

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**



Dissertação

**FENOTIPAGEM DE CARACTERES ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA À BRUSONE NO
TRIGO (*Triticum aestivum* L.) BRASILEIRO**

Valéria Oliveira Nizolli

Pelotas, 2021

Valéria Oliveira Nizolli

Dissertação

**FENOTIPAGEM DE CARACTERES ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA À BRUSONE
NO TRIGO (*Triticum aestivum* L.) BRASILEIRO**

**Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Agronomia da
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da
Universidade Federal de Pelotas, como
requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Ciências (área de conhecimento:
Fitomelhoramento).**

Orientador: Antonio Costa de Oliveira, *Ph.D.*

Co-orientador: Eduardo Venske, Dr.

Co-orientador: Paul Nicholson *Ph.D.*

Pelotas, 2021

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Marcos Giovani Machado Nizolli e Nilza Oliveira Nizolli e a minha irmã Gisele Oliveira Nizolli, que são minha base, aos quais eu agradeço por todo apoio, compreensão, dedicação e amor.

Ao meu namorado Lucas Beardi por todo amor, paciência e companheirismo ao longo desses anos. Obrigada por ser, além de tudo, meu amigo e por me incentivar a cada passo do meu caminho.

Ao meu orientador Antonio Costa de Oliveira, ao qual admiro e agradeço pela orientação. Obrigada pela confiança no desenvolvimento deste trabalho, assim como pela disposição e por todos os ensinamentos repassados.

Ao meu co-orientador Eduardo Venske, por todo apoio, dedicação e estímulo. Agradeço, também, por todo conhecimento compartilhado, assim como toda confiança e calma transmitida.

Aos professores do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF), Camila Pegoraro, Antonio Costa de Oliveira e Luciano Maia, pela motivação e ensinamentos transmitidos, toda minha admiração e respeito. Foram as excelentes aulas ministradas na graduação que despertaram meu interesse pelo melhoramento vegetal e que continuam sendo uma referência para mim.

À toda equipe do Laboratório de Interação Planta-Patógeno (LIPP) pela valiosa colaboração que possibilitou a execução desse trabalho. Em especial ao professor Leandro Dallagnol pela contribuição e valiosos conselhos, meu muito obrigada. Ao Alfonso D. Tetela pela amizade e paciência ao compartilhar seus vastos conhecimentos de fitopatologia, muito obrigada.

Às minhas colegas e amigas Amanda Baseggio e Jennifer Villavicencio por compartilharem todas angustias e conquistas no mestrado. Obrigada, o apoio de vocês foi fundamental para a execução deste trabalho.

Ao grupo do CGF, por toda ajuda que possibilitou a realização deste estudo. Em especial à Anna Karina Frank, Victória Oliveira, Jennifer Lopes, Karine Janner, essas mulheres incríveis que me deram força para seguir adiante, obrigada pelo carinho e por todos os bons momentos.

À todos que contribuíram de alguma forma, direta ou indiretamente, meu mais sincero muito obrigada!

RESUMO

NIZOLLI, Valeria Oliveira. Fenotipagem de caracteres associados à resistência à brusone no trigo (*Triticum aestivum* L.) brasileiro. 2021. 114f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – área de concentração: Fitomelhoramento) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2021.

A brusone do trigo, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* patótipo *Triticum*, é considerada uma das principais ameaças à produção mundial do cereal, pelo seu potencial de causar danos à cultura. A obtenção de resistência genética ainda se mostra como um grande desafio para melhoristas e fitopatologistas, devido à grande variabilidade de *P. oryzae* e à complexidade da herança da resistência. O melhoramento genético dispõe de diversas técnicas que podem ser utilizadas no desenvolvimento de cultivares resistentes e, juntamente com os avanços ocorridos na ciência genômica nos últimos anos. Dentre as técnicas de biologia molecular, o mapeamento associativo ou de desequilíbrio de ligação, também conhecido como estudo de associação genômica ampla (do inglês: *genome-wide association study* - GWAS) é considerado uma abordagem importante no melhoramento e representa uma alternativa poderosa na busca por novos genes de resistência à brusone, pois este abrange todo o genoma possibilitando identificar relações entre os marcadores e o fator causal dos polimorfismos para identificar associações marcador-traço. Uma das etapas cruciais do estudo de mapeamento associativo é a fenotipagem dos acessos. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo apresentar e discutir os principais aspectos relacionados à resistência genética do trigo à brusone, assim como caracterizar fenotipicamente um conjunto de 195 genótipos de trigo, analisando os caracteres de importância agrônômica e sua relação com a severidade à brusone. O experimento foi conduzido nos anos de 2019 e 2020, em casa de vegetação do Centro de Genômica e Fitomelhoramento, localizado no campus Capão do Leão, da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), município de Capão do Leão – RS. O conjunto de genótipos foi avaliado para os seguintes caracteres: severidade da brusone nas folhas aos 10 (SF10), 15 (SF15), 20 (SF20), 25 (SF25) e 30 (SF30) dias após a inoculação; severidade à brusone nas espigas aos 15 (SE15), 20 (SE20) e 25 (SE25) dias após a inoculação; estatura de plantas (Est); número de afilhos férteis (NAF); comprimento da espiga (CE); peso da espiga (PE); número de espiguetas por espiga (NE); número de grãos por espiga (NGE) e massa de grãos por espiga (MG). Foram realizadas análises estatísticas

univariadas, de distribuição de frequências e análise de correlação. As análises permitiram identificar as diferentes classes fenotípicas em que foi dividida a população em relação aos caracteres agronômicos avaliados. Foi observado que há variabilidade fenotípica na população em estudo para os caracteres de interesse. Essa variabilidade endossa o uso da população em estudo de mapeamento associativo. Ocorrem diferentes níveis de associação entre os caracteres, porém, a correlação entre caracteres agronômicos e severidade de brusone é de nula a baixa, limitando o seu uso em seleção indireta ou métodos de seleção multicaráter. Os resultados obtidos neste estudo devem contribuir, tanto para o desenvolvimento de genótipos superiores, quanto como população de mapeamento de QTL e genes de resistência ao caráter.

Palavras-chave: *Pyricularia oryzae*; resistência genética à doenças; mapeamento genético.

ABSTRACT

NIZOLLI, Valeria Oliveira. Phenotyping of characters associated with blast resistance in Brazilian wheat (*Triticum aestivum* L.). 2021. 114p. Dissertation (Master's in Agronomy – concentration area: Plant Breeding) – Graduation Program in Agronomy, Department of Crop Science, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2021.

Wheat blast, caused by the fungus *Pyricularia oryzae* pathotype *triticum*, has been considered one of the main threats to wheat production worldwide, due to its potential to cause severe damages to the crop. Genetic resistance is the most efficient method for plant disease control, in addition to its economic and environmental advantages. However, obtaining genetic resistance is still a considerable challenge for breeders and plant pathologists, due to the wide genetic variability of *P. oryzae* and the complexity of the inheritance of the trait. Crop breeding has available several techniques for the development of resistant cultivars and, along with the current advances in genomic science, has received even more attention. Among these, the ones based on molecular biology, such as genetic mapping, using molecular markers, has shown a high potential to achieve this aim. More specifically, the association mapping or linkage disequilibrium mapping, also known as genome-wide association studies (GWAS), is considered an important approach and represents a powerful alternative in the search of new blast resistance genes, as the method comprise the whole crop genome, allowing for the identification of trait-marker associations. A crucial step of any association mapping study is the phenotyping. In view of the above, the present study aimed to present and discuss the main aspects related to wheat blast resistance as well as to phenotype a panel of 195 Brazilian wheat accessions, assaying the main agronomic traits and blast severity, and their association. The experiment was carried out in 2019 and 2020, in greenhouse, belonging to Plant Genomics and Breeding Center, located at Capão do Leão Campus, Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão –RS. The panel of accessions was assayed for the following traits: blast severity at leaves at 10 (SF10), 15 (SF15), 20 (SF20), 25 (SF25) and 30 (SF30) days; blast severity at spikes at 15

(SE15), 20 (SE20) and 25 (SE25) days; plant height (Est); number of fertile tillers (NAF); spike length (CE); spike weight (PE); number of spikelets per spike (NE); number of grains per spike (NGE) and grain mass per spike (MG). Univariate, frequency distribution and Pearson correlation analyses were applied. The analyses allowed one to identify different phenotypic classes in which the population was grouped regarding the traits assayed. There is genetic variability in the studied population for the assayed traits. This variability endorses the use of the panel in the association mapping study. There are different levels of association between the traits, however, the correlation between agronomic traits and blast resistance is only null to weak, which limits its use in indirect or multitrait selection methods. The results obtained through this study will contribute both for the development of improved wheat cultivars but also as a mapping population for QTLs and genes of blast resistance.

Key-words: genetic resistance, gene mapping, *Pyricularia oryzae*.

Lista de Figuras

2. Revisão de literatura

Figura 1 – Esporos de *Pyricularia oryzae* patótipo *Triticum*. 23

Figura 2 - A. Sintomas de brusone na folha da planta de trigo; B. Sintomas de brusone no colmo da planta de trigo. Fonte: Valéria Oliveira Nizolli, 2020. 26

Figura 3 - A. Evolução dos sintomas de brusone em espigas de trigo; B. Efeito que a infecção por *Pyricularia oryzae* na ráquis causa na formação de grãos de trigo. Fonte: Valéria Oliveira Nizolli, 2020. 27

3. Caracterização fenotípica quanto a severidade à brusone e caracteres agrônômicos de um conjunto de genótipos de trigo

Figura 4 - Escala diagramática para avaliar severidade da brusone em folhas de trigo. Os dados são apresentados como a porcentagem (%) de área da folha com sintomas de brusone. Fonte: (RIOS et al., 2013). 57

Figura 5 - Escala diagramática para avaliação da severidade da brusone causada por *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum* em espigas de trigo. Fonte: (MACIEL et al., 2013). 59

Figura 6 - Distribuição de frequências da população de trigo do conjunto I, do ano de 2019, para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 10 dias após a inoculação (SF10, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 62

Figura 7 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020, para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 10 dias após a inoculação (SF10, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 63

Figura 8 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas folhas aos 15 dias após a inoculação (SF15, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 64

Figura 9 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter Severidade da brusone nas folhas aos 20 dias após a inoculação (SF20, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 65

Figura 10 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 20 dias após a inoculação (SF20, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 66

Figura 11 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas folhas aos 25 dias após a inoculação (SF25, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 67

Figura 12 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 30 dias após a inoculação (SF30, em percentagem). Fonte:CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 68

Figura 13 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas espigas aos 15 dias após a inoculação (SE15, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 69

Figura 14 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter severidade da brusone nas espigas aos 20 dias após a inoculação (SE20, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 70

Figura 15 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas espigas aos 25 dias após a inoculação (SE25, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 71

Figura 16 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter estatura de planta (Est, em cm). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 72

Figura 17 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter estatura de planta (Est, em cm). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 74

Figura 18 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter número de afilhos férteis (NAF, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 75

Figura 19 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter número de afilhos férteis (NAF, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020. 76

Figura 20 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter comprimento de espiga (CE, em centímetros). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 77

Figura 21 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter comprimento de espiga (CE, em centímetros). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 78

Figura 22 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter peso da espiga (PE, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 79

Figura 23 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter peso da espiga (PE, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 79

Figura 24 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter número de espiguetas por espiga (NE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 80

Figura 25 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter número de espiguetas por espiga (NE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 81

Figura 26 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter massa de grãos por espiga (MG, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020. 82

Figura 27 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter massa de grãos por espiga (MG, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPEl, 2020. 83

Figura 28 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter número de grãos por espiga (NGE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPEl, 2020. 83

Figura 29 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter número de grãos por espiga (NGE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPEl, 2020. 84

SUMÁRIO

1 Introdução geral	13
2 Revisão de literatura	16
2.1 História e evolução do trigo	16
2.2 Importância do trigo no mundo e no Brasil	18
2.3 Principais desafios para a cultura do trigo	19
2.4 Perspectivas sobre o impacto da brusone no trigo	21
2.4.1 Impactos na cultura do trigo desde o surgimento da brusone	23

2.4.2. Como o patógeno age na planta	24
2.4.3 Defesa da planta de trigo contra o patógeno	28
2.5 Resistência genética da planta de trigo ao patógeno	31
2.6 Melhoramento para resistência à brusone	33
2.7 Mapeamento genético	35
2.8 Mapeamento associativo para a resistência à brusone	38
2.9 Considerações finais	41
Referências Bibliográficas	42
3. Caracterização fenotípica quanto a severidade à brusone e caracteres agronômicos de uma amostra do trigo brasileiro	51
3.1 Introdução	51
3.2 Material e métodos	53
3.2.1 Germoplasma	53
3.2.2 Condições experimentais	55
3.2.3 Isolado e preparação do inóculo	55
3.2.4 Inoculação	56
3.2.5 Avaliação da severidade de brusone	56
3.2.5.1 Avaliação nas folhas	57
3.2.5.2 Avaliação nas espigas	58
3.2.6 Avaliação fenotípica de caracteres agronômicos	59
3.2.7 Análise estatística	60
3.3 Resultados e discussão	60
3.3.1 Análise univariada e de distribuição de frequências entre os indivíduos da população nos anos de 2019 e 2020	61
3.3.2 Análise de correlação entre caracteres	84
3.4 Conclusões	92

3.5 Considerações finais	93
Referências Bibliográficas	94
Apêndices	97

1 INTRODUÇÃO GERAL

O trigo (*Triticum aestivum* L.) ocupa papel de destaque na produção mundial de cereais e sua presença na dieta está associada à segurança alimentar. A grande importância do cereal é justificada principalmente por estar relacionado ao fornecimento de matéria-prima base na elaboração de produtos alimentícios para humanos e animais (MITTELMANN *et al.*, 2000). O trigo é uma das principais fontes energéticas e de maior relevância na dieta alimentar, fornecendo cerca de 20% de calorias e proteínas, bem como de vitaminas e outros compostos benéficos requeridos (HAWKESFORD *et al.*, 2013).

Do ponto de vista econômico e social, o consumo do cereal é um dos mais expressivos dentre os grãos, atendendo a aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas em 89 países ao redor do mundo, com uma produção total de cerca de 764,5 milhões de toneladas por ano (CGIAR, 2019; USDA, 2020). A projeção feita para 2050 é de um aumento de 60% na demanda por trigo no mundo devido ao aumento populacional, o que vem chamando a atenção para a necessidade de aumentar o potencial de rendimento do trigo, com prioridade cada vez maior (DUVEILLER *et al.*, 2007; FAO, 2018; SAVADI *et al.*, 2018).

Caracteres relacionados ao rendimento de grãos podem ser drasticamente afetados quando submetidos a estresses bióticos e abióticos, o que reflete diretamente na produtividade da cultura (DUVEILLER *et al.*, 2007; BENNETT *et al.*, 2012). Mesmo com alternativas de manejo cultural disponíveis, os danos causados por estresses bióticos e abióticos vem preocupando cada vez mais pesquisadores e produtores que veem cultivares com grande potencial produtivo serem afetadas drasticamente (BITA *et al.*, 2013; HIRABAYASHI, 2013). Dentre os maiores desafios da cultura do trigo estão os problemas fitossanitários, e é através do esforço empregado no melhoramento genético vegetal para o desenvolvimento de cultivares superiores que surgem as melhores alternativas para o controle de doenças (LAU *et al.*, 2011).

A cultura do trigo possui uma gama de moléstias que causam impacto significativo na produtividade, podendo levar à perda parcial ou total da produção de grãos. No Brasil, dentre as doenças que acometem a cultura do trigo, as de origem fúngica são as majoritárias, e entre as mais importantes está a brusone (LAU *et al.*, 2011; VALENT *et al.*, 2019).

A brusone do trigo, causada pelo patógeno *Pyricularia oryzae* Cavara, embora restrita a algumas regiões, é uma das doenças que causam maior impacto na cultura (CERESINI *et al.*, 2018). O fungo *P. oryzae* é considerado uma espécie complexa, composta por subgrupos diferentes, e são divididos pela gama de hospedeiros ou patótipos. Quando *P. oryzae* é patogênico ao trigo (*Triticum aestivum*) este é conhecido como patótipo *Triticum* (TOSA *et al.*, 2014).

O patógeno tem a capacidade de causar altas perdas de rendimento e em qualidade no cereal, chegando à 100% em cultivares suscetíveis (ARENDR, 2006).

Os fitopatógenos, como *P. oryzae*, estão em constante evolução e por essa razão são considerados uma ameaça à segurança alimentar. Em circunstâncias extremas, epidemias podem gerar graves danos às nações. Um exemplo famoso é o da Grande Fome da Irlanda, em 1845-47, causada pelo patógeno *Phytophthora infestans* que dizimou plantações de batata e, com isso, milhões de pessoas morreram de fome ou tiveram que migrar para outros países em busca de alimento (DRUMMOND *et al.*, 2008; CERESINI *et al.*, 2018). É possível encontrar exemplos de epidemias ainda nos dias atuais envolvendo o fungo causador da brusone em diversos países (SHAHRIAR *et al.*, 2020). Nos últimos anos foram registradas epidemias na cultura do arroz em muitas regiões produtoras do Quênia e da Itália (KIHORO *et al.*, 2013; TITONE *et al.*, 2015). No trigo, o caso mais recente ocorreu em Bangladesh no ano de 2016, onde *P. oryzae* patótipo *Triticum* afetou drasticamente a produção nacional e colocou em risco a produção de trigo de países Asiáticos (CALLAWAY *et al.*, 2016). No Brasil, as epidemias são cíclicas e tem relação direta com as condições climáticas e o manejo da cultura em cada região de

cultivo. Faz-se necessário a identificação e o rastreamento cuidadoso do movimento de *P. oryzae* para bloquear a propagação da brusone para novas regiões de cultivo (VALENT *et al.*, 2019).

Algumas medidas no manejo podem reduzir o impacto da moléstia na cultura, contudo, essas ainda não se mostram satisfatórias (FERREIRA *et al.*, 2016). O melhoramento genético para resistência a doenças é considerado um dos métodos mais eficientes no controle de epidemias e recebe cada vez mais atenção nos programas de melhoramento de plantas (ARENDR, 2006). Na cultura do arroz, na qual se tem maiores informações, um dos principais desafios impostos pela brusone é a baixa durabilidade da resistência das cultivares, que se mantêm resistentes, em média, por somente dois a três anos, devido à alta variabilidade do patógeno (MIAH *et al.*, 2013). Dessa forma, é possível que *P. oryzae* patótipo *Triticum* tenha potencial evolutivo semelhante ao descrito em arroz (THUROW *et al.*, 2018).

No caso da brusone do trigo no Brasil, a busca por resistência tem sido intensa desde o primeiro relato da doença no país, entretanto, até o presente momento, as cultivares disponíveis no mercado não apresentam um bom nível de resistência a esta moléstia (PAGANI *et al.*, 2014; CERESINI *et al.*, 2018; MACIEL *et al.*, 2018). Tendo em vista as potenciais perdas e a baixa eficiência das medidas de controle do patógeno, uma das alternativas é explorar a variabilidade genética da cultura nos programas de melhoramento, de forma a aumentar as chances de encontrar fontes de resistência genética (BRAMMER, 2002).

A resistência genética é considerada a forma mais eficiente no controle de moléstias de plantas, além das suas vantagens econômicas e ambientais (BONMAN *et al.*, 1992). Contudo, a obtenção de uma resistência genética ainda se mostra como um grande desafio para melhoristas e fitopatologistas, devido à grande variabilidade de *P. oryzae* e à complexidade da herança da resistência (THUROW *et al.*, 2018; MACIEL *et al.*, 2018). A herança da resistência é determinada em função da variedade da planta e da raça, ou raças, do patógeno. Os principais mecanismos da resistência genética são

específicos contra raças do patógeno, conhecida como resistência qualitativa, e sem-especificidade, ou quantitativa (MATIELLO *et al.*, 1997). Genes de resistência qualitativa, ou completa, tendem a ser altamente eficazes, mas se mostram vulneráveis a ataques de diferentes raças do patógeno. Já a resistência quantitativa, ou parcial, é governada por muitos genes, muitos dos quais com pequeno efeito sobre o fenótipo e, apesar de sua dificuldade de aplicação, tendem a levar à resistência à diferentes raças do patógeno e a uma maior durabilidade desta (MIAH *et al.*, 2013; POLAND *et al.*, 2016; MACIEL *et al.*, 2018). Para um melhor resultado no controle da doença, a incorporação de genes de ambos efeitos no desenvolvimento de novas variedades resistentes pode ser uma ótima alternativa (MIAH *et al.*, 2013). No caso da brusone, que possui diversas raças identificadas, a variabilidade e constante evolução do patógeno torna o melhoramento convencional isoladamente pouco eficaz, e este pode ser complementado por técnicas de biotecnologia (STICH *et al.*, 2010).

A integração de ferramentas biotecnológicas em programas de melhoramento genético de trigo oferece oportunidades substanciais para o desenvolvimento de estratégias que auxiliam na busca de genes e QTLs de resistência a fatores bióticos (CRUZ *et al.*, 2017). Dentre as ferramentas disponíveis, o mapeamento associativo ou de desequilíbrio de ligação, também conhecido como estudo de associação genômica ampla (do inglês: *genome-wide association study* - GWAS) é considerado uma abordagem importante no melhoramento (AGRAMA *et al.*, 2007; NORDBORG *et al.*, 2008; KORINSAK *et al.*, 2019). Esse método se mostra eficiente quando aplicado em caracteres complexos, pois consegue detectar uma correlação entre marcadores moleculares e o fenótipo da população em estudo, usando uma coleção de germoplasma com elevada variabilidade genética, o que demanda menos tempo do que o mapeamento por ligação utilizando populações de dois genitores (*biparental*) (NORDBORG *et al.*, 2008; KORINSAK *et al.*, 2019). Informações como as obtidas com essa metodologia são valiosas na escolha das estratégias para obtenção de resistência à brusone (AGRAMA *et al.*, 2007).

Estratégias como essa podem ser utilizadas na solução de problemas que tem potencial de afetar a segurança alimentar mundial.

Com base no exposto, o objetivo deste estudo é caracterizar a variabilidade fenotípica do trigo brasileiro quanto à resistência a brusone, visando dar especial subsídio ao mapeamento genético de QTLs e genes.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 História e evolução do trigo

O trigo é uma importante cultura que tem contribuído ao longo dos séculos em sustentar expressiva parcela da população humana em termos de calorias, proteínas, vitaminas e fibra alimentar. Desde sua domesticação, há cerca de 8 a 10 mil anos, que remonta ao início da civilização, os seres humanos têm cultivado, preparado e consumido trigo, influenciando significativamente em sua evolução (SAVADI *et al.*, 2018; VENSKE *et al.*, 2019a).

A origem da palavra “trigo” remete ao antigo vocábulo latino, onde *triticum* significa quebrado, triturado, que se refere ao processo realizado para separar o grão do material do qual é revestido (LÉON, 2007). O *Triticum aestivum* L. Thell, também conhecido como trigo comum, pertence à família Poaceae, tribo Triticeae, sub-tribo Triticinae e gênero *Triticum*. É uma espécie hexaplóide, com genoma AABBDD, sendo que sua origem se deve a hibridações naturais entre os gêneros *Triticum* e *Aegilops*, combinando genomas completos de espécies com ploidias distintas (DUBCOVSKY *et al.*, 2007; PIANA *et al.*, 2008). Evolutivamente, a poliploidização conferiu ao *T. aestivum* a chamada “plasticidade genômica”, que passou a apresentar melhor adaptação às condições ambientais, uma vez que ocorreu uma complementação das características das espécies envolvidas (DUBCOVSKY *et al.*, 2007; OTTO, 2007).

O início da agricultura está diretamente ligado à domesticação do trigo, que tem seu centro de origem em uma região denominada Crescente Fértil, situada nas regiões montanhosas do Sudoeste da Ásia (DUBCOVSKY *et al.*, 2007). A espécie foi selecionada de maneira massal pelos agricultores primitivos, sendo domesticada e tendo seu cultivo espalhado pela região da antiga Mesopotâmia e, finalmente, pelo mundo (FELDMAN, 1984).

Após sua disseminação pela Europa, o trigo teve sua introdução no Brasil com a chegada dos colonizadores europeus à América. Ainda no período colonial, os portugueses investiram no cultivo do cereal no centro do país, sendo Martin Afonso de Souza quem cultivou trigo na Capitania Hereditária de São Vicente, região que hoje corresponde ao Estado de São Paulo, no ano de 1534 (BESPALHOK *et al.*, 2007). Mais tarde, a introdução e adaptação de algumas variedades europeias por imigrantes foi um marco do cultivo de trigo no Sul do país, onde este encontrou ambiente, clima e solo, mais adequados às suas exigências, adquirindo assim, importância econômica (SCHEEREN *et al.*, 2015).

2.2 Importância do trigo no mundo e no Brasil

A produção mundial de trigo é de 764,5 milhões de toneladas por ano, sendo este o segundo cereal mais produzido (USDA, 2020). As principais razões para essa grande produção são a capacidade do cereal de ser usado como o ingrediente principal em uma infinidade de produtos, assim como sua importância nutricional, sendo este uma rica fonte de energia, proteína, vitaminas e fibra alimentar. Essas razões contribuem para que este cereal seja de acentuada importância na dieta da população ao redor do globo (SHEWRY, 2009; HAWKESFORD *et al.*, 2013).

A produção do trigo tem sido destinada principalmente como matéria-prima para a obtenção de produtos derivados do processo de panificação, muitos deles consumidos diariamente, tais como: pães, massas, bolos, biscoitos, entre outros, na utilização do amido por indústrias de

alimentos processados. Para o consumidor poder ter acesso a produtos de qualidade, a matéria prima empregada na panificação deve expressar alta qualidade industrial (SCHEUER *et al.*, 2011). O cereal também é uma boa alternativa para a alimentação animal e em sistemas que preconizam a rotação de culturas.

Em primeiro lugar no ranking mundial de produção de trigo da safra 2019/2020 está a União Européia com uma produção de 154,94 milhões de toneladas, em 26,14 milhões de ha, apresentando uma produtividade média de 5,93 toneladas por ha, seguida da China, com produção de 133,59 milhões de toneladas em uma área de 23,73 milhões de ha, apresentando produtividade de 5,63 toneladas por ha (USDA, 2020).

A triticultura brasileira obteve uma produção de 5,2 milhões de toneladas, em uma área de 2,04 milhões de ha, com produtividade média de 2,52 toneladas por ha, na safra de 2020, com o país ocupando a 16ª posição do ranking dos maiores produtores mundiais (CONAB, 2020; USDA, 2020).

2.3 Principais desafios para a cultura do trigo

A população mundial, hoje beirando os 6,8 bilhões, continuará a crescer e pesquisas apontam que atingirá, por volta de 2050, mais de 9 bilhões de pessoas (DUVEILLER *et al.*, 2007; FAO, 2018; SAVADI *et al.*, 2018). Sendo assim, o maior desafio para a humanidade é produzir alimentos para atender a demanda crescente, sem aumento da área cultivada e/ou contaminar o meio ambiente (BOARETTO, 2015). Levando em conta esses pressupostos, há uma corrida em busca de obter um aumento na produtividade das culturas agrícolas.

O Brasil, mesmo com a produção atual de trigo, necessitou importar 6,75 milhões de toneladas para suprir a demanda interna no ano de 2019 (CONAB, 2020). As condições edafo-climáticas adversas à triticultura brasileira, como os riscos de ocorrência de geadas em fase de florescimento e/ou do excesso de chuvas em período de colheita favorecem a ocorrência de pragas e doenças da

cultura. Estes fatores compelem aos agricultores um aumento no suprimento de adubação mineral e no emprego de fungicidas, que despendem custos adicionais (SCHMIDT, 2008). O aumento nos custos de produção causa um aumento do preço do produto final o que, conseqüentemente, reflete na capacidade competitiva do trigo nacional (CUNHA, 2009). O trigo, diferente de outras espécies anuais, necessita equilibrar produtividade com características de qualidade industrial exigidas ao longo da cadeia produtiva, o que demanda maior esforço dos melhoristas do cereal (SCHEUER *et al.*, 2011).

O melhoramento do trigo pode ser desafiador, pois o cereal é tido como uma espécie naturalmente de restrita variabilidade genética, se comparado com outras espécies de cereais, especialmente devido a ser uma espécie jovem e pelo fenômeno de poliploidização que o gerou (*polyploidization bottleneck*) (ALI *et al.*, 2008; VENSKE *et al.*, 2019a). Em adição a isto, a domesticação, séculos de cultivo e a pressão de seleção exercida dentro dos programas de melhoramento da cultura tem favorecido a crescente redução na variabilidade genética (BRAMMER, 2002; VENSKE *et al.*, 2019a). Essa erosão genética é acentuada em decorrência do uso de cultivares com maior uniformidade genética e, também, em virtude do uso recorrente de poucos genes (BERTAN *et al.*, 2007). Os programas de melhoramento de trigo em todo o mundo dependem de um germoplasma limitado, o que resulta em cultivares de trigo que são compostas por apenas 10% da diversidade de trigo existente (SAVADI *et al.*, 2018). Nestas condições, investimentos em pesquisa têm sido fundamentais, assim como o emprego de estratégias de biotecnologia nos programas de melhoramento vegetal, sempre levando em conta a variabilidade genética da cultura e sua interação com o ambiente, para a obtenção de genótipos com maior potencial genético (BRAMMER, 2002; VENSKE *et al.*, 2019a).

Ao tratar de rendimento de grãos de trigo é importante ressaltar que este é de caráter quantitativo, que é influenciado por um grande número de atributos da planta e do ambiente, e que atuam diretamente na expressão produtiva da cultura. Caracteres relacionados ao rendimento de grãos, como estatura da

planta, ciclo de desenvolvimento da cultura, número de afilhos férteis, número de grãos por espiga, peso de grãos, dentre outros, podem ser drasticamente afetados quando submetidos a estresses bióticos e abióticos, refletindo diretamente na produtividade (BENNETT *et al.*, 2012; DUVEILLER *et al.*, 2007).

