

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA  
VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM AVEIA-BRANCA  
COM BASE NA EXPRESSÃO FENOTÍPICA,  
MARCADORES MOLECULARES E REAÇÃO À  
BRUSONE**

**JOSSANA SANTOS**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia da Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária  
da UPF para obtenção do título de  
Mestre em Agronomia - Área de  
concentração em Produção e  
Proteção de Plantas.

Passo Fundo, abril de 2016

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA  
VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM AVEIA-BRANCA  
COM BASE NA EXPRESSÃO FENOTÍPICA,  
MARCADORES MOLECULARES E REAÇÃO À  
BRUSONE**

**JOSSANA SANTOS**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Simone Meredith Scheffer Basso  
Coorientadora interna: Prof<sup>a</sup>. Dra. Nadia Canali Lângaro  
Coorientadora externa: Prof<sup>a</sup>. Dra. Sandra Patussi Brammer**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de concentração em Produção e Proteção de Plantas.

Passo Fundo, abril de 2016

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

**"DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM AVEIA-BRANCA COM BASE NA EXPRESSÃO FENOTÍPICA,  
MARCADORES MOLECULARES E REAÇÃO À BRUSONE"**

Elaborada por

**JOSSANA SANTOS**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em  
Agronomia – Produção e Proteção de Plantas

Aprovada em: 29/04/2016  
Pela Comissão Examinadora

  
**Dra. Simone Meredith Scheffer Basso**  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientadora

  
**Dra. Lisete Augustin**  
FAMV

  
**Dra. Nádia Canali Lângaro**  
Coorientadora  
FAMV - UPF

  
**Dra. Eunice Oliveira Calvete**  
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia

  
**Dra. Sandra Patussi Brammer**  
Coorientadora  
Embrapa Trigo

  
**Dr. Hélio Carlos Rocha**  
Diretor FAMV

CIP – Catalogação na Publicação

---

- S237d Santos, Jossana  
Divergência genética em aveia-branca com base na expressão fenotípica, marcadores moleculares e reação à brusone / Jossana Santos . – 2016.  
83 f. : il., color. ; 25 cm.
- Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Simone Meredith Scheffer Basso.  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Nadia Canali Lângaro.  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Sandra Patussi Brammer.  
Dissertação (Mestrado em Agronomia) –  
Universidade de Passo Fundo, 2016.
1. Aveia. 2. Histoquímica. 3. Marcadores genéticos.  
I. Scheffer Basso, Simone Meredith, orientadora. II. Lângaro, Nadia Canali, coorientadora. III. Brammer, Sandra Patussi, coorientadora. IV. Título.
- CDU: 631.8

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

**Jossana Santos** nasceu em 13 de novembro de 1989, na cidade de Não-Me-Toque, Rio Grande do Sul. Em 2013 concluiu o curso de Ciências Biológicas Bacharelado pela Universidade de Passo Fundo (UPF). No ano de 2014 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da UPF. Para obtenção do título de Mestre em Agronomia desenvolveu pesquisas referentes à divergência fenotípica, genética e reação à brusone em cultivares de aveia-branca.

*Dedico aos meus pais e meu irmão!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por guiar e iluminar meus passos, mostrando sempre o melhor caminho.

Aos meus pais, Jolar e Noeli, e ao meu irmão, Gabriel, pelo incentivo e por estarem sempre presentes, me ajudarem e apoiarem em todos os momentos. Sem vocês não teria chegado tão longe. Obrigada!

À minha família, pelo apoio e carinho durante essa caminhada.

À minha orientadora, professora Simone, por passar seus conhecimentos, pela confiança e dedicação dispensadas nesses anos. Às professoras Nadia Canali Lângaro e Sandra Patussi Brammer, pela coorientação, pela disponibilidade e colaboração constante durante a realização deste trabalho.

Ao pesquisador João Leodato Nunes Maciel e ao professor Carlos Alberto Forcelini, por todo apoio e ensinamentos na parte de doenças de plantas. Ao pesquisador da Embrapa Trigo, José Maurício Cunha Fernandes, pela inserção do nosso trabalho no macroprojeto brusone.

Aos funcionários e estagiários do Programa de Pesquisa de Aveia da UPF, pela amizade e auxílio nos trabalhos de campo. Aos estagiários e funcionários, em especial à Andréa Morás, da Embrapa Trigo, por terem me acolhido tão bem e por serem tão prestativos.

À professora Cerci, pelos ensinamentos e pela convivência.

Aos colegas do Laboratório Multiveg/UPF, em especial às minhas amigas Adriana, Kalinca e Sílvia. Vocês são muito especiais e tornaram meus dias mais felizes. Obrigada pela amizade e companheirismo durante todos esses anos.

A todos os meus amigos, por estarem presentes em mais essa etapa da minha vida, obrigada pela amizade, incentivo e compreensão.

Aos professores do PPGAgro, por contribuírem com a minha formação profissional.

Aos colegas do PPGAgro, pelas experiências compartilhadas e pela amizade.

À UPF, ao PPGAgro e à Embrapa Trigo, pela oportunidade.

À Capes/Embrapa, pela concessão da bolsa de estudos.



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	x
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xii
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	8
2.1 Aveia-branca.....	8
2.1.1 Características e importância.....	8
2.2 Melhoramento genético da aveia-branca no Brasil.....	9
2.3 Caracterização de germoplasma vegetal.....	10
2.3.1 Caracterização morfológica.....	11
2.3.2 Descritores morfológicos.....	12
2.4 Interação genótipo x ambiente e seus efeitos na expressão fenotípica.....	14
2.5 Marcadores moleculares.....	17
2.5.1 Marcadores microssatélites.....	18
2.5.2 Análise da divergência genética.....	19
2.6 Avaliações fitopatológicas com ênfase em brusone....	21
2.6.1 Morfologia, sintomatologia, ciclo e controle da brusone.....	22
2.6.2 Avaliação dos componentes de resistência.....	24
<b>CAPÍTULO I</b> .....	28
<b>RESUMO</b> .....	28
<b>ABSTRACT</b> .....	29
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	31
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	33
<b>3 RESULTADOS</b> .....	37
3.1 Expressão dos descritores.....	37
3.2 Divergência fenotípica.....	46
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	49
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	55
<b>CAPÍTULO II</b> .....	56
<b>RESUMO</b> .....	56
<b>ABSTRACT</b> .....	57
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	59
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	62
2.1 Extração de DNA.....	62

	<b>Página</b>
2.2 Marcadores moleculares.....	63
2.3 Amplificação de DNA via PCR.....	64
2.4 Divergência genética e métodos de agrupamento.....	64
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>65</b>
3.1 Divergência genética.....	65
3.2 Métodos de agrupamento.....	69
3.2.1 Índice de Dice.....	69
3.2.2 Método de otimização de Tocher.....	70
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	<b>73</b>
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>74</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>74</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>75</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>77</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>80</b>
2.1 Material vegetal e delineamento experimental.....	80
2.2 Isolados de <i>Pyricularia oryzae</i> .....	80
2.3 Inoculação.....	81
2.4 Avaliações.....	82
2.4.1 Amostragem.....	82
2.4.2 Análise dos sintomas externos da doença.....	82
2.4.3 Avaliação histoquímica.....	84
2.5 Análise estatística.....	84
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>85</b>
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	<b>94</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>95</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>97</b>
<b>APÊNDICE</b> .....	<b>121</b>

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I – Expressão de descritores morfológicos e fenológicos de cultivares de aveia-branca em distintos períodos de cultivo

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Cultivares de aveia-branca e seus respectivos obtentores e genealogias.....	34
2	Temperatura média do ar (TM), do solo (TS) e precipitação ocorridas durante as fases fenológicas de cultivares de aveia-branca cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P) no sul do Brasil.....	35
3	Efeito de genótipo (G), ambiente (E) e interação G x E na expressão de 42 descritores morfofenológicos avaliados em cinco cultivares de aveia-branca em dois períodos de cultivo.....	38
4	Expressão e índice de estabilidade de descritores quantitativos ( $IE_{DQT}$ ) fenológicos de aveias-brancas cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P).....	40
5	Expressão e índice de estabilidade ( $IE_{DQT}$ ) de descritores quantitativos morfológicos de aveias-brancas cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P).....	43
6	Expressão e índice de estabilidade ( $IE_{DQL}$ ) dos descritores qualitativos e índice de estabilidade médio de cultivares ( $IEMC_{DQL}$ ) de aveias-brancas cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P).....	45
7	Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para divergência genética (SINGH, 1981) de aveias-brancas cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P).....	47

**CAPÍTULO II – Divergência genética entre cultivares de aveia-branca por meio de marcadores microssatélites**

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Cultivares de aveia-branca utilizadas e seus respectivos obtentores e genealogias.....	62
2	Número de alelos por <i>locus</i> , variação de fragmentos e PIC ( <i>Polymorphism Information Content</i> ) para marcadores microssatélites examinados em cultivares de aveia-branca.....	66
3	Matriz de dissimilaridade genética entre cultivares de aveia-branca, obtida pelo índice de Dice, a partir de marcadores microssatélites.....	70

**CAPÍTULO III – Reação de cultivares de aveia-branca à brusone**

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Cultivares de aveia-branca utilizadas e seus respectivos obtentores e genealogias.....	80
2	Resposta final de cultivares de aveia-branca à inoculação com <i>Pyricularia oryzae</i> quanto à lesão nas folhas.....	90
3	Resultados dos testes histoquímicos na pré e pós-inoculação de <i>Pyricularia oryzae</i> em folhas de cultivares de aveia-branca.....	93

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I - Expressão de descritores morfológicos e fenológicos de cultivares de aveia-branca em distintos períodos de cultivo

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Dendrograma de dissimilaridade entre cultivares de aveia-branca, cultivadas nos períodos outono-hipernal (A) e hiberno-primaveril (B), obtido pelo método de agrupamento de Ward, com base na matriz euclidiana média com dados quantitativos. No eixo x encontram-se as distâncias genéticas relativas e no eixo y a descrição das cultivares.....	48
2	Dendrograma de dissimilaridade entre cultivares de aveia-branca, cultivadas nos períodos outono-hipernal (A) e hiberno-primaveril (B), obtido pelo método de agrupamento de Ward, com base na matriz euclidiana média com dados qualitativos. No eixo x encontram-se as distâncias relativas e no eixo y a descrição das cultivares.....	49

### CAPÍTULO II – Divergência genética entre cultivares de aveia-branca por meio de marcadores microssatélites

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Padrão eletroforético obtido em gel de agarose, de cultivares de aveia-branca, utilizando marcadores microssatélites. M: Marcador de DNA Ladder 100 pb; 1: IPR Afrodite; 2: URS Corona; 3: FAEM Carlasul; 4: UPFA Ouro; 5: URS Taura.....	67
2	Dendrograma resultante da análise de cinco cultivares de aveia-branca utilizando marcadores microssatélites, com base na matriz de dissimilaridade genética e método UPGMA, por meio do índice de Dice.....	70

