	6,81	defghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
89	XAH-27CH	6,81	defghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
90	XAH-11DX	6,79	defghijklmnopq	CDEFGHIJKLMN
91	XAH-15D	6,73	defghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
92	XAH-8B	6,71	defghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
93	XAH-7AH	6,70	defghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
94	XAH-11B	6,69	defghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
95	XAH-7B	6,68	efghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
96	XAH-16B	6,67	efghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
97	XAH-21D	6,67	efghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
98	XAH-23C	6,66	efghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
99	XAH-22BX	6,59	fghijklmnopq	DEFGHIJKLMN
100	XAH-7D	6,58	fghijklmnopq	EFGHIJKLMN
101	XAH-7C	6,55	fghijklmnopq	EFGHIJKLMN
102	XAH-22B	6,55	fghijklmnopq	EFGHIJKLMN
103	XAH-2D	6,54	ghijklmanopq	EFGHIJKLMN
104	XAH-30AH	6,53	hijklmanopq	FGHIJKLMN
105	XAH-21DX	6,50	ijklmanopq	FGHIJKLMNO
106	XAH-7BH	6,48	ijklamnopq	FGHIJKLMNO
107	XAH-15CH	6,48	ijklmanopq	FGHIJKLMNO
108	XAH-27D	6,47	ijklmanopq	FGHIJKLMNO
109	XAH-21C	6,37	jklmanopqr	GHIJKLMNO
110	XAH-21CH	6,33	klmnopqr	HIJKLMNO
111	XAH-27DH	6,31	klmnopqr	IJKLMNO
112	XAH-4B	6,25	lmnopqr	IJKLMNO
113	XAH-13C	6,23	mnopqr	JKLMNO
114	AH22	6,20	nopqr	KLMNO
115	XAH-7A	6,19	nopqr	KLMNO
116	XAH-23BX	6,07	opqr	LMNO
117	XAH-30C	5,74	pqr	MNOP
118	XAH-8CH	5,65	qrs	NOP
119	XAH-22X	5,10	rst	OPQ
120	XAH-27C	4,39	stu	PQR
121	XAH-23B	4,19	tu	QR
122	XAH-8C	3,81	tu	QR
123	XAH-11D	3,67	u	R

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS (1%) = 1,40 °GL (% vol)

DMS (5%) = 1,31 °GL

Apêndice 3. Produção de etanol (^oGL) em ensaio de fermentação, constituído de 3 repetições e 3 fermentações consecutivas, referentes às linhagens oriundas do cruzamento de M340-2C e X2180-1B, além de linhagens testemunhas.

Repetições		R ₁			R ₂			R ₃		
Linhagens	Fermentações	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Testemunhas										
M300A		9,82	8,86	9,74	11,04	10,59	10,62	9,98	8,84	9,69
FLEISCHMANN		4,40	4,17	4,37	6,00	6,16	5,71	6,32	6,82	6,49
ATCC 26603		9,45	10,29	9,94	9,00	9,42	8,97	6,40	6,98	7,34
MXV		11,30	10,98	11,17	10,70	10,52	10,39	10,64	10,31	10,25
Parentais										
M 304-2C		9,90	9,82	10,70	11,04	10,86	10,35	9,43	10,46	8,63
X2180-1B		9,52	8,62	9,44	9,46	7,47	9,38	7,21	5,50	7,48
Híbrido										
MXI		10,53	10,84	10,36	12,62	12,55	12,57	9,91	10,36	10,79
Esporos										
MXI-1A		10,94	10,97	10,64	11,05	11,28	11,31	9,54	11,14	10,02
MXI-1B		11,17	10,34	11,75	11,22	10,61	10,45	9,45	9,77	9,79
MXI-1C		10,02	10,08	10,72	10,27	10,39	10,41	8,30	8,60	9,27
MXI-1D		9,72	10,40	10,12	10,48	10,54	10,08	10,09	9,55	9,79
MXI-2A		12,55	12,42	11,86	8,75	9,45	9,73	10,67	8,19	9,15
MXI-2B		10,83	10,63	10,64	10,21	10,12	10,18	9,95	9,29	10,12
MXI-2C		11,95	12,92	12,37	10,04	10,05	10,10	10,31	10,46	9,82
MXI-2D		10,71	11,44	11,53	10,16	10,17	10,42	8,23	9,65	9,44
MXI-6A		11,50	11,78	11,44	10,99	10,60	10,58	10,47	10,32	10,14
MXI-6B		11,96	11,77	11,80	11,58	11,61	10,30	11,11	9,60	11,46
MXI-6C		12,31	12,57	11,99	11,20	11,25	11,81	9,81	10,56	9,74
MXI-6D		11,80	11,52	11,84	11,32	9,81	11,45	10,68	8,90	10,00

Continua...