Mesmo com alternativas de manejo cultural disponíveis, os danos causados por estresses bióticos e abióticos vem preocupando cada vez mais pesquisadores e produtores que veem cultivares com grande potencial produtivo serem afetadas drasticamente (BITA *et al.*, 2013; HIRABAYASHI *et al.*, 2013). Os estresses abióticos na cultura do trigo, como déficit hídrico e salinidade do solo, tem potencial para afetar o desenvolvimento das plantas, e consequentemente a produção de grãos. O melhoramento genético de plantas tem possibilitado o cultivo de trigo em diferentes condições ambientais, no entanto, as mudanças climáticas, que vem se tornando cada vez mais acentuadas em muitas regiões do planeta, tem agravando o efeito dos fatores abióticos sobre a cultura. As alterações no clima também têm agravado o efeito dos estresses bióticos na cultura do trigo, que possui uma ampla gama de patógenos (LAU *et al.*, 2011). Dentre as doenças do cereal, muitas são causadas por fungos, como é o caso da giberela (*Gibberella zeae*), ferrugem da folha (*Puccinia triticina*), ferrugem estriada (*Puccinia striiformis f. sp. tritici*), ferrugem do colmo (*Puccinia graminis f. sp. tritici*), oídio (*Blumeria graminis f. sp. tritici*), carvão-da-espiga (*Ustilago nuda f. sp. tritici*), mal-do-pé (*Gaeumannomyces graminis var. tritici*) e da brusone (*Pyricularia oryzae*) (LAU *et al.*, 2011). Dentre as moléstias da cultura, a brusone é a que vem causando maior impacto devido ao seu elevado potencial de causar perdas de produtividade e na qualidade dos grãos de trigo em diversas regiões produtoras, e ainda não há cultivares com níveis de resistência satisfatórios disponíveis no Brasil (CUNHA, 2000).

2.4 Perspectivas sobre o impacto da brusone no trigo

O agente causal da brusone tem sido referenciado com diferentes nomes ao decorrer dos anos. Sua fase assexuada foi denominada de *Pyricularia grisea* por Saccardo em 1880, posteriormente foi estabelecido o nome de *Pyricularia oryzae* por Cavara em 1892. Já em sua fase sexuada, o patógeno foi primeiramente denominado como *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr em 1970, mas logo passou a ser conhecido como *Magnaporthe oryzae* (COUCH *et al.*, 2002; ZHANG *et al.*, 2016). Entretanto, trabalhos recentes apontam para *Pyricularia oryzae* Cavara, tanto para a fase assexuada como para a fase sexuada, como a forma correta de nomear o agente causador da brusone, devido a sua patogenicidade e características ecológicas e evolutivas (CRUZ *et al.*, 2017; MOREIRA *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2016). Entretanto, a decisão de manter apenas um nome para o patógeno se mostrou um dilema para os pesquisadores da brusone devido ao uso comum de ambos, *Pyricularia* e *Magnaporthe* (CRUZ *et al.*, 2017). Portanto, a comunidade científica decidiu que *Magnaporthe* seja mencionado em publicações como um sinônimo oficial de *Pyricularia*, e ambos os nomes continuarão a ser utilizados (CRUZ *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2016).

O fungo *Pyricularia oryzae* é causador de brusone em diversas culturas de importância econômica mundial, como o arroz (*Oryza sativa*), o trigo (*Triticum aestivum*) e a cevada (*Hordeum sativum*) (ISLAM *et al.*, 2020). Também é possível encontrar relatos da doença em culturas de subsistência em diversas regiões do globo, como o milheto (*Eleusine coracana*) e o painço (*Setaria italica*) na África e Ásia, e recentemente em azevém perene (*Lolium perenne*) e festuca (*Festuca arundinacea*) nos EUA (VALENT *et al.*, 2019). Com a recente realização de análise genômica de uma coleção mundial de isolados de *P. oryzae* oriundas de diferentes plantas hospedeiras foi possível constatar que uma única espécie do patógeno está associada com a moléstia e encontra-se dividida em linhagens adaptadas à diferentes hospedeiros. No trigo, a brusone é causada por uma linhagem de *P. oryzae*, que é adaptada a causar a doença em hospedeiros do gênero *Triticum* (VALENT *et al.*, 2019). O patógeno tem alta diversidade genética e fenotípica, o que permite que infecte

uma ampla gama de hospedeiros (MACIEL *et al.*, 2014). Quanto maior o potencial evolutivo de uma população do patógeno, maior a probabilidade deste vencer a resistência genética do hospedeiro. Na família *Poaceae* existe uma ampla gama de plantas hospedeiras do patógeno e que tem potencial para se tornarem reservatórios de inóculo, sendo assim, acredita-se que em algum momento ocorra recombinação entre sua diversa população (BRUNO *et al.*, 2001; MACIEL *et al.*, 2018; THUROW *et al.*, 2018; MACIEL *et al.*, 2014). No entanto, apesar de pertencerem à mesma família, o arroz não é considerado um hospedeiro para o isolado de *P. oryzae* do trigo pois, através de análise de DNA, foi constatada incompatibilidade entre as duas populações especializadas do hospedeiro (BRUNO *et al.*, 2001; MACIEL *et al.*, 2014).

Em sua fase assexuada (anamórfica), a qual é geralmente encontrada à campo, *P. oryzae* apresenta esporos denominados conídios (Figura 1), caracterizados por seu formato periforme, obclavado (DIAS, 2013; CRUZ *et al.*, 2017). Os conídios muitas vezes apresentam dois septos, com base circular e ápice fino, com coloração levemente escura ou hialina e possuindo um pequeno hilo na base com o qual se liga ao conidióforo (DIAS, 2013; CRUZ *et al.*, 2017). Já na sua fase sexuada (teleomórfica), que a princípio não é observada naturalmente, todas as informações foram obtidas a partir de pareamentos de indivíduos compatíveis *in vitro* (SALEH *et al.*, 2012). No entanto, um estudo sugeriu que no trigo, diferente do que ocorre em arroz, *P. oryzae* segue um sistema de reprodução mista em que a recombinação sexual é seguida por assexual, ocorrendo a dispersão de clones melhor adaptados (MACIEL *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2017). Patógenos que possuem um sistema reprodutivo misto são considerados de alto potencial evolutivo e, conseqüentemente, de mais difícil controle (CRUZ *et al.*, 2017).

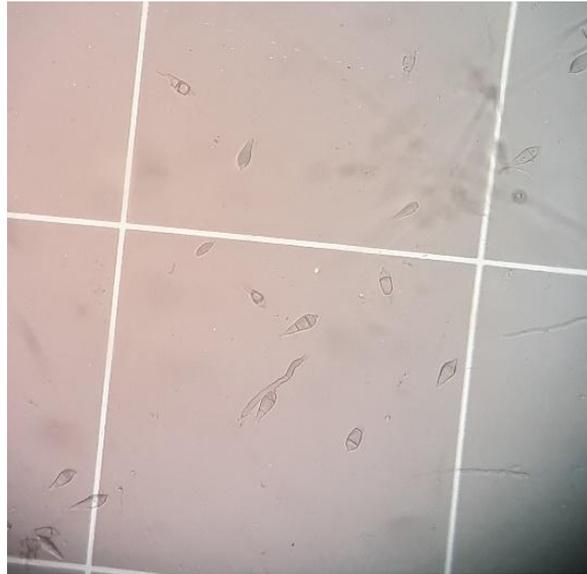


Figura 1 – Esporos de *Pyricularia oryzae* patótipo Triticum.
Fonte: Valéria Oliveira Nizolli, 2020.

O patógeno causador da brusone é hemibiotrófico, modo de sobrevivência em que o fungo inicia em um estágio biotrófico durante o qual o sistema imunológico da planta é suprimido e, em seguida, passa a um estágio necrotrófico em que promove a morte celular (FERNANDEZ *et al.*, 2018).

2.4.1 Impactos na cultura do trigo desde o surgimento da brusone

Os primeiros registros da ocorrência da brusone datam de 1600 e foram feitos na China e Japão, onde foi descrita primeiramente como “febre do arroz” (BEDENDO, 1997). No Brasil, o primeiro diagnóstico da brusone do trigo ocorreu em 1985, no estado do Paraná, posteriormente disseminou-se para novas áreas e, atualmente, sua presença já foi registrada nas regiões tritícolas brasileiras, como nos Estados de São Paulo e Mato Grosso Sul, acompanhando a expansão de fronteiras agrícolas no país (GOULART *et al.*, 2007). A doença já se fez presente em outros países que cultivam trigo na América do Sul, como Bolívia, Paraguai e Argentina. Em 2016 um surto de brusone do trigo foi relatado pela primeira vez fora da América do Sul, em Bangladesh, afetando 15% da produção tritícola do país (CALLAWAY, 2016;

CRUZ *et al.*, 2017). Desde então a distribuição da moléstia tem se mostrado bastante ampla, sendo encontrada em praticamente todas as regiões onde o trigo é cultivado em escala comercial. As perdas são variáveis em função da cultivar e das condições ambientais nas áreas de cultivo (BEDENDO, 1997). Ao infectar a planta *P. oryzae* pode causar perdas de rendimento de até 100% em condições favoráveis, ou seja, perda total (VALENT *et al.*, 2019).

Mesmo com algumas alternativas de controle disponíveis, lavouras inteiras de trigo têm sofrido com os efeitos severos de epidemias da doença. A expansão da brusone se tornou uma ameaça à segurança alimentar no mundo devido à proximidade de cultivos no continente Asiático, como entre China e Índia que estão entre os maiores produtores mundiais de trigo (CRUZ *et al.*, 2016; CRUZ *et al.*, 2017; VALENT *et al.*, 2019; ISLAM *et al.*, 2020). No Brasil, as epidemias são cíclicas e têm relação direta com as condições climáticas e o manejo da cultura na região de cultivo. Faz-se necessário a identificação e o rastreamento cuidadoso do movimento de *P. oryzae* para bloquear a propagação da brusone para novas regiões de cultivo (VALENT *et al.*, 2019).

O patógeno tem a capacidade de sobreviver em sementes, restos culturais e hospedeiros alternativos na forma de micélios e conídios, o que pode inviabilizar o manejo com o uso de rotação de culturas se estas estiverem entre a ampla gama de hospedeiros alternativos (DE FRANCESCHI *et al.*, 2009). A transmissão por sementes infectadas possui papel importante na dispersão de *P. oryzae* à longas distâncias, e este pode estar isolado mesmo em sementes assintomáticas (CRUZ *et al.*, 2017).

2.4.2. Como o patógeno age na planta

Os microrganismos estão em constante evolução e eventualmente conseguem desenvolver estratégias para superar as defesas da planta e se tornam patógenos da espécie vegetal (VALE *et al.*, 2001; MACIEL *et al.*, 2018).

Na planta de trigo, para que ocorra a infecção por *P. oryzae*, é necessário que ocorra o reconhecimento dos constituintes da cutícula para

indução da germinação do esporo e formação de estruturas especializadas de penetração (CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020). A infecção inicia quando os conídios se fixam nos tecidos com o uso de sua mucilagem, permitindo sua aderência à superfície foliar, onde a germinação da célula produz o tubo germinativo aproximadamente 6 horas após a infecção (CRUZ *et al.*, 2017). O tubo germinativo reconhece a superfície da folha, o que induz ao inchaço na ponta do tubo germinativo, resultando da diferenciação de uma estrutura especializada, o apressório. A estrutura especializada em forma de hifa, conhecida como apressório, penetra no tecido vegetal da planta hospedeira através de força mecânica e atividade enzimática (CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020). Os apressórios que se desenvolvem em gotículas de água geram pressão de turgor muito alta, capaz de perfurar a superfície da folha hospedeira (CRUZ *et al.*, 2017). Logo após a penetração, a hifa origina outras hifas sucessivamente dentro das células da epiderme e do mesófilo, dando início à colonização do tecido e formam-se as lesões que se tornam aparentes após 72-96 horas (ISLAM *et al.*, 2020).

A severidade da brusone e as potenciais perdas de rendimento da cultura são influenciadas pelas condições ambientais e climáticas, pela suscetibilidade da cultivar e órgão da planta infectado (CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020). As condições ideais para o desenvolvimento da doença e sua rápida progressão são de altas temperaturas (25 a 30°C), com alta umidade relativa do ar (90%), onde o molhamento foliar se mantenha por longos períodos (em torno de 25 - 40 h) (CARDOSO *et al.*, 2008; CRUZ *et al.*, 2017; CRUPPE *et al.*, 2020).

A detecção precoce do patógeno no campo é uma importante estratégia para o manejo da doença antes que se torne epidemia. Ainda no período vegetativo, pode ser observado o sintoma nas folhas (Figura 2A), como lesões de formato elíptico e alongado, com dimensões de 1 a 2 por 21 a 25 mm que acompanham as nervuras, apresentando coloração que varia de branco a castanho claro no centro e castanho-avermelhado nas bordas (ISLAM *et al.*, 2020). As lesões nas folhas aumentam e coalescem com outras lesões até

levar à necrose dos tecidos vegetais, provocando à restrição fotossintética (TRINDADE *et al.*, 2006). Na ráquis e no colmo (Figura 2B), a lesão possui formato irregular e elíptico, apresentando coloração mais escura do que na folha, estando entre o castanho-claro e o castanho-escuro (ISLAM *et al.*, 2020).

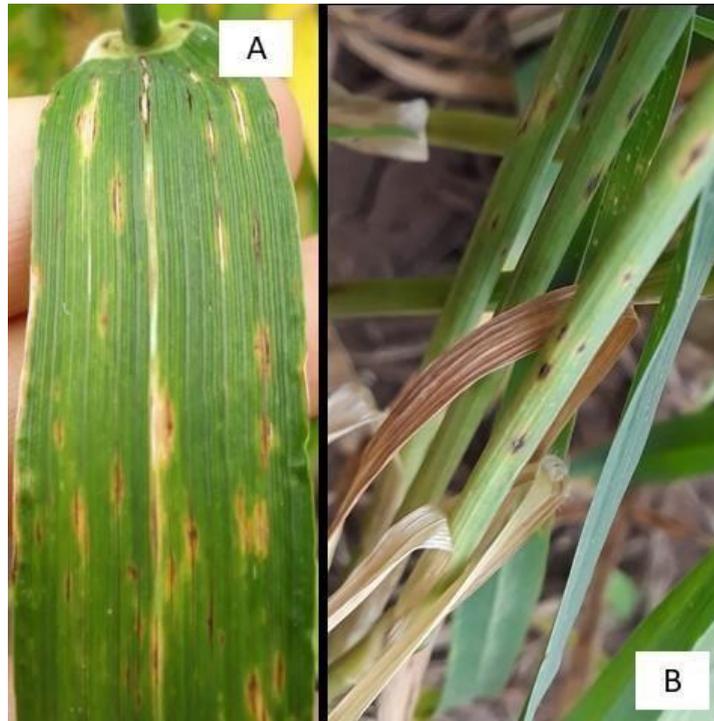


Figura 2 - A. Sintomas de brusone na folha da planta de trigo; B. Sintomas de brusone no colmo da planta de trigo. Fonte: Valéria Oliveira Nizolli, 2020.

Contudo, o principal sintoma de ataque observado é o branqueamento total ou parcial da espiga acima do ponto de infecção (Figura 3), que ocorre devido à colonização do fungo no tecido, impedindo o transporte de nutrientes e prejudicando o enchimento de grãos (TRINDADE *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2016; ISLAM *et al.*, 2020). Nesse ponto o diagnóstico da brusone à campo é dificultado pela semelhança aos sintomas associados com a giberela, doença causada pelo patógeno *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (ISLAM *et al.*, 2020).



Figura 3 - A. Evolução dos sintomas de brusone em espigas de trigo; B. Efeito que a infecção por *Pyricularia oryzae* na ráquis causa na formação de grãos de trigo. Fonte: Valéria Oliveira Nizolli, 2020.

A importância econômica da doença se deve à capacidade do patógeno de causar altas perdas de rendimento e em qualidade do trigo, onde boa parte acaba sendo eliminada durante a industrialização (DE FRANCESCHI *et al.*, 2009; CRUZ *et al.*, 2017). A moléstia pode ocorrer em todas as partes da planta, mas é na espiga onde sua alta incidência tem maior impacto sobre a produção de grãos (GOULART *et al.*, 2000; CRUZ *et al.*, 2017). As maiores perdas de rendimento relatadas ocorrem devido a infecções que começam durante a floração ou formação inicial de grãos, podendo chegar à 100% em cultivares suscetíveis (GOULART *et al.*, 2000; CRUZ *et al.*, 2017). Essas perdas estão diretamente relacionadas ao bloqueio de seiva causado pela infecção abaixo da base da espiga, como também pela redução da fotossíntese e da respiração durante o ciclo da cultura, que causam indiretamente a perda de produtividade (GOULART *et al.*, 2007; CRUZ *et al.*, 2017). Por outro lado, infecções que ocorrem durante o preenchimento de grãos podem ter um menor impacto sobre a produtividade de grãos, no entanto, podem aumentar a chance de transmissão do patógeno em sementes infectadas (CRUZ *et al.*, 2017).

Entre as estratégias de controle da brusone no trigo, o manejo integrado da cultura é o que apresenta melhor resultado e se dá por meio da diminuição da população do patógeno a números toleráveis. Medidas corretivas de manejo, como a aplicação de fungicidas foliares, podem reduzir o impacto da

doença, mas apresentam limitações pois, além de adicionar um custo extra à produção de trigo, apresentam benefícios e eficácia inconsistentes (FERREIRA *et al.*, 2016; CRUPPE *et al.*, 2020). Além disso, o uso excessivo de fungicidas para controlar esta moléstia se mostra um perigo potencial para a saúde e o meio ambiente, dessa forma, esta estratégia não é considerada sustentável para evitar surtos epidêmicos da doença e deve ser um dos últimos recursos utilizados (THUROW *et al.*, 2018). Para tanto, recomenda-se a utilização de cultivares resistentes, em adição às boas práticas culturais (FERREIRA *et al.*, 2016).

Na busca por estratégias de controle de brusone, o melhoramento genético vegetal tem um papel de elevada importância devido à identificação de fontes de resistência genética e seu uso no desenvolvimento de cultivares efetivamente resistentes ao patógeno causador da moléstia (VALENT *et al.*, 2019). Para tanto, é fundamental entender como funcionam os mecanismos de resistência da planta ao patógeno virulento à fim de desenvolver resistência efetiva.

2.4.3 Defesa da planta de trigo contra o patógeno

Durante seu ciclo de vida, plantas cultivadas são constantemente desafiadas por uma grande variedade de microorganismos. Para sobreviverem, as plantas devem ser capazes de detectar fitopatógenos e ativar suas respostas de defesa (BESPALHOK *et al.*, 2007). A capacidade do hospedeiro de evitar ou retardar a entrada de um patógeno e o desenvolvimento da doença é chamada de resistência de não-hospedeiro (RNH) (MACIEL *et al.*, 2018).

As plantas podem apresentar vários mecanismos de defesa em resposta ao ataque de patógenos, como características estruturais ou bioquímicas que permitem identificar os sinais gerados (BARBIERI *et al.*, 2001; MACIEL *et al.*, 2018). Após a detecção do ataque dá-se início a estímulos que possibilitam retardar a infecção através da interrupção ou supressão do crescimento do patógeno (BESPALHOK *et al.*, 2007; MACIEL *et al.*, 2018). Essas defesas são

controladas por genes de resistência (*R*), os quais são responsáveis por ativar a defesa dos hospedeiros (BARBIERI *et al.*, 2001; BESPALHOK *et al.*, 2007).

A expressão de um gene de virulência de um patógeno faz com que sejam produzidos sinais que provocam uma resposta no hospedeiro que possua um gene de resistência, mas não impede o patógeno de ser virulento para hospedeiros que não possuam o gene de resistência (MATIELLO *et al.*, 1997; BARBIERI *et al.*, 2001).

A teoria da relação gene-a-gene surgiu a partir de estudos com genótipos de linho e do fungo *Melampsora lini*. Neles foi demonstrada a complementaridade dos sistemas gênicos do hospedeiro e do patógeno, ou seja, para cada gene que condiciona uma resposta de resistência no hospedeiro existe um gene complementar no patógeno que condiciona a resposta de avirulência (FLOR, 1971). Em outras palavras, a resposta de hipersensibilidade da planta se dá pelo efeito do alelo de avirulência (*V*) presente no patógeno juntamente com o efeito do alelo *R* de resistência do hospedeiro. Os dois alelos precisam estar presentes para ocorrer a resistência (MACIEL *et al.*, 2018; SAVADI *et al.*, 2018). Essas reações de defesa das plantas ao ataque de patógenos podem ser caracterizadas pelo número de genes que as governam, sendo monogênica para um gene, oligogênica para poucos genes, ou poligênica para vários genes. Esses são capazes de evitar o estabelecimento de relações (MACIEL *et al.*, 2018; SAVADI *et al.*, 2018).

A resistência pode ser classificada de acordo com sua eficácia na defesa do hospedeiro contra o patógeno. Os principais mecanismos da resistência genética são específicos contra raças do patógeno (vertical) e sem-especificidade (horizontal), podendo ocorrer também o reconhecimento de resistência de não-hospedeiro (MATIELLO *et al.*, 1997; SAVADI *et al.*, 2018). Na resistência vertical, todas as ações de resistência podem ser monogênicas, que expressam efeito de um único gene, ou oligogênicas, que expressam efeito de poucos genes de grande efeito. Esse tipo de resistência não possibilita quantificar graus intermediários de resistência, ocorrendo somente respostas de resistência ou de suscetibilidade, sendo conhecida como resistência

qualitativa (TRIGIANO *et al.*, 2010; SAVADI *et al.*, 2018). Já a resistência horizontal ocorre quando o sistema de defesa da planta é poligênico, que expressa menor efeito. Esse tipo de resistência ocorre na forma de resistência intermediária, que possibilita quantificar o nível de resistência. Sendo assim, torna-se possível de medir o nível de resistência, sendo conhecida como resistência quantitativa (RIBEIRO DO VALE *et al.*, 2001; SAVADI *et al.*, 2018). Existe também a resistência não hospedeira, onde todos os genótipos de uma espécie vegetal são resistentes a todos indivíduos da espécie do patógeno (MACIEL *et al.*, 2018; SAVADI *et al.*, 2018). Assim como na cultura do arroz, as resistências qualitativa e quantitativa estão presentes no trigo, no entanto, o funcionamento destas ainda requer mais estudos para uma melhor compreensão (MACIEL *et al.*, 2014; CRUZ *et al.*, 2017; SAVADI *et al.*, 2018; ISLAM *et al.*, 2020). Uma característica da brusone do trigo é que, ao afetar espigas e folhas, pode-se observar uma baixa correlação entre as duas reações, o que pode indicar diferentes mecanismos de resistência (CRUZ *et al.*, 2017).

A resistência é determinada em função da variedade da planta e da raça, ou raças, do patógeno (MIAH *et al.*, 2013; SAVADI *et al.*, 2018). A durabilidade da resistência é um fator importante, pois a resistência genética é uma constante batalha entre patógeno e hospedeiro, que a partir de mutações e/ ou introdução de novos genes de resistência, vão evoluindo, tanto a espécie hospedeira ao adquirir novas defesas, quanto o patógeno ao desenvolver novas formas de atacá-la (BARBIERI *et al.*, 2001; MACIEL *et al.*, 2018). Pode ser considerada durável a resistência que permanece eficaz em uma cultivar por um longo período de uso desta (JOHNSON, 1979). Contudo, não é possível medir com precisão a durabilidade da resistência. Acredita-se que a resistência vertical seja de curta duração, já que os patógenos conseguem suprimi-la. Já a resistência horizontal se mostra mais durável, considerando que se mantém com o aparecimento de novas raças do patógeno (MACIEL *et al.*, 2018; SAVADI *et al.*, 2018).

A variabilidade dos organismos fitopatogênicos é um dos maiores problemas que os melhoristas têm que enfrentar na busca por resistência. Um exemplo de resistência vertical foi apresentado em um estudo realizado com o genótipo de trigo BRS Buriti. Este demonstrou que quando inoculado com diferentes patótipos de *Pyricularia oryzae* (patótipo *Triticum*), esse apresentou resistência a raças específicas do patógeno, enquanto se mostrou suscetível a outras (DANELLI, 2015). A resistência vertical é governada por genes principais (de efeito maior), caracterizando a resistência completa, onde sua maior interação é somente de limitar a ocorrência do patógeno. A grande variabilidade de *P. oryzae* faz com que a resistência vertical contida nas cultivares de trigo tenha uma vida útil curta (MATIELLO *et al.*, 1997). Já as cultivares 'BR 18 Terena', 'BRS 229', e 'MGS 3 Brilhante' são consideradas moderadamente resistentes em condições de campo no país, contudo, mostraram variação com diferentes isolados do patógeno e em diferentes ambientes. Esse efeito de resistência a raça não específica, conhecida como resistência horizontal, é, geralmente, durável, pois é governada por vários genes de efeito menor, atuando em conjunto, sendo mais difícil de ser superada (GOULART *et al.*, 2007; MACIEL *et al.*, 2014; MACIEL *et al.*, 2018).

Essa variação no comportamento da resistência também se deve à alta variabilidade do patógeno, mostrando que cada isolado de *P. oryzae* interage de forma diferente com cada um dos genótipos de trigo disponíveis no mercado (MACIEL *et al.*, 2018; DE PAULA *et al.*, 2019). Dessa forma, faz-se necessária a identificação das principais raças do patógeno presentes na região e o mapeamento de genes *R* para serem incorporados em programas de melhoramento visando o desenvolvimento de genótipos com resistência durável à brusone (CRUZ *et al.*, 2017; MACIEL *et al.*, 2018; ISLAM *et al.*, 2020).

2.5 Resistência genética da planta de trigo ao patógeno

No trigo, a busca por resistência à brusone tem sido intensa desde o primeiro relato da moléstia no país, entretanto, até o presente momento, as cultivares disponíveis no mercado não apresentam um bom nível de resistência a esta doença (BESPALHOK *et al.*, 2007; CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020).

Ao longo das últimas décadas, trabalhos foram realizados na busca por genes / QTLs para essa característica, no entanto, até o momento, um total de 10 genes e um segmento cromossômico foram identificados como fontes de resistência para a moléstia (Tabela 1). Os genes são: *RmgTd(t)*, *Rmg1(Rwt4)*, *Rmg2*, *Rmg3*, *Rmg4*, *Rmg5*, *Rmg6(Rwt3)*, *Rmg7*, *Rmg8* e *RmgGR119*. Dentre eles, *Rmg2* e *Rmg3* foram identificados no genótipo de trigo comum Thatcher, localizados nos cromossomos 7A e 6B, no entanto, estes genes podem ser ineficazes em altas temperaturas, ou até mesmo não são expressos na fase de espigamento do trigo (ZHAN *et al.*, 2008; CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020). Os genes *Rmg4*, encontrado no genótipo de trigo Norin 4, e *Rmg5*, no genótipo Red Egyptian, foram identificados nos cromossomos 4A e 6D, respectivamente, através de inoculações de um isolado de *P. oryzae*, oriundo de *Digitaria sanguinalis* (NGA *et al.*, 2009; CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020). Também no genótipo de trigo Norin 4 foi identificado o gene *Rmg1(Pwt4)*, este gerou resistência a isolados de *P. oryzae* obtidos de aveia (TAKABAYASHI *et al.*, 2002). O gene *Rmg7*, identificado em um acesso de *Triticum dicoccum*, se mostra ineficaz em altas temperaturas, diferentemente do gene *Rmg8*, identificado na cultivar de trigo comum S-615, que se mostrou eficaz nas mesmas condições (ANH *et al.*, 2015; TAGLE *et al.*, 2015; CRUZ *et al.*, 2017; ANH *et al.*, 2018; ISLAM *et al.*, 2020). A mais recente descoberta foi o gene de resistência *RmgGR119*, no acesso de trigo comum GR119 (WANG *et al.*, 2018).

Além dos genes, um segmento cromossômico de translocação 2NS foi identificado em *Aegilops ventricosa* como fonte de resistência à brusone do trigo (CRUZ *et al.*, 2016; CRUZ *et al.*, 2017; CRUPPE *et al.*, 2020; ISLAM *et al.*, 2020). A partir de testes à campo na Bolívia em 2014 e 2015, foi confirmada a

eficácia do segmento *2NS* para resistência à doença em condições epidêmicas naturais. Esse segmento cromossômico já foi incorporado em diversas variedades de trigo cultivadas com finalidade de controle de outras enfermidades, como à ferrugem, míldio e o ataque de nematóides, e mais recentemente como controle para a brusone em variedades de trigo (CRUZ *et al.*, 2017; CRUPPE *et al.*, 2020; ISLAM *et al.*, 2020).

Tabela 1. Fontes de resistência à brusone do trigo descobertas até o momento.

Nome do gene	Fonte da resistência	Isolado do patógeno	Referência
<i>RmgTd(t)</i>	<i>T. dicoccoides</i> KU109 (Tat4)	Gene oculto	Takabayashi <i>et al.</i> (2002)
<i>Rmg1(Rwt4)</i>	<i>T. aestivum</i> , Norin 4	Isolado de Aveia Br58	Takabayashi <i>et al.</i> (2002)
<i>Rmg2</i>	<i>T. aestivum</i> , Thatcher	Isolado de trigo Br48	Zhan <i>et al.</i> (2008)
<i>Rmg3</i>	<i>T. aestivum</i> , Thatcher	Isolado de trigo Br49	Zhan <i>et al.</i> (2008)
<i>Rmg4</i>	<i>T. aestivum</i> , Norin 4	Isolado de Digitaria	Nga <i>et al.</i> (2009)
<i>Rmg5</i>	<i>T. aestivum</i> , Red Egyptian	Isolado de Digitaria	Nga <i>et al.</i> (2009)
<i>Rmg6(Rwt3)</i>	<i>T. aestivum</i> , Norin 4	Isolado de azevém TP2	Vy <i>et al.</i> (2014)
<i>Rmg7</i>	<i>T. dicoccum</i> , KU120; <i>T. dicoccum</i> , KU112; <i>T. dicoccum</i> , KU122	Isolado de trigo Br48	Tagle <i>et al.</i> (2015)
<i>Rmg8</i>	<i>T. aestivum</i> , S-615	Isolado de trigo Br49	Anh <i>et al.</i> (2015); Anh <i>et al.</i> (2018)

<i>RmgGR119</i>	Acesso de trigo Albanês GR119	Isolado de trigo Br50	Wang <i>et al.</i> (2018)
Translocação 2NS	Seguimento cromossômico de <i>Aegilops ventricosa</i>	Isolado de trigo Br48	Cruz <i>et al.</i> (2016)

A descoberta de outros genes / fontes de resistência à brusone do trigo é de elevada importância devido ao risco de que a doença se espalhe para outros países do continente Asiático, assim como para outras regiões do globo (CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020). Para tanto, é necessário o uso de tecnologias que auxiliem no processo de melhoramento de plantas para acelerar o desenvolvimento de genótipos resistentes. Além disso, obter uma resistência durável é um desafio, atribuído a alta variabilidade do patógeno e também à incerteza sobre a constituição genética que terá tal efeito de durabilidade (MACIEL *et al.*, 2018; SAVADI *et al.*, 2018).