### CAPÍTULO III – Reação de cultivares de aveia-branca à brusone

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Escala diagramática de Notteghem (1981) utilizada para avaliação da severidade de brusone nas folhas de cultivares de aveia-branca.....	83
2	Lesões causadas por <i>Pyricularia oryzae</i> em folhas de cultivares de aveia-branca. A: IPR Afrodite; B: URS Corona; C: FAEM Carlasul; D: UPFA Ouro; E: URS Taura.....	86
3	Regressão do número de lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após a inoculação com <i>Pyricularia oryzae</i> .....	86
4	Comprimento das lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após inoculação com <i>Pyricularia oryzae</i> .....	87
5	Largura das lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após inoculação com <i>Pyricularia oryzae</i> .....	87
6	Dinâmica da severidade das lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após inoculação com <i>Pyricularia oryzae</i> .....	88
7	Dinâmica da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após inoculação com <i>Pyricularia oryzae</i> .....	88
8	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA, com base na matriz de distância euclidiana média, a partir de dados de número e expansão de lesão, severidade e área abaixo da curva de progresso da doença em folhas de cultivares de aveia-branca inoculadas com <i>Pyricularia oryzae</i> .....	91
9	Testes histoquímicos em folhas de aveia-branca. A: detecção de lipídios; B: detecção de fenóis; C: detecção de lignina.....	93
10	Testes histoquímicos em folhas de aveia-branca. Detecção de flavonoides na pré (A) e pós-inoculação (B) de brusone.....	94

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM AVEIA-BRANCA COM BASE  
NA EXPRESSÃO FENOTÍPICA, MARCADORES  
MOLECULARES E REAÇÃO À BRUSONE**

**JOSSANA SANTOS<sup>1</sup>**

**RESUMO** - O aumento da importância econômica da aveia-branca (*Avena sativa* L.) desafia os melhoristas no lançamento de materiais cada vez mais competitivos. A caracterização morfológica é fundamental no processo de proteção de novas cultivares, porém possui algumas limitações, como a influência ambiental nos descritores. Estudos de divergência genética, por meio de marcadores moleculares, como os microssatélites, e também avaliações fitopatológicas, têm se tornado atividades complementares à caracterização morfológica. Esse trabalho teve como objetivo avaliar cinco cultivares de aveia-branca (IPR Afrodite, URS Corona, FAEM Carlasul, UPFA Ouro e URS Taura), quanto à expressão dos descritores morfofenológicos, marcadores moleculares e reação à brusone. 1) A expressão dos descritores frente à variação ambiental foi avaliada em dois períodos de cultivo, dentro (outono-hipernal) e fora do período recomendado (hiberno-primaveril) para a cultura. O experimento foi estabelecido no campo, em blocos casualizados, com três repetições, no qual as cultivares foram avaliadas quanto à estabilidade de 42 descritores. O atraso no período de cultivo da aveia-branca, de outono-hipernal para hiberno-primaveril, reduziu o ciclo, modificou a expressão morfofenológica da maioria dos descritores e

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF.

alterou a divergência fenotípica entre cultivares; 2) A divergência genética entre as cultivares foi verificada por meio de 47 marcadores microssatélites. O DNA foi extraído de plantas jovens, com posterior amplificação em PCR, eletroforese em gel de agarose e visualização via brometo de etídeo. Foi calculado o número de alelos por *locus* e o conteúdo de informação polimórfica (PIC). As cultivares foram agrupadas pelo índice de Dice e pelo método de Tocher, apresentando a formação de três e dois grupos, respectivamente. Os marcadores amplificaram um total de 29 alelos com uma média de 1,8 alelos por *locus* e PIC de 0,45. Os marcadores microssatélites foram úteis na determinação da divergência genética entre cultivares de aveia-branca. 3) Para a análise da reação à brusone nas folhas, foram utilizados quatro isolados de *Pyricularia oryzae*. Em nove avaliações, sob condições controladas, foram quantificados: número e expansão de lesões, severidade e área abaixo da curva do progresso da doença. As folhas foram avaliadas histoquimicamente na pré-inoculação e 48 horas pós-inoculação do fungo para verificar possível efeito da doença nos grupos químicos lipídios, lignina, fenóis, flavonoides e taninos. Os dados foram submetidos às análises de variância, regressão e multivariada. As folhas apresentaram aumento na concentração de flavonoides na pós-inoculação do fungo. As cultivares apresentaram variabilidade quanto à reação à brusone. Em ordem de menor a maior suscetibilidade observou-se: URS Taura < UPFA Ouro < IPR Afrodite < FAEM Carlasul < URS Corona.

**Palavras-chave:** *Avena sativa* L., descritores morfológicos, histoquímica, marcadores microssatélites, *Pyricularia oryzae* Cav.



**GENETIC DIVERSITY IN WHITE OAT BASED ON THE  
PHENOTYPIC EXPRESSION, MOLECULAR MARKERS AND  
REACTION TO BLAST**

**ABSTRACT** - The increasing economic importance of white oat (*Avena sativa* L.) challenges breeders in launching increasingly competitive materials. Morphological characterization is essential in the process of protecting new cultivars, but it has some limitations, such as environmental influence on descriptors. Studies of genetic diversity, by using molecular markers, such as microsatellites, and also phytopathological reviews, have become complementary activities to the morphological characterization. This work aimed to evaluate five cultivars of white oat (IPR Afrodite, URS Corona, FAEM Carlasul, UPFA Ouro and URS Taura), as the expression of morphophenological descriptors, molecular markers and reaction to blast. 1) The expression of the front descriptors of environmental variability was evaluated in two periods of cultivation in (Fall-Winter) and outside the recommended period (Winter-Spring) to the culture. The experiment was set up in the field, in a randomized block design with three replications, in which the cultivars were evaluated for stability of 42 descriptors. The delay in the white oat growing season, from Fall-Winter to Winter-Spring, reduced the cycle, modified the morphological expression of most descriptors and changed phenotypic divergences among cultivars. 2) The genetic divergence among cultivars was verified by 47 microsatellite markers. DNA was extracted from young plants, with subsequent PCR amplification, agarose gel electrophoresis and through ethidium bromide

visualization. The number of alleles per locus and the polymorphic information content (PIC) was calculated. The cultivars were grouped by Dice index and the Tocher method, with the formation of three and two groups, respectively. Markers amplified a total of 29 alleles with an average of 1.8 alleles per locus and PIC 0.45. Microsatellite markers were useful in determining the genetic divergence between white oat cultivars. 3) For the analysis of the reaction to blast on leaves, it were used four isolates of *Pyricularia oryzae*. In nine assessments under controlled conditions, it were quantified: the number and expansion of the lesions, severity and area under the disease progress curve. The leaves were histochemically evaluated in pre-inoculation and 48 hours post-inoculation of the fungus to verify the possible effects of the disease on the chemical groups, lipids, lignin, phenols, flavonoids and tannins. Data were submitted to analysis of variance, regression and multivariate analysis. The leaves showed an increase on flavonoids concentration in the fungus post-inoculation. The cultivars presented variability in reaction to the blast. In lower order to higher susceptibility it was observed: URS Taura < UPFA Ouro < IPR Afrodite < FAEM Carlasul < URS Corona.

**Key words:** *Avena sativa* L., histochemistry, microsatellite markers, morphological descriptors, *Pyricularia oryzae* Cav.

## 1 INTRODUÇÃO

A aveia-branca (*Avena sativa* L.) é um dos principais cereais cultivados no mundo, cuja importância está no fato de ser um alimento multifuncional e ter múltiplos usos. É cultivada para produção de grãos, formação de pastagens e para rotação de culturas.

No Brasil, os programas de melhoramento promoveram a valorização da cultura, o que culminou em expressiva geração de conhecimento sobre a aveia. Destaca-se a organização das instituições de ensino e pesquisa em um grupo denominado “Comissão Brasileira de Pesquisa de Aveia (CBPA)”. Com isso, diversas cultivares foram lançadas e os patamares de produção de grãos foram incrementados. A partir da Lei de Proteção de Cultivares (BRASIL, 1997), foi possível a proteção desses materiais, seguindo as diretrizes dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (BRASIL, 2011).

Para que as cultivares candidatas à proteção atendam esses requisitos, a época de semeadura deve seguir as recomendações técnicas (CBPA, 2014), pois a expressão morfológica e fenológica é afetada pelos fatores meteorológicos. Portanto, se o período de cultivo interfere na expressão dos descritores morfológicos, a divergência entre cultivares também pode ser alterada.

Assim, a instabilidade de descritores pode comprometer a descrição de um novo material, o que pode prejudicar o obtentor que descreveu esse material, dificultando ou até fazendo com que os campos de produção de sementes sejam rejeitados. Mesmo frente a esta problemática, pesquisas direcionadas ao estudo da relação entre o

período de cultivo e a morfologia da aveia-branca, com ênfase na avaliação da estabilidade dos descritores, são restritas.

Já, a análise da divergência genética, por meio de marcadores moleculares, é complementar à caracterização morfológica. As técnicas moleculares são, especialmente, importantes para a comprovação da origem genética dos materiais. Os marcadores moleculares tem a vantagem de não serem afetados por fatores ambientais, serem polimórficos e detectarem a vulnerabilidade genética.

O ideal é que as cultivares sejam caracterizadas por marcadores morfológicos, fenológicos e moleculares, e que sejam avaliadas sob diversos aspectos agronômicos, tendo em vista sua ampla utilização e resposta às técnicas de manejo. Nesse sentido, a análise da reação de linhagens e cultivares às doenças fúngicas pode resultar em importantes informações para uso em programas de melhoramento da espécie.

A incidência de doenças fúngicas em aveia-branca é um fator limitante à expressão do potencial genético das cultivares. Dentre as doenças que causam problema à cultura, está a brusone, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* Cav. Portanto, além de auxiliar na caracterização das cultivares, o conhecimento da reação à brusone e, conseqüentemente, o uso de cultivares resistentes, poderá ampliar a opção de rotação de culturas de inverno e diminuir o inóculo do fungo na atmosfera, facilitando as estratégias de gestão da doença (MARANGONI et al., 2013).

O objetivo geral deste trabalho foi verificar a divergência entre cultivares de aveia-branca, com base em descritores

morfológicos, fenológicos, marcadores moleculares e reação à brusone.

Os objetivos específicos foram:

- Verificar se o período de cultivo modifica a expressão morfológica e fenológica e, com isso, a divergência fenotípica de cultivares de aveia-branca.
- Avaliar a estabilidade de expressão dos descritores de *Avena L.* frente o atraso na época de semeadura.
- Verificar o grau de divergência genética entre cultivares de aveia-branca utilizando marcadores microssatélites.
- Avaliar se cultivares de aveia-branca tem distinta reação à brusone.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aveia-branca

#### 2.1.1 Características e importância

A aveia-branca (*Avena sativa* L.) é uma gramínea anual, cespitosa e autógama. A inflorescência é uma panícula piramidal, apresentando espiguetas contendo um grão primário, um secundário e, comumente, um terciário. O sistema radicial é do tipo fasciculado, sendo as raízes fibrosas, o que facilita a penetração no solo (FLOSS, 1988). Geneticamente é uma espécie alohexaploide ( $2n = 6x = 42$  cromossomos), originada a partir da associação de três genomas diplóides ancestrais AA, CC e DD (RINES et al., 2006).