Apêndice 3. Continuação

Repetições		R ₁			R ₂			R ₃		
Linhagens	Fermentações	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Esporos										
MXI-7A		10,26	11,13	11,51	9,50	9,63	9,77	9,09	9,75	10,20
MXI-7B		11,25	11,40	11,74	9,89	10,00	10,11	9,18	8,70	9,98
MXI-7C		12,52	12,18	12,62	11,75	11,18	11,05	11,58	11,09	11,47
MXI-7D		11,26	11,09	11,01	10,20	10,62	10,21	10,06	10,40	10,24
MXI-8A		11,40	11,37	11,31	10,30	11,43	10,23	9,61	10,65	9,46
MXI-8B		11,44	11,61	11,97	10,43	10,24	10,28	9,73	8,74	10,32
MXI-8C		10,01	10,87	10,40	9,19	9,32	9,55	8,65	8,78	8,01
MXI-8D		11,79	11,73	11,95	11,31	11,57	10,99	10,40	10,84	11,31
Híbridos intrameióticos										
MXI-1AD		9,70	10,00	10,14	10,28	9,78	10,36	9,99	9,37	10,47
MXI-1AC		11,80	11,96	11,20	11,05	11,18	11,01	9,39	11,53	11,32
MXI-1BD		11,86	11,85	12,10	11,80	11,71	10,77	10,95	9,36	10,91
MXI-1BC		11,59	10,85	11,58	10,51	10,31	11,75	9,84	10,86	11,70
MXI-2AC		10,95	11,13	10,57	11,12	10,52	10,25	10,53	9,26	10,18
MXI-2AB		11,78	12,18	11,90	10,92	11,55	11,71	10,27	10,46	10,87
MXI-2DB		11,72	11,43	11,91	10,83	11,38	11,46	9,88	10,60	10,82
MXI-2DC		10,54	11,89	11,55	10,47	10,99	10,95	9,29	11,20	9,87
MXI-6AB		11,96	12,45	11,44	11,03	10,87	10,89	11,27	11,70	10,50
MXI-6AD		9,10	9,34	9,80	9,89	9,02	9,40	9,69	10,01	10,33
MXI-6BC		12,26	12,15	12,16	10,84	10,60	11,90	10,87	11,22	11,37
MXI-6CD		11,21	10,88	10,93	11,48	10,77	10,40	10,50	11,33	10,87

Continua...

Apêndice 3. Continuação

Repetições		R ₁			R ₂			R ₃		
Linhagens	Fermentações	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
Híbridos intrameióticos										
MXI-7CD		11,40	11,20	11,18	11,16	10,00	10,78	11,12	11,70	10,67
MXI-7AB		10,70	10,74	10,66	11,61	11,44	11,20	11,88	11,60	11,44
NXI-7AC		11,53	11,30	11,45	10,57	9,52	10,66	10,94	9,37	10,76
MXI-7BD		10,01	10,26	10,40	11,40	12,44	11,03	11,59	11,90	10,43
MXI-8AB		12,53	12,29	12,12	11,58	12,05	12,08	11,49	11,19	11,10
MXI-8BC		12,18	12,26	12,28	11,97	11,62	9,69	11,65	11,80	9,14
MXI-8AD		11,58	11,00	11,66	9,91	11,32	11,90	10,47	11,27	10,99
MXI-8CD		11,79	11,85	12,19	11,00	10,25	12,27	10,19	11,38	10,80

Apêndice 4. Teste de Tukey envolvendo as linhagens parentais M304-2C e X2180-18, o híbrido MXI, segregantes haplóides e diplóides (híbridos intrameióticos) e testemunhas. As médias são relativas a produção de etanol (g/L).

Ordem	Linhagem	Médias	5%	1%
1	MXI-8AB	11,82	a	A
2	MXI-7C	11,71	a	A
3	MXI-6BC	11,48	ab	AB
4	MXI-8BC	11,39	abc	AB
5	MXI-6AB	11,34	abc	AB
6	MXI-8D	11,32	abc	AB
7	MXI-8CD	11,30	abc	AB
8	MXI-2AB	11,29	abc	AB
9	MXI-1BD	11,25	abc	AB
10	MXI-7AB	11,25	abc	AB
11	MXI-6C	11,24	abc	AB
12	MXI-6B	11,24	abc	AB
13	MXI	11,17	abc	AB
14	MXI-1AC	11,15	abc	AB
15	MXI-8AD	11,12	abc	AB
16	MXI-2DB	11,11	abc	AB
17	MXI-7BD	11,05	abc	AB
18	MXI-7CD	11,02	abc	AB
19	MXI-1BC	10,99	abc	AB
20	MXI-6CD	10,93	abc	AB
21	MXI-2C	10,89	abc	ABC
22	MXI-6A	10,87	abc	ABC
23	MXI-6D	10,81	abc	ABC
24	MXI-1A	10,76	abc	ABC
25	MXI-2DC	10,75	abc	ABC
26	MXV	10,69	abc	ABC
27	MXI-7AC	10,67	abcd	ABC
28	MXI-8A	10,64	abcd	ABC
29	MXI-7D	10,56	abcd	ABC
30	MXI-8B	10,52	abcd	ABC
31	MXI-1B	10,50	abcd	ABCD
32	MXI-2AC	10,50	abcd	ABCD
33	MXI-2A	10,30	abcd	ABCD
34	MXI-7B	10,25	abcde	ABCD
35	MXI-2B	10,21	abcde	ABCD
36	MXI-2D	10,19	abcde	ABCD
37	M304-2C	10,13	abcde	ABCD
38	MXI-7A	10,09	abcde	ABCD
39	MXI-1D	10,08	abcde	ABCD
40	MXI-1AD	10,00	abcde	ABCD

Continua ...

Apêndice 4. Continuação

Ordem	Linhagem	Médias	5%	1%
41	M300A	9,90	abcde	ABCD
42	MXI-1C	9,78	abcde	ABCD
43	MXI-6AD	9,62	bcde	ABCD
44	MXI-8C	9,42	cde	BCD
45	ATCC 26603	8,64	de	CD
46	X2180-1B	8,23	e	D
47	FLEISCHMANN	5,46	f	E

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 1% = 2,28 °GL (% vol)

DMS 5% = 2,04 °GL