2.6 Melhoramento para resistência à brusone

O melhoramento genético de plantas pode ser conceituado como a ciência que busca combinar alelos favoráveis a fim de desenvolver cultivares superiores, ou seja, que possuam características almejadas, como alto potencial produtivo, qualidade industrial e tolerância/resistência a estresses abióticos e bióticos (CARVALHO *et al.*, 2008; CAIERÃO *et al.*, 2016).

Tratando-se de doenças, o uso de cultivares resistentes é considerada a melhor alternativa de controle, e dentre as vantagens adicionais estão o menor impacto à saúde e ao meio ambiente, redução de custos e menor risco de perdas de produção (MIAH *et al.*, 2013). No entanto, o trabalho dos melhoristas é dificultado pois a herança da resistência é considerada complexa e tem relação com a durabilidade desta, sendo determinada em função da variedade da planta e da raça, ou raças, do patógeno (MIAH *et al.*, 2013).

No trigo, estudos genéticos mostram que a brusone segue uma relação gene-a-gene e foram relatados genes de efeito qualitativo e quantitativo de

resistência à doença, no entanto, ainda são necessários estudos para conhecer a complexidade da herança da resistência na cultura (ISLAM *et al.*, 2020). Uma forma de auxiliar na elucidação do tema, é utilizar como exemplo a cultura do arroz, onde mais de 350 QTLs de resistência à brusone já foram mapeados e existem diversos trabalhos sobre o funcionamento dos mecanismos de resistência genética (MIAH *et al.*, 2013). A resistência qualitativa, ou completa, é governada por genes que tendem a ser altamente eficazes, mas se mostram vulneráveis a ataques de diferentes raças do patógeno. Já a resistência quantitativa, ou parcial, é governada por muitos genes, de efeito menor e, apesar de sua dificuldade de incorporação em programas de melhoramento, tendem a levar à resistência de maior durabilidade (MIAH *et al.*, 2013; POLAND *et al.*, 2016; THUROW *et al.*, 2018).

O melhoramento convencional, apesar de suas técnicas indispensáveis nos programas de melhoramento e seu histórico de grandes feitos na ciência de plantas, possui vários obstáculos. No modelo convencional, o processo tem como desafio o tempo requerido (5-10 anos), a disponibilidade de recursos genéticos ideais e a dificuldade na seleção para a resistência de natureza quantitativa, a qual requer perícia, grande número de plantas e máximo controle ambiental (SAVADI *et al.*, 2018; ISLAM *et al.*, 2020). Por essa razão, a utilização das técnicas de biologia molecular vem se tornando uma ótima opção para auxiliar no processo de criação de novas cultivares (MIAH *et al.*, 2013; SAVADI *et al.*, 2018). Com a aplicação dessas técnicas é possível identificar e clonar genes envolvidos no processo de infecção, como também selecionar plantas em gerações iniciais, economizando, assim, tempo e recursos (MIAH *et al.*, 2013; SAVADI *et al.*, 2018).

Com os avanços na genômica de plantas, os melhoristas dispõem de uma gama de ferramentas biotecnológicas, como também, de informações fundamentais sobre a biologia molecular envolvida na resistência a doenças e a virulência de patógenos (SAVADI *et al.*, 2018). Nas últimas décadas, genomas inteiros foram sequenciados, tanto de plantas, quanto de patógenos. Em 2018, cientistas anunciaram ter decodificado o genoma completo do trigo,

após 13 anos intensos de pesquisa conduzidas pelo Consórcio Internacional para o Sequenciamento do Genoma do Trigo (IWGSC) (VENSKE *et al.*, 2019a). Essa foi considerada uma conquista para a comunidade científica, dada a extensão e complexidade do genoma do trigo hexaplóide, que é cinco vezes maior que o genoma humano, sendo estimado em 16 a 17 Gb no total. A sequência está disponível no repositório do consórcio (<https://www.wheatgenome.org>) (VENSKE *et al.*, 2019a). Essas informações possibilitam inúmeros avanços na compreensão dos mecanismos moleculares que governam a resistência genética a doenças que afetam a cultura, como a brusone.

Na busca por resistência à patógenos de alto potencial evolutivo, como é o caso de *P. oryzae*, faz-se necessário pensar na pesquisa de uma forma estratégica, visando o preenchimento de lacunas no conhecimento existente no melhoramento e em genética molecular da resistência à brusone (THUROW *et al.*, 2018; MACIEL *et al.*, 2018). Para tanto, pode-se utilizar o mapeamento de ligação e/ou mapeamento associativo (mapeamento de desequilíbrio de ligação). Com o conhecimento da base genética e identificação de genes e QTLs associados a resistência à brusone, pode-se utilizar diversas ferramentas biotecnológicas para potencializar o processo de melhoramento.

2.7 Mapeamento genético

Procedimentos utilizando ferramentas biotecnológicas, como a localização e o mapeamento de genes de importância econômica, com base em mapas genéticos, vem se mostrando ser complementos importantes em programas de melhoramento de uma ampla gama de espécies vegetais (ASHKANI *et al.*, 2015). Dentre as aplicações mais importantes dos mapas genéticos está a localização de genes que controlam características de herança complexa, como a resistência a doenças. No mapeamento genético é realizada uma análise que determina o número de marcadores moleculares

ligados a locos genéticos que controlam características quantitativas (QTLs), como também, a locos que controlam características qualitativas (NORDBORG, 2008; RABOIN *et al.*, 2016; KORINSAK, 2019).

Caracteres de herança complexa, como a resistência quantitativa à doenças, são controlados por um grande número de genes, contidos em locos de características quantitativas (QTL) e são fortemente influenciados pelo ambiente (SAVADI *et al.*, 2018). Procedimentos utilizando ferramentas biotecnológicas, como o mapeamento de genes e QTLs de importância econômica, e o subsequente uso dessa informação em estratégias de seleção assistida por marcadores, vem se mostrando como complementos importantes em programas de melhoramento de uma ampla gama de espécies vegetais (ASHKANI *et al.*, 2015). No mapeamento genético é realizada uma análise que determina o número de marcadores moleculares ligados a locos genéticos que controlam características quantitativas (QTLs), como também, a locos que controlam características qualitativas (NORDBORG, 2008; KORINSAK, 2019).

Marcadores moleculares podem ser definidos como locos genéticos que podem ser facilmente identificados e quantificados em uma população, e estão ligados a um ou mais genes (MOHAN *et al.*, 1997). Em alguns casos, a marca se trata diretamente do polimorfismo gênico que confere uma dada superioridade fenotípica de interesse. Algumas das principais vantagens da seleção assistida por marcadores moleculares são a confiabilidade das informações, a economia de tempo e de espaço, a possibilidade da seleção precoce e o padrão de herança mendeliana (MOHAN *et al.*, 1997). Os marcadores mais utilizados atualmente são os de polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*), ou SNP, os quais são considerados de alta eficiência, e que, inclusive, permitem detectar dosagem alélica de genes em poliplóides (NORDBORG, 2008; KORINSAK, 2019). Os SNPs são alterações em uma única base em determinada sequência de DNA e estão distribuídos por todo genoma. Um grande número de marcadores espalhados pelo genoma são analisados simultaneamente em sistemas automatizados para que, assim, aumente a probabilidade de que regiões associadas com

características de interesse estejam em forte desequilíbrio de ligação com esses (BRADBURY *et al.*, 2007; MIAH *et al.*, 2013). Técnicas baseadas na utilização de marcadores moleculares permitem estudar as regiões que influenciam a expressão de caracteres de interesse, assim como seus respectivos locos, facilitando a seleção de genótipos superiores (DESTA *et al.*, 2014).

Uma das estratégias é o mapeamento genético por ligação (*Linkage mapping*). Esse método utiliza populações propriamente construídas para o mapeamento, por meio do cruzamento de genótipos contrastantes para o caráter e posterior segregação dos locos, mostrando ligações de extensões variadas, a depender do tipo e tamanho da população e número de marcadores utilizados (BURR *et al.*, 1983; TANKSLEY, 1993; FLINT-GARCIA *et al.*, 2003). Nessa técnica são aplicados marcadores moleculares, que, a partir da correlação entre polimorfismos, contribuem para a compreensão de características complexas, permitindo identificar a posição do QTL por meio de mapas de ligação, além de estimar seus efeitos (FLINT-GARCIA *et al.*, 2003; DESTA *et al.*, 2014). *Quantitative trait loci* ou locos de características quantitativas (QTL) são regiões do genoma responsáveis pela expressão de caracteres fenotípicos de natureza quantitativa (BURR *et al.*, 1983; TANKSLEY, 1993; FLINT-GARCIA *et al.*, 2003). O mapeamento de QTLs tem possibilitado identificar a posição dessas sequências no genoma dos indivíduos estudados e estimar seus efeitos genéticos (FLINT-GARCIA *et al.*, 2003; DE TOLEDO *et al.*, 2008). Contudo, mesmo esse método se mostrando eficaz, existem algumas limitações que devem ser consideradas, como o restrito número de alelos, e assim, baixa variabilidade genética (populações provenientes do cruzamento de apenas dois genitores), a baixa resolução do mapa e a alta demanda de tempo e recursos para a obtenção das populações (DESTA *et al.*, 2014).

Ainda no mapeamento genético, uma mais recente e importante estratégia é o mapeamento associativo ou de desequilíbrio de ligação, também conhecido como estudos de associação genômica ampla (FLINT-GARCIA *et al.*, 2003). Os estudos de associação genômica ampla (do inglês: *genome-wide*

association studies - GWAS) são modelos que visam auxiliar a detectar associação estatística entre valores genotípicos e fenotípicos (FLINT-GARCIA *et al.*, 2003; MYLES *et al.*, 2009). Tais estudos têm possibilitado avaliar o germoplasma disponível com o intuito de explorar a variabilidade genética em uma população de plantas de uma cultura para o uso em programas de melhoramento (CHADCHAWAN *et al.*, 2017). Têm permitido, também, identificar regiões do genoma que influenciam características de interesse, como novas fontes de resistência genética de plantas a patógenos (MACIEL *et al.*, 2018). Nos últimos anos, QTLs para múltiplos traços foram identificados usando GWAS (DE TOLEDO *et al.*, 2008; SPINDEL *et al.*, 2015; RABOIN *et al.*, 2016). Sua incorporação em programas de melhoramento visa o desenvolvimento de genótipos com resistência durável às principais doenças do trigo, como é o caso da moléstia em estudo (PANTALIÃO *et al.*, 2012).

2.8 Mapeamento associativo para a resistência à brusone

O mapeamento associativo (*Association mapping*), ou mapeamento de desequilíbrio de ligação (*Linkage Disequilibrium Mapping*), é uma técnica que tem sido aplicada com sucesso em plantas (FLINT-GARCIA *et al.*, 2003). Essa técnica vem sendo utilizada para mapear um ou mais genes, ou QTLs, responsáveis pela expressão de caracteres de importância econômica em uma população, por meio de marcadores moleculares, explorando o desequilíbrio de ligação (DL) entre eles (PANTALIÃO *et al.*, 2012; MESQUITA, 2017). Este estudo é multidisciplinar pois envolve componentes da genética, estatística, biologia molecular e bioinformática, formando a base para a identificação das regiões genômicas associadas (ORAGUZIE *et al.*, 2007; MESQUITA, 2017). A técnica é baseada no conceito de desequilíbrio de ligação (DL), a qual se refere à associação não aleatória de alelos entre diferentes locos (DOERGE *et al.*, 1996; FLINT-GARCIA *et al.*, 2003; SORRELLS *et al.*, 2009). Seu entendimento é de fundamental importância para que ocorra sucesso na

análise de associação. Análises realizadas com grande número de marcadores espalhados por todo o genoma aumentam a probabilidade de que regiões associadas a características de interesse estejam em forte desequilíbrio de ligação com os marcadores (DOERGE *et al.*, 1996; FLINT-GARCIA *et al.*, 2003; SORRELLS *et al.*, 2009). Os marcadores mais utilizados em GWAS são os SNPs (BRADBURY *et al.*, 2007).

Para o eficiente uso da técnica é necessário primeiramente considerar a variabilidade genética da população de origem. Isso se deve ao fato de a diversidade genética, assim como a extensão do DL no genoma, poderem determinar a resolução do mapeamento (OLIVEIRA, 2014). O próximo passo é a realização de uma fenotipagem de elevada qualidade, de preferência em vários anos e locais, para garantir maior eficiência na busca por marcadores moleculares associados à característica de interesse (VINHOLES, 2014; ROHR, 2016). A genotipagem deve ser obtida com denso número de marcadores, explorando a variabilidade genética presente no grupo de genótipos para uma análise mais detalhada (MILACH, 1999). Quando em posse dos dados fenotípicos e genotípicos se faz necessária a utilização de métodos estatísticos que detectam a estrutura da população e consideram essas informações nas análises de associação entre genótipo e fenótipo (BRADBURY *et al.*, 2007). Um software muito utilizado para esse tipo de análises é o TASSEL, o qual implementa modelos que minimizam o risco de falsos positivos decorrentes da estrutura da população. Ou seja, permite que predominem associações verdadeiramente fortes, as que são mantidas ao longo de várias gerações de recombinação (BRADBURY *et al.*, 2007; SAHU *et al.*, 2017). Este tipo de mapeamento se mostra mais rápido e rentável do que o mapeamento de ligação (MYLES *et al.*, 2009).

Esse método se mostra eficiente quando aplicado em caracteres complexos, pois consegue detectar uma correlação entre marcadores moleculares e o fenótipo da população em estudo, usando uma coleção de germoplasma com elevada variabilidade genética, o que demanda menos tempo do que o mapeamento por ligação utilizando populações derivadas do

cruzamento de dois genitores (NORDBORG *et al.*, 2008; RABOIN *et al.*, 2016; KORINSAK *et al.*, 2019). Informações como as obtidas com essa metodologia são valiosas na escolha das estratégias na busca por resistência durável à brusone no trigo (AGRAMA *et al.*, 2007). Apesar do mapeamento de genes de resistência à brusone vir sendo objeto de estudo desde o surgimento da doença no país, a descrição de estudos na literatura ainda é limitada. De fato, somente poucos trabalhos foram já publicados.

Na cultura do arroz, nos últimos anos, muitos locos foram identificados em diversos estudos com o auxílio de GWAS (DE TOLEDO *et al.*, 2008). Em um trabalho com arroz *indica*, foram selecionadas 366 variedades para compor a população que foi inoculada com 16 isolados de *Pyricularia oryzae* para avaliar a resistência à brusone usando GWAS, o que resultou na identificação de 30 locos associados com a resistência à doença (WANG *et al.*, 2014). Outro trabalho utilizou uma população de 1495 variedades híbridas de arroz para avaliar a resistência à brusone, além de outras 38 características agronômicas, onde, com o auxílio de GWAS, identificou quatro locos associados à resistência (HUANG *et al.*, 2015). A incorporação de informações obtidas com GWAS em seleção genômica também provou ser capaz de melhorar a precisão das previsões, o que otimizaria os processos de melhoramento de arroz (SPINDEL *et al.* 2015; RABOIN *et al.*, 2016).

Na cultura do trigo ainda são poucos os resultados divulgados de trabalhos utilizando GWAS. Em uma pesquisa recente realizada no CIMMYT, foi utilizado GWAS para identificar regiões genômicas associadas à resistência à brusone no trigo nos Viveiros de Triagem de Trigo Pão da instituição. Para tanto, foi reunido um grande conjunto de dados de 8607 observações da doença obtidas pela avaliação de 1106 linhas de trigo em três em pontos críticos localizados em Bangladesh e na Bolívia. Ao estimar as frequências de alelos favoráveis associados à marcadores, foram identificados 36 marcadores significativos nos cromossomos 2AS, 3BL, 4AL e 7BL com efeitos consistentes, onde vinte destes foram significativos em todos os 49 conjuntos de dados e para a translocação 2NS de *Aegilops ventricosa*. Estes resultados reforçaram a

eficácia da translocação 2NS para resistência à brusone, mas também evidenciaram a urgência da busca de novas fontes de resistência (JULIANA *et al.*, 2020).

Em outro estudo recente utilizando GWAS, foi realizado o mapeamento de associação do genoma para resistência a múltiplos patógenos fúngicos em um conjunto organizado a partir de um conjunto de 180 linhas derivadas do *Evolutionary Pre-breeding pOpulation* (EPO) e fixadas por cinco gerações de descendência pelo método *single seed descent* (SSD). A EPO é uma população de trigo tetraplóide geneticamente diversa originada de cruzamentos de acessos de várias subespécies de *Triticum turgidum* (subespécie *dicoccoides*, *dicoccum*, *turgidum*, *polonicum*, *carthlicum* e *durum*). Foram identificados dezesseis QTL associados à resistência às principais ameaças fúngicas enfrentadas pelos produtores de *Triticum turgidum*, como mancha salpicada de *septoria tritici*, mancha de *septoria nodorum*, ferrugem da folha e a brusone. Entre estes, dois QTL associados à resistência a brusone do trigo, possivelmente correspondendo a posições mais finas dos genes *Rmg2* e *Rmg7* presentes em trigo pão, que poderiam fornecer importantes marcadores para combater esta moléstia emergente em *Triticum turgidum* (BALLINI *et al.*, 2020).

2.9 Considerações finais

A brusone é uma doença de grande importância na triticultura, podendo causar perdas de grande proporção. Para controle desta moléstia, a resistência genética tem sido considerada a abordagem mais sustentável e amigável ao agricultor, no entanto, este ainda é um dos desafios para a cultura devido à escassez de genes *R* identificados. O mapeamento associativo representa uma alternativa poderosa na busca por novos genes de resistência à brusone, pois este abrange todo o genoma possibilitando identificar relações entre os marcadores e o fator causal dos polimorfismos para identificar associações

entre o marcador e o traço. Essa abordagem não requer tempo para o desenvolvimento da população, já que pode ser realizada em conjuntos de diversidade existentes e fornece uma melhor resolução se comparada com o mapeamento de ligação. Estratégias como esta fornecem uma maior compreensão do processo de infecção fúngica e de mecanismos de resistência podendo fornecer soluções a longo prazo. Por fim, a pesquisa sobre esta importante doença do trigo deve se tornar uma prioridade, sendo a soma de esforços em diferentes áreas da pesquisa fundamental para trazer avanços na busca de cultivares de trigo com uma efetiva resistência à brusone.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRAMA, H. A. *et al.* Association mapping of yield and its components in rice cultivars. **Molecular breeding**, v. 19, n. 4, p. 341-356, 2007.
- ALI, Y. *et al.* Genetic variability, association and diversity studies in wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm. **Pak. J. Bot.**, v. 40, n. 5, p. 2087-2097, 2008.
- ANH, Vu Lan *et al.* *Rmg8*, a new gene for resistance to *Triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* in hexaploid wheat. **Phytopathology**, v. 105, n. 12, p. 1568-1572, 2015.
- ANH, V. L. *et al.* *Rmg8* and *Rmg7*, wheat genes for resistance to the wheat blast fungus, recognize the same avirulence gene *AVR-Rmg8*. **Molecular plant pathology**, v. 19, n. 5, p. 1252-1256, 2018.
- ARENDT, P. F. **Resistência de genótipos de trigo à Brusone**. 2006. 75 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, 2006.
- BALLINI, Elsa *et al.* Genome wide association mapping for resistance to multiple fungal pathogens in a panel issued from a broad composite cross-population of tetraploid wheat *Triticum turgidum*. **Euphytica**, v. 216, p. 1-17, 2020.
- BARBIERI, R.; CARVALHO, F.. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 7, n. 2, 2001.
- BEDENDO, I. P. Doenças do arroz (*Oryza sativa* L.). *In*: KIMATI, H. *et al.* (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, cap. 10, p. 85-104.
- BENNETT, D. *et al.* Detection of two major grain yield QTL in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under heat, drought and high yield potential environments. **Theoretical and applied genetics**, v. 125, n. 7, p. 1473-1485, 2012.
- BERTAN, I. *et al.* Variabilidade genética em trigo aferida por meio da distância genealógica e morfológica. **Scientia agraria**, v. 8, n. 1, p. 67-74, 2007.
- BESPALHOK FILHO, J. C.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. **Melhoramento para resistência a doenças**. Melhoramento de Plantas. Curitiba: UFPR, 2007.
- BITA, C. *et al.* Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 273, 2013.

BOARETTO, A. E. A evolução da população mundial, da oferta de alimentos e das ciências agrárias. **Ceres**, v. 56, n. 4, 2015.

BONMAN, J. M. Durable resistance to rice blast disease—environmental influences. In: **Breeding for Disease Resistance**. Springer, Dordrecht. p. 115-123, 1992.

BRADBURY, P. J. *et al.* TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics**, v. 23, n. 19, p. 2633-2635, 2007.

BRAMMER, S. P. Variabilidade e diversidade genética vegetal: requisito fundamental em um programa de melhoramento. **Embrapa Trigo - Documentos INFOTECA-E**, 2002.

BRUNO, A. C., and A. S. URASHIMA. "Sexual relationship between Magnaporthe grisea from wheat and from other hosts." **Fitopatologia Brasileira** 26.1:p. 21-26, 2001.

BURR, B., *et al.* "The application of restriction fragment length polymorphism to plant breeding." Genetic engineering. Springer, Boston, MA. p. 45-59, 1983.

CAIERÃO, E. *et al.* Origem, evolução e melhoramento genético. In: **Trigo, o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Passo Fundo: Embrapa, 2016. p.15-29.

CALLAWAY, E. Devastating wheat fungus appears in Asia for first time. **Nature**, New York, v. 532, n. 2, p. 421-422, 2016.

CARDOSO, C. A. de A.; REIS, E. M.; MOREIRA, E. N. Development of a warning system for wheat blast caused by *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 3, p. 216-221, 2008.

CARVALHO, F.I.F. de *et al.* **Condução de populações no melhoramento genético de plantas**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2008.

CERESINI, P. C. *et al.* Wheat blast: past, present, and future. **Annual review of phytopathology**, v. 56, p. 427-456, 2018.

CGIAR. **CIMMYT manages diverse collections of maize and wheat**. 2019. Disponível em: <<https://www.genebanks.org/genebanks/cimmyt/>>. Acesso em: 26 out. 2020.

CHADCHAWAN, S. *et al.* Identification of genes involving in salt tolerance using GWAS data based on Na⁺ content in local Thai rice leaves. **Genomics and Genetics**, v. 10, n. 1&2, p. 27-37, 2017.

CONAB. **Análise mensal – Trigo Fevereiro de 2020**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/info-agro/item/download>>. Acesso em: 26 out. 2020.

COUCH, B. C. *et al.* A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. **Mycologia**, v. 94, n. 4, p. 683-693, 2002.

CRUPPE, G. *et al.* Novel sources of wheat head blast resistance in modern breeding lines and wheat wild relatives. **Plant Disease**, v. 104, n. 1, p. 35-43, 2020.

CRUZ, C. D. *et al.* The 2NS translocation from *Aegilops ventricosa* confers resistance to the *Triticum* pathotype of *Magnaporthe oryzae*. **Crop Science**, v. 56, n. 3, p. 990-1000, 2016.

CRUZ, C. D. *et al.* Climate suitability for *Magnaporthe oryzae* *Triticum* pathotype in the United States. **Plant Disease**, v. 100, n. 10, p. 1979-1987, 2016.

CRUZ, C. D.; VALENT, B. Wheat blast disease: danger on the move. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 3, p. 210-222, 2017.

CRUZ, M. F. A. *et al.* Reação de genótipos de trigo à Brusone em diferentes estádios de desenvolvimento. *In*: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2., 2008, Passo Fundo. **Anais [...]**. Passo Fundo, 2008.

CUNHA, G. R. **Trigo no Brasil**: rumo ao século XXI. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000.

CUNHA, G. R. **Oficina sobre trigo no Brasil**: bases para a construção de uma nova triticultura brasileira. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009.

DANELLI, A. L. D. **Catálogo e descrição bibliográfica: *Pyricularia oryzae***: virulência de isolados, densidade de conídios no ar e efeito do nitrogênio na suscetibilidade do trigo. 2015. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, 2015.

DE FRANCESCHI, L. *et al.* Fatores pré-colheita que afetam a qualidade tecnológica de trigo. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1624-1631, 2009.

DE PAULA, I. G. *et al.* Screening wheat genotypes for resistance to wheat blast disease in the vegetative and reproductive stages. **Euphytica**, v. 215, n. 3, p. 59, 2019.

DESTA, Z. A. *et al.* Genomic selection: genome-wide prediction in plant improvement. **Trends in plant science**, v. 19, n. 9, p. 592-601, 2014.

DE TOLEDO, E. R. *et al.* Mapeamento de QTLs: uma abordagem bayesiana. **Rev. Bras. Biom.**, v. 26, n. 2, p. 107-114, 2008.

DIAS NETO, J. J. **Mapeamento genético de QTLs de resistência ao agente causal da Brusone (*Magnaporthe oryzae*) e avaliação de multilinhas de arroz resistentes ao patógeno.** 2013. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade de Brasília, 2013.

DOERGE, R. W. *et al.* "Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character." *Genetics* 142.1: p. 285-294, 1996.

DRUMMOND, J. A.; READER, J. *Potato: a story of the propitious esculent.* New Haven: Yale University Press, 2008.

DUBCOVSKY, J.; DVORAK, J. Genome plasticity a key factor in the success of polyploidy wheat under domestication. **American Association for the Advancement of Science**, v. 316, n. 5833, p. 1862-1866, 2007.

DUVEILLER, E.; SINGH, R. P.; NICOL, J. M. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases, and potential epidemics. **Euphytica**, v. 157, n. 3, p. 417-430, 2007.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Production Crops.** Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acesso em: 15 de março de 2020.

FELDMAN, M. *Wheats.* In: SIMMONDS, N. W. **Evolution of crop plants.** 3. ed. Longman Group: Inglaterra, 1984.

FERREIRA, J. R. *et al.* Influência do estágio fenológico na intensidade da Brusone e mecanismos de resistência em trigo. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 10., 2016, Londrina. **Anais [...].** Londrina:, 2016.

FLINT-GARCIA, S. A.; THORNSBERRY, J. M.; BUCKLER IV, E. S. Structure of linkage disequilibrium in plants. **Annual review of plant biology**, v. 54, n. 1, p. 357-374, 2003.

FLOR, H. H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual Review Phytopathology**, v. 9, p. 275-296, 1971.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. A. Perdas no rendimento de grãos de trigo causada por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. **Summa Phytopathologica** v. 26, p. 279-282, 2000.

GOULART, A. C. P. *et al.* Danos em trigo causados pela infecção de *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 4, p. 358-363, 2007.

HAWKESFORD, M. J. *et al.* Prospects of doubling global wheat yields. **Food and Energy Security**, v. 2, n. 1, p. 34-48, 2013.

HIRABAYASHI, Y. *et al.* Global flood risk under climate change. **Nature Climate Change**, v. 3, n. 9, p. 816-821, 2013.

HUANG, X. *et al.* Genomic analysis of hybrid rice varieties reveals numerous superior alleles that contribute to heterosis. **Nature communications**, v. 6, n. 1, p. 1-9, 2015.

HUANG, M. *et al.* Use of genomic selection in breeding rice (*Oryza sativa* L.) for resistance to rice blast (*Magnaporthe oryzae*). **Molecular Breeding**, v. 39, n. 8, p. 114, 2019.

ISLAM, M. T. *et al.* Wheat blast: a new threat to food security. **Phytopathology Research**, v. 2, n. 1, p. 1-13, 2020.

JOHNSON, R. The concept of durable resistance. **Phytopathology**, v. 69, p.198-199, 1979.

JULIANA, P. *et al.* Genome-wide association mapping for wheat blast resistance in CIMMYT's international screening nurseries evaluated in Bolivia and Bangladesh. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2020.

LAU, D. *et al.* **Doenças de trigo no Brasil**. Embrapa Trigo-Capítulo em livro científico (ALICE), 2011.

LÉON, A. E. **De tales harinas, tales panes**: granos, harinas y productos de panificación em Iberoamérica. Córdoba: Hugo Báez, 2007. 480p.

KIHORO, J. *et al.* Investigating the impact of rice blast disease on the livelihood of the local farmers in greater Mwea region of Kenya. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 308, 2013.

KORINSAK, S. *et al.* Genome-wide association mapping of virulence gene in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* using a genotyping by sequencing approach. **Genomics**, v. 111, n. 4, p. 661-668, 2019.

MACIEL, J. L. N. *et al.* Population structure and pathotype diversity of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae* 25 years after its emergence in Brazil. **Phytopathology**, v. 104, n. 1, p. 95-107, 2014.

MACIEL, J. L. N. *et al.* Resistência genética de plantas a fungos. In Dallagnol LJ (Org) **Resistência genética de plantas a patógenos**. UFPel, Pelotas, p. 359- 393, 2018.

MATIELLO, R. R.; BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Resistência das plantas a moléstias fúngicas. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 161-168,1997.

MESQUITA, A. C. O. **Mapeamento por associação genômica ampla para identificação de resistência ao mofo branco em soja**. 2017. 68 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

MIAH, G. *et al.* Blast resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approaches. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 3, p. 2369-2388, 2013.

MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas**. Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Petrolina: Embrapa Semiárido, 1999.

MITTELMANN, A. *et al.* Herança de caracteres do trigo relacionados à qualidade de panificação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 5, p. 975-983, 2000.

MOHAN, M. *et al.* Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. **Molecular breeding**, v. 3, n. 2, p. 87-103, 1997.

MOREIRA, S. I. *et al.* Reprodução sexuada em *Pyricularia oryzae*. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 175-182, 2015.

MYLES, S. *et al.* Association mapping: Critical considerations shift from genotyping to experimental design. **The Plant Cell**, Rockville, v. 21 n. 8 p. 2194-2202, 2009.

NGA, N. T. T.; HAU, V. T. B.; TOSA, Y. Identification of genes for resistance to a *Digitaria* isolate of *Magnaporthe grisea* in common wheat cultivars. **Genome**, v. 52, n. 9, p. 801-809, 2009.

NORDBORG, M. *et al.* Next-generation genetics in plants. **Nature**, v. 456, n. 7223, p. 720-723, 2008.

OLIVEIRA, I. B. **Desequilíbrio de ligação e análise de seleção genômica em cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, 2014.

ORAGUZIE, N. C. *et al.* (eds). **Association mapping in plants**. Berlim: Springer, 2007.

OTTO, S. P. The evolutionary consequences of polyploidy. **Cell**, v. 131, n. 3, p. 452-462, 2007.