É uma espécie utilizada como alternativa às culturas de inverno e tem evidenciado um crescimento acentuado na área cultivada, principalmente pelo aproveitamento dos grãos para industrialização e comercialização e por produzir uma ótima qualidade de forragem e de palha, o que proporciona boa cobertura do solo (JACOBI & FLECK, 1998; HARTWIG et al., 2007).

Por tais características, a aveia-branca é listada entre as principais culturas de cereais no mundo (NAVA et al., 2010; BOCZKOWSKA & TARCZYK, 2013). O cultivo é mais concentrado em zonas de clima temperado e úmido na América do Norte e Europa (MURPHY & HOFFMAN, 1992).

Na América Latina, o Brasil é um dos principais produtores (NAVA et al., 2010), com área de cultivo que se expande

desde São Paulo, Minas Gerais, até o extremo sul do Rio Grande do Sul (BENIN et al., 2005). Esse cereal ocupa o sétimo e quinto lugar na produção, em nível mundial e nacional, respectivamente (FAO, 2014). A totalidade da produção nacional é obtida na Região Sul do país e o Rio Grande do Sul é responsável por mais da metade da produção brasileira (IBGE, 2015).

Devido à importância e utilização expressiva dessa cultura, os programas de melhoramento genético de aveia têm se dedicado no lançamento de materiais cada vez mais competitivos.

## **2.2 Melhoramento genético da aveia-branca no Brasil**

O melhoramento de plantas é a mais valiosa estratégia para o aumento da produtividade de forma sustentável e ecologicamente equilibrada (BORÉM, 1997). Em um programa de melhoramento genético, é importante que o melhorista conheça o germoplasma disponível (VIERA et al., 2005).

O melhoramento da aveia-branca é voltado para o desenvolvimento de cultivares que tenham excelente qualidade industrial, rendimento de grãos superior às cultivares existentes no mercado, com características morfológicas desejáveis e tolerantes a estresses bióticos e abióticos (HARTWIG et al., 2007).

No Brasil, o melhoramento da aveia é relativamente recente, se comparado com outras culturas. No Rio Grande do Sul, somente no final da década de 70 os programas de melhoramento da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e da Universidade de Passo Fundo começaram produzir suas próprias populações

(BARBOSA NETO et al., 2000). Antes disso, as cultivares utilizadas eram provenientes do Uruguai e da Argentina e apresentavam problemas de adaptação ao ambiente de cultivo (BARBOSA NETO et al., 2000). Posteriormente, foram introduzidos germoplasmas da Universidade de Wisconsin, o que permitiu o lançamento de cultivares melhoradas (FEDERIZZI et al., 1997). Os avanços obtidos possibilitaram aumentos significativos no rendimento da cultura, aliada a boa qualidade do produto (FEDERIZZI et al., 2005).

A grande adaptabilidade da aveia-branca e seus múltiplos propósitos fazem dela uma espécie de extrema importância e em constante crescimento no mercado internacional. Porém, para maximizar seus benefícios e obter lucratividade com a cultura, é necessário o conhecimento dos materiais disponíveis (CASTRO et al., 2012), por meio dos trabalhos de caracterização de germoplasma.

### **2.3 Caracterização de germoplasma vegetal**

Germoplasma é a soma de todo material hereditário de uma espécie (ALLARD, 1960). A melhor forma de valorizar e utilizar o germoplasma é realizando a caracterização do material disponível. Essa atividade é o ponto de partida para que o pesquisador defina quais acessos serão incluídos nas etapas de avaliações agronômicas, onde os materiais são avaliados em experimentos mais elaborados, que permitem a obtenção de informações sobre o desempenho dos genótipos em relação aos principais caracteres de interesse (FRANCO & HIDALGO, 2003). A utilização do germoplasma de uma espécie



depende, em grande parte, da avaliação e caracterização da variabilidade genética contida no mesmo (HOSBINO et al., 2002).

Nos estudos de diversidade genética são utilizados caracteres morfológicos, bioquímicos ou moleculares (CRUZ & REGAZZI, 2004). Essas informações são importantes para o conhecimento da variabilidade das populações e possibilitam o monitoramento de bancos de germoplasma, pois geram informações úteis para preservação, uso e melhoramento dos acessos (CRUZ & CARNEIRO, 2006; BERTAN et al., 2006).

### **2.3.1 Caracterização morfológica**

Dentre os vários marcadores para caracterizar o germoplasma, os descritores morfológicos são fundamentais para fins de proteção das cultivares. É a primeira etapa realizada no germoplasma e consiste em descrever, identificar e diferenciar acessos de uma mesma espécie (BURLE & OLIVEIRA, 2010). As informações obtidas por meio da caracterização morfológica são imprescindíveis para o conhecimento da biologia das plantas e fornecem uma série de informações a respeito da variabilidade genética dos acessos estudados (GUIMARÃES et al., 2007).

A caracterização morfológica é utilizada em nível mundial como forma de avaliar a divergência genética em várias culturas, e, naturalmente, de aveia-branca (DIEDERICHSEN et al., 2008; PREMKUMAR et al., 2015), aveia-preta (SILVEIRA et al., 2010) e em espécies silvestres do gênero (SCHEFFER-BASSO et al., 2012; BOCZKOWSKA & TARCZYK et al., 2013).

A caracterização morfológica é feita com base em observações (variáveis qualitativas) ou mensurações (variáveis quantitativas) de vários caracteres facilmente diferenciáveis a olho nu, denominados de descritores morfológicos (BURLE & OLIVEIRA, 2010) que fornecem parâmetros para diferenciação dos genótipos, além de auxiliar na proteção de cultivares.

### **2.3.2 Descritores morfológicos**

A caracterização morfológica de uma espécie permite o monitoramento da qualidade genética (FRANCO & HIDALGO, 2003) e é o primeiro passo para proteger legalmente uma nova cultivar. Os critérios para utilização dos descritores morfológicos são estabelecidos pela União Internacional para Proteção e Obtenções Vegetais (UPOV) e são utilizados no mundo inteiro.

Um descritor é um atributo mensurável que é observado em acessos dos bancos de germoplasma e utilizado na identificação de cultivares (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). Os descritores são agrupados em listas específicas para cada cultura ou grupo de espécies em particular e são aferidos pelo estado do descritor, ou seja, pelas variações reconhecidas como válidas para aquela característica (SALOMÃO, 2010).

Os descritores podem ser quantitativos ou qualitativos. Os quantitativos são aqueles em que os dados consistem em medidas ou contagens que usam valores numéricos e escalas (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). Já, os descritores qualitativos,

estabelecem padrões por meio de características determinadas visualmente.

Um dos passos necessários para proteger uma cultivar é executar os ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE). É nessa fase que os descritores morfológicos são empregados (BRASIL, 2002). No Brasil, o processo de proteção de cultivares é regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pela Lei de Proteção de Cultivares 9.456/97 (BRASIL, 1997), que foi sancionada com o objetivo de normatizar os direitos dos melhoristas. A lei criou o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares, a quem atribuiu a competência da proteção de cultivares no país. Em *Avena L.*, até 2015 estavam protegidas 23 cultivares de aveias, oriundas de seis obtentores (MAPA, 2015).

A caracterização morfológica é uma maneira prática e barata de caracterizar o germoplasma. Apesar disso, tem suas limitações (HANIF et al., 2008), como por exemplo, a influência dos caracteres, em maior ou menor grau, pelos fatores ambientais. Os descritores qualitativos são controlados por poucos genes, portanto não são modificados em igual proporção aos caracteres quantitativos, que, por sua vez, são controlados por vários genes e conseqüentemente são instáveis e fortemente influenciados pelo ambiente (BERTAN et al., 2004).

Para a caracterização de cultivares é necessário que as informações geradas sejam seguras a respeito dos caracteres. Assim, o conhecimento dos descritores mais estáveis, deve facilitar as interpretações, contribuindo para mensuração mais acurada das variáveis (CRUZ & REGAZZI, 2004).

## **2.4 Interação genótipo x ambiente e seus efeitos na expressão fenotípica**

A expressão das características fenotípicas das plantas é governada por fatores genéticos, pelo efeito do ambiente e pela interação genótipo x ambiente (BENIN et al., 2014). Essa interação representa um desafio para os programas de melhoramento genético. Frente a essa situação, uma das alternativas é a escolha dos caracteres a serem analisados, bem como, de cultivares com ampla adaptação e estabilidade (CRUZ & REGAZZI, 2004; BORÉM & MIRANDA, 2005).

O ambiente é o resultado dos componentes biofísicos que influenciam o desenvolvimento e o crescimento das plantas (SILVA et al., 2011). A adaptabilidade refere-se à capacidade dos genótipos aproveitarem vantajosamente o estímulo do ambiente, enquanto que estabilidade refere-se à capacidade dos genótipos mostrarem um comportamento altamente previsível em função do estímulo ambiental (COSTA et al., 1999).

O sucesso de uma cultivar de aveia-branca lançada no mercado depende do desempenho agrônômico e de sua interação com o ambiente de cultivo (NORNBERG et al., 2014). Dessa forma, a ocorrência da interação genótipo x ambiente (G x E) dificulta a seleção e recomendação de cultivares (SILVA et al., 2011; AHMADI et al., 2012). Portanto, é necessário realizar avaliações mais precisas, a fim de identificar genótipos adaptados (SILVA et al., 2015), bem como identificar os descritores mais estáveis, a fim de priorizá-los no momento da caracterização morfológica.

A aveia-branca possui uma ampla área de cultivo dentro do território brasileiro, sendo uma espécie cujo desempenho é altamente influenciado pelas condições ambientais (BENIN et al., 2005). As plantas necessitam que os índices dos fatores climáticos, especialmente a temperatura e a precipitação pluviométrica, atinjam níveis considerados ótimos, para que o seu potencial genético se expresse ao máximo (FORSTHOFER et al., 2006). A interação G x E ocorre quando há respostas diferenciadas dos genótipos testados em diferentes ambientes ou períodos de cultivo distintos (HOLLAND et al., 2000; LORENCETTI et al., 2004). Tais interações podem causar dificuldade na seleção de genótipos superiores devido às inconstâncias nos diferentes ambientes (EAGLES & FREY, 1977).

A época de semeadura é considerada uma das mais importantes práticas de manejo, pois dependendo do período de cultivo, são alteradas as relações hídricas e as temperaturas disponíveis à cultura ao longo de seu ciclo (SUBEDI et al., 2007). Por isso, existe a época de semeadura recomendada para cultura da aveia (CBPA, 2014), que deve ser respeitada. Essa prática permite a ocorrência das fenofases em condições favoráveis de clima, o que impacta positivamente no desenvolvimento das plantas (PIRES et al., 2009).

Nas regiões de clima subtropical, que ocorrem no Brasil, os fatores ambientais exercem influência na expressão fenotípica das plantas, dependendo da época de semeadura (FORSTHOFER et al., 2006). Cargnin et al. (2006) avaliaram a interação G x E e seus reflexos no progresso genético de linhagens de trigo (*Triticum aestivum* L.) e perceberam que há forte participação dos efeitos de

ambiente, principalmente da época de semeadura, na expressão dos genótipos.