PANTALIÃO, G. F. *et al.* Mapeamento associativo para tolerância à seca em arroz por marcadores SNPs em alta densidade. *In*: SEMINÁRIO JOVENS TALENTOS, 6., 2012, Santo Antônio de Goiás. **Anais [...]**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2012.

PIANA, C. F. B.; CARVALHO, F. I. F. Trigo - A cultura que deu suporte à civilização. *In*: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Pelotas, 2008.

POLAND, J. et al. Advances and challenges in genomic selection for disease resistance. **Annual review of phytopathology**, v. 54, p. 79-98, 2016.

RABOIN, L.-M. et al. Association mapping of resistance to rice blast in upland field conditions. **Rice**, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2016.

RIBEIRO, A. S.; TERRES, A. L. S Variabilidade do fungo *Pyricularia oryzae* e sua relação com cultivares resistentes à Brusone. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 12, p. 316-321, 1987.

ROHR, A. **Parâmetros genéticos, respostas associadas ao déficit hídrico e estrutura populacional em germoplasma de batata (*Solanum tuberosum* L.)**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

SALEH, D. et al. Sex at the origin: an Asian population of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* reproduces sexually. **Molecular ecology**, v. 21, n. 6, p. 1330-1344, 2012.

SAHU, P. K.; SHARMA, D. Linkage disequilibrium mapping as an advancement in crop breeding. **Advances in Plants & Agriculture Research**, v. 6, n. 2, p. 40-41, 2017.

SAVADI, S. et al. Molecular breeding technologies and strategies for rust resistance in wheat (*Triticum aestivum*) for sustained food security. **Plant pathology**, v. 67, n. 4, p. 771-791, 2018.

SCHEEREN, P. L.; CAIERÃO, E. **Cultivares**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2015.

SCHEUER, P. M. et al. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 2, p. 211-222, 2011.

SCHMIDT, D. A. M. **Capacidade combinatória e modificações de ambiente na expressão dos componentes do rendimento de grãos e da qualidade industrial em trigo**. 2008. 115 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

SHAHRIAR, S. A., Imtiaz, A. A., Hossain, M. B., Husna, A., & Eaty, M. N. K. Rice Blast Disease. **Annual Research & Review in Biology**, 50-64, 2020.

SHEWRY, P. R. Wheat. **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 6, p. 1537-1553, 2009.

SORRELLS, M. E. *et al.* "Linkage disequilibrium and association mapping in the Triticeae." *Genetics and genomics of the Triticeae*. Springer, New York, NY. P. 655-683, 2009.

SPINDEL, J. *et al.* Genomic selection and association mapping in rice (*Oryza sativa*): effect of trait genetic architecture, training population composition, marker number and statistical model on accuracy of rice genomic selection in elite, tropical rice breeding lines. **PLoS Genet**, v. 11, n. 2, p. e1004982, 2015.

STICH, B. *et al.* An introduction to association mapping in plants. **CAB Reviews**, v. 5, p. 1-9, 2010.

TAGLE, A. G.; CHUMA, I.; TOSA, Y. *Rmg7*, a new gene for resistance to *Triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* identified in tetraploid wheat. **Phytopathology**, v. 105, n. 4, p. 495-499, 2015.

TANKSLEY, S. D. "Mapping polygenes." **Annual review of genetics** 27.1: 205-233, 1993.

TAKABAYASHI, N. *et al.* A gene-for-gene relationship underlying the species-specific parasitism of *Avena/Triticum* isolates of *Magnaporthe grisea* on wheat cultivars. **Phytopathology**, v. 92, n. 11, p. 1182-1188, 2002.

TITONE, P.; MONGIANO, G.; TAMBORINI, L. Resistance to neck blast caused by *Pyricularia oryzae* in Italian rice cultivars. **European Journal of Plant Pathology**, v. 142, n. 1, p. 49-59, 2015.

TOSA, Y. *et al.* Classification and parasitic specialization of blast fungi. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, n. 3, p. 202-209, 2014.

TRIGIANO, R. N.; WINDHAM, M. T.; WINDHAM, A. S. **Fitopatologia**: conceitos e exercícios de laboratório. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

TRINDADE, M. da G.; PRABHU, A. S.; SÓ E SILVA, M. Resistência parcial de genótipos de trigo à brusone nas folhas. **Embrapa Trigo-Comunicado Técnico** (INFOTECA-E), 2006.

THUROW, LB. *et al.* Melhoramento de plantas visando à resistência a patógenos. In Dallagnol LJ (Org) **Resistência genética de plantas a patógenos**. UFPel, Pelotas, p. 65-102, 2018.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Publications wheat**. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov>. Acesso em 21 de dezembro de 2020.

VALE, F. X. R., J. E. P., ZAMBOLIM, L. "Concepts in plant disease resistance." **Fitopatologia Brasileira** 26.3 : p. 577-589, 2001.

VALENT, B. *et al.* *Pyricularia graminis-tritici* is not the correct species name for the wheat blast fungus: Response to Ceresini *et al.* (MPP 20: 2). **Molecular plant pathology**, v. 20, n. 2, p. 173-179, 2019.

VENSKE, E. *et al.* Bread wheat: a role model for plant domestication and breeding. **Hereditas**, v. 156, n. 1, p. 16, 2019a.

VENSKE, E. *et al.* Genetic diversity, linkage disequilibrium, and population structure in a panel of Brazilian rice accessions. **Journal of Applied Genetics**, v. 60, n. 1, p. 27-31, 2019b.

VINHOLES, P. S. **Associação genômica para resistência da soja a *Meloidogyne javanica* e *Macrophomina phaseolina***. 2014. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2014.

VY, T. T. P. *et al.* Genetic analysis of host–pathogen incompatibility between *Lolium* isolates of *Pyricularia oryzae* and wheat. **Journal of General Plant Pathology**, v. 80, n. 1, p. 59-65, 2014.

WANG, S. *et al.* A new resistance gene in combination with *Rmg8* confers strong resistance against *Triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* in a common wheat landrace. **Phytopathology**, v. 108, n. 11, p. 1299-1306, 2018.

ZHANG, N. *et al.* Generic names in Magnaporthales. **IMA fungus**, v. 7, n. 1, p. 155-159, 2016.

ZHAN, S. W.; MAYAMA, S.; TOSA, Y. Identification of two genes for resistance to *Triticum* isolates of *Magnaporthe oryzae* in wheat. **Genome**, v. 51, n. 3, p. 216-221, 2008.

3. CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA QUANTO A SEVERIDADE À BRUSONE E CARACTERES AGRONÔMICOS DE UMA AMOSTRA DO TRIGO BRASILEIRO

3.1 Introdução

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma das mais importantes espécies cultivadas e representa a segunda maior cultura de grãos em produção do mundo (MITTELMANN *et al.*, 2000). O cereal é componente base da alimentação humana, devido ao seu elevado valor energético, apresentando elevada importância econômica e social. A ocorrência de doenças é um dos fatores que causam os maiores prejuízos e riscos à produção dessa importante cultura (HAWKESFORD *et al.*, 2013; BITA *et al.*, 2013; HIRABAYASHI, 2013). Entre as mais importantes moléstias que acometem o trigo está a brusone, uma doença fúngica, que vem sendo considerada uma ameaça à produção mundial do cereal (LAU *et al.*, 2011; VALENT *et al.*, 2019).

Os danos causados pela brusone dependem basicamente do momento de infecção com relação ao desenvolvimento da espiga e do local de penetração do fungo, que pode ocorrer em qualquer local do ráquis, afetando a espiga inteira ou parte dela, impedindo a passagem de nutrientes e, conseqüentemente, há diminuição do tamanho do grão, ou mesmo abortamento (CRUZ *et al.*, 2017). O patógeno tem a capacidade de causar altas perdas de rendimento e em qualidade do cereal, podendo chegar à 100% em cultivares suscetíveis. As perdas podem ocorrer em todas as partes da planta, mas é na espiga onde sua alta incidência e severidade tem maior impacto sobre a produção de grãos (ARENDRT, 2006). Os grãos danificados pela doença acabam não sendo aproveitáveis para comercialização e utilização na alimentação humana, tornando-se um risco grave à segurança alimentar (ARENDRT, 2006).

No Brasil, a expansão da produção tritícola para o centro do país vai de encontro com ambientes característicos de temperaturas mais altas e com

adequada disponibilidade de água, que favorecem o desenvolvimento de doenças fúngicas. Em adição a isso, tem-se também as constantes mudanças climáticas que impactam diversas regiões do globo, dificultando a previsão do clima. Tais são os efeitos devastadores da moléstia que, desde o primeiro aparecimento da doença, houve uma redução de 95% da produção de trigo na região do Cerrado brasileiro (CERESINI *et al.*, 2018).

Tem sido demonstrado para um número cada vez maior de culturas e doenças associadas que, dentro de um sistema de manejo integrado, a utilização de cultivares resistentes é um componente principal, e ao mesmo tempo, uma medida economicamente vantajosa e ambientalmente menos ofensiva. Para a brusone isto também tem se mostrado verdadeiro, acima de tudo por ser considerada uma doença de difícil controle (CRUZ *et al.*, 2017; VALENT *et al.*, 2019; ISLAM *et al.*, 2020). No entanto, as cultivares atualmente disponíveis no mercado, apresentam um nível de resistência ainda não satisfatório (PAGANI *et al.*, 2014; CERESINI *et al.*, 2018; MACIEL *et al.*, 2018).

Os programas de melhoramento têm despendido um grande esforço para identificar fontes de resistência em trigo, uma vez que é um caráter controlado por vários genes de efeito moderado e/ou fraco, para usá-las no desenvolvimento de novas cultivares em seus programas de melhoramento (LAU *et al.*, 2011). A variabilidade genética é essencial para o melhoramento genético vegetal. Para mensurar a variabilidade genética de uma população, a caracterização fenotípica dos genótipos disponíveis no país é considerada uma importante etapa do processo de melhoramento (BRAMMER, 2002; VENSKE *et al.*, 2019a). Caracteres relacionados ao rendimento de grãos podem ser drasticamente afetados quando submetidos a estresses bióticos e abióticos, o que reflete diretamente na produtividade da cultura (DUVEILLER *et al.*, 2007; BENNETT *et al.*, 2012).

A caracterização fenotípica de expressivo número de acessos contribui imensamente ao melhoramento vegetal, possibilitando a identificação de fontes de resistência genética para posteriormente desenvolver genótipos resistentes à moléstia. É apropriado enfatizar que a combinação de métodos

convencionais de melhoramento de plantas com técnicas de biotecnologia, como o mapeamento genético, tem o potencial de identificar e transferir genes de resistência à brusone do trigo (SHAH, 2019).

Neste sentido, o intuito do trabalho foi analisar os dados fenotípicos, por meio de análises univariadas, de distribuição de frequências e de correlação entre os caracteres da população em estudo, como a primeira etapa de estudos genéticos e de mapeamento de genes e/ou QTLs de resistência à brusone no trigo brasileiro. Este trabalho de fenotipagem é parte inicial e importante de um trabalho amplo de melhoramento de trigo. Os resultados obtidos tem potencial para contribuir na identificação de genótipos promissores, assim como uma visão da variabilidade fenotípica disponível no painel de trigo. Dessa forma, é possível avaliar sua aptidão para uso no mapeamento associativo de QTLs e genes de resistência à brusone na cultura.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Germoplasma

A população selecionada para este trabalho possui um total de 193 acessos de trigo listados na Tabela 2. Estes acessos foram escolhidos de modo a amostrar a variabilidade genética do germoplasma de trigo utilizado no Brasil e presentes no banco de germoplasma do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). O critério para seleção foi a representatividade dos diferentes programas de melhoramento de trigo, assim como períodos de lançamento das cultivares, mas principalmente baseada em valores contrastantes quanto ao caráter nível de resistência à brusone, visando ampliar a variabilidade na população.

O experimento foi realizado nos anos de 2019 e 2020, contudo, o conjunto de genótipos utilizado no ano de 2019 foi menor do que no ano de 2020. Dessa forma, o conjunto de genótipos foi dividido em I e II para facilitar o entendimento dos resultados. Estes conjuntos I e II se diferenciam pela

presença ou ausência de alguns dos acessos de trigo. O conjunto I foi avaliado no ano de 2019 e o conjunto II foi avaliado no ano de 2020.

Como testemunha foi utilizado o genótipo CD 150 da empresa Coodetec (atualmente DowDupont - Corteva), sendo usado como testemunha de inoculação e com ausência de inoculação.

Tabela 2. Classificação em classes do conjunto de genótipos segundo os níveis de resistência à brusone descritos na literatura.

Classes de resistência à brusone	Genótipos
R	Trigo BR 18-Terena
MR	TBIO Sossego, TBIO Mestre, TBIO Sintonia, Celebra, TBIO Audaz, TBIO Ponteiro, TBIO Ivaí, CD 117, CD 118, CD 124, CD 150, CD 1104, CD 1805, Ocepar 15, CD 1303, Trigo BR 17-Caiuá, BRS 209, BRS 276, CNT 8, IPR 87, IPR 128, IPR 129, IPR 136, IPR 144, IPR Catuara TM, ORS 1401, ORS 1403, Ônix, TBIO Sonic, CD 108, CD 116, CD 121, CD 122, CD 123, CD 151, CD 1252, CD 1440, CD 1550, ORS 1403, ORS 1401, Trigo BR 31-Miriti, Embrapa 42, BRS Gaivota
MS	TBIO Tibagi, TBIO Toruk, TBIO Iguaçu, FPS Nitron, TBIO Itaipu, TBIO Selete, Novo Sulino, Supera ORS 1405, ORS 1402, ORS Madre Pérola, Ametista, Cincana, Frontana, Embrapa 22, BRS 220, BRS Galha Azul, BRS Tangará, IAC 350 - Goiopá, IAC 24 - Tucuruí, IPR 110, IPR 118, IPR 130, IPR Panaty, IPR Potiporã
S	TBIO Bandeirante, TBIO Noble, TBIO Sinuelo, TBIO Pioneiro 2010, CD 111, CD 104, CD 105, CD 154, Ocepar 14, CD 1705, Marfim, FPS Certero, ORS Vintecinco, LG Supra, LG Oro, Rio Negro, Alegrete, Combate, Nobre, Farrapo, BRS 254, BRS 264, Embrapa 21, BRS 210, BRS 374, IAC 364 - Tucuruí III, IAC 373 Guaicuru, IAPAR 6 - Tapejara, IAPAR 28 Igapô, IAPAR 29 - Cacatu, IAPAR 78, IPR Taquari
SI	Fundacep 300, Fundacep Campo Real, CD 119, CD 120, BRS Parrudo, Quartzo, TBIO Alpaca, Inova, Estrela Átria, TBIO Energia I, Fundacep Bravo, Fundacep Cristalino, Fundacep Nova Era, Fundacep Raízes, TEC Vigore, TEC Triunfo, TEC Frontale, Fundacep Horizonte, Fundacep 29, Ocepar 11-Juriti, CD 115, CD 114, Bandeirantes, LA 1549, RBO 303, Valente, Campeiro, Safira, Mirante, Abalone, Vanguarda, Pampeano, Granito, FPS Amplitude, Taurum, Rubi, Avante, Asteca, OR 1, Topázio, Berilo, ORS Citrino, Alcover, Vaqueano, Jadeíte 11, LG WZ1, LG Fortaleza, Centeira, Fronteira, Surpresa, Encruzilhada, Santa Bárbara, Toropi, Camacrania, Butuí, Rio Sulino, Trintecinco, Trigo BR 35, BRS 193, BRS Graúna, BRS 229, BRS 248, BRS 179, BRS 194, BRS 327, BRS 404, BRS Guabiju, BRS Guamirim, BRS Marcante, CNT 8, BRS 120, BRS 177, BRS Figueira, BRS 296, BRS 331, IAC 370 - Armageddon, IAC 375 Parintins, IAC 380 Saira, IAC 381-Kuara, IPR 84, IPR 85, IPR 90, IAPAR 30 Pirata, IAS 8-Piratini, IAS 13-Passo Fundo, IAS 14-Contestado, IAS 22-Tibagi, IAS 28-Ijuí, IAS 34-Xapecó, IAS 49-Pioneiro, IAS 51-Albatroz, IAS 32 Sudeste, IAS 52

*R = Resistente; MR = Moderadamente resistente; MS = Moderadamente suscetível; S = Suscetível; SI = Sem Informação.

3.2.2 Condições experimentais

Os experimentos foram conduzidos nos anos de 2019 e 2020, em casa de vegetação do Centro de Genômica e Fitomelhoramento, na Universidade Federal de Pelotas, município de Capão do Leão – RS, situado a 31° 52' 00" de latitude sul e 52° 21' 24" de longitude oeste.

O delineamento experimental utilizado foi o método *blocos aumentados*, onde a unidade experimental foi composta por quatro plantas em cada recipiente.

Foram utilizados recipientes de poliestireno de 8 litros contendo solo proveniente do Centro Agropecuário da Palma (CAP). Este é classificado como Podzólico Vermelho Amarelo da unidade de Mapeamento Pelotas. O município está situado a 31° 52' 00" de latitude sul e 52° 21' 24" de longitude oeste e altitude de 13,24m, com uma precipitação pluviométrica média anual de 1280 mm. A adubação e calagem foi realizada de acordo com a análise de solo.

A semeadura dos acessos foi escalonada para evitar acúmulo de avaliações na fase proposta para avaliação. No ano de 2019, a semeadura foi realizada do dia sete (7) de agosto até o dia treze (13) de setembro. Já no ano de 2020, a semeadura foi realizada do dia dezoito (18) de julho até o dia seis (6) de agosto.

3.2.3 Isolado e preparação do inóculo

Toda etapa de seleção do isolado e preparação do inóculo foi realizada em colaboração com o Laboratório de Interação Planta-Patógeno (LIPP) (<https://wp.ufpel.edu.br/lipp/2016/07/18/ola-mundo/>), FAEM – UFPel. Foram testados dois isolados de *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum*, um proveniente da empresa Biotrigo Genética e um proveniente da Universidade Federal de Viçosa, ambos já utilizados em experimentos do gênero. O isolado selecionado para o presente trabalho foi o originado da Universidade Federal de Viçosa

-MG devido ao seu desempenho de patogenicidade e multiplicação, de forma a garantir melhores chances de sucesso ao experimento.

A multiplicação do inóculo foi realizada a partir da replicação do isolado, o cultivo se deu em placas de Petri contendo meio de cultura preparado a partir de farinha integral de aveia, ágar e água, de acordo com a literatura (URASHIMA *et al.*, 2004). A proporção utilizada no preparo do meio de cultura foi de 50 gramas de farinha integral de aveia, 15 gramas do reagente Agar-Agar granulado (puro, purificado e livre de inibidores microbiológicos com pH inferior a 6,0) sendo completado o volume de água destilada para 1,0L, de acordo com a literatura (CRUZ *et al.*, 2009; NETO *et al.*, 2010). Após o preparo, o meio de cultura foi submetido ao processo de esterilização por autoclavagem durante 20 minutos a 121°C. Em seguida, foram vertidos para placas de petri em câmara de fluxo laminar sob condições assépticas. Na sequência à replicação, as placas de petri foram mantidas sob um regime de luz contínua, à 25°C em BOD por 12 dias (CRUZ *et al.*, 2009; NETO *et al.*, 2010).

Os esporos (conídios) foram removidos com água destilada e contabilizados, em uma concentração de 100 mil conídios/mL, utilizando a câmara de contagem de Neubauer (FERNANDEZ, 1993).

3.2.4 Inoculação

A suspensão obtida com os esporos do patógeno *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum* foi pulverizada em cada planta com o uso de um atomizador manual até o molhamento total da superfície, tendo em vista a inoculação de folhas e espigas na mesma aplicação. As plantas foram submetidas à inoculação na fase reprodutiva entre os estágios 68 e 70 da escala de Zadoks (ZADOKS *et al.*, 1974). Após a inoculação, as plantas ficaram em câmara úmida por 48 horas com o auxílio de um umidificador para tornar o ambiente favorável à infecção da planta pelo patógeno (CRUZ *et al.*, 2017; CRUPPE *et al.*, 2020).

3.2.5 Avaliação da severidade de brusone

A avaliação visual da severidade da doença foi realizada tanto nas folhas como espigas, seguindo as indicações da literatura, utilizando escalas visuais e a avaliação da produtividade e de seus componentes em função da ocorrência da doença. É importante salientar que este trabalho avalia a severidade de apenas uma raça do patógeno em um painel de acessos de trigo, sendo esta resistência de natureza qualitativa, não representando valores definitivos para essa variável.

3.2.5.1 Avaliação nas folhas

As folhas foram avaliadas visualmente com o auxílio de escala diagramática proposta por Rios (2013). A escala apresenta dez níveis de severidade da brusone no trigo (Figura 4): 0,1; 1; 5; 10; 22; 32; 42; 52; 62 e 72%, sendo consideradas em 100% as folhas mortas pela agressividade da doença (RIOS *et al.*, 2013). O uso desta escala pode auxiliar na redução de erros absolutos, a aumentar a eficiência das avaliações e padronizar os resultados (RIOS *et al.*, 2013).

Foram avaliadas quatro folhas, sempre a terceira folha de cada planta, de cada uma das quatro plantas de um vaso, onde a média de cada avaliação foi o valor de severidade da brusone em cada genótipo de trigo. No ano de 2019 as avaliações foram realizadas aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação, em cada uma das épocas de semeadura. Já no ano de 2020, as avaliações foram realizadas aos 10, 15, 20 e 25 dias após a inoculação, sendo a alteração devida às observações da evolução das folhas aos 30 dias terem sido dificultadas pela morte destas devido a outros fatores.

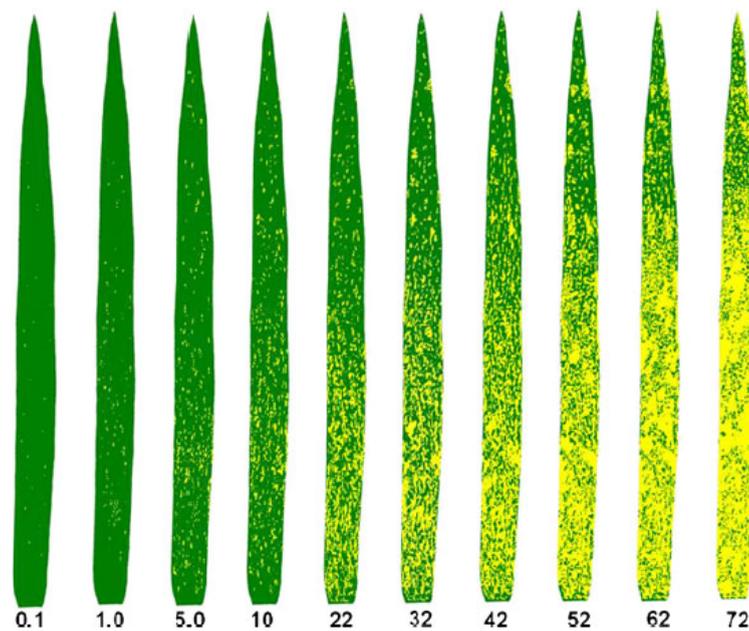


Figura 4 - Escala diagramática para avaliar severidade da brusone em folhas de trigo. Os dados são apresentados como a porcentagem (%) de área da folha com sintomas de brusone. Fonte: (RIOS et al., 2013).

3.2.5.2 Avaliação nas espigas

Nas espigas foi avaliado o percentual de área afetada pela doença em cada espiga visualmente. Foram consideradas as espigas que se encontravam entre os estágios 68 e 70 da escala Zadoks, sendo o valor final a média da avaliação de aproximadamente oito espigas em cada um dos vasos de cada genótipo de trigo (ZADOKS *et al.*, 1974).

Para auxílio na avaliação visual foi utilizada uma escala diagramática (Figura 5) desenvolvida por Maciel e colaboradores (2013), contendo imagens das espigas infectadas com diferentes valores percentuais de severidade da doença: 3,7; 7,5; 21,4; 30,5; 43,8; 57,3; 68,1; 86,0 e 100,0% (MACIEL *et al.*, 2013). As avaliações foram realizadas aos 15 (quinze), 20 (vinte) e 25 (vinte e cinco) dias após a inoculação para observar o progresso da doença. No ano 1 essas as avaliações de espigas foram comprometidas devido à infecção pelo fungo *Fusarium graminearum*, causador da Giberela, uma doença da cultura do

trigo que provoca o branqueamento da espiga, sintoma similar ao causado pela brusone.

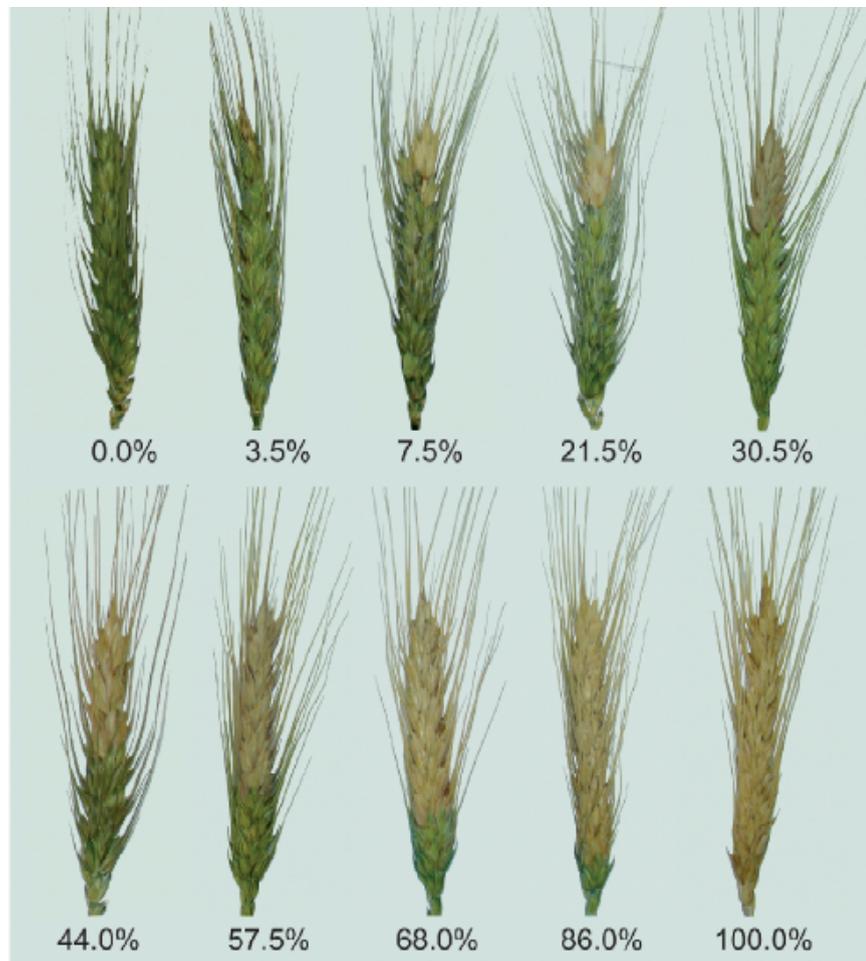


Figura 5 - Escala diagramática para avaliação da severidade da brusone causada por *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum* em espigas de trigo. Fonte: (MACIEL et al., 2013).

3.2.6 Avaliação fenotípica de caracteres agrônômicos

A estatura das plantas (Est) foi avaliada no final do ciclo, utilizando uma trena, sendo o valor em centímetros a distância do solo ao ápice da espiga. Foram avaliadas cada uma das quatro plantas do vaso e a média destes valores resultou no valor do genótipo.

O número de afilhos férteis (NAF) foi avaliada no final do ciclo, sendo o valor em unidades de espigas. Foram avaliadas cada uma das quatro plantas do vaso e a média destes valores resultou no valor do genótipo.

Quando o total das plantas do vaso atingiu a fase de maturidade fisiológica, foram colhidas o total de espigas para a avaliação dos componentes de rendimento.

Os componentes de rendimento avaliados foram: comprimento da espiga (CE), peso da espiga (PE), número de espiguetas por espiga (NE), massa de grãos por espiga (MG) e número de grãos por espiga (NGE). Estas avaliações foram executadas no Laboratório do Centro de Genômica e Fitomelhoramento da FAEM - UFPel.

O comprimento da espiga (CE) foi mensurado em centímetros com auxílio de uma régua graduada, medindo da base até a ponta da espiga, excluindo as aristas.

O peso da espiga (PE) e a massa de grãos por espiga (MG) foram determinados em gramas, utilizando uma balança analítica.

O número de espiguetas por espiga (NE) foi mensurado mediante a contagem manual das espiguetas, desconsiderando as espiguetas inférteis (no ápice e na base da espiga).

O número de grãos por espiga (NGE) foi calculado após a trilha manual da espiga, pela contagem total dos grãos.

3.2.7 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de estatística descritiva e estimativa dos coeficientes de correlação linear de Pearson entre os caracteres avaliados.

Todas as análises estatísticas foram executadas considerando 5% de probabilidade de erro e executadas no software estatístico SAS V9.4 (SAS 9.4 SOFTWARE, 2014). As figuras e tabelas foram criadas no Excel (Microsoft Office 2010).

3.3 Resultados e discussão

Este trabalho objetivou avaliar dois conjuntos de acessos de trigo quanto sua variabilidade fenotípica para os caracteres referentes a severidade de uma raça do patógeno causador da brusone em folhas e espigas, seu impacto na produção de grãos, e caracteres de rendimento do trigo. Para possibilitar uma ampla interpretação dos resultados deste trabalho de fenotipagem, foram realizadas análises univariadas, de distribuição de frequências e a análise de correlações fenotípicas de Pearson, conforme apresentado na sequência.

3.3.1 Análise univariada e de distribuição de frequências entre os indivíduos da população nos anos de 2019 e 2020

A análise estatística descritiva dos conjuntos de genótipos I e II visa trazer uma visão geral do desempenho dos genótipos, permitindo a observação de um padrão de comportamento frente à doença e quanto aos caracteres de rendimento do trigo. Para tanto, a análise de frequências possibilita observar a frequência em que cada classe do caráter se apresenta, assim como o coeficiente de variação, indicando a variabilidade fenotípica existente na população. Salienta-se que nesse estudo o coeficiente de variação não tem a propriedade de informar sobre a precisão experimental. Outrossim, é uma medida simples de variação e é útil em comparações entre variáveis.

Na análise da severidade da brusone nas folhas aos 10 dias após a inoculação (SF10) do conjunto I, apresentada na Figura 6, foram observados valores que variam de 0,17% a 3,5%, sendo a média de 1,14%. A curtose de 0,36 classifica a distribuição de frequências como leptocúrtica. O coeficiente de variação do carácter é considerado muito alto (51,59%), indicando haver alta variabilidade fenotípica. Se tratando de severidade, a presença de variabilidade fenotípica é fundamental ao conjunto de genótipos estudados, pois esta é fundamental ao mapeamento genético para a resistência à brusone, objetivo final dessa pesquisa.

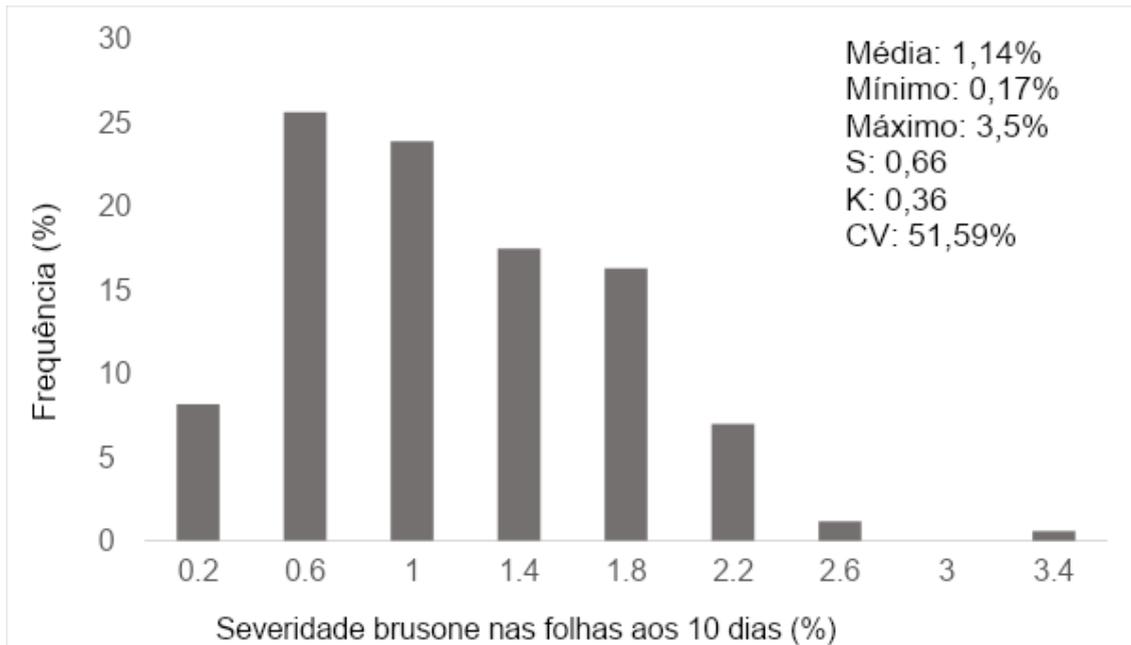


Figura 6 - Distribuição de frequências da população de trigo do conjunto I, do ano de 2019, para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 10 dias após a inoculação (SF10, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPEI, 2020.

Analisando a severidade da brusone nas folhas de trigo do conjunto II, aos 10 dias após a inoculação (SF10), foram observados valores que variam de 0,05% a 1,83%, com média 0,46% (Figura 7). A curtose, classifica a distribuição de frequências como leptocúrtica ($K=2,07$). Já o coeficiente de variação ($CV=80,27\%$) demonstra a alta variabilidade da população para este caráter.

Estes são valores de severidade no início da infecção e que variam conforme o nível de resistência dos genótipos na população e que sofrem grande influência do ambiente. Referente ao conjunto II, pode-se observar a presença de uma classe de SF10 a mais do que as apresentadas pelo conjunto I, o que indica maior variação inicial da suscetibilidade ao patógeno, o que pode estar ligado tanto a variações climáticas, como às características inerentes à população do hospedeiro.

Sugere-se que a penetração e a colonização nas folhas pelo fungo seja um atributo importante a ser investigado nos estudos de resistência do hospedeiro. Estes envolvem componentes morfológicos ou estruturais da planta que podem ser utilizados como barreiras à entrada do patógeno, tais

como modificações na epiderme e parede celular, além de componentes bioquímicos ou fisiológicos (MACIEL *et al.*, 2018; CERESINI *et al.*, 2018). Após a infecção dos tecidos da planta e sua colonização pelo patógeno, é possível observar as lesões a partir de 72-96 horas (ISLAM *et al.*, 2020).

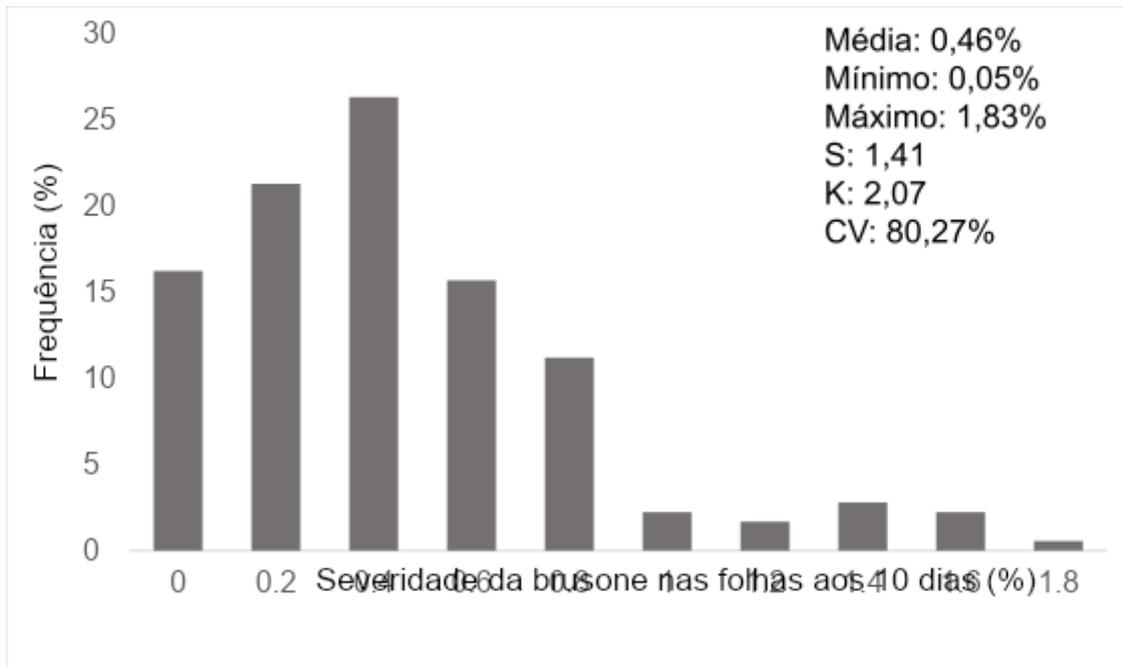


Figura 7 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020, para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 10 dias após a inoculação (SF10, em porcentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

A Figura 8 apresenta a análise da severidade da brusone nas folhas de trigo do conjunto II, aos 15 dias após a inoculação (SF15), onde foram observados valores que variam de 0,07% a 15,5%, com média de 3,6%, demonstrando assimetria positiva em relação à distribuição normal. A curtose de $K=2,52$ classifica a distribuição de frequências como leptocúrtica. A avaliação deste carácter demonstra haver um rápido progresso inicial da doença, sendo que, em relação SF10 do conjunto II, foram adicionadas nove classes de severidade (3,6 a 15,5%). É possível observar o coeficiente de variação de SF15 como alto ($CV=73,3\%$), que é um reflexo da variabilidade fenotípica da população para este carácter em estudo.

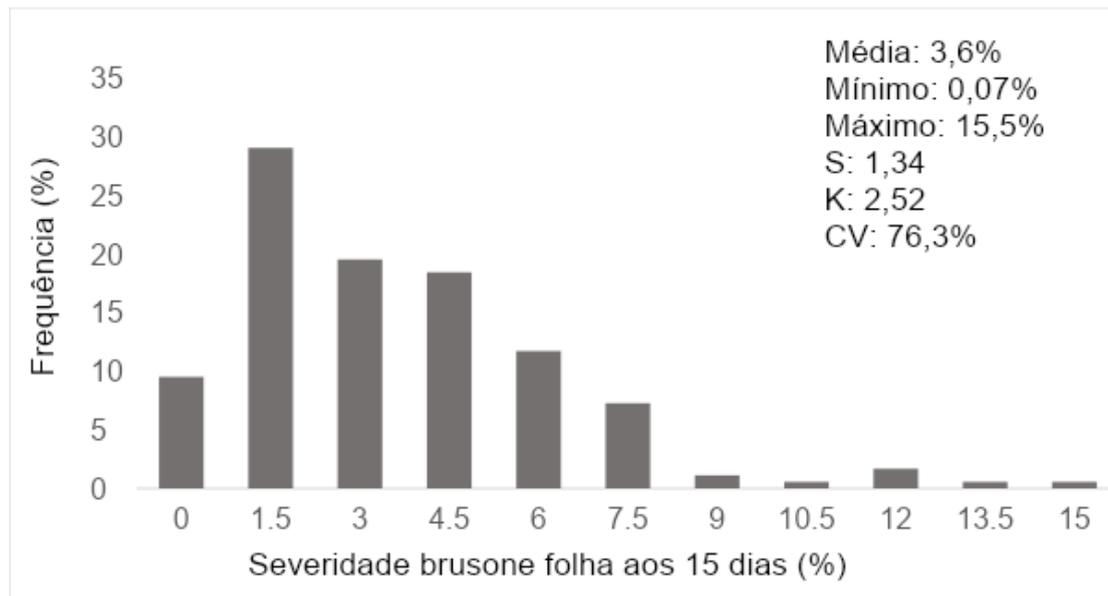


Figura 8 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas folhas aos 15 dias após a inoculação (SF15, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020.

Na Figura 9 é expressa a análise de frequências de diferentes classes de severidade da brusone nas folhas de trigo do conjunto I (SF20) do ano de 2019, onde as nove classes apresentadas variaram de 1,25% a 44,61%, com média de 15,48%. O coeficiente de variação foi de 59,46%, considerado muito alto, o que reitera, novamente, a grande variabilidade fenotípica na população deste painel. Esta análise apresentou assimetria positiva em relação à distribuição normal, apresentando um valor de $S = 0,76$, indicando uma curva com sua cauda mais à direita. Foi também observado um coeficiente de curtose de $K=0,22$, permitindo classificar a distribuição como platicúrtica.

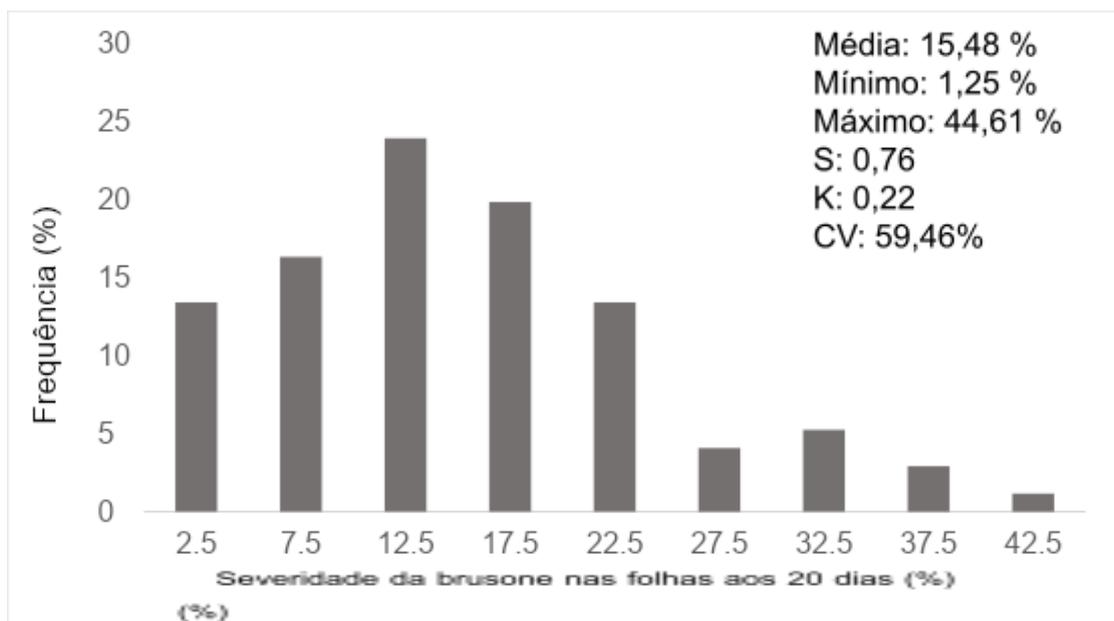


Figura 9 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter Severidade da brusone nas folhas aos 20 dias após a inoculação (SF20, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Na análise da severidade da brusone nas folhas de trigo do conjunto II, aos 20 dias após a inoculação (SF20), foram observados valores que variam de 0,1% a 42%, com média 9,67% (Figura 10). Esse conjunto apresentou assimetria positiva ($S=1,71$) em relação à distribuição normal, indicando uma curva com a cauda à direita da distribuição normal. O coeficiente de curtose indica uma distribuição de frequências leptocúrtica, $K=3,19$.

Os valores de SF20 nos conjuntos I e II demonstraram que a maior classe de severidade foi similar nos dois anos. Vale lembrar que os dois conjuntos compartilham vários acessos. No entanto, o conjunto II apresentou uma classe de valor mínimo mais baixa (0,1%), demonstrando variação quanto à resistência à brusone nesta população.

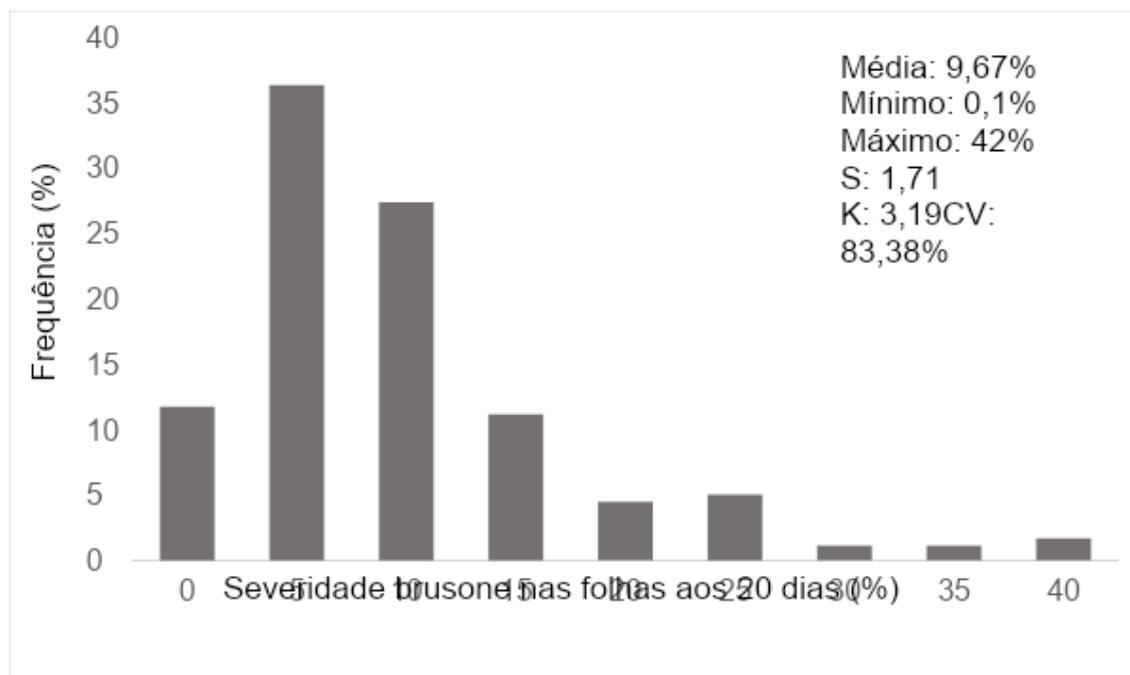


Figura 10 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 20 dias após a inoculação (SF20, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

A análise da severidade na folha de trigo do conjunto II, aos 25 dias após a inoculação (SF25), apresentada na Figura 11, classifica a distribuição dos dados como platicúrtica, devido ao valor da curtose ($K=0,13$). A distribuição de frequências do conjunto II para este caráter apresenta oito classes, onde cinco delas possuem valores acima da média, 27,73%, com uma variação de 0,1 a 89,5%. No apêndice dessa obra são apresentados os acessos que compõe cada classe de frequência. A elevada variação na severidade da doença já era esperada, pois a herança da resistência à brusone é em grande proporção quantitativa, assim, controlada por muitos genes, e responsiva ao ambiente (MACIEL *et al.*, 2018). Em relação ao coeficiente de variação ($CV=86,64\%$), este demonstra haver elevada variabilidade fenotípica no conjunto II, o que indica elevadas chances da presença de diversos QTL ou genes de resistência a brusone.

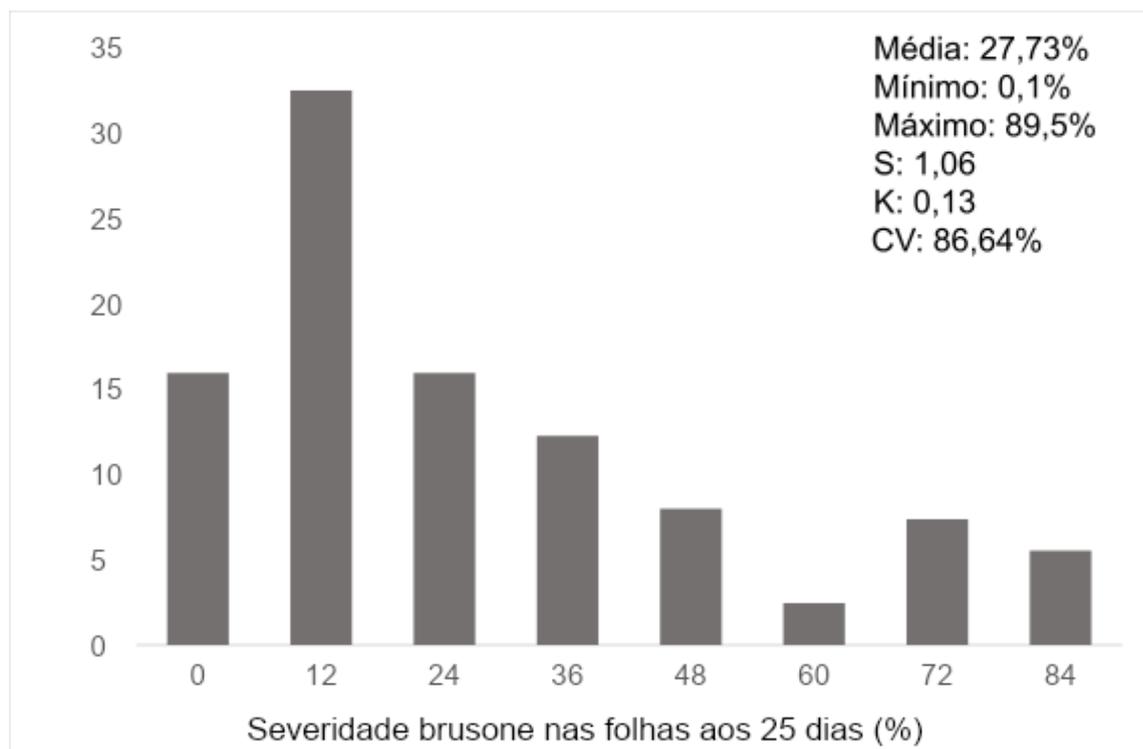


Figura 11 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas folhas aos 25 dias após a inoculação (SF25, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Os valores para severidade da brusone nas folhas de trigo do conjunto I, aos 30 dias após a inoculação (SF30), demonstraram que as famílias variam consideravelmente, de 1,54% a 78,65%, com média 31,43% (Figura 12). Este caráter apresenta assimetria positiva, $S=0,68$, a cauda da curva tem tendência à direita. O coeficiente de curtose indica uma distribuição platicúrtica, $K=-0,15$.

Os sintomas da brusone aparecem inicialmente como lesões individuais nas folhas, e uma vez que a severidade atinge os 22%, as lesões começam a coalescer, podendo levar à morte das folhas (RIOS *et al.*, 2013). As lesões nas folhas não devem ser subestimadas, essas podem causar redução da fotossíntese e da respiração durante o ciclo da cultura, que causam indiretamente a perda de produtividade (GOULART *et al.*, 2007; CRUZ *et al.*, 2017).

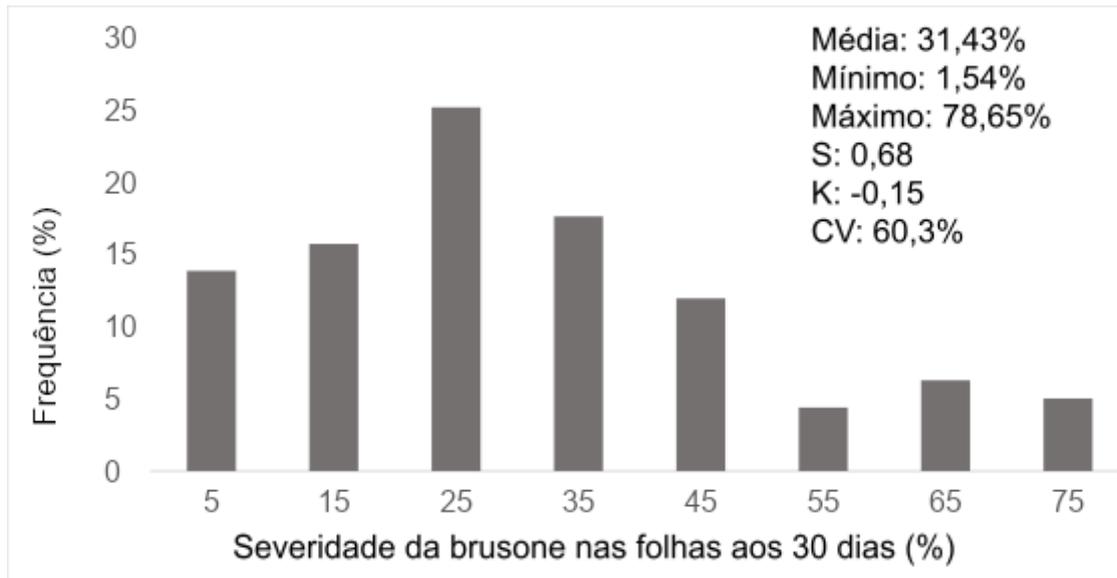


Figura 12 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 30 dias após a inoculação (SF30, em percentagem). Fonte:CGF/FAEM/UFPel, 2020.

O principal sintoma da brusone é o branqueamento total ou parcial da espiga acima do ponto de infecção, que ocorre devido à colonização do fungo no tecido, impedindo o transporte de nutrientes e prejudicando o enchimento de grãos (TRINDADE *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2016; ISLAM *et al.*, 2020). Na análise da severidade da brusone na espiga de trigo do conjunto II, aos 15 dias após a inoculação (SE15), (Figura 13) é possível observar assimetria positiva em relação à distribuição normal. A curtose de $K=1,83$ classifica a distribuição de frequências como leptocúrtica, pois apresenta uma medida de curtose maior que a da distribuição normal. As classes de SE15, demonstram valores que variam de 0% a 54,5%, com média 11,18%. O coeficiente de variação de SE15 se mostrou muito alto ($CV=101,54\%$), isso se deve à grande variabilidade para este caráter na população quanto a agressividade do patógeno. Neste estudo, o valor elevado do coeficiente de variação é fundamental para a valorização do painel em programas de melhoramento. No caso de técnicas como a do mapeamento associativo, a diversidade genética é um fator determinante para a resolução do mapa na busca por QTLs e genes de resistência à doença (OLIVEIRA, 2014).

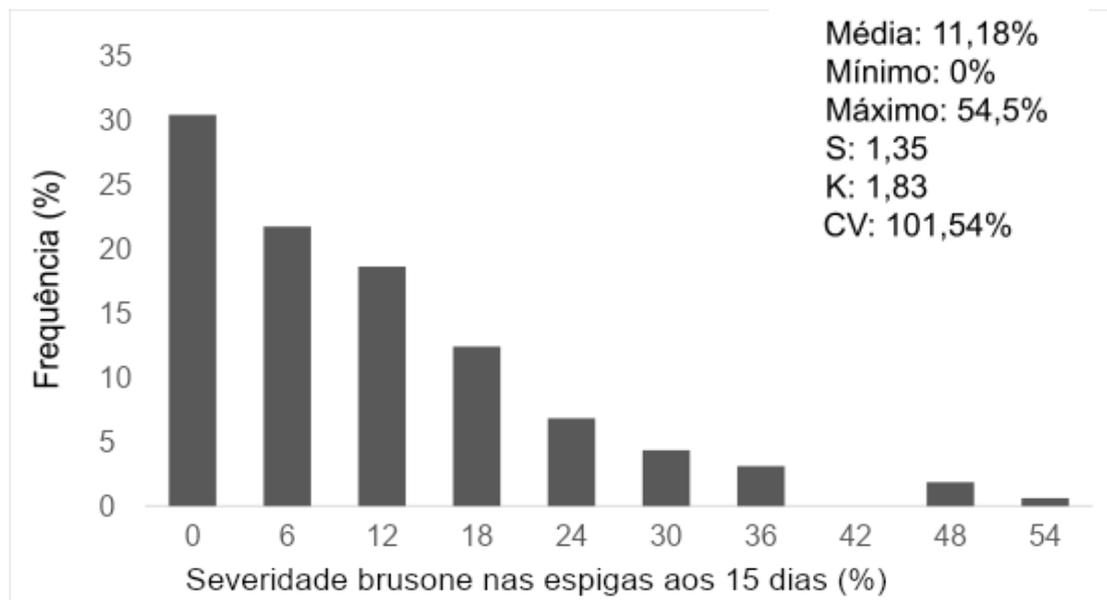


Figura 13 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas espigas aos 15 dias após a inoculação (SE15, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Para o caráter severidade da brusone na espiga aos 20 dias após a inoculação (Figura 14), foram observados valores que variam de 0% a 93%, com média 30,98%, com assimetria positiva em relação à distribuição normal. O coeficiente de variação de SE20 se mostrou muito alto (CV=80,3%), indicando alta variabilidade fenotípica para este caráter. A curtose de $K=-0,52$ classifica a distribuição de frequências como platicúrtica.

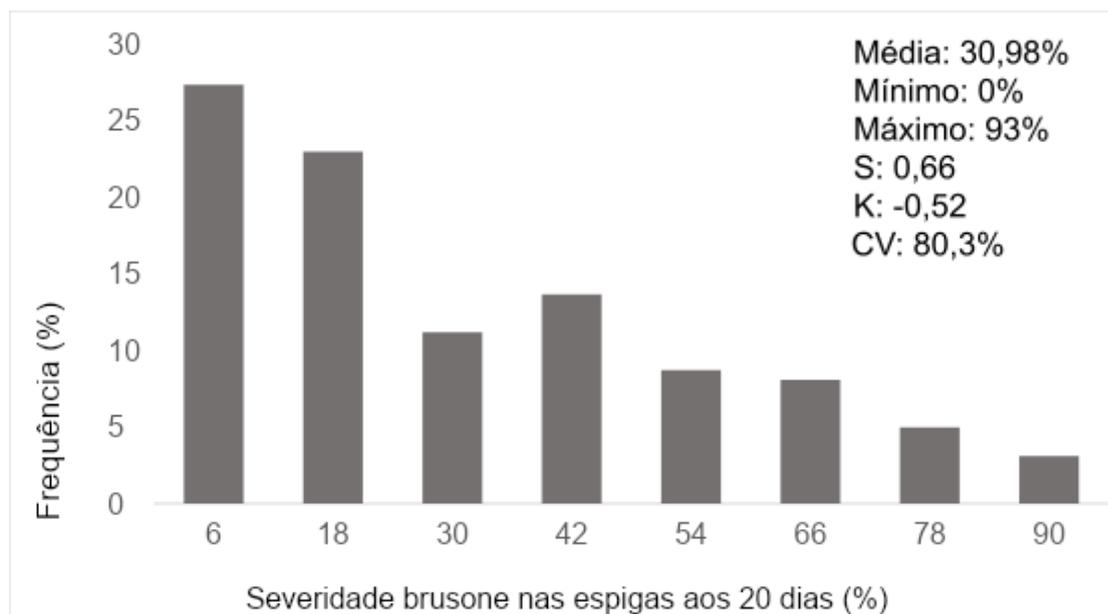


Figura 14 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter severidade da brusone nas espigas aos 20 dias após a inoculação (SE20, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPEL, 2020.

A análise de frequências do caráter severidade da brusone na espiga de trigo do conjunto II, aos 25 dias após a inoculação (SE25), variaram de 0% a 100%, com média 44,1% (Figura 15). A classe 0 de severidade da brusone na espiga apresentou uma frequência de 21,23%, apresentou uma variação de 5,03% em relação à SF20 (Figura 13), sendo este um forte indicativo da presença de fontes de resistência para o caráter na população. Por outro lado, os valores presentes na nona classe (96 a 100%), indicam a alta suscetibilidade de 5,03% da população. A alta suscetibilidade, quando apresentada pelas cultivares durante a formação de grãos, acarreta em um dano ainda maior no rendimento de grãos (GOULART *et al.*, 2000; CRUZ *et al.*, 2017). O valor de $S=-0,37$ indica assimetria positiva em relação à distribuição normal. O coeficiente de variação de SE25 se mostrou muito alto (CV=63,30%), mesmo sendo o menor CV dentre as avaliações de severidade da brusone na espiga. A curtose de $K=-1,29$, classifica a distribuição de frequências como platicúrtica, pois apresenta uma medida de curtose menor que a da distribuição normal.

As avaliações de severidade da brusone apresentaram diferentes níveis de resistência ao isolado testado e, apesar não terem sido diferenciadas cultivares em relação a demais raças do patógeno, os resultados indicam que alguns dos genótipos possuem alguns genes de resistência ao patógeno (URASHIMA, 2004).