Em aveia-branca, a época de semeadura interfere no rendimento e na fenologia (JEHANGIR et al., 2013), bem como modifica a expressão de caracteres, especialmente, o ciclo vegetativo e a estatura (KHAN et al., 2014; OTEROS et al., 2015). No México, Valle (2009) verificou que a expressão de diversos descritores de *Avena* spp. foi modificada pelo ambiente, quando variedades de aveia-branca foram semeadas em distintos períodos. No entanto, há carência de informações sobre a estabilidade da maioria dos descritores de aveia-branca diante da alteração na época de semeadura.

Como a estimativa de diversidade baseada na morfologia apresenta limitações, decorrentes da influência ambiental (NIKOLOUDAKIS et al., 2015), as fases fenológicas podem auxiliar na caracterização e diferenciação das cultivares. A fenologia das plantas é modulada pelo clima e intimamente governada pela disponibilidade de água e temperatura do ar (OTEROS et al., 2015). Consequentemente, a fenologia também sofre alterações dependendo do período de cultivo e pode alterar a relação de distância genética entre as cultivares. Entretanto, o entendimento do controle genético relacionado à variação fenotípica e características quali-quantitativas é visto como um passo essencial em programas de melhoramento (NAVA et al., 2010).

A compreensão da interação G x E em relação à morfologia é importante para a sobrevivência, adaptação a determinadas condições climáticas e para o sucesso de quaisquer espécies de cultivo (HANIF et al., 2008).

Para disponibilizar informações sobre um germoplasma é necessário conhecimento da diversidade e de vários outros caracteres (ACHTAR et al., 2010). Tradicionalmente, os melhoristas têm utilizado descritores morfológicos para o lançamento de novas cultivares. Ainda que a caracterização de cultivares feita desta forma continue sendo predominante e importante, as limitações deste tipo de descritor têm gerado a necessidade de buscar outras alternativas (MILACH, 1999), como por exemplo, as avaliações moleculares das plantas.

## **2.5 Marcadores moleculares**

As avaliações moleculares são ferramentas úteis e cada vez mais importantes para a eficiência dos programas de melhoramento, por auxiliar na detecção da variabilidade e na diferenciação das cultivares (BRONDANI et al., 2004; BERTAN et al., 2007).

Os marcadores moleculares baseados em DNA são utilizados em estudos populacionais e na análise da diversidade genética (KULEUNG et al., 2004). Esses marcadores possibilitam a obtenção de informações contidas no genoma de um organismo e não são influenciados pela interação G x E (MARIC et al., 2004; VIEIRA et al., 2007).

Apesar dos marcadores moleculares ainda não serem utilizados oficialmente na proteção de cultivares, eles oferecem vantagens em relação aos descritores morfológicos, tais como um elevado nível de polimorfismo, *locus* de especificidade,

codominância, reprodutibilidade, distribuição aleatória e uniforme em todo genoma (KULEUNG et al. 2004). Outra vantagem é que os testes podem ser realizados em plântulas, poupando tempo e mão-de-obra, o que não ocorre na caracterização morfológica, pois os caracteres aplicados para proteção e identificação de cultivares exigem que as variedades sejam avaliadas até a plena maturidade (RODER et al., 2002).

### **2.5.1 Marcadores microssatélites**

Dentre os marcadores moleculares, os microssatélites (*Simple Sequence Repeats* - SSR) podem ser utilizados como uma fonte adicional de informações em aveia (MONTILLA-BASCÓN et al., 2013). Os SSR contêm fragmentos de DNA com repetições em tandem de uma sequência curta de nucleotídeos (2-6) e são amplamente empregados devido à facilidade de utilização em ensaios de reação em cadeia da polimerase (KULEUNG et al., 2004) e por serem confiáveis na identificação de cultivares (WANG et al., 2012).

Esse tipo de marcador molecular tem sido utilizado eficientemente em cevada (HUA et al., 2014), milho (BAWA et al., 2015) e arroz (MOLLA et al., 2015). Para caracterizar e estimar a diversidade genética de 49 genótipos de trigo, Achta et al. (2010), utilizaram 32 marcadores microssatélites e concluíram que foi possível avaliar a diversidade e distinguir os materiais na coleção estudada.

Em espécies silvestres do gênero *Avena* L., Hanif et al. (2008) e Nikoloudakis et al. (2015) avaliaram a diversidade utilizando



dois e dez marcadores SSR, respectivamente. Cabral et al. (2013) conseguiram diferenciar espécies de *A. strigosa* e *A. barbata* utilizando 11 pares de SSR, e detectaram altos níveis de polimorfismo no material estudado. Em aveia-branca há relatos de estudos com marcadores microssatélites, que foram desenvolvidos para avaliar a diversidade genética e diferenciar cultivares (LI et al., 2000; NERSTING et al., 2006; FU et al., 2007; HE & BJORNSTAD, 2012). Montilla-Bascón et al. (2013) avaliaram a divergência genética entre 141 cultivares de aveia-branca utilizando 31 pares de SSR e concluíram que os marcadores foram eficientes na detecção de polimorfismo entre as cultivares.

### **2.5.2 Análise da divergência genética**

Diversas técnicas de biologia molecular estão disponíveis para detecção da diversidade e do polimorfismo genético. Uma delas é a análise do conteúdo de informação polimórfica (*Polymorphic Information Content* - PIC), descrita por Botstein et al. (1980), que indica a qualidade do marcador em estudos genéticos.

As análises de divergência genética e os métodos de agrupamento podem ser utilizados simultaneamente para avaliar as distâncias genéticas dos materiais estudados. O agrupamento procura discriminar geneticamente os indivíduos e, permite separá-los em grupos pela análise de um conjunto de características inerentes a cada indivíduo, agrupando-os por algum critério de classificação (CRUZ & CARNEIRO, 2006), de forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos (CRUZ & REGAZZI, 2004;

BERTAN et al., 2006). Montilla-Bascón et al. (2013) utilizaram o índice de Dice e a análise de agrupamento pelo método UPGMA e conseguiram agrupar 141 cultivares de aveia-branca em quatro grupos principais.

O método de agrupamento de Tocher adota o critério de otimização, minimizando a distância média dentro do grupo e maximizando a distância média entre os grupos (SILVA et al., 2013). Esse método foi utilizado com eficiência por Marchioro et al. (2003), que avaliaram a divergência genética entre 18 genótipos de aveia-branca, o que possibilitou a separação em sete grupos.

Diversos métodos podem ser aplicados no estudo da divergência e a escolha baseia-se na precisão desejada pelo pesquisador, na facilidade da análise e na forma como os dados foram obtidos (BEZERRA NETO et al., 2010). O conhecimento sobre os níveis de variabilidade genética no germoplasma de uma espécie é de grande importância (HOSBINO et al., 2002).

Entretanto, nenhuma análise sozinha pode dar todas as informações necessárias na caracterização de cultivares. É interessante utilizar tanto a caracterização morfológica, quanto a molecular, simultaneamente, a fim de obter conhecimento sobre as diferenças entre os materiais (KHOUFI et al., 2012). Além dessas, existem outros tipos de avaliações que podem contribuir com informações complementares para que se obtenham resultados mais precisos. Nesse sentido, destacam-se as avaliações fitopatológicas.

## 2.6 Avaliações fitopatológicas com ênfase em brusone

As avaliações fitopatológicas servem para tomada de decisão pelos melhoristas e agricultores ao selecionarem o material genético mais adequado, visando minimizar os riscos econômicos. As reações das cultivares a fatores externos, como o ataque de patógenos, podem ser utilizadas como características adicionais aos testes de DHE. As informações de reação a doenças tornaram-se necessárias para acompanhar os avanços do melhoramento genético das plantas (LOVATO, 2011).

As doenças podem limitar a produção de forragem e grãos da aveia-branca (IANNUCCI et al., 2011). Entre estas, está a brusone, que tem se disseminado rapidamente e despertado a atenção dos pesquisadores. Essa doença, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* Cavara (teleomorfa *Magnaporthe oryzae* B. Couch), foi diagnosticada pela primeira vez em arroz, no século XVII, na China (OU, 1972); no Brasil, os primeiros sintomas nessa cultura foram observados em São Paulo, em 1912 (PRABHU et al., 2006). No Brasil, a brusone foi observada na cultura do trigo, em 1985, no Paraná (IGARASHI et al., 1986). Depois disso, a doença se disseminou para vários outros estados e outros países da América do Sul (KOHLLI et al., 2011).

Em seguida, o patógeno se dispersou facilmente em distâncias curtas e longas por meio de inóculo aéreo e sementes infectadas. Uma grande variedade de gramíneas hospedeiras pode proporcionar um reservatório de inóculo primário para *P. oryzae* (MACIEL et al., 2014). Em aveia-preta, graves infecções de brusone foram relatadas no Paraná, em 2005 (MEHTA et al., 2006).

As culturas hospedeiras da brusone sofrem quedas significativas de produtividade devido ao ataque desse patógeno. O método mais importante para o controle da brusone é o uso de genótipos resistentes e há relatos de cultivares de aveia-branca com resistência a esse patógeno (MARANGONI, et al., 2013). Portanto, o conhecimento da resposta dos genótipos de aveia-branca à brusone pode auxiliar os melhoristas no desenvolvimento de cultivares.

### **2.6.1 Morfologia, sintomatologia, ciclo e controle da brusone**

*P. oryzae* apresenta conídios piriformes, lisos com base arredondada e afinando em direção ao ápice (PURCHIO-MUCHOVEJ & MURCHOVEJ, 1994). Os conídios são produzidos isoladamente nos conidióforos e esses são longos, delgados, livres e eretos, geralmente emergindo isolados ou em pequenos grupos através dos estômatos ou cutícula (REIS & CASA, 2005). As dimensões dos conídios variam bastante entre isolados, quando submetidos a diferentes temperaturas bem como nos diferentes hospedeiros (FILIPPI & PRABHU, 2007).

O patógeno causa lesões em toda parte aérea da planta incluindo folhas, bainhas, nós, colmo, pedúnculo, espigas ou panículas e infecta sementes (URASHIMA, 2010), causando manchas geralmente elípticas ou arredondadas, com margem marrom escura e centro acinzentado (CRUZ et al., 2009).

As primeiras etapas do ciclo de vida de *P. oryzae* iniciam quando os conídios produzidos nas lesões são disseminados pelo vento e respingos d'água e caem sobre folhas, espigas ou panículas

(FILIPPI et al., 2006). A partir daí inicia-se os eventos de infecção, que dependem de condições climáticas adequadas, com temperatura e umidade altas (CARDOSO et al., 2008; CRUZ et al., 2009). Após a penetração na cutícula e na parede celular da epiderme, há o crescimento biotrófico; em seguida, são formadas hifas secundárias, que matam a célula do hospedeiro e se proliferam por crescimento necrotrófico, caracterizando-se uma fase hemibiotrófica (RIBOT et al., 2008).

O ciclo da brusone segue os modelos das vias horárias e anti-horárias de infecção propostos por Bergamin Filho (1995), na qual sítios doentes podem gerar novos sítios por meio de infecção dos sítios adjacentes aqueles previamente doentes, assim, o progresso da doença pode ser explicado tanto pelo aumento de novas lesões (via horária) quanto pelo crescimento das lesões existentes (via anti-horária).

Como *P. oryzae* apresenta numerosos hospedeiros secundários, pode colonizar saprofiticamente os substratos de restos culturais e infectar sementes, e a produção de esporos é facilmente transportada, podendo levar o patógeno para longas distâncias (REIS & FORCELINI, 1995).

Medidas de controle, como tratamento de sementes e químico, rotação de culturas, eliminação de plantas voluntárias e de hospedeiros secundários, auxiliam na redução do inóculo de brusone (BEBENDO & PRABHU, 2005). Porém, o uso de cultivares resistentes é o melhor método de controle da doença, tanto pelas vantagens do ponto de vista econômico, quanto ambiental (ROCHA et al., 2014).

## **2.6.2 Avaliação dos componentes de resistência**

### *Número de lesões*

O número de lesões é uma avaliação precisa (ARAÚJO & PRABHU, 2004) e um dos parâmetros indicados para determinação da resistência das plantas (BONMAN, 1992). Com o objetivo de estudar o grau de resistência de genótipos de arroz à brusone, Araújo & Prabhu (2001) avaliaram o número de lesões nas folhas e obtiveram diferenças significativas entre os genótipos.

### *Expansão da lesão*

O processo de expansão de lesão é um importante componente no progresso de epidemias, especialmente quando as condições ambientais são favoráveis à esporulação, dispersão do inóculo e indução de novas infecções (MENEGON et al., 2005). Mediante a expansão das lesões já existentes, o tecido adjacente torna-se imediatamente infeccioso (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

### *Severidade*

A severidade é o atributo mais apropriado para avaliar doenças foliares (AMORIM, 2005), já que indica a porcentagem da área ou volume do tecido doente (sintomas e/ou sinais visíveis) em relação à área total da amostra. É uma avaliação subjetiva, mas expressa o dano real causado pela doença. Para isso, deve-se escolher o órgão da planta a ser avaliado e o método de amostragem.

Para a avaliação podem ser utilizadas chaves descritivas, escalas diagramáticas ou pela análise de imagens via computador ou sensoriamento remoto (AMORIM, 2005). Araújo & Prabhu (2004) obtiveram diferentes níveis de severidade de brusone nas folhas de cultivares de arroz utilizando a escala diagramática de Notteghem (1981). Para Cruz et al. (2010), os dados de severidade causados por brusone em plantas jovens de trigo foram fundamentais para separar os genótipos em diferentes grupos.

A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) é uma variável que integraliza em uma equação as avaliações dos componentes de resistência com o tempo. Estudos de curva do progresso da doença auxiliam na identificação e diferenciação de genótipos (CHAVES et al., 2004) e são características que se mostram estáveis (WILCOXSON, 1981).

#### *Histoquímica na relação patógeno-hospedeiro*

A histoquímica consiste na determinação da natureza das substâncias químicas presentes nos tecidos e da sua localização. Para tanto, cortes histológicos são submetidos a corantes biológicos, que são substâncias incolores ou coradas, orgânicas ou inorgânicas que, ao conferirem cor às estruturas celulares, permitem elucidar a sua natureza e estrutura química (FIGUEIREDO et al., 2007).

Há poucos estudos histoquímicos nas avaliações fitopatológicas de cultivares. No entanto, os resultados destes testes podem servir como auxílio no melhor entendimento da relação patógeno-hospedeiro, auxiliando na localização e identificação de possíveis substâncias químicas liberadas pela planta em forma de

defesa, que poderão ser analisadas, em função da cor observada (SANTOS et al., 2009).

Para compreender a relação patógeno-hospedeiro é necessário estabelecer o conceito de que a doença é o “mau funcionamento” de células e tecidos do hospedeiro, que resulta de sua contínua irritação por um agente patogênico ou fator ambiental, e que conduz ao desenvolvimento de sintomas (KRUGNER, 1997). As plantas possuem fatores de resistência pré-formados que geram reações bioquímicas nas células tornando-se tóxicas ao patógeno ou criam condições adversas para o crescimento do mesmo no interior da planta (PASCHOLATI, 1995).

Compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas são sintetizados com maior frequência quando em situações de estresse e, como consequência, a célula vegetal pode reagir com inúmeras estratégias de defesa, dentre elas as estruturais, ou ainda barreiras bioquímicas (AGRIOS, 2005). Uma vez reconhecida a molécula elicitadora do patógeno pela planta, segue-se uma série de mudanças, num esforço de deter o patógeno, resultando no atraso da infecção (SILVA et al., 2008).

Estudos histoquímicos permitiram verificar que o silício pode reforçar a produção de flavonoides em folhas de plantas de trigo, reduzindo os sintomas de brusone e aumentando a resistência das plantas (SILVA et al., 2015). Em aveia, estudos nesse sentido são escassos e há lacunas no entendimento do patossistema aveia-brusone.

Análises histoquímicas e avaliações relacionadas ao número e expansão da lesão, severidade e progresso de brusone podem auxiliar na caracterização das cultivares de aveia-branca. Além



de obter a caracterização morfológica de cultivares, os programas de melhoramento que adotarem o uso de descritores de DNA e fitopatológicos serão beneficiados com informações adicionais sobre o nível de diversidade e constituição genética do germoplasma existente.

## CAPÍTULO I

### EXPRESSÃO DE DESCRITORES MORFOLÓGICOS E FENOLÓGICOS EM CULTIVARES DE AVEIA-BRANCA EM DISTINTOS PERÍODOS DE CULTIVO

Jossana Santos<sup>1</sup>

**RESUMO** - Descritores morfológicos são caracteres utilizados na seleção, cruzamentos e descrição de genótipos e sua estabilidade frente a alterações ambientais pode determinar o seu valor na etapa de proteção de cultivares. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar se a expressão de descritores morfológicos e, conseqüentemente, a divergência fenotípica entre cultivares de aveia-branca (*Avena sativa* L.) são afetadas pelo período de cultivo. Para isso, cinco cultivares, protegidas e oriundas de quatro obtentores e, aqui, codificadas (G1, G2, G3, G4 e G5), foram semeadas dentro do período recomendado para a cultura no sul do Brasil (outono-hibernal) e fora desse período (hiberno-primaveril), num intervalo de quarenta dias. O experimento foi estabelecido no campo, em blocos casualizados, com três repetições. As cultivares foram avaliadas quanto a 42 descritores (15 quantitativos e 27 qualitativos). A interação genótipo x ambiente foi observada em 28 descritores, a estabilidade de expressão foi maior nos descritores qualitativos (44%),

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF.

quando comparados aos quantitativos (7%). Os descritores qualitativos mais estáveis foram: cor do lema, pilosidade do nó superior, posição da folha-bandeira, pilosidade da base do grão, comprimento dos pelos basais do grão e comprimento da ráquila. O descritor quantitativo mais estável foi comprimento da folha-bandeira. Todas as fases fenológicas tiveram redução no número de dias e o ciclo total (emergência-maturação) reduziu de 113 para 88 dias no cultivo tardio. O atraso no período de cultivo da aveia-branca, de outono-hipernal para hiberno-primaveril, reduz o ciclo da cultura e modifica a expressão da maioria dos descritores morfológicos, alterando a divergência fenotípica entre cultivares.

**Palavras-chave:** *Avena sativa* L., caracterização morfológica, divergência fenotípica, interação genótipo x ambiente.

## **MORPHOLOGICAL AND PHENOLOGICAL DESCRIPTORS EXPRESSION OF WHITE OAT CULTIVARS IN DIFFERENT GROWING PERIODS**

**ABSTRACT** – Morphological descriptors are characters used in the selection, breeding and description of genotypes and their stability against environmental changes can determine its value in the plant variety protection stage. This study was conducted in order to verify whether the expression of morphological traits and, thus, phenotypic divergence between white oat cultivars (*Avena sativa* L.) are affected by the cultivation period. For this, five cultivars, protected and belonging to four breeders and here coded (G1, G2, G3, G4 and G5)

were sown within the period recommended for cultivation in southern Brazil (Fall-Winter) and outside that period (Winter-Spring), a forty-day interval. The experiment was carried out in the field, in a randomized block design with three replications. The cultivars were assessed for 42 descriptors (15 quantitative and 27 qualitative). The genotype x environment interaction was observed in 28 descriptors, stability of expression was higher in qualitative descriptors (44%) when compared to the quantitative (7%). The most stable qualitative descriptors were: lemma color, the top node hairiness, leaf-flag position, and hairiness of grain base, length of basal grain hair and the length of rachilla. The most stable quantitative descriptor was the length of the flag-leaf. All phenological phases had a reduction on the number of days and the total cycle (emergency-maturity) decreased from 113 to 88 days in late cultivation. The delay in the white oat growing season, from Fall-Winter to Winter-Spring, reduces the crop cycle and modifies the expression of most morphological descriptors, changing the phenotypic divergence among cultivars.

**Key words:** *Avena sativa* L., morphological characterization, phenotypic divergence, genotype x environment interaction.

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os cereais mais importantes para alimentação humana e animal está a aveia-branca (*Avena sativa* L.). Por ser uma cultura de múltiplos propósitos e de elevado valor nutricional, a importância econômica desse cereal desafia a pesquisa no que diz respeito ao melhoramento e à proteção de cultivares. Nos programas de melhoramento da cultura, assim como ocorre com outras espécies, a variabilidade do germoplasma é analisada por meio de descritores.

Esses descritores são atributos morfológicos e fenológicos, de caráter qualitativo ou quantitativo. Os caracteres quantitativos são aqueles em que os dados consistem em medidas ou contagens que usam valores numéricos e escalas, ao passo que os descritores qualitativos estabelecem padrões por meio de características determinadas visualmente (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). A escolha dos descritores de determinada espécie vegetal leva em conta as características morfológicas, fisiológicas ou moleculares mais marcantes e possíveis de serem transmitidas a cada geração que a cultivar for multiplicada (BRASIL, 2011).

No Brasil, a escolha dos descritores é de responsabilidade do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), cuja legislação segue os princípios definidos pela convenção da União Internacional para a Proteção das Obtenções Vegetais (UPOV). Para isso, os descritores possuem: a) denominação; b) estado de expressão, que representa a variação nas observações ou medidas e, c) metodologia com que devem ser avaliados (BIOVERSITY INTERNATIONAL, 2007). As listas de descritores são utilizadas,

especialmente, nos programas de melhoramento genético, desde a fase de caracterização e avaliação dos genótipos até a etapa de proteção de cultivares.

Na caracterização e avaliação do germoplasma há a descrição dos descritores qualitativos e quantitativos de acessos de determinado genótipo a fim de diferenciá-los e, assim, determinar sua utilidade, estrutura, variabilidade genética e relação entre eles. A caracterização consiste em verificar a expressão de caracteres altamente herdáveis, que podem ser facilmente visualizados e que são expressos em todos os ambientes, ao passo que na avaliação preliminar há a inclusão de caracteres agrônômicos de interesse à cultura (IBPGR, 1985).