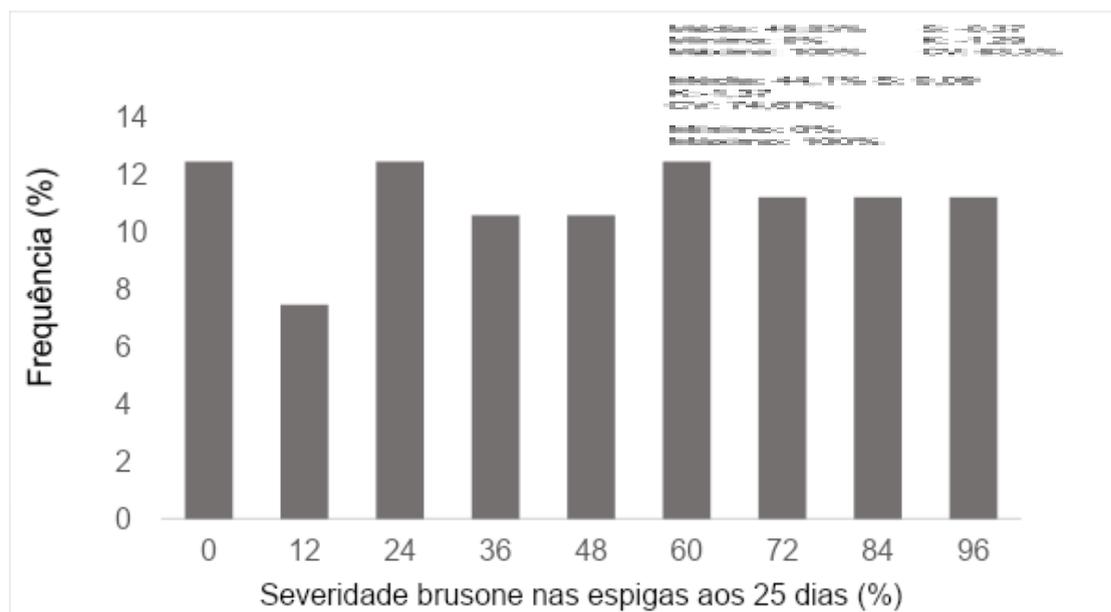


Figura 15 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter Severidade da brusone nas espigas aos 25 dias após a inoculação (SE25, em percentagem). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

O rendimento de grãos de trigo é de caráter quantitativo, que é influenciado por um grande número de atributos da planta e do ambiente, e que atuam diretamente na expressão produtiva da cultura. Caracteres relacionados ao rendimento de grãos, como estatura da planta (Est), comprimento de espiga (CE), número de espiguetas por espiga (NE), número de grãos por espiga (NGE), número de afilhos férteis (NAF), peso da espiga (PE) e massa de grãos (MG), podem ser drasticamente afetados quando submetidos a estresses bióticos e abióticos, refletindo diretamente na produtividade (DUVEILLER *et al.*, 2007; BENNETT *et al.*, 2012). No entanto, a produtividade em si não é um parâmetro adequado para comparação entre as resistências de genótipos, uma vez que cada genótipo possui um potencial produtivo diferente. Ainda assim, os valores referentes aos caracteres relacionados ao rendimento de grãos são

importantes para avaliar o comportamento produtivo dos genótipos de uma população sob a presença do patógeno.

O rendimento de grãos sofre limitações impostas pelo ambiente durante o período crítico de crescimento das espigas, sendo por este causados os maiores efeitos (CRUZ *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020). Contudo, diferenças genéticas entre cultivares possuem grande efeito sobre o rendimento, de forma que manejar o cultivo explorando a interação genótipo e ambiente é considerado de grande importância para obter melhores resultados. Dessa forma, pode-se considerar esse caráter altamente influenciável pelo efeito de doenças, como o caso da brusone, principalmente em cultivares suscetíveis.

Tendo em vista a análise de frequências para estatura de plantas de trigo, observados na Figura 16, é possível visualizar a distribuição em nove classes presentes no conjunto I para este caráter, apresentando distribuição entre 50,83 e 115 cm. A análise ainda permite observar maior frequência dos genótipos entre 68 e 76 cm de estatura para este caráter. A curtose de $K=2,17$, classifica a distribuição de frequências como leptocúrtica, pois apresenta uma medida de curtose maior que a da distribuição normal, isto é, pontiaguda e com grande frequência de valores próximos da média. Já o valor de $S=1,15$ indica assimetria positiva em relação à distribuição normal.

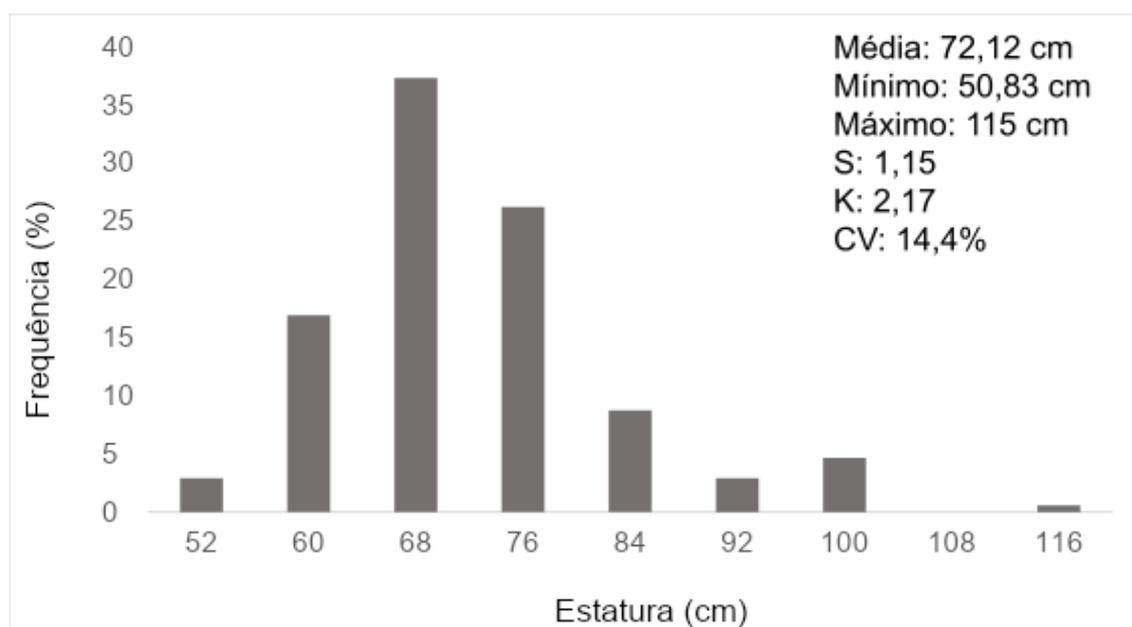


Figura 16 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter estatura de planta (Est, em cm). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020.

A análise de frequência de estatura de planta (Est) da população II apresentou assimetria negativa em relação à distribuição normal, apresentando um valor de $S = -0,11$, indicando uma curva mais à esquerda (Figura 17). Foi também observado um coeficiente de curtose de 0,06, permitindo classificar a distribuição como leptocúrtica (mas quase mesocúrtica), com uma variação nos dados de 40 a 104 cm e uma média geral de 74,2 cm. O coeficiente de variação (CV) observado foi de 14,04%, considerado médio.

O resultado da análise do conjunto II (Figura 17) apresentou um resultado similar ao do conjunto I (Figura 16) para esse caráter, com distribuição de frequência maior concentração dos genótipos entre 72 e 78 cm. Salienta-se que a grande maioria dos genótipos presentes nos dois conjuntos são comuns. O cultivo se deu em casa de vegetação utilizada não climatizada. Parece interessante fazer o contraponto de que caracteres como altura de planta contrastam em muito com a resistência à doenças em relação aos efeitos tanto de genótipo como ambiente.

O baixo coeficiente de variação apresentado em ambos conjuntos de trigo para este caráter (14,4 e 14,05%) indica uma relativamente mais baixa variabilidade fenotípica (conjuntos I e II, respectivamente). O desenvolvimento de novas variedades de trigo de porte mais reduzido teve início entre as décadas de 1960 e 1970, período conhecido como Revolução Verde, processo de transformação na agricultura em escala global, que teve grande impacto na produção do cereal (SCHMIDT, 2008; HENRIQUES, 2009). A partir daí, o melhoramento genético de plantas vem buscando desenvolver cultivares com reduzida estatura de plantas. A alteração deste caráter representa grandes vantagens para a cultura do trigo, possibilitando maiores ganhos de biomassa na produção de grãos, em vez do crescimento do colmo e formação de folhas adicionais (SCHMIDT, 2008; HENRIQUES, 2009). Este caráter está relacionado com menores índices de acamamento, condição indispensável para facilitar a colheita e manutenção das boas qualidades industriais dos grãos.

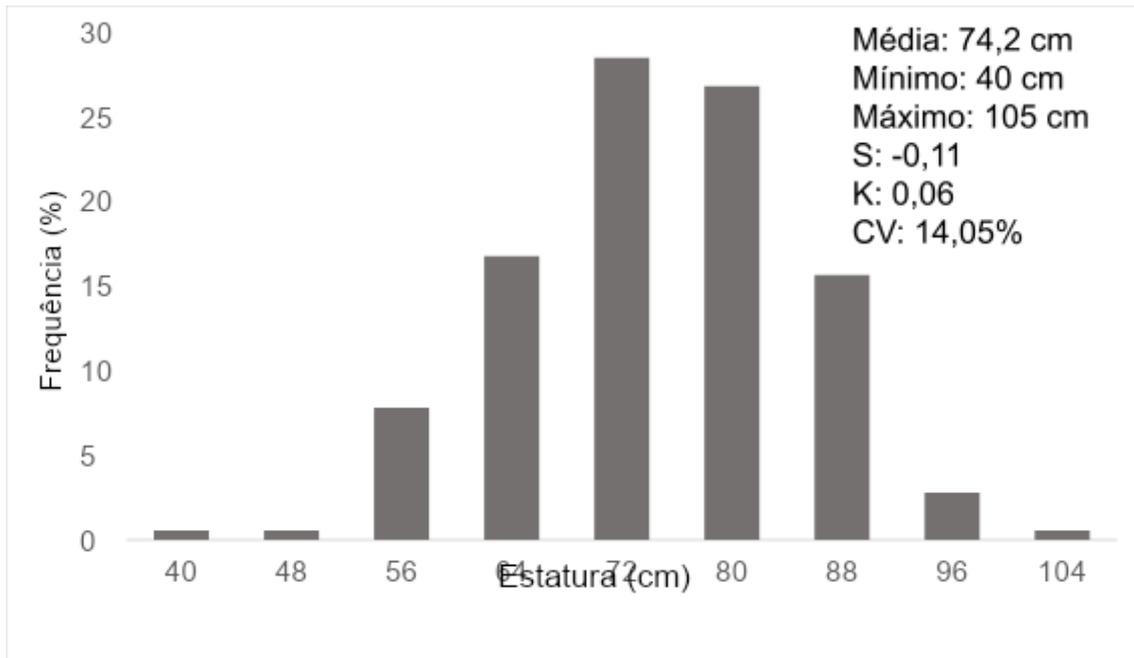


Figura 17 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter estatura de planta (Est, em cm). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Para o caráter número de afixos férteis (NAF) no conjunto I, apresentado na Figura 18, a média foi de 7,85 afixos por planta. O valor máximo observado foi de 18 afixos por planta neste ano. Foi observado um coeficiente de curtose de 1,59, enquadrando a distribuição de frequências como leptocúrtica. O coeficiente de variação observado foi de 37,81%, demonstrando haver variabilidade para o caráter. A análise de frequência para NAF caracterizou a população como assimétrica positiva em relação à distribuição normal, apresentando um valor de $S=1,29$ (Figura 18).

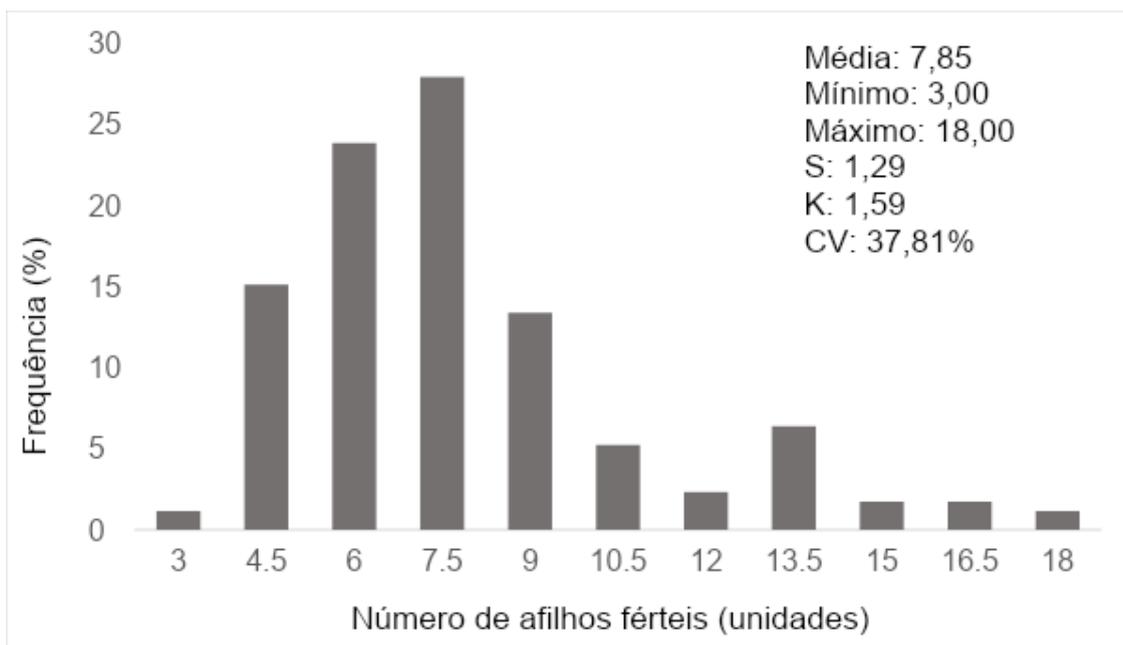


Figura 18 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter número de afilhos férteis (NAF, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

A análise de frequência para o caráter número de afilhos férteis (NAF) no conjunto II caracterizou a população como assimétrica positiva em relação à distribuição normal, apresentando um valor de $S = 0,62$ (Figura 19). Na análise de frequências foi observado valor máximo de 13 afilhos férteis por planta neste ano, sendo a média de 7,85 afilhos por planta. Foi observado um coeficiente de curtose de 0,76, enquadrando a distribuição de frequências como leptocúrtica. O coeficiente de variação observado foi de 27,49%, demonstrando haver variabilidade para o caráter.

O caráter NAF está diretamente relacionado ao número de espigas e indiretamente aos componentes do rendimento e varia de acordo com o genótipo e o ambiente (VALÉRIO, 2008). Para maximizar o rendimento de grãos é recomendado regular a densidade de semeadura pois esta pode aumentar o potencial do genótipo em produzir afilhos férteis, o que também influencia, de forma direta, o número de espigas produzidas por unidade de área (OZTURK *et al.*, 2006; VALÉRIO, 2008). Em programas de melhoramento genético de trigo, a seleção indireta, por meio de caracteres relacionados ao

rendimento, como NAF, é considerada uma estratégia de maior eficiência e efetividade no alcance do ganho genético (VALÉRIO, 2008).

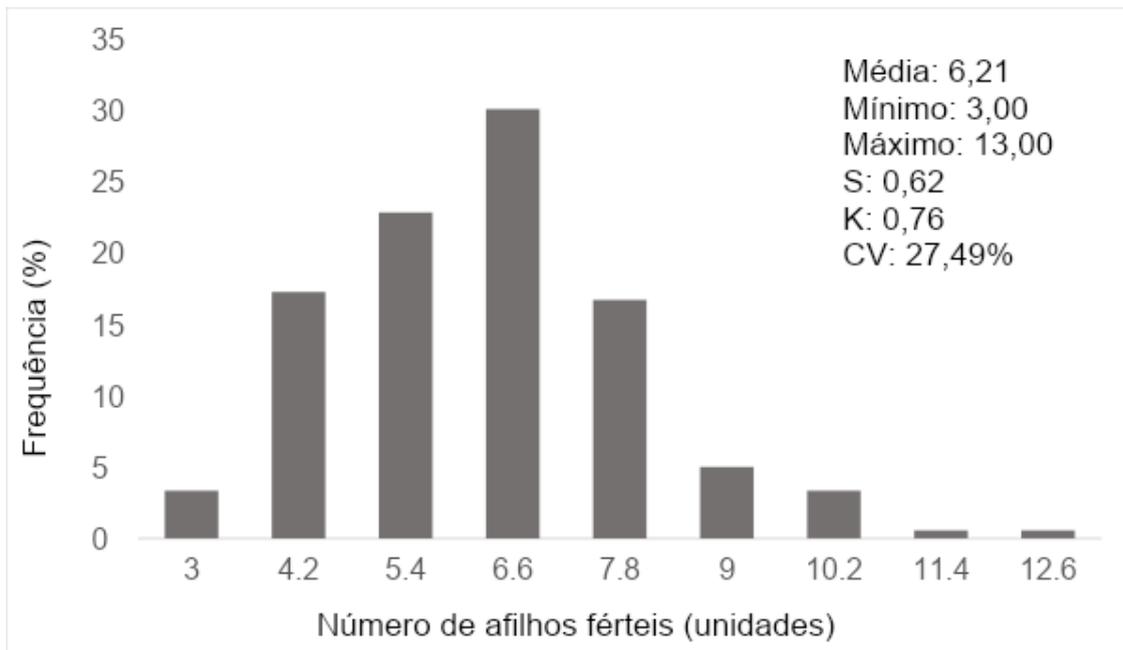


Figura 19 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter número de afilhos férteis (NAF, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020.

Para a variável comprimento da espiga (CE) no conjunto I, os dados mostraram assimetria positiva, com um valor de $S=0,45$, e curtose $K=0,33$, enquadrando a distribuição de frequências como leptocúrtica (Figura 18). As classes variaram entre 5,68 cm e 11,84 cm, com média geral da população de 7,59 cm. Já o coeficiente de variação expresso pela população é considerado baixo para o caráter CE, $CV= 9,99\%$. O coeficiente de variação baixo sugere uma contribuição mais alta do genótipo no resultado fenotípico.

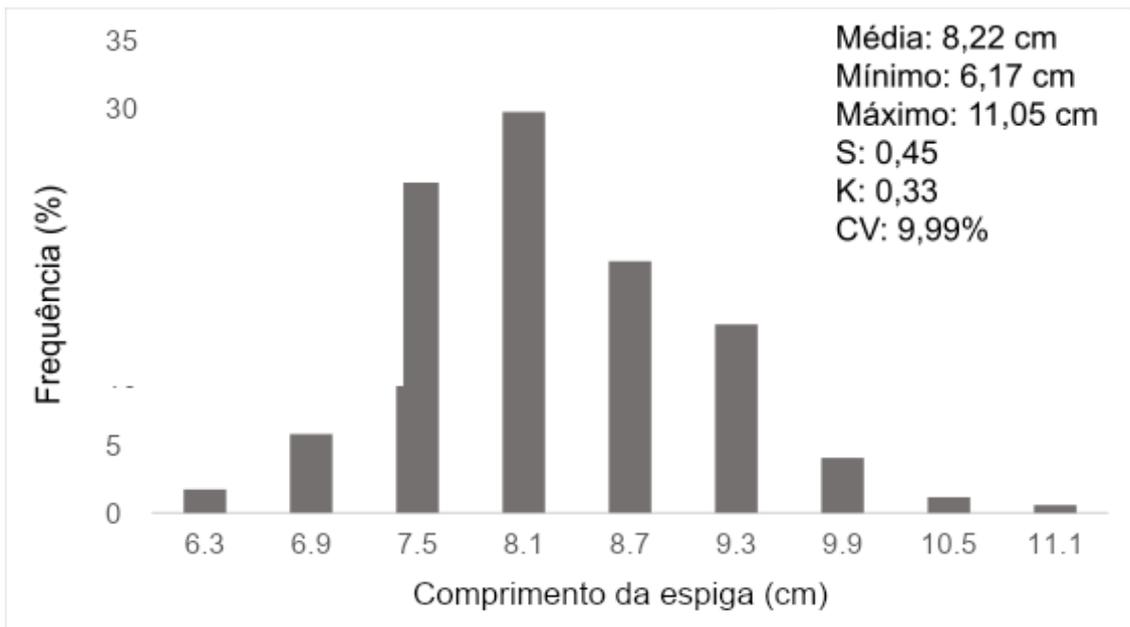


Figura 20 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter comprimento de espiga (CE, em centímetros). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Já no conjunto II para a variável comprimento da espiga (CE) (Figura 21), os dados mostraram assimetria positiva, com um valor de $S = 1,07$, e curtose de $K=1,61$, enquadrando a distribuição de frequências como leptocúrtica. No caso deste caráter, a população expressou um coeficiente de variação médio, $CV=14,19\%$. Além disso, as classes variaram entre 5,68 cm e 11,84 cm, com média geral da população de 7,59 cm. Podemos observar que a população II possui comprimentos de espiga variados, mas as classes de CE que apresentaram maior frequência (6,9 cm e 7,5 cm) indicam espigas curtas e semi curtas, respectivamente (SCHEEREN *et al.*, 2015). O maior comprimento da espiga nem sempre garante um maior número de grãos e uma maior produtividade, mas o comprimento da espiga afeta o número de espiguetas por espiga, o que por sua vez, pode repercutir no rendimento.

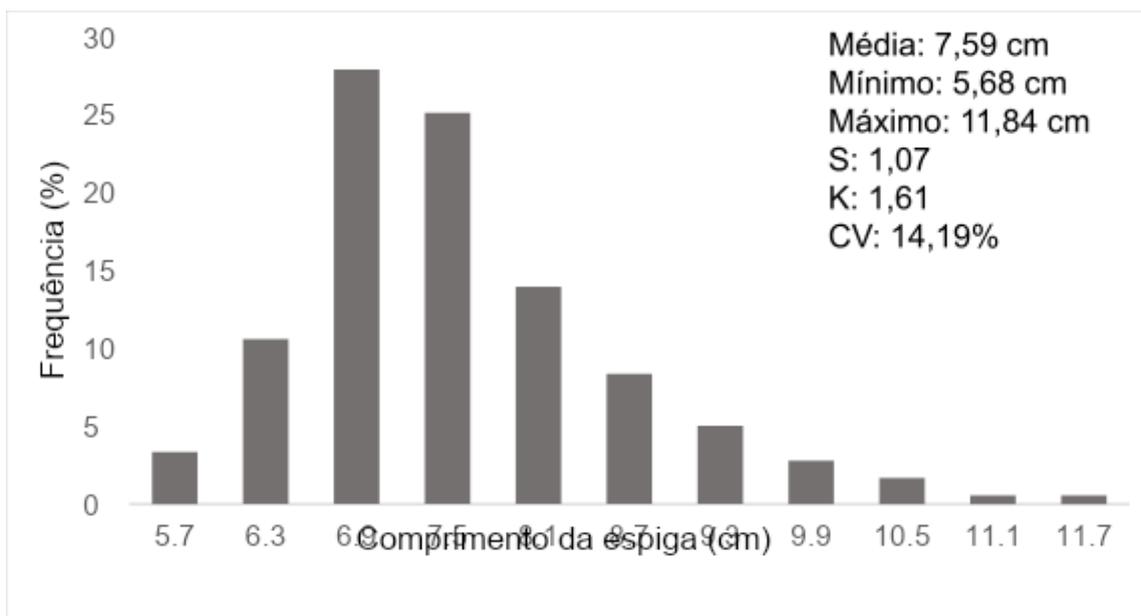


Figura 21 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter comprimento de espiga (CE, em centímetros). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

A distribuição de frequências para o caráter peso da espiga (PE) do conjunto I, apresentou nove classes, e seis delas apresentam valores acima da média (Figura 22), variando entre 0,5 e 2,1g. O valor de $S = 0,97$ caracterizou a população como assimétrica positiva, e leptocúrtica, devido ao valor de curtose ($K = 2,32$). Além disso, o coeficiente de variação para este caráter em estudo é considerado alto ($CV=24,45\%$), o que demonstra haver variabilidade na população. Ainda assim, deve-se chamar a atenção que para os caracteres agrônômicos a variabilidade fenotípica no conjunto de genótipos é menor, quando comparado aos valores de severidade de brusone.

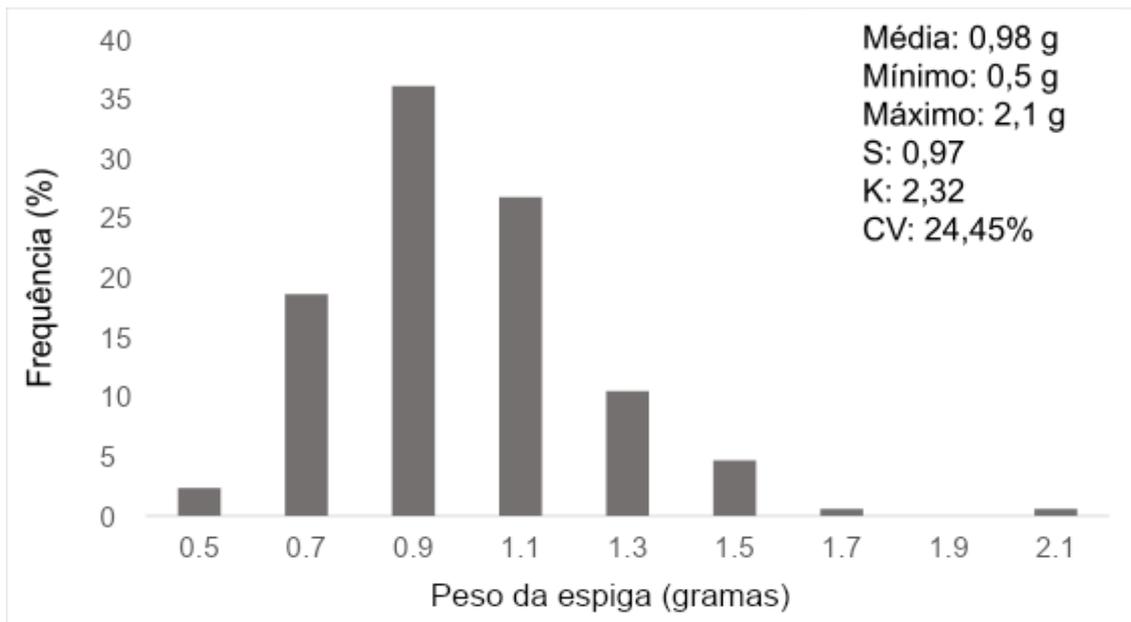


Figura 22 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter peso da espiga (PE, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Quanto ao caráter peso da espiga (PE) para o conjunto II, o valor de $S = 0,66$ caracterizou a população como assimétrica positiva, e leptocúrtica, pelo valor de curtose positivo ($K = 1,20$) (Figura 23). Os dados apresentaram um coeficiente de variação alto (31,51%), indicando variabilidade fenotípica na população para esse caráter. Este caráter pode auxiliar na seleção indireta quando se procura aumentar o rendimento de grãos, como também, pode refletir o efeito das doenças que afetam a espiga, como é o caso da brusone.

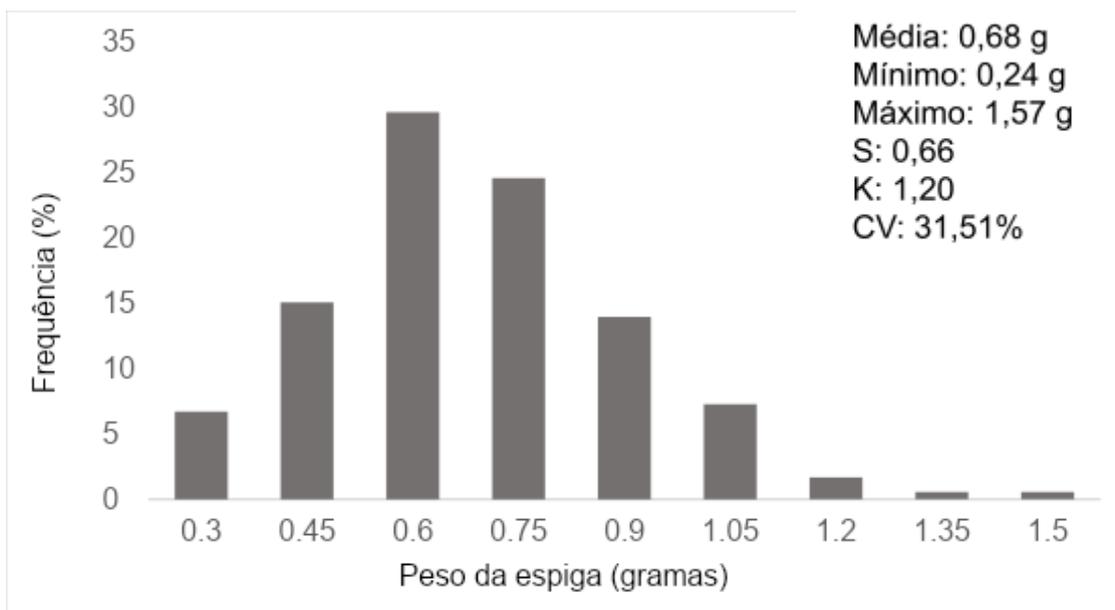


Figura 23 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter peso da espiga (PE, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPEI, 2020.

O caráter número de espiguetas por espiga (NEE) do conjunto I, que pode ser observado na Figura 24, apresentou um valor de assimetria de $S=0,22$, representando uma curva assimétrica positiva, com tendência da cauda à direita. Já, o coeficiente de curtose, $K=0,21$, classifica a população como platicúrtica. A análise de frequência de NEE do conjunto I apresenta dez classes de distribuição entre 6,85 a 35,82 espiguetas por espiga. A classe seis (22,5) possui a maior frequência na população (25%), seguida das classes, cinco e quatro (19,5 e 13,5), com frequência de 20,93 e 15,7%, respectivamente.