Dessa forma, na caracterização morfológica é fornecida uma série de informações a respeito da variabilidade genética dos materiais (GUIMARÃES et al., 2007), o que é imprescindível para os programas de melhoramento. Além de identificar combinações que possam expressar elevada heterose, isso aumenta a perspectiva de seleção de segregantes superiores, com a potencialização da variabilidade no cruzamento entre genótipos divergentes (BEZERRA NETO et al., 2010). Na etapa final, em que o obtentor submete a nova cultivar à proteção junto aos órgãos governamentais, a lista de descritores deve ser apresentada para o material em questão, de forma a ser comprovada sua distinguibilidade.

O ideal é que os descritores sejam estáveis frente a alterações ambientais, para que haja segurança na determinação do perfil fenotípico dos genótipos. Preferencialmente, caracteres que, em algum grau, sejam afetados pelo ambiente, deveriam ser evitados

(DIEDERICHSEN, 2008). Dentre os fatores que ocasionam variação ambiental está o período de cultivo, uma vez que a cultura é submetida a distintos fatores meteorológicos.

Como a proteção de genótipos está condicionada à descrição morfológica, o período indicado para a cultura assegura respeito às normas para ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) (CBPA, 2014). A semeadura fora da época recomendada pode resultar em fenótipos divergentes para um mesmo genótipo e, conseqüentemente, modificar sua relação com outros genótipos. Isso gera problemas para obtentores, agricultores e, principalmente, para os órgãos de fiscalização.

Em aveia-branca, a época de semeadura interfere no rendimento e na fenologia (FLARESSO et al., 2001; VALÉRIO et al., 2009; JEHANGIR et al., 2013), bem como modifica a expressão de caracteres, especialmente, o ciclo vegetativo e a estatura (VALLE, 2009). No entanto, há carência de informações sobre a estabilidade da maioria dos descritores de *Avena* L. diante da alteração na época de semeadura. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar se a expressão de descritores morfológicos e a divergência fenotípica entre cultivares de aveia-branca são afetadas pelo período de cultivo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Cinco cultivares de aveia-branca, registradas e protegidas, provenientes de quatro obtentores (Tabela 1) e, aqui, aleatoriamente codificadas (G1, G2, G3, G4 e G5) foram avaliadas quanto à expressão de 42 descritores morfofenológicos. O estudo foi conduzido

em 2014, no campo experimental da Universidade de Passo Fundo, a 28°15'S e 52°24'W e 687 m de altitude média, com clima subtropical úmido (Cfa) (MALUF, 2000), em Latossolo vermelho distrófico típico.

Tabela 1 - Cultivares de aveia-branca e seus respectivos obtentores e genealogias

Cultivar	Obtentor	Genealogia
UPFA Ouro	Universidade de Passo Fundo	UPF 16/UFP 18
IPR Afrodite	Instituto Agrônômico do Paraná	CFT 2/ER 88144-1
FAEM Carlasul	Universidade Federal de Pelotas	UFRGS 10/90 SAT -285
URS Corona	Universidade Federal do Rio Grande do Sul	UFRGS 987016-1/ UFRGS 970497-1
URS Taura	Universidade Federal do Rio Grande do Sul	UFRGS 970216-2 / UFRGS 970461

O experimento constou de um bifatorial 5 (cultivar) x 2 (período de cultivo), estabelecido em delineamento de blocos casualizados, com três repetições. As unidades experimentais foram parcelas de 1 m x 5 m, formadas por cinco linhas equidistantes 0,20 m. Os períodos de cultivo, entre semeadura e maturação, foram estabelecidos e denominados como: (1) outono-hipernal (O-H): de 12/06 a 19/09/2014, e (2) hiberno-primaveril (H-P): de 22/07 a 29/10/2014. De acordo com os critérios da Comissão Brasileira de Pesquisa de Aveia (CBPA, 2014), o período O-H correspondeu à recomendação para o cultivo da aveia-branca na Região Sul do Brasil, cuja semeadura deve ocorrer entre maio e junho. Os períodos de cultivo foram caracterizados quanto à temperatura do ar mensal



média, temperatura do solo e precipitação ocorridas durante os experimentos (Tabela 2).

Tabela 2 - Temperatura média do ar (TM), do solo (TS) e precipitação ocorridas durante as fases fenológicas de cultivares de aveia-branca cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P) no sul do Brasil

Fase fenológica	TM (°C)		TS (°C)		Precipitação (mm)	
	O-H	H-P	O-H	H-P	O-H	H-P
Afilhamento	14	15	14	16	260	84
Emborrachamento	14	15	14	16	341	176
Inflorescência	15	16	15	17	547	411
Antese	15	16	15	17	631	423
Grão aquoso	15	16	16	17	735	428
Grão em massa	15	17	16	17	745	558
Maturação	15	17	16	18	771	558
Média mensal	15,1	16,0	15,1	16,8	-	-
Total do período	-	-	-	-	4.030	2.638

Fonte: Estação Meteorológica - Embrapa Trigo (2014).

A semeadura foi mecanizada, na densidade de 300 sementes viáveis/m<sup>2</sup>, e a adubação foi realizada de acordo com recomendação (CBPA, 2014), com base no resultado da análise do solo. Houve controle de plantas daninhas, por meio de capina, e de doenças, mediante duas aplicações de tebuconazol. A avaliação da expressão dos descritores nas cultivares foi realizada de acordo com as instruções para execução dos ensaios de DHE para *Avena L.*, para 42 descritores, dos quais 28 estão no rol do que o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2002) exige para fins de proteção de cultivares desse cereal e estão dentro dos critérios mínimos da UPOV. Houve a inclusão de 14 caracteres (comprimento e largura da folha-bandeira, comprimento de cariopse,

cerosidade da folha-bandeira, gluma e lema, pilosidade de cariopse, ciclo da cultura nas fases de afilhamento, emborrachamento, emborrachamento completo, antese, grão aquoso, grão em massa e maturação). Do total, 15 são quantitativos, que foram avaliados por medidas de comprimento, largura, número ou densidade e 27 são atributos qualitativos, multicategóricos e binários, avaliados subjetivamente e de acordo com as normas. As avaliações ocorreram em estádios fenológicos específicos (ZADOKS et al., 1974).

Os dados quantitativos foram, primeiramente, submetidos à análise da variância, seguido de comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Os dados qualitativos foram submetidos à determinação da moda (SUDRÉ et al., 2006). Com base nos resultados desses procedimentos, foram selecionados os descritores afetados pela interação genótipo x ambiente (G x E) a fim de serem submetidos à análise multivariada e, com isso, verificar a dissimilaridade entre as cultivares nos dois períodos de cultivo. Para os dados quantitativos, foi adotada como medida de dissimilaridade a distância euclidiana média (d), e verificada a contribuição relativa dos caracteres para divergência genética (SINGH, 1981). Com a obtenção da matriz de dissimilaridade quantitativa foram realizadas análises de agrupamento, a fim de estabelecer grupos de cultivares com o mesmo padrão de similaridade por meio de técnicas hierárquicas. Para os dados qualitativos, os dados multicategóricos foram transformados em binários, para que pudesse ser obtida a matriz dos índices de dissimilaridade 3, em que 0-0 é comutado como similaridade e varia de 0-1, e que corresponde à distância euclidiana média (CRUZ & CARNEIRO, 2006). A escolha do método de agrupamento para

elaboração dos dendrogramas foi de acordo com o coeficiente de correlação cofenética. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Genes (CRUZ, 2013).

Para os descritores quantitativos cuja expressão foi alterada pelo atraso na época de semeadura, estabeleceu-se um índice, denominado, aqui, de índice de estabilidade ( $IE_{DQT}$ ), pela fórmula:  $IE_{DQT}: 1 - |(DOH - DHP) / DOH|$ , em que: DOH = valor atribuído ao descritor outono-hipernal e DHP = valor atribuído ao descritor expresso nas cultivares no período hiberno-primaveril. Para os descritores qualitativos, o índice de estabilidade ( $IE_{DQL}$ ) foi obtido por meio da fórmula:  $IE_{DQL}: 1 - |GV / G|$ , em que GV = número de genótipos nos quais o descritor variou com o período de cultivo e G = total de genótipos avaliados. Numa escala de 0 a 1, quanto mais próximo de 1 forem os índices, mais estável é o descritor. Ainda, para os dados qualitativos, foi calculado o índice de estabilidade médio das cultivares ( $IEMC_{DQL}$ ), pela fórmula:  $IEMC_{DQL}: DV / D$ , em que DV = número de descritores variantes e D = número total de descritores afetados pelo período de cultivo.

### 3 RESULTADOS

#### 3.1 Expressão dos descritores

Dos 42 descritores, 12 não foram afetados pelo genótipo (Tabela 3). Assim, as cultivares de aveia-branca foram monomórficas para pilosidade da bainha (ausência), das bordas da lâmina foliar (presença), do nó superior (presença), da gluma (ausência), da base do

grão (presença) e face externa do lema (ausência), posição das espiguetas (decumbentes), orientação das ramificações da panícula (equilaterais), cerosidade do lema (ausência), forma da gluma (pontiguda), casca no grão (presença) e arista (presença). Esses mesmos caracteres, acrescidos do comprimento da folha-bandeira e da cor do lema, não sofreram efeito do ambiente, o que indicou estabilidade em apenas 14, dos 42 descritores, frente à alteração no período de cultivo.

Tabela 3 - Efeito de genótipo (G), ambiente (E) e interação G x E na expressão de 42 descritores morfofenológicos avaliados em cinco cultivares de aveia-branca em dois períodos de cultivo

Descritores	Genótipo	Ambiente	G x E
<i>A) Quantitativos</i>			
1. Comprimento da folha-bandeira	x*	-*	-
2. Comprimento de gluma	x	x	x
3. Comprimento de planta	x	x	x
4. Comprimento de panícula	x	x	x
5. Comprimento de cariopse	x	x	x
6. Densidade da panícula	x	x	x
7. Largura da folha-bandeira	x	x	x
8. Afilhamento	x	x	x
9. Emborrachamento	x	x	x
10. Emborrachamento completo	x	x	x
11. Inflorescência	x	x	x
12. Antese	x	x	x
13. Grão aquoso	x	x	x
14. Grão em massa	x	x	x
15. Maturação	x	x	x
<i>B) Qualitativos</i>			
1. Hábito vegetativo	x	x	x
2. Pilosidade da bainha	-	-	-
3. Pilosidade das bordas da lâmina foliar	-	-	-
4. Intensidade da pilosidade das bordas da lâmina foliar	x	x	x

Tabela 3 – Continuação...

Descritores	Genótipo	Ambiente	G x E
5. Frequência de plantas com folha-bandeira recurvada	x	x	x
6. Cerosidade da folha-bandeira	x	x	x
7. Posição da folha-bandeira	x	x	x
8. Pilosidade do nó superior	-	-	-
9. Intensidade da pilosidade do nó superior	x	x	x
10. Posição das ramificações	-	-	-
11. Orientação das ramificações	-	-	-
12. Posição das espiguetas	x	x	x
13. Cerosidade das glumas	x	x	x
14. Cerosidade do lema	-	-	-
15. Forma de gluma	-	-	-
16. Pilosidade da gluma	-	-	-
17. Casca no grão	-	-	-
18. Pilosidade da base do grão	-	-	-
19. Pilosidade da cariopse	x	x	x
20. Intensidade na pilosidade da base do grão	x	x	x
21. Comprimento dos pelos basais do grão	x	x	x
22. Comprimento da ráquila	x	x	x
23. Cor do lema	x	-	-
24. Pilosidade na face externa do lema	-	-	-
25. Arista (presença/ausência)	-	-	-
26. Tendência ao aristamento	x	x	x
27. Tipo de arista	x	x	x

\*x indica efeito; - indica ausência de efeito.

Os demais (28) descritores foram afetados pelo ambiente, revelando instabilidade na sua expressão frente à variação ambiental, bem como sofreram efeito da interação G x E, indicando que o fenótipo de uma ou mais cultivares foi alterado em resposta ao ambiente. A estabilidade de expressão à modificação no ambiente foi de 7% para os descritores quantitativos, pois apenas um dos 15 caracteres não sofreu efeito ambiental, e de 44% para os qualitativos.

Dentre esses, maior variação foi observada nos descritores vegetativos (66%) em relação aos reprodutivos (44%).

Para a fenologia, o atraso na semeadura encurtou o ciclo da cultura, em todas as fases fenológicas (Tabela 4). Na média de cultivar, houve redução de 27 (grão em massa e grão aquoso), 25 (maturação), 24 (antese), 22 (emborrachamento completo e inflorescência), 10 (emborrachamento) e 6 dias (afilamento), a partir da emergência, com a semeadura tardia. E o ciclo total (emergência-maturação) reduziu de 113 para 88 dias com o atraso no período de cultivo.

Tabela 4 – Expressão e índice de estabilidade de descritores quantitativos ( $IE_{DQT}$ ) fenológicos de aveias-brancas cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P)

Cultivar	Período de cultivo		$IE_{DQT}$
	O-H (12/06 a 19/09/14)	H-P (22/07 a 29/10/14)	
	----- Dias após a emergência-----		
	Afilamento (25-29*)		
G1	30 bA	28 aB	0,93
G2	25 cA	24 bB	0,96
G3	35 aA	24 bB	0,68
G4	30 bA	24 bB	0,80
G5	25 cA	17 cB	0,68
	Emborrachamento (40-45*)		
G1	42 bA	35 aB	0,83
G2	39 cA	32 bB	0,82
G3	46 aA	32 bB	0,70
G4	42 bA	32 bB	0,76
G5	39 cA	27 cB	0,69
	Emborrachamento completo (47-51*)		
G1	60 bA	42 aB	0,70
G2	56 cA	38 bB	0,68
G3	66 aA	38 bB	0,57
G4	60 bA	38 bB	0,63
G5	56 cA	34 cB	0,61

Tabela 4 – Continuação...

Cultivar	Período de cultivo		IE <sub>DQT</sub>
	O-H (12/06 a 19/09/14)	H-P (22/07 a 29/10/14)	
Inflorescência (50-60*)			
G1	86 bA	69 aB	0,80
G2	81 cA	63 bB	0,77
G3	91 aA	63 bB	0,69
G4	86 bA	63 bB	0,73
G5	81 cA	56 cB	0,69
Antese (60-65*)			
G1	95 bA	75 aB	0,79
G2	92 cA	70 bB	0,76
G3	99 aA	70 bB	0,71
G4	95 bA	70 bB	0,74
G5	92 cA	68 cB	0,74
Grão aquoso (70-75*)			
G1	105 bA	78 aB	0,74
G2	102 cA	78 aB	0,76
G3	109 aA	78 aB	0,72
G4	105 bA	78 aB	0,74
G5	102 cA	75 bB	0,74
Grão em massa (80-85*)			
G1	109 bA	82 aB	0,75
G2	107 cA	82 aB	0,76
G3	112 aA	82 aB	0,73
G4	109 bA	82 aB	0,75
G5	107 cA	79 bB	0,73
Maturação (90-92*)			
G1	114 aA	88 nsB	0,77
G2	112 bA	88 B	0,78
G3	114 aA	88 B	0,77
G4	114 aA	88 B	0,77
G5	112 bA	88 B	0,78

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, em cada fase, não diferem pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). \* Escala de Zadoks et al. (1974).

Relativamente ao que ocorreu com o cultivo na época recomendada, o afilamento foi a etapa menos instável (IE= 0,81) e a menor estabilidade ocorreu no emborramento completo (IE= 0,63).

Até o estágio de grão aquoso, os maiores IEs foram verificados na cultivar G1. A partir desse estágio, a cultivar G2 foi a que exibiu menor variação fenológica com o atraso no período de cultivo. Já, a cultivar G3 foi a mais instável, especialmente entre a emergência e o emborrachamento completo.

Quanto aos descritores quantitativos morfológicos afetados pela interação G x E (Tabela 5), verificou-se que, com o cultivo tardio (H-P), a variabilidade entre as cultivares foi menos acentuada.

No período recomendado (O-H) as cultivares diferiram ( $p < 0,01$ ) para comprimento de gluma, planta, panícula e cariopse, largura de folha-bandeira e densidade de panícula, mas no período H-P, elas não mostraram variabilidade entre si para os três últimos.

Na média das cultivares, a maior estabilidade dentre os descritores morfológicos foi para comprimento da gluma (IE= 0,95) e a menor foi para largura da folha-bandeira (IE= 0,82). O IE médio das cultivares, para os caracteres quantitativos morfológicos variou de 0,85 (G1 e G4) a 0,92 (G5).



Tabela 5 - Expressão e índice de estabilidade ( $IE_{DQT}$ ) de descritores quantitativos morfológicos de aveias-brancas cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P)

Cultivar	Período de cultivo		$IE_{DQT}$
	O-H (12/6 a 19/9/14)	H-P (22/7 a 29/10/14)	
Largura da folha-bandeira (mm)			
G1	16 bcA	12 nsB	0,75
G2	14 aA	13 B	0,93
G3	16 abA	13 B	0,81
G4	18 aA	12 B	0,73
G5	14 abA	12 B	0,88
Densidade da panícula (cm/entrenó)			
G1	2,3 bB	3,1 nsA	0,66
G2	3,5 aA	3,1 B	0,89
G3	2,8 bB	3,1 A	0,90
G4	2,6 bB	3,1 A	0,81
G5	3,2 aA	3,3 A	0,97
Comprimento da gluma II (mm)			
G1	20 cB	21 aB	0,93
G2	23 bA	22 aA	0,96
G3	22 bA	22 aA	1,00
G4	26 aA	23 aB	0,89
G5	20 cA	19 bA	0,96
Comprimento da planta (cm)			
G1	111 abA	103 bB	0,93
G2	110 abA	105 abA	0,95
G3	112 abA	112 aA	1,00
G4	117 aA	99 bcB	0,85
G5	105 bA	91 cB	0,87
Comprimento da panícula (cm)			
G1	17 cB	19 bcA	0,90
G2	24 aA	20 abB	0,84
G3	17 cB	21 aA	0,79
G4	16 cB	18 cA	0,94
G5	20 bA	18 cB	0,90
Comprimento da cariopse (mm)			
G1	7,8 bA	8,0 nsA	0,98
G2	9,3 aA	8,4 B	0,91
G3	8,0 bA	8,4 A	0,95
G4	9,4 aA	8,3 B	0,89
G5	7,1 cB	7,8 A	0,91

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ ); ns: não significativo ( $p>0,05$ ).

Em relação aos descritores qualitativos que tiveram variação na sua expressão em resposta ao genótipo e ao ambiente (Tabela 6), observou-se, em ordem decrescente de estabilidade: pilosidade do nó superior, posição da folha-bandeira, pilosidade da base do grão, comprimento dos pelos basais do grão e comprimento da ráquila ( $IE_{DQL} = 0,8$ ) > posição das ramificações ( $IE_{DQL} = 0,6$ ) > hábito vegetativo, tipo de arista, frequência de folha-bandeira recurvada, cerosidade da folha-bandeira e tendência ao aristamento ( $IE_{DQL} = 0,4$ ) > pilosidade da borda da lâmina foliar e da cariopse ( $IE_{DQL} = 0,2$ ) > cerosidade de gluma ( $IE_{DQL} = 0$ ).

Dessa forma, o descritor mais instável foi esse último, no qual todos os genótipos mostraram variação com o atraso na época de semeadura. As cultivares mais estáveis quanto a tais descritores qualitativos foram G2 e G5 ( $IEMC_{DQL} = 0,71$ ), ao passo que G4 mostrou a menor estabilidade ( $IEMC_{DQL} = 0,21$ ).

Tabela 6 - Expressão e índice de estabilidade ( $IE_{DOL}$ ) dos descritores qualitativos e índice de estabilidade médio de cultivares ( $IEMC_{DOL}$ ) de aveia-branca cultivadas nos períodos outono-hipernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P)

Descritor	G1		G2		G3		G4		G5		$IE_{DOL}$
	O-H	H-P	O-H	H-P	O-H	H-P	O-H	H-P	O-H	H-P	
Pilosidade do nó superior	ausente		forte		ausente		média	ausente	fraca		0,80
Posição da folha bandeira	intermediária		intermediária		intermediária		ereta	intermediária	ereta		0,80
Pilosidade da base do grão	ausente ou muito fraca		ausente ou muito fraca		ausente ou muito fraca		ausente ou muito fraca	ausente ou muito fraca	muito fraca	média	0,80
Comprimento dos pelos basais do grão	curto	ausente	ausente		ausente		ausente	ausente	curto		0,80
Comprimento da ráquilla	médio		médio		médio		curto	médio	médio		0,80
Posição das ramificações	horizontal	semiereta	horizontal		horizontal		semiereta	horizontal	horizontal		0,60
Hábito vegetativo	semiereto		intermediário	semiereto	intermediário	semiereto	ereto	semiereto	ereto		0,40
Tipo de arista	ausente	reto e curto	ausente		reto e curto	retorcido	reto e curto	reto e longo	ausente		0,60
Frequência de folha bandeira recurvada	média	baixa	alta	baixa	baixa		muito baixa	baixa	ausente ou muito baixa		0,40
Cerosidade da folha bandeira	fraca	forte	fraca		média	fraca	fraca	fraca	média	fraca	0,40
Tendência ao aristamento	ausente	alta	ausente		baixa	alta	muito fraca	alta	ausente		0,40
Pilosidade da borda da folha	muito fraca	média	muito fraca	forte	muito fraca	fraca	muito fraca	fraca	ausente ou muito fraca		0,20
Pilosidade da cariopse	fraca	média	média		média	fraca	média	fraca	média	fraca	0,20
Cerosidade da gluma	média	muito fraca	fraca	muito fraca	fraca	muito fraca	média	muito fraca	fraca	muito fraca	0,00
$IEMC_{DOL}$	0,36		0,71		0,50		0,21		0,71		

### 3.2 Divergência fenotípica

A divergência fenotípica do conjunto de cultivares, quantificada pela distância euclidiana média ( $d$ ) e pelo coeficiente de similaridade, e ilustrada pelos dendrogramas obtidos pelo método de agrupamento de Ward (Figuras 1 e 2), variou de acordo com o período de cultivo. No entanto, em ambos os períodos, e para os dois tipos de descritores (quantitativos e qualitativos), três grupos foram formados, mostrando a variabilidade fenotípica entre as cultivares escolhidas para este estudo. Nos dois períodos houve variação quanto à contribuição relativa dos caracteres quantitativos para divergência genética (CRDG) (Tabela 7), o que auxiliou na caracterização dos grupos formados.