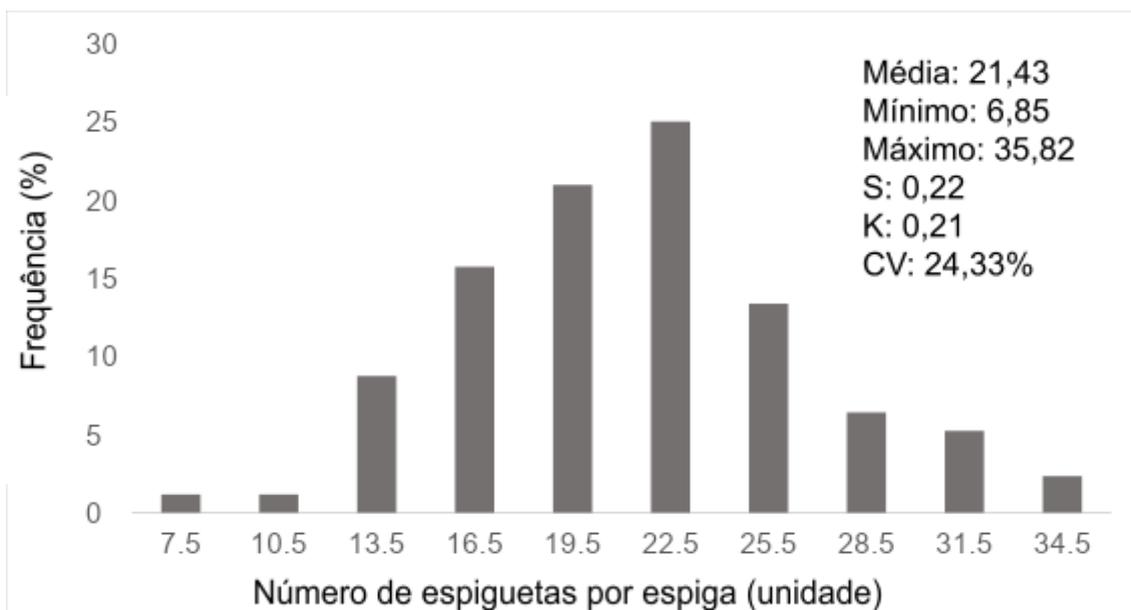


Figura 24 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter número de espiguetas por espiga (NE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPEL, 2020.

Referente ao número de espiguetas por espiga (NE) no conjunto II, na Figura 25, a população expressou uma média de 16,42 espiguetas, e variou entre 4,53 e 34,2. A classe quatro (15) apresentou maior frequência na população, 21,79%. O valor de $S=0,37$, demonstra assimetria positiva em relação à distribuição normal. O coeficiente de variação (CV%) para este caráter foi de 32,87%, considerado alto, indicando a presença de variabilidade fenotípica na população para o caráter NE neste painel. O coeficiente de curtose ($K=0,16$) classificou a curva como leptocúrtica.

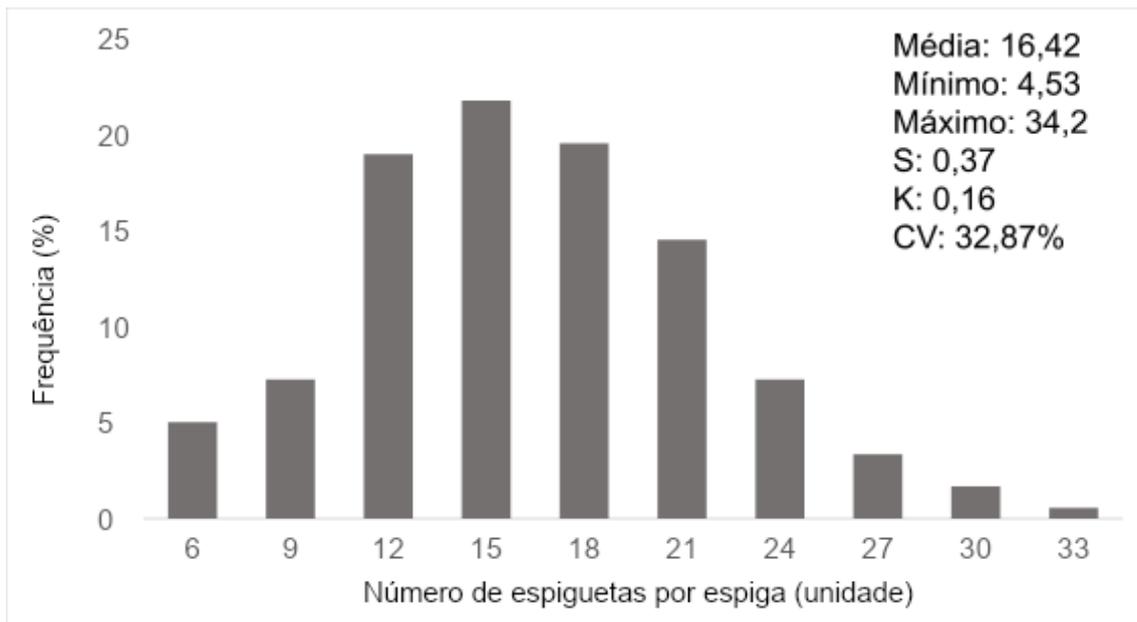


Figura 25 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter número de espiguetas por espiga (NE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPeI, 2020.

Na avaliação de frequências do caráter massa de grãos por espiga (MG) no conjunto I, na Figura 26, foi observada variação de 0,22 a 1,43 g, com média 0,61g. O valor de assimetria observado ($S=0,69$) faz com que esta seja considerada positiva em relação à distribuição normal. Já a curtose ($K=-1,37$) classifica a distribuição de frequências como platicúrtica, pois apresenta uma medida de curtose menor que a da distribuição normal. O coeficiente de variação se mostrou alto (30,32%), demonstrando que há variabilidade fenotípica para este caráter na população.

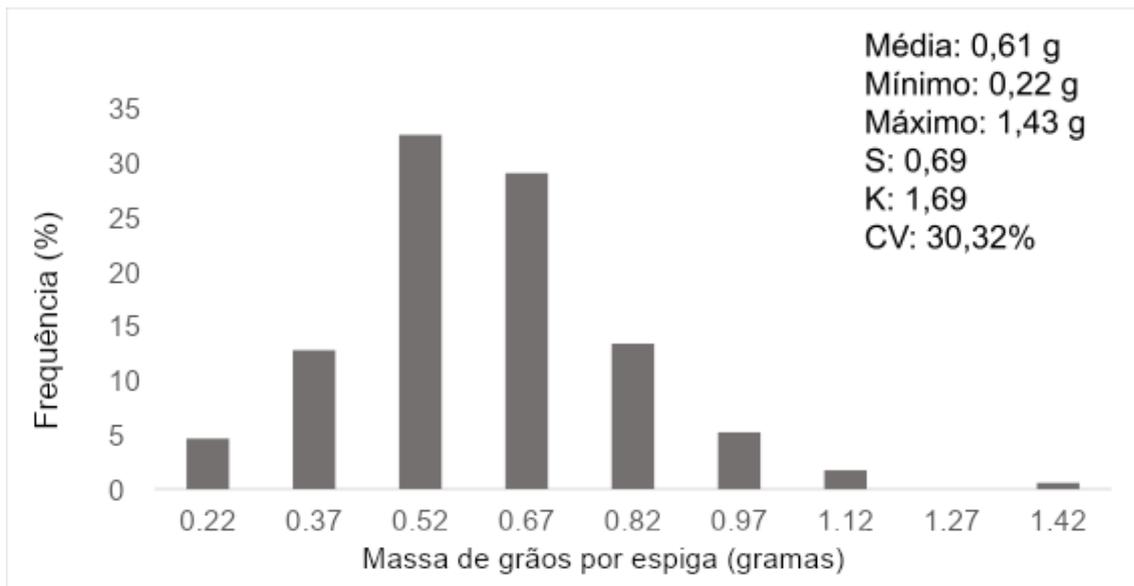


Figura 26 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter massa de grãos por espiga (MG, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Em relação à variável massa de grãos por espiga (MG) para o conjunto II (Figura 27), observou-se uma assimetria positiva dos dados, com valor de $S=0,48$, e o coeficiente de curtose $K=0,28$, enquadrando a população como leptocúrtica. Ainda, o coeficiente de variação expresso, $CV=46,9\%$, foi considerado muito alto, indicando grande variabilidade fenotípica na população para esse caráter. A análise de frequência apresentou nove classes, com variação que vai de 0,03g à 0,99g, com média geral de 0,36g. Este caráter está fortemente associado ao rendimento de grãos, sendo uns dos principais fatores observados na seleção de uma cultivar (BENEDETI *et al.*, 2007). Os grãos danificados são uma característica da infecção pela brusone no caráter MG, tornando estes inutilizáveis para comercialização e podendo refletir em perdas de até 100% da produção em cultivares suscetíveis (DE FRANCESCHI *et al.*, 2009; CRUZ *et al.*, 2017).

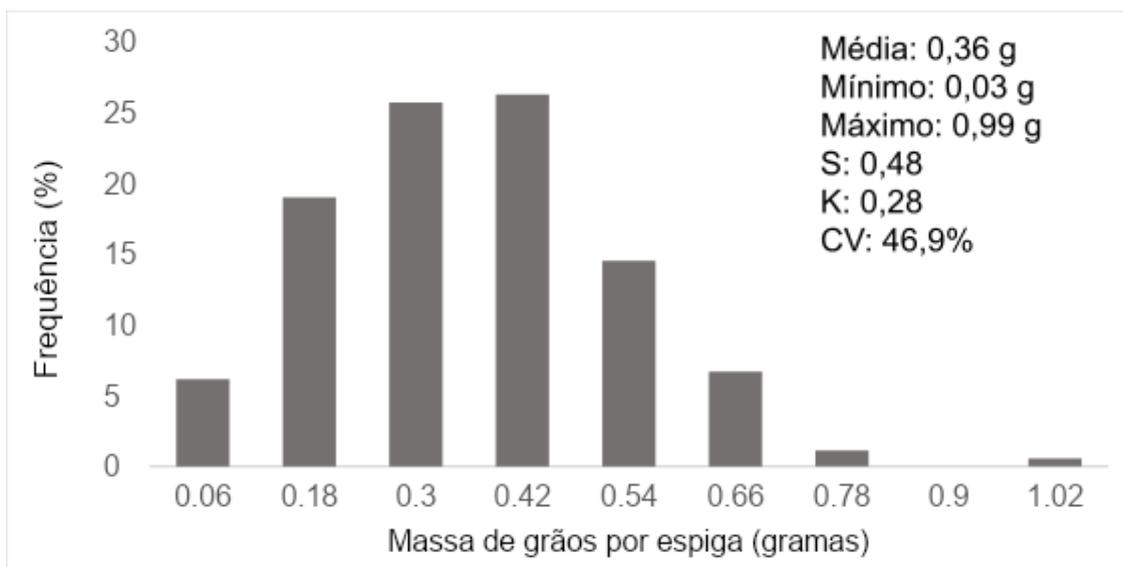


Figura 27 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter massa de grãos por espiga (MG, em gramas). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

A análise de frequências para o caráter número de grãos por espiga (NGE) no conjunto I (Figura 28), apresenta a formação de dez classes distintas, variando entre 6,85 a 35,82, sendo a média 21,43. O valor de assimetria ($S=0,22$) se refere a uma distribuição de dados positiva. Já o valor da curtose ($K=0,21$) enquadra esta população como platicúrtica.

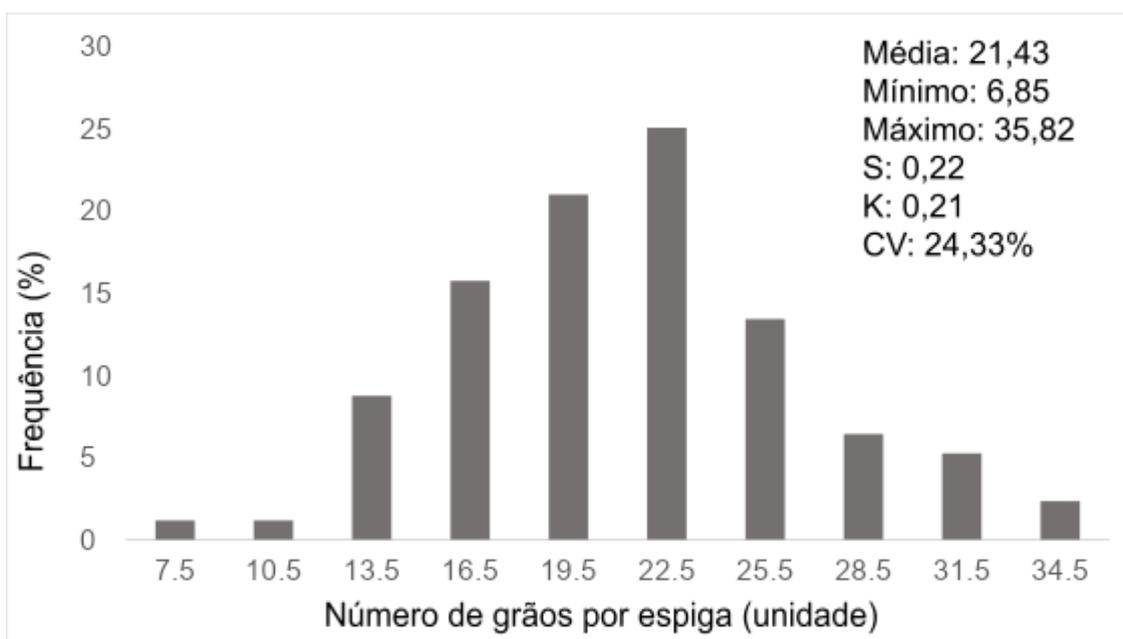


Figura 28 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto I, do ano de 2019 para o caráter número de grãos por espiga (NGE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

Quanto aos resultados de número de grãos por espiga (NGE) do conjunto II, os dados demonstraram assimetria positiva ($S=0,37$), e curtose ($K=0,16$) classificando a distribuição de frequências como leptocúrtica (Figura 29). A variação entre de 4,53 até 34,2 grãos, e neste caso a análise apresentou um coeficiente de variação médio de 32,87%, considerado muito alto. Além disso, a população mostrou uma média de 16,42 grãos por espiga. O caráter NGE tem forte influência sobre o peso da espiga (PE) e a massa de grãos por espiga (MG), sendo considerado fundamental para o rendimento de grãos (FRANCO *et al.*, 1985). As espiguetas infectadas pelo patógeno causador da brusone durante a floração ou formação inicial de grãos resultam em grandes perdas de rendimento na cultura (CRUZ *et al.*, 2017; GOULART *et al.*, 2000).

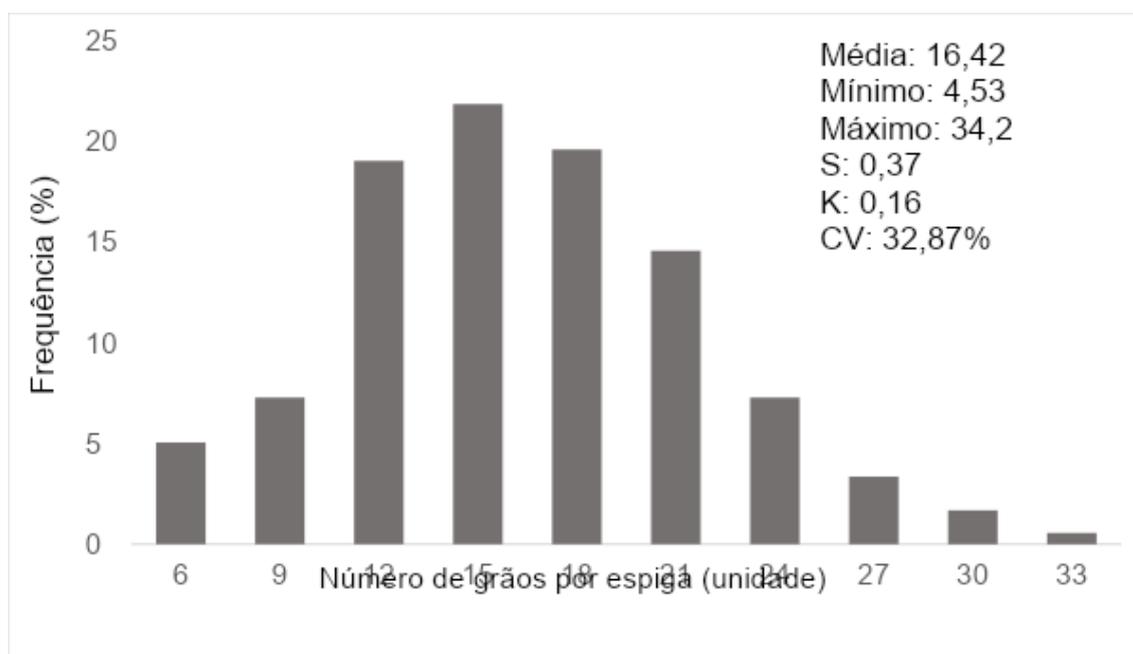


Figura 29 - Distribuição de frequências de uma população de trigo do conjunto II, do ano de 2020 para o caráter número de grãos por espiga (NGE, em unidades). Fonte: CGF/FAEM/UFPel, 2020.

3.3.2 Análise de correlação entre caracteres

No melhoramento genético de plantas, a mensuração de diversos caracteres de plantas é importante para maximizar as informações sobre os genótipos presentes no banco de germoplasma. Essas informações são fundamentais para a escolha de genitores superiores nos programas de

melhoramento, como também, em técnicas de mapeamento de genes. O sucesso de técnicas avançadas, como o mapeamento associativo, depende diretamente da variabilidade genética da população selecionada. Para o sucesso da aplicação de seleção é fundamental o conhecimento sobre a presença de características que sejam contrastantes entre os genótipos escolhidos como genitores, para que ocorra a manifestação da variabilidade fenotípica nas progênes destes (BERTAN *et al.*, 2007).

Outro ponto da mesma forma importante é o conhecimento da relação entre os caracteres, o que tem implicação na aplicação de estratégias de seleção, como a seleção indireta e índices de seleção multi-caráter. Dessa forma, devem ser avaliados não apenas o caráter de interesse, como também outros caracteres que, indiretamente, podem repercutir positivamente no caráter de interesse. Para avaliar a correlação entre esses caracteres é possível utilizar uma análise estatística, o coeficiente de correlação linear de Pearson, que verifica a força, a intensidade ou o grau de relação linear entre dois caracteres aleatórios (FERREIRA, 2009). O sinal do coeficiente de correlação linear de Pearson expressa o sentido da correlação, e sua intensidade é representada por um valor numérico que oscila entre -1 e 1. À medida que o valor de uma variável aumenta, o mesmo acontece com o valor da outra variável (CARGNELUTTI FILHO *et al.*, 2010). A Tabela 3 indica a interpretação para os níveis de correlação entre duas variáveis.

Tabela 3 – Classificação dos coeficientes de correlação de acordo com sua magnitude (MUKAKA, 2012).

Valor do coeficiente de correlação de Pearson	Nível de correlação
0 a 0,3	Muito baixa
0,3 a 0,5	Baixa
0,5 a 0,7	Moderada
0,7 a 0,9	Alta
0,9 a 1	Muito alta

Tabela 4 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os caracteres avaliados no conjunto I de trigo do ano de 2019. CGF/FAEM/UFPel 2020.

	CE	NE	NAF	PE	NGE	MG	SF10	SF20	SF30	Est
CE	1	0,68*	0,12	0,36*	0,18	0,17	0,25	0,17	0,24	0,46*
NE		1	0,32*	0,57*	0,46*	0,37*	0,22	0,13	0,18	0,44*
NAF			1	0,37*	0,32*	0,33*	0,01	0,02	0,03	0,21*
PE				1	0,76*	0,91*	-0,01	0,02	0,06	0,34*
NGE					1	0,81*	-0,04	0,01	0,05	0,07
MG						1	-0,08	-0,001	0,04	0,17
SF10							1	0,43*	0,44*	0,07
SF20								1	0,72*	-0,07
SF30									1	0,1
Est										1

CE =comprimento da espiga (cm); NE = número de espiguetas por espiga; NAF = número de afilhos férteis; PE = peso da espiga (g); NGE = número de grãos por espiga; MG= Massa de grãos por espiga (g); Est = estatura de planta (cm); SF10= Severidade da brusone na folha aos 10 dias (%); SF20= Severidade da brusone na folha aos 20 dias (%); SF30= Severidade da brusone na folha aos 30 dias (%); * = Significativo em 5% de probabilidade de erro, pelo teste t; Colorização para uma melhor visualização dos coeficientes de significância de acordo com a classificação dos coeficientes de correlação de Pearson citada por Mukaka, 2020.

Os coeficientes de correlação do conjunto I, presentes na Tabela 4, revelaram que existem diferenças tanto na significância como na magnitude das correlações entre os caracteres avaliados para esta população. Inicialmente, chama a atenção que as severidades de brusone não se correlacionaram com nenhuma variável agrônômica. Isto frustra qualquer tentativa de seleção combinada ou indireta almejando simultaneamente resistência a brusone e produtividade nesse conjunto de acessos. Porém, ao mesmo tempo, indica a possibilidade de avanço no melhoramento de qualquer desses caracteres sem o risco de que qualquer fenômeno de pleiotropia ou ligação gênica muito próxima possa ser um fator complicante.

Conforme a interpretação do coeficiente de correlação de Pearson, a variável comprimento da espiga (CE) apresentou correlação significativa (0,36) em relação com o caráter peso da espiga (PE). No entanto, mesmo a variável peso da espiga (PE) estando altamente correlacionada (0,91) com a variável massa de grãos por espiga (MG), a variação entre a variável CE revelou baixa correlação positiva (0,17) quando comparadas com a MG. Por seu lado, a variável número de espiguetas (NE) mostrou correlação positiva significativa em relação às variáveis relacionadas à espiga: peso da espiga (PE) (0,57), número de grãos por espiga (NGE) (0,46) e massa de grãos por espiga (MG) (0,37). Os caracteres PE, NGE e MG se correlacionaram se forma positiva e significativa com o número de afilhos férteis (NAF), sendo os valores 0,37, 0,32, 0,33, respectivamente.

O caráter de estatura de plantas (Est) se correlacionou positivamente com o comprimento da espiga (CE), número de espiguetas (NE), número de afilhos férteis (NAF) e peso da espiga (PE), mas não com o número de grãos por espiga (NGE) ou com a massa de grãos por espiga (MG). A associação positiva dos caracteres estatura de plantas e rendimento de grãos por planta têm prejudicado a seleção de plantas mais produtivas em trigo, visto que a elevada estatura do trigo tende a causar o acamamento. Por essa razão, estas plantas acabam sendo eliminadas no processo de seleção (LORENCETTI *et al.*, 2006).

O estudo dos coeficientes de correlação de Pearson em análise do conjunto II, presentes na Tabela 5, demonstram existir diferenças tanto na magnitude, como no sentido das correlações entre os caracteres avaliados para esta população.

Conforme a interpretação dos coeficientes de correlação de Pearson, os caracteres que compõem a espiga: comprimento da espiga (CE), número de espiguetas por espiga (NE), peso da espiga (PE), massa de grãos por espiga (MG) e número de grãos por espiga (NGE), se correlacionaram entre eles de forma positiva e em diferentes magnitudes. O caráter NE apresentou uma tendência de se correlacionar positivamente com os outros quatro caracteres da espiga (CE, PE, MG e NGE), porém em magnitude moderada, podendo ser observada para ambos conjuntos. Tais associações demonstram que estes caracteres se modificam em conjunto, ou seja, o aumento de um caráter, resulta no incremento dos outros quatro caracteres.

O caráter peso da espiga se correlacionou positivamente de forma significativa com os caracteres número de grãos por espiga (NGE) e massa de grãos por espiga (MG), com valores de correlação de 0,84 e 0,92, respectivamente, indicando apresentar uma correlação direta e positiva para a produtividade de grãos. O mesmo pode ser observado para o conjunto I, reforçando o que já vem sendo observado para o caráter em diversos sistemas de produção (DA SILVA *et al.*, 2015). Estas correlações ocorrem de forma esperada, pois são caracteres que compõem o peso da espiga, sendo a massa dos grãos o caráter mais influente no aumento do peso da espiga, devido a palha da espiga representar uma porção menos significativa no peso total da espiga. Por sua parte, o número de grãos por espiga é um componente fortemente ligado ao rendimento de grãos e deriva do número de grãos por espiguetas e do número de espiguetas por espiga (BENIN *et al.*, 2005; LORENCETTI *et al.*, 2006).

No conjunto II, o caráter de estatura de planta (Est) se correlacionou positivamente em diferentes magnitudes com todos os caracteres referentes a produção de grãos: comprimento da espiga (CE), número de espiguetas por

espiga (NE), número de afilhos férteis (NAF), peso da espiga (PE), massa de grãos por espiga (MG) e número de grãos por espiga (NGE), apresentando correlação positiva e significativa em diferentes magnitudes. Esse resultado foi diferente do encontrado no conjunto I, onde o caráter Est não apresentou correlação significativa NGE e MG, o que indica que o conjunto II possui uma arquitetura genética diferente envolvendo esse caráter, em que fenômenos como ligação gênica e pleiotropia estão mais fortemente presentes (FALCONER *et al.*, 1996; HARTWIG *et al.*, 2007).

Estratégias de seleção indireta que almejam rendimento de grãos, devem levar em consideração caracteres como o peso da espiga e a massa de grãos por espiga. Em conjunto, deverá ser observado o desempenho quanto aos demais caracteres a fim de realizar a seleção indireta. Assim, uma eficiente seleção de caracteres de interesse agrônômico, que não depende apenas de um único caráter, é mais eficiente em selecionar um genótipo superior, possibilitando atender as demandas dos setores produtivos e industriais.

Ainda sobre a estatura plantas (Est) no conjunto II, observa-se que essa variável não se correlacionou com nenhuma das severidades de brusone. Tais resultados indicam uma total independência entre a altura das plantas e a resistência à brusone. Resultados diferentes foram encontrados na correlação entre estatura e severidade à giberela, isto é, as correlações foram significativas, inclusive em genótipos presentes na população em estudo, demonstrando ser este um limitante para ambas as doenças fúngicas que acometem a cultura (OSÓRIO *et al.*, 1998; MACIEL *et al.*, 2018). No entanto, resta saber quais são as bases genéticas desta correlação.

Ainda no conjunto II, os caracteres relacionados à severidade da brusone nas folhas severidade da brusone nas folhas aos 10 dias (SF10), severidade da brusone nas folhas aos 15 dias (SF15), severidade da brusone nas folhas aos 20 dias (SF20), severidade da brusone nas folhas aos 25 dias (SF25), apresentaram correlação significativa e em diferentes magnitudes com o caráter severidade da brusone nas espigas aos 25 dias (SE25). Da mesma forma, os caracteres de severidade nas folhas (SF20 e SF25) apresentaram

correlação significativa baixa com todos os caracteres de severidade na espiga (SE15, SE20 e SE25). Na cultura do arroz, as diferentes reações de resistência à brusone na panícula e nas folhas foram atribuídas a genes independentes e completamente diferentes, e que esta poderia ser uma característica também da cultura do trigo (PRABHU *et al.*, 2006; CRUZ *et al.*, 2017). No entanto, os resultados aqui apresentados podem contradizer o que já foi observado, demonstrando que neste conjunto de genótipos de trigo pode haver a presença de fontes de resistência responsáveis por ambas as variáveis.

A severidade e os danos causados por brusone variam, sobretudo, com o genótipo de trigo considerado. Como, até o momento, não se dispõe de cultivares de trigo resistentes à brusone, para efeito de prevenção de epidemias em lavouras deve-se buscar a combinação de dados sobre danos avaliados em amplas regiões geográficas durante vários anos. Estes proporcionam informações sobre a ocorrência das doenças, com dados obtidos em experimentos controlados, que fornecem informações detalhadas sobre o impacto da doença em termos de danos quantitativos.

O desempenho dos genótipos frente ao rendimento de grãos é considerado prioridade para o melhoramento genético de trigo, sendo os demais caracteres tidos como secundários. Essa lógica se aplica a praticamente todas as culturas. Os caracteres que compõem esse parâmetro de seleção possuem forte influência do ambiente, e seu desempenho frente às adversidades deve ser mensurado (BENIN *et al.*, 2005; LORENCETTI *et al.*, 2006). Porém, dentre os maiores desafios da cultura está a brusone, doença capaz de causar altas perdas de rendimento e em qualidade do cereal, sendo que pode ocasionar perdas que chegam a 100% em cultivares suscetíveis (ARENDR, 2006). Para tanto, a análise de correlação entre os caracteres relacionados à produção de grãos com a severidade da brusone mostra-se de grande valia para os programas de melhoramento de trigo.

Deve ser destacado que, diferentemente do conjunto I, no conjunto II algumas correlações positivas entre caracteres agrônômicos e a severidade de brusone foram observadas. Quanto os caracteres de espiga, a correlação

significativa, encontrada entre severidade da brusone na espiga (SE15, SE20 e SE25) e o peso da espiga (PE) e massa de grãos por espiga (MG). Tais correlações indicam que, conforme se dá o aumento da severidade da doença nas espigas de trigo, maiores são os efeitos negativos na qualidade de grãos, afetando o desenvolvimento pleno do grão. Da mesma forma, a correlação significativa entre severidade da brusone nas espigas aos 25 dias (SE25) com o número de grãos por espiga (NGE), indicando que a severidade da brusone foi

Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Pearson entre os caracteres avaliados no conjunto II de trigo do ano de 2020. CGF/FAEM/UFPel 2020.

	CE	NE	NAF	PE	NGE	MG	Est	SF10	SF15	SF20	SF25	SE15	SE20	SE25
CE	1	0,78*	0,09	0,50*	0,29*	0,24*	0,50*	0,17*	0,03	-0,02	-0,05	0,01	-0,05	0,004
NE		1	0,08	0,60*	0,46*	0,37*	0,48*	0,11	0,02	0,02	0,01	0,05	-0,009	0,01
NAF			1	0,23*	0,23*	0,25*	0,23*	-0,02	-0,05	0,02	0,13	-0,03	-0,11	-0,04
PE				1	0,84*	0,92*	0,49*	-0,09	-0,002	0,02	0,14	-0,20*	-0,21*	-0,18*
NGE					1	0,87*	0,33*	-0,16*	0,02	0,07	0,20*	-0,14	-0,12	-0,13
MG						1	0,39*	-0,18*	-0,02	0,05	0,19*	-0,17*	-0,17*	-0,16*
Est							1	0,004	0,02	0,004	0,11	-0,15	-0,05	-0,04
SF10								1	0,34*	0,21*	0,12	0,04	-0,02	0,06
SF15									1	0,65*	0,52*	0,24*	0,19*	0,22*
SF20										1	0,71*	0,25*	0,22*	0,24*
SF25											1	0,15	0,15	0,22*
SE15												1	0,74*	0,67*
SE20													1	0,87*
SE25														1

CE =comprimento da espiga (cm); NE = número de espiguetas por espiga; NAF = número de afilhos férteis; PE = peso da espiga (g); NGE = número de grãos por espiga; MG= Massa de grãos por espiga (g); Est = estatura de planta (cm); SF10= Severidade da brusone na folha aos 10 dias (%); SF15= Severidade da brusone na folha aos 15 dias (%); SF20= Severidade da brusone na folha aos 20 dias (%); SF25= Severidade da brusone na folha aos 25 dias (%); SE15= Severidade da brusone na espiga aos 15 dias (%); SE20= Severidade da brusone na espiga aos 20 dias (%); SE25= Severidade da brusone na espiga aos 25 dias (%); * = Significativo em 5% de probabilidade de erro, pelo teste t; Colorização para uma melhor visualização dos coeficientes de significância de acordo com a classificação dos coeficientes de correlação de Pearson citada por Mukaka, 2012.

capaz de influenciar a produção de grão por espiga e, não apenas, reduzir a qualidade tecnológica destes. Já nas folhas, a severidade da brusone aos 25 dias após a inoculação (SF25) se relacionou de forma positiva com os caracteres da espiga NGE e MG, demonstrando que estas variáveis se movem juntas. Tal resultado pode significar que o aumento da severidade nas folhas não afeta negativamente o desenvolvimento e a produção de grãos de trigo, diferente do que foi observado em relação à severidade nas espigas.

A redução do rendimento se deve ao principal sintoma de ataque, o branqueamento total ou parcial da espiga acima do ponto de infecção que ocorre devido à colonização do fungo no tecido, impedindo o transporte de nutrientes e prejudicando o enchimento de grãos (TRINDADE *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2016; ISLAM *et al.*, 2020). Os grãos mal formados acabam sendo eliminados durante a industrialização (DE FRANCESCHI *et al.*, 2009; CRUZ *et al.*, 2017).

A severidade de brusone na espiga influencia negativamente o rendimento de grãos. O número de grãos de trigo e o número de espiguetas cheias diminuem com o aumento da porcentagem de infecção da espiga. Há conveniência da adoção de métodos de melhoramento genético eficientes em quebrar correlações indesejadas para programas que buscam cultivares resistentes.

Por fim, devido à alta variabilidade fenotípica observada, a população estudada se mostra apta para estudo de mapeamento de QTL e genes de resistência à brusone em trigo e, para tanto, continua sendo estudada.

3.4 Conclusões

Há alta variabilidade genética na população em estudo para os caracteres de interesse. Cada conjunto apresenta singularidades em sua arquitetura genética.

As associações entre caracteres agronômicos e a resistência à brusone são nulas ou fracas.

3.5 Considerações finais

A identificação de variabilidade genética na população em estudo pode ser explorada para o melhoramento dos caracteres estudados.

A resistência genética à brusone em trigo é um caráter altamente demandado e uma série de fatores tornam o melhoramento genético para este caráter complexo. Os resultados obtidos neste estudo devem contribuir, tanto para o desenvolvimento de genótipos superiores, quanto como população de mapeamento de QTL e genes de resistência ao caráter.

A mesma continuará a ser estudada visando identificar regiões do genoma que influenciam em caracteres de interesse, como novas fontes de resistência genética à brusone do trigo. Para tanto, os acessos estão sendo genotipados com denso número de marcadores moleculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENEDETI, AL, *et al.* Caracterização de linhagens de trigo do Programa de Melhoramento da Embrapa quanto à composição em gluteninas de alto peso molecular. **Embrapa Trigo-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA TRIGO, 3., 2007, Passo Fundo. Resumos... Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007.

BENIN, G., *et al.* Estimativas de correlações genotípicas e de ambiente em gerações com elevada frequência de heterozigotos. **Ciência Rural** 35.3: p. 523-529, 2005.

BENNETT, D. *et al.* Detection of two major grain yield QTL in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) under heat, drought and high yield potential environments. **Theoretical and applied genetics**, v. 125, n. 7, p. 1473-1485, 2012.

CARGNELUTTI FILHO, A. *et al.* Tamanho de amostra para estimação do coeficiente de correlação linear de Pearson entre caracteres de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 12, p. 1363-1371, 2010.

CAMARGO, C.E.O.; FERREIRA FILHO, A.W.P.; FELICIO, J.C. Herdabilidade e correlações entre características agronômicas em populações híbridas de trigo. **Bragantia**, Campinas, v.57, n.1, 1998.

CERESINI, P.C., *et al.* Wheat Blast: Past, Present, and Future. **Annual review of phytopathology**, v. 56, p. 427–456, 2018.

CRUZ, MFA *et al.* "Caracterização molecular e de virulência de isolados de *Pyricularia grisea*." Embrapa Trigo-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 2., 2008, Passo Fundo. Atas e resumos... Passo Fundo: Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale: **Embrapa Trigo: Embrapa Transferência de Tecnologia**, 2008., 2008.

CRUZ, M.F.A.D., P. A.M. and Maciel, J.L.N. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. **Ciência Rural**, 39(5), pp.1562-1564, 2009.

CRUZ, C. D.; VALENT, B. Wheat blast disease: danger on the move. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 3, p. 210-222, 2017.

DA SILVA, J. AG. *et al.* A expressão dos componentes de produtividade do trigo pela classe tecnológica e aproveitamento do nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental** 19.1 (2015): 27-33.

DUVEILLER, E.; SINGH, R. P.; NICOL, J. M. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases, and potential epidemics. **Euphytica**, v. 157, n. 3, p. 417-430, 2007.

DUVEILLER, E.; HODSON, D.; TIEDMANN, A. Wheat blast caused by *Magnaporthe grisea*: a reality and new challenge for wheat research. In: **INTERNATIONAL WHEAT CONFERENCE**, 8., 2010, Saint Petersburg. Anais [...]. Saint Petersburg, 2010.

FALCONER, D. S. Introdução a genética quantitativa. Tradução de SILVA, M. de A. e; SILVA, J. C. 1 ed. Viçosa, MG, **Imprensa Universitária**, 1964. 279 p.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. 4.ed. Londres: Longman, p. 479, 1996.

FERNANDEZ, M. R. Manual para laboratório de fitopatologia. **Embrapa Trigo-Documentos** (INFOTECA-E), 1993.

FEDERER, WT. Augmented (or hoonuiaku) designs Hawaiian planters record. 1956.

FRANCO, F. A.; CARVALHO, F. I. F. Estimativa do progresso genético no rendimento de grãos de trigo e sua associação com diferentes caracteres sob o efeito de variações de ambiente. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 37, p. 1–9, 1985.

HARTWIG, I. *et al.* Estimativa de coeficientes de correlação e trilha em gerações segregantes de trigo hexaplóide. **Bragantia**, v. 66, n. 2, p. 203–218, 2007.

HAWERROTH, M. C. *et al.* Correlations among industrial traits in oat cultivars grown in different locations of Brazil. **Australian journal of crop science**, v. 9, n. 12, p. 1182-1189, 2015.

HENRIQUES FS. A revolução verde e a biologia molecular. **Revista de Ciências Agrárias**.32(2):245-54, 2009.

MACIEL, J.L.N. *et al.* Diagrammatic scale for the assessment of blast on wheat spikes. **Summa Phytopathologica**, 39(3), pp.162-166, 2013.

MACIEL, J. L. N. *et al.* Resistência genética de plantas a fungos. In Dallagnol LJ (Org) **Resistência genética de plantas a patógenos**. UFPel, Pelotas, p. 359- 393, 2018.

MATIELLO, R. R.; BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Resistência das plantas a moléstias fúngicas. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 161-168,1997.

MUKAKA, M. Statistics Corner: A guide to appropriate use of Correlation coefficient in medical research. **Malawi Medical Journal**, v. 24, n. 3, p. 69–71, 2012.

NETO, dos Santos GR. *et al.* Influência do meio de cultura na esporulação de *magnaporthe grisea* e da concentração de conídios na severidade da brusone do arroz. **Bioscience Journal**. 23;26, 2010.

LORENCETTI, C. *et al.* "Aplicability of phenotypic and canonic correlations and path coefficients in the selection of oat genotypes." **Scientia Agricola** 63.1. p. 11-19, 2006.

OLIVEIRA, I. B. **Desequilíbrio de ligação e análise de seleção genômica em cana-de-açúcar**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, 2014.

OZTURK, A. *et al.* "Growth and yield response of facultative wheat to winter sowing, freezing sowing and spring sowing at different seeding rates." **Journal of Agronomy and Crop Science** 192.1, p. 10-16, 2006.

PAGANI, A.P., *et al.* Management of wheat blast with synthetic fungicides, partial resistance and silicate and phosphite minerals. **Phytoparasitica**, v. 42, p. 609–617, 2014.

PRABHU, A. S. *et al.* Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Santo Antônio de Goiás e GO: **Embrapa Arroz e Feijão**, 2006.

PETERNELLI, L. A. *et al.* "Delineamentos aumentados no melhoramento de plantas em condições de restrições de recursos." **Ciência Rural** 39.9: p. 2425-2430, 2009.

RIOS, J.A. *et al.* Development and validation of a standard area diagram set to assess blast severity on wheat leaves. **European Journal of Plant Pathology**, 136(3), pp.603-611, 2013.

SAVADI, S. *et al.* Molecular breeding technologies and strategies for rust resistance in wheat (*Triticum aestivum*) for sustained food security. **Plant pathology**, v. 67, n. 4, p. 771-791, 2018.

SHAH, L. *et al.* Review: Improving Lodging Resistance: Using Wheat and Rice as Classical Examples. **International Journal of Molecular Sciences**, Hefei, China, v. 20, n. 17, p. 4211, 2019.

SCHEEREN, PL, R. L. de CASTRO, and E. CAIERAO. Botânica, morfologia e descrição fenotípica. **Embrapa Trigo**-Capítulo em livro científico (ALICE). 2015.

URASHIMA, A S. *et al.* "Resistance spectra of wheat cultivars and virulence diversity of *Magnaporthe grisea* isolates in Brazil." **Fitopatologia Brasileira** 29.5: 511-518, 2004.

VALENT, B. *et al.* *Pyricularia graminis-tritici* is not the correct species name for the wheat blast fungus: Response to Ceresini *et al.* (MPP 20: 2). **Molecular plant pathology**, v. 20, n. 2, p. 173-179, 2019.

VALÉRIO, I. P. "Progresso genético na seleção de genótipos de trigo com base na expressão do caráter número de afilhos.", p.19, 2008.

VENCOVSKY R. *et al.* Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto: **Revista Brasileira de Genética**,. 496p. 1992.

APÊNDICES

Apêndice 1. Características dos 193 acessos da população estudada em cada conjunto.

Genótipos	Empresa	AN O	Painel I	Painel II
TBIO Alvorada	Biotrigo	201 2	x	x
TBIO Sossego	Biotrigo	201 5	x	x
TBIO Bandeirante	Biotrigo	201 2	x	x
TBIO Mestre	Biotrigo	201 2	x	x
TBIO Tibagi	Biotrigo	201 0	x	x
TBIO Sintonia	Biotrigo	201 3	x	x
Celebra	Biotrigo	201 4	x	x
TBIO Toruk	Biotrigo	201 4	x	x
FPS Nitron	Biotrigo	2011 201	x	x
TBIO Audaz	Biotrigo	201 7	x	x
TBIO Iguaçu	Biotrigo	201 2	x	x
TBIO Noble	Biotrigo	201 3	x	x
TBIO Ponteiro	Biotrigo	201 8	x	x
TBIO Ivaí	Biotrigo	201 0	x	x
TBIO Sinuelo	Biotrigo	201 2	x	x
TBIO Itaipu	Biotrigo	201 2	x	x
TBIO Pioneiro 2010	Biotrigo	201 0	x	x
TBIO Seletto	Biotrigo	201 2	x	
TBIO Alpaca	Biotrigo	201 0	x	x
TBIO Sonic	Biotrigo	201 7	x	x
Inova	Biotrigo	201 6	x	x
Estrela Átria	Biotrigo	201 3	x	x

		201		
TBIO Energia I	Biotrigo	5	x	x
		200		
Fundacep 300	CCGL Tec (Bayer)	9	x	x
Fundacep		201		
Bravo	CCGL Tec (Bayer)	0	x	x
Fundacep		200		
Campo Real	CCGL Tec (Bayer)	9	x	x
Fundacep		200		
Cristalino	CCGL Tec (Bayer)	6	x	x
Fundacep Nova		200		
Era	CCGL Tec (Bayer)	4	x	x
Fundacep		200		
Raíces	CCGL Tec (Bayer)	6	x	x
		201		
TEC Vigore	CCGL Tec (Bayer)	2	x	x
		201		
TEC Triunfo	CCGL Tec (Bayer)	2		x
Fundacep		200		
Horizonte	CCGL Tec (Bayer)	9		x
		199		
Fundacep 29	CCGL Tec (Bayer)	7		x
		201		
TEC Frontale	CCGL Tec (Bayer)	2		x
		200		
Ocepar 11-Juriti	Coodetec (Dow)	1		x
		200		
CD 115	Coodetec (Dow)	5		x

Continua...

		200		
CD 111	Coodetec (Dow)	3		x
	Coodetec			
	(DowDupont -	199		
CD 104	Cortevea)	9	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	199		
CD 105	Cortevea)	9	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	200		
CD 114	Cortevea)	4	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	200		
CD 116	Cortevea)	6	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	200		
CD 117	Cortevea)	7	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	201		
CD 118	Cortevea)	4	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	201		
CD 119	Cortevea)	5	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	200		
CD 120	Cortevea)	9	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	201		
CD 121	Cortevea)	0	x	x
	Coodetec			
	(DowDupont -	201		
CD 122	Cortevea)	0	x	x

CD 123	Coodetec (DowDupont - Corteva)	199 7	x	x
CD 124	Coodetec (DowDupont - Corteva)	200 8	x	x
CD 150	Coodetec (DowDupont - Corteva)	200 9	x	x
CD 151	Coodetec (DowDupont - Corteva)	200 3	x	x
CD 154	Coodetec (DowDupont - Corteva)	201 2	x	x
CD 1104	Coodetec (DowDupont - Corteva)	201 4	x	x
CD 1252	Coodetec (DowDupont - Corteva)	201 2	x	x
CD 1440	Coodetec (DowDupont - Corteva)	201 3	x	x
CD 1550	Coodetec (DowDupont - Corteva)	201 2	x	x
Ocepar 14	Coodetec (DowDupont - Corteva)	198 8	x	x

Continua...

Ocepar 15	Coodetec (DowDupont - Corteva)	198 8	x	x
CD 1303	Coodetec (DowDupont - Corteva)	201 6	x	x
CD 1705	Coodetec (DowDupont - Corteva)	201 6	x	x
Bandeirantes	Cultivar estrangeira de trigo	194 9	x	
LA 1549	Cultivar estrangeira de trigo	197 8	x	
Novo Sulino	E.E. de Alfredo Chaves	192 8	x	
Centeira	E.E. de Bagé	194 3	x	x
Cincana	E.E. de Bagé	194 2	x	x
Frontana	E.E. de Bagé	200 5	x	x
Fronteira	E.E. de Bagé	200 5	x	x
Rio Negro	E.E. de Bagé	193 8	x	x
Surpresa	E.E. de Bagé	193 2	x	x
Encruzilhada	E.E. de Encruzilhada do Sul	197 0	x	x

	E.E. de Encruzilhada do Sul	196		
Santa Bárbara		8		x
	E.E. de Júlio de Castilhos	194		
Alegrete		9	x	x
	E.E. de Júlio de Castilhos	194		
Combate		9	x	x
	E.E. de Júlio de Castilhos	196		
Toropi		5	x	x
	E.E. de Passo Fundo	195		
Camacrania		5	x	x
		198		
Butuí	E.E. de São Borja	3	x	x
	E.E. de Veranópolis	194		
Colônias		9	x	x
	E.E. de Veranópolis	193		
Farrapo		6	x	x
	E.E. de Veranópolis	193		
Rio Sulino		6	x	
	E.E. de Veranópolis	193		
Trintecinco		6	x	
	Embrapa Agropecuária Oeste	198		
Trigo BR 17-Caiuá		6	x	x
	Embrapa Agropecuária Oeste	198		
Trigo BR 18-Terena		6	x	x
	Embrapa Agropecuária Oeste	198		
Trigo BR 31-Miriti		8	x	x
		200		
BRS 254	Embrapa Cerrado	5	x	x
		200		
BRS 264	Embrapa Cerrado	5	x	x
		199		
Embrapa 21	Embrapa Cerrado	3	x	
		199		
Embrapa 22	Embrapa Cerrado	3	x	x
		199		
Embrapa 42	Embrapa Cerrado	5	x	x
		198		
Trigo BR 35	Embrapa Soja	9	x	x
		200		
BRS 193	Embrapa Soja	0	x	
		200		
BRS 210	Embrapa Soja	4	x	x
		200		
BRS 220	Embrapa Soja	3	x	x
BRS Gaivota	Embrapa Soja	2011	x	x
BRS Gralha Azul	Embrapa Soja	201		
		2	x	x
		198		
BRS Graúna	Embrapa Soja	9	x	x
		200		
BRS Tangará	Embrapa Soja	7		x
		200		
BRS 229	Embrapa soja	4	x	x
		200		
BRS 248	Embrapa Soja	5		x
		199		
BRS 179	Embrapa Trigo	9	x	
		200		
BRS 194	Embrapa Trigo	0		x

Continua...

		200		
BRS 209	Embrapa Trigo	2	x	x
		200		
BRS 276	Embrapa Trigo	8	x	x
		201		
BRS 327	Embrapa Trigo	0	x	x
		201		
BRS 374	Embrapa Trigo	2	x	x
		201		
BRS 404	Embrapa Trigo	4	x	x
		200		
BRS Guabiju	Embrapa Trigo	3	x	x
		200		
BRS Guamirim	Embrapa Trigo	5		x
		201		
BRS Marcante	Embrapa Trigo	3	x	x
		201		
BRS Parrudo	Embrapa Trigo	2	x	x
		197		
CNT 8	Embrapa Trigo	6	x	x
		199		
BRS 120	Embrapa Trigo	7	x	x
		199		
BRS 177	Embrapa Trigo	9		x
		200		
BRS Figueira	Embrapa Trigo	2		x
		200		
BRS 296	Embrapa Trigo	9		x
		201		
BRS 331	Embrapa Trigo	2		x
IAC 350 -		199		
Goioopá	IAC	5	x	x
IAC 364 -		200		
Tucuruí III	IAC	0	x	x
IAC 24 -		198		
Tucuruí	IAC	2	x	x
IAC 373		200		
Guaicuru	IAC	3	x	x
IAC 375		200		
Parintins	IAC	3	x	x
		200		
IAC 380 Saíra	IAC	9	x	x
		200		
IAC 381-Kuara	IAC	9	x	x
IAPAR 6 -		198		
Tapejara	IAPAR	2	x	x
IAPAR 28		198		
Igapô	IAPAR	8	x	x
IAPAR 29 -		198		
Cacatu	IAPAR	8	x	x
		199		
IAPAR 78	IAPAR	6	x	x
		199		
IPR 84	IAPAR	8	x	x
		199		
IPR 85	IAPAR	9	x	x
		200		
IPR 87	IAPAR	2	x	x
		200		
IPR 110	IAPAR	3	x	x
		200		
IPR 118	IAPAR	4	x	x

Continua...

		200		
IPR 128	IAPAR	6	x	x
		200		
IPR 129	IAPAR	6	x	x
		200		
IPR 130	IAPAR	7	x	x
		200		
IPR 136	IAPAR	7	x	x
		200		
IPR 144	IAPAR	9	x	
IPR Catuara TM	IAPAR	201 2	x	x
		201		
IPR_Panaty	IAPAR	4	x	x
		201		
IPR Potiporã	IAPAR	6	x	x
		201		
IPR Taquari	IAPAR	6	x	x
		200		
IPR 90	IAPAR	1		x
IAPAR 30 Pirata	IAPAR	198 8		x
	Instituto	195		
IAS 8-Piratini	Agronômico do Sul	7	x	x
IAS 13-Passo Fundo	Instituto	195		
	Agronômico do Sul	9	x	x
IAS	Instituto	195		
14-Contestado	Agronômico do Sul	8	x	x
	Instituto	196		
IAS 22-Tibagi	Agronômico do Sul	3	x	x
	Instituto	193		
IAS 28-Ijuí	Agronômico do Sul	8	x	x
	Instituto	196		
IAS 34-Xapecó	Agronômico do Sul	3	x	
	Instituto	196		
IAS 49-Pioneiro	Agronômico do Sul	3	x	
	Instituto	196		
IAS 51-Albatroz	Agronômico do Sul	7	x	x
	Instituto	196		
IAS 32 Sudeste	Agronômico do Sul	3		x
	Instituto	196		
IAS 52	Agronômico do Sul	9		x
		201		
LG Fortaleza	Limagrain	7	x	x
		201		
LG WZ1	Limagrain	7	x	x
		200		
LG Oro	Limagrain	4	x	x
		201		
LG Supra	Limagrain	2	x	x
		201		
Jadeite 11	OR Sementes	2	x	x
Ametista	OR Sementes	2011	x	x
		200		
Vaqueano	OR Sementes	8	x	x
		201		
ORS Vintecinco	OR Sementes	3	x	x
		201		
ORS 1402	OR Sementes	4	x	x
		201		
ORS 1403	OR Sementes	4	x	x
		201		
ORS 1405	OR Sementes	4	x	x
		200		
Alcover	OR Sementes	0	x	x

ORS Citrino	OR Sementes	201 2	x	x
Berilo	OR Sementes	2011	x	x
Topázio	OR Sementes	2011	x	
OR 1	OR Sementes	199 6	x	x
Asteca	OR Sementes	200 9	x	x
Avante	OR Sementes	200 1	x	
		199		Continua...
Rubi	OR Sementes	8		
ORS Madre	OR Sementes	201		
Pérola	OR Sementes	7	x	x
Taurum	OR Sementes	201 6	x	x
FPS Amplitude	OR Sementes	201 6	x	x
FPS Certero	OR Sementes	200 9	x	x
Granito	OR Sementes	201 2	x	x
Pampeano	OR Sementes	200 3	x	x
Vanguarda	OR Sementes	200 8		x
Abalone	OR/Biotrigo	200 6	x	x
Ônix	OR/Biotrigo	200 1	x	x
Marfim	OR/Biotrigo	200 7	x	x
Mirante	OR/Biotrigo	200 8	x	x
Quartzo	OR/Biotrigo	200 7	x	x
Safira	OR/Biotrigo	200 4	x	x
Supera	OR/Biotrigo	200 4	x	x
Campeiro	OR/Biotrigo	200 9	x	
Valente	OR/Biotrigo	200 4	x	x
RBO 303	Tamona Agropecuária	201 3	x	x

Apêndice 2. Classificação em classes segundo a distribuição de frequências para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 30 dias após a inoculação do conjunto de genótipos avaliados no ano de 2019, expresso em porcentagem (%).

Genótipo	Classes	Severidade
CD 1550 TBIO Itaipu Topazio Inova Juriti BRS Gaivota TBIO Sinuelo	Classe 1	1,5 - 5%
IPR Panaty OR 1 BRS 179 IAS 13 Passo Fundo BRS 193 TBIO Alvorada TBIO Sonic BRS 264 IAS 8 Piratini BRS 220 TBIO Alpaca TBIO Seletto BRS 276 CNT 8 Ônix CD 1440 CD 123 BRS Parrudo Ocepar 14	Classe 2	5,1 - 15%

BRS 254		
Ametista		
IPR Catuara		
CD 1104		
IAC 375		
BRS 327		
Jadeite 11	Classe 5	35,2 - 50%
TBIO Sintonia		
Patriarca		
LG WZ1		
FPS Nitron		
IPR Potiporã		
Fundacep Bravo		
IPR 118		
CD 104		

continua...

Trigo BR 17
 TBIO Iguaçú
 CD 124
 RBO 303
 Embrapa 22
 Colonias

ORS 1402		
IPR 87		
ORS Pérola		
IAC 373	Classe 6	53 - 65%
Estrela Atria		
ORS 1403		
IPR 84		

Rio Negro		
BRS 404		
IAPAR 29 Cacatu		
CD 118		
ORS Vintecinco		
IAC 364 Tucurui III	Classe 7	65,5 - 80%
Nobre		
BRS Guabiju		
Safira		
Celebra		
IPR 85		
Vaqueano		
Marfim		
IAPAR 2 Igapó		

Apêndice 3. Classificação em classes segundo a distribuição de frequências para o caráter severidade da brusone nas folhas aos 25 dias após a inoculação do conjunto de genótipos avaliados no ano de 2020, expresso em porcentagem (%).

Genótipos	Classe	Severidade
Colônias CD 116	Classe 1	0,1 - 0,8%
Quartzo BRS 264 Centeira BRS Parrudo BRS Galha Azul Ocepar 14 Supera TBIO Tibagi CD 1550 CD 119 CD 150 BRS 404 TBIO Mestre CD 120 IAC 370 Amargedom BRS Guabiju Trigo BR 31 Miriti LG Supra TBIO Energia I Trigo BR 18 Terena Topazio TBIO Bandeirante BRS 254	Classe 2	1 - 12,6%

OR 1
CD 1805
Ônix
BRS Gaivota
LG Oro
BRS 327
Rio Negro
Embrapa 42
IAS 22 Tibagi
TBIO Sonic
CNT 8
FP Certero
TBIO Sinuelo
Frontana
Alcover
Surpresa

Embrapa 22
ORS Citrino
CD 111
TBIO Ivai
Mirante
CD 1303
CD 151
Inova
BRS 331
CD 154
IPR 130
TEC Triunfo
Juriti
IPR 110
Encruzilhada

CD 123
BRS Grauna
FPS Nitron
IAPAR 78
IPR Catuara TM
IAC 380 Saira
ORS 1405
IAPAR 29 Cacatu
TEC Frontale
ORS 1402
IAPAR 28 Igapo
CD 118
Vaqueiro
IAPAR 6 Tapejara

continua...

IPR Panaty		
ORS 1401		
CD 1440		
Pampeano		
<hr/>		
ORS Vintecinco		
BRS Tangara		
FPS Amplitude		
Berilo		
IAC 364 Tucurui III	Classe 4	38 - 48,8%
IPR 129		
IPR Potipora		
TBIO Ponteiro		
IAS 13 Passo Fundo		
Rubi		
Horizonte		
<hr/>		
Asteca		
IPR 84		continua...
IAPAR 30 Pirata		
ORS 1403		
Fundacep Bravo		
CD 124	Classe 5	49 - 60%
TBIO Pioneiro 2010		
TBIO Audaz		
BRS Marcante		
Jadeite 11		
Estrela Atria		
TBIO Alvorada		
<hr/>		
LG WZ1		
ORS Pérola		
IPR 128		
Marfim	Classe 6	66 - 72,9%
IAC 375 Parintins		
Fundacep 300		
Granito		
Alegrete		
TBIO Alpaca		
<hr/>		
BRS 276		
CD 114		
Vanguarda		
TBIO Iguaçu		
Safira		
IPR 87	Classe 7	73 - 89%
CD 105		
CD 121		
BRS 374		

BRS Figueira
 TBIO Sintonia
 Celebra

Apêndice 4. Classificação em classes segundo a distribuição de frequências para o caráter severidade da brusone nas espigas aos 25 dias após a inoculação do conjunto de genótipos avaliados no ano de 2020, expresso em porcentagem (%).

Genótipo	Classe	Severidade
TBIO Ivaí CD 116 CD 123 BRS Gaivota Trigo BR 18 Terena Trigo BR 31 Miriti Embrapa 42 TEC Triunfo IPR 90	Classe 1	0,00
Butui TBIO Sonic TBIO Sossego IPR 130 Celebra Fundacep Nova Era BRS 209 Trigo BR 35 Toropi IAS 14 Contestado Quartzo IAS 22 Tibagi LG Supra CD 119 IAS 28 Ijuí	Classe 2	1,75 - 13%

Cincana
 Centeira
 Farrapo
 TBIO Sintonia
 TBIO Mestre
 Colônias
 CD 1805

BRS 194
 Fundacep 29
 FPS Amplitude
 Ônix
 CD 1705
 BRS Gralha Azul
 TBIO Toruk
 TBIO Pioneiro 2010
 TBIO Energia I
 Alcover

Classe 3

14 - 24,7%

Nobre
 Combate
 BRS 296
 BRS 404
 IAC 380 Saira
 IAS 51 Albatroz
 CD 117
 IAS 32 Sudeste

Continua...

BRS Parrudo
 ORS 1405
 IAC 350 Goiapa
 TBIO Ponteiro
 BRS Figueira
 FPS Certero
 BRS 374
 CD 151
 TEC Frontale
 IPR 87
 Mirante
 IPR 118
 Encruzilhada
 Fundacep Campo Real
 LG Fortaleza
 Fundacep Bravo

Classe 4

25 - 36%

Camacrânia
 IPR 136
 BRS 220
 BRS 229

BRS 177		
Frontana		
Jadeite 11		
BRS 327	Classe 5	37 - 49%
Rio Negro		
IAPAR 29 Cacatu		
IAS 8 Piratini		
Trigo BR 17 Cuara		
IAC 364 Tukurui III		
CD 122		
Fundacep Cristalino		
ORS 1402		
BRS Guamirim		
<hr/>		
CNT 8		
BRS 331		
CD 124		
FPS Nitron		
Ocepar 15		Continua...
IAC 370 Amargedom		
Santa Barbara	Classe 6	50 - 60,9%
Fundacep 300		
IPR 84		
CD 1550		
Ocepar 14		
CD 120		
IAS 52		
Topazio		
Estrela Átria		
BRS 248		
BRS 254		
IPR 129		
<hr/>		
Fundocep Raizes		
IAPAR 30 Pirata		
IPR Catuara TM		
CD 105		
LG Oro		
Juriti		
TEC Vigore	Classe 7	61 - 71%
TBIO Iguaçu		
CD 150 testemunha		
BRS Tangara		
IAC 375 Parintins		
BRS 210		
CD 118		
IAC 24 Tukurui		
<hr/>		

Ametista		
TBIO Alpaca		
OR 1		
IPR Taquari		
BRS Grauna		
BRS Marcante		
CD 150		
IAPAR 6 Tapejara		
IAPAR 28 Igapó		
Inova	Classe 8	73 - 84,9%
TBIO Sinuelo		
ORS Citrino		
Valente		
IPR 110		
ORS Perola		
Marfim		
ORS Vintecinco		
CD 1252		Continua...
TBIO Nobre		
IAC 373 Guaicuru		
<hr/>		
IAC 381 Kuara		
Taurum		
Asteca		
Alegrete		
CD 115		
CD 111		
IPR 85		
CD 108		
TBIO Bandeirante	Classe 9	85 - 100%
CD 114		
TBIO Tibagi		
LG WZ1		
IPR Panaty		
Pampeano		
Granito		
TBIO Alvorada		
Rubi		
Supera		
Vaqueiro		
CD 1440		
CD 1303		
BRS Guabiju		
IPR Potipora		
CD 104		
IPR 128		

BRS 264

Berilo

TBIO Audaz

TBIO Itaipu