No período O-H, em que os estádios de inflorescência, afilhamento, emborrachamento completo e comprimento de planta foram aqueles com maior CRDG (Tabela 7), o grupo formado pelas cultivares G1 e G4 teve como principal característica o maior comprimento de planta (114 cm) em relação aos outros dois grupos. O grupo formado pela cultivar G3 caracterizou-se por ser o mais tardio fenologicamente e o outro grupo, composto pelas cultivares G2 e G5, ilustrou a maior precocidade fenológica e o menor comprimento de planta (107 cm) (Figura 1A). A maior dissimilaridade nesse período foi entre as cultivares G2 e G3 ( $d= 0,81$ ) e a menor foi entre G1 e G4 ( $d= 0,37$ ). Por outro lado, no período H-P, os caracteres com maior CRDG foram comprimento de panícula, gluma, cariopse e planta (Tabela 7). No dendrograma (Figura 1B), o grupo que reuniu as cultivares G2 e G3, denotou maior comprimento de planta (108 cm),

panícula, gluma e cariopse. O outro grupo, formado pela G1, ilustrou a cultivar com comportamento mais tardio nas fases entre afilhamento e grão aquoso. Já, o grupo formado pelas cultivares G4 e G5, foi caracterizado pela maior precocidade fenológica e menor comprimento de planta (95 cm) e panícula. A maior dissimilaridade entre pares de cultivares nesse período foi entre G1 e G5 ( $d= 0,76$ ) e a menor foi entre G2 e G3 ( $d= 0,37$ ).

Tabela 7 - Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para divergência genética (SINGH, 1981) de um conjunto de aveias-brancas cultivadas nos períodos outono-hibernal (O-H) e hiberno-primaveril (H-P)

Caractere	Período	
	O-H	H-P
	-----%-----	
Comprimento de gluma	5,02	12,97
Comprimento de planta	13,45	11,29
Comprimento de panícula	8,15	13,36
Comprimento de cariopse	0,79	12,91
Densidade de panícula	0,18	7,10
Largura da folha-bandeira	1,32	0,40
Afilhamento	13,87	13,66
Emborrachamento	6,58	9,62
Emborrachamento completo	13,32	1,28
Inflorescência	19,84	3,49
Antese	6,58	4,68
Grão aquoso	6,58	5,15
Grão em massa	3,33	4,73
Maturação	0,95	0,00

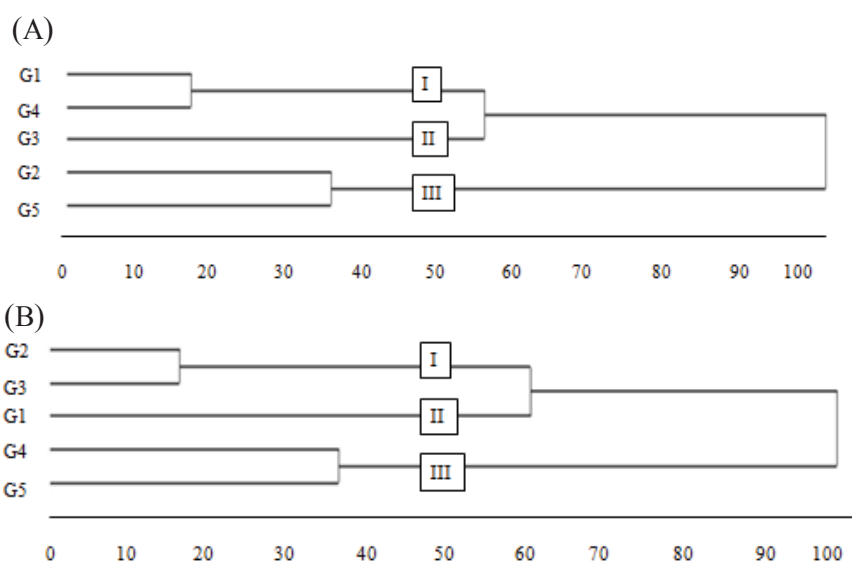


Figura 1 - Dendrograma de dissimilaridade entre cultivares de aveia-branca, cultivadas nos períodos outono-hipernal (A) e hiberno-primaveril (B), obtido pelo método de agrupamento de Ward, com base na matriz euclidiana média com dados quantitativos. No eixo x encontram-se as distâncias genéticas relativas e no eixo y a descrição das cultivares.

Sob aspecto da descrição qualitativa, as relações entre cultivares variaram entre os períodos de cultivo (Figura 2). A ilustração da dissimilaridade fenotípica entre as cultivares para os dados qualitativos mostra que, no período O-H, o grupo formado pelas cultivares G2 e G3, reuniu as plantas com posição intermediária da folha-bandeira, comprimento médio de ráquila e ausência de pelos na base do grão. Outro grupo alocou as cultivares G1 e G5, com pelos curtos na base do grão e, o terceiro grupo, formado pela cultivar G4, destacou-se pelas características de posição ereta de folha-bandeira e comprimento curto da ráquila (Figura 2A). Já, no período H-P, as relações entre as cultivares foram diferentes (Figura 2B). Um grupo

reuniu as cultivares G3 e G4, caracterizando-se pela ausência de pilosidade do nó superior. As cultivares G1 e G2 formaram outro grupo, com plantas com posição intermediária da folha-bandeira e ausência de pelos basais no grão. A cultivar G5 formou um grupo isolado, reunindo plantas com posição ereta da folha-bandeira e pelos curtos na base do grão.

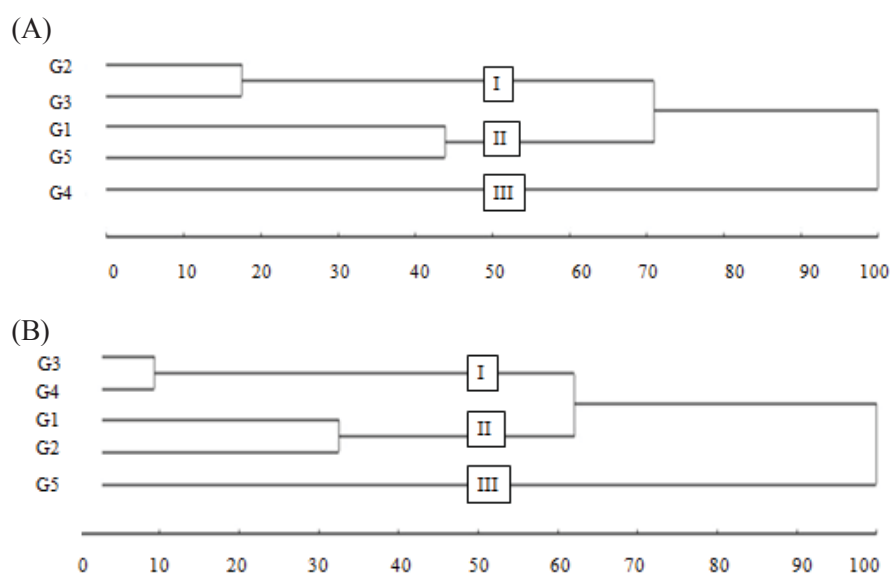


Figura 2 - Dendrograma de dissimilaridade entre cultivares de aveia-branca, cultivadas nos períodos outono-hibernal (A) e hiberno-primaveril (B), obtido pelo método de agrupamento de Ward, com base na matriz euclidiana média com dados qualitativos. No eixo x encontram-se as distâncias relativas e no eixo y a descrição das cultivares.

#### 4 DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação da expressão de descritores morfológicos de *Avena* L. mostraram que o cultivo em distintos

períodos afetou quase a totalidade dos caracteres quantitativos e, em menor proporção, os caracteres qualitativos. É fato que a interação G x E, ao alterar a expressão de um descritor de dois ou mais genótipos, avaliados em dois ou mais ambientes (BOWMAN, 1972), interfere nas relações entre eles. Neste estudo, a alteração em medidas ou estados dos descritores afetou a relação entre as cultivares, reduzindo ou aumentando a divergência entre elas. As avaliações com descritores são eficientes na compreensão da ciência (DIEDERICHSEN, 2009) e, no presente trabalho, o ensaio de DHE foi eficaz para verificar as diferenças entre os genótipos e analisar a confiabilidade dos descritores morfofenológicos.

A variação ambiental à qual foram submetidas as cultivares foi obtida mediante a semeadura em duas datas, num intervalo de quarenta dias, o que se mostrou adequado para estabelecer diferentes condições térmicas e pluviométricas. No período hiberno-primaveril (H-P) as temperaturas médias do ar e do solo foram mais elevadas e a precipitação pluviométrica foi menor em relação ao período outono-hipernal (O-H) (Tabela 1). A época de semeadura é uma das mais importantes práticas de manejo das culturas exatamente porque culmina em relações hídricas e temperaturas variáveis (SUBEDI et al., 2007).

Os fatores meteorológicos vigentes em cada período alteraram a expressão dos descritores (Tabelas 4, 5 e 6) e, conseqüentemente, a morfofenologia das cultivares, em diferentes grandezas. Isso estabeleceu distintas relações de divergência entre elas, de acordo com a época em que foram cultivadas (Figuras 1 e 2).



Para a caracterização de germoplasma vegetal, o ideal é que os descritores tenham capacidade de discriminar os acessos, a fim de evidenciar a variabilidade genotípica e, com isso, subsidiar as etapas de seleção e cruzamento em programas de melhoramento genético. Porém, a confiabilidade do descritor decorre da maior ou menor interferência do ambiente na sua expressão. Preferencialmente, caracteres que, em algum grau, sejam afetados pelo ambiente, deveriam ser evitados (DIEDERICHSEN, 2008). Em geral, caracteres das estruturas reprodutivas (flores, inflorescências, frutos e sementes) são considerados mais confiáveis, em virtude de permanecerem menor tempo sob efeito ambiental (SQUEO et al., 1999; LARCHER, 2000).

Neste estudo observou-se desde a inefetividade de 12 descritores para mostrar a variabilidade no germoplasma, já que não foram afetados pelo genótipo, até a efetividade + confiabilidade de dois descritores (comprimento da folha-bandeira e cor do lema), uma vez que foram afetados pelo genótipo, mas não sofreram efeito ambiental (Tabela 3). A característica mais óbvia em aveia-branca é a cor do lema (COFFMAN, 1964). No presente trabalho houve total estabilidade desse descritor frente à variação no período de cultivo, demonstrando que é um descritor estável, conforme verificado por Boczkowska & Tarczyk (2013).

O comprimento da folha-bandeira, característica que ainda não está presente no rol dos descritores de *Avena L.* (BRASIL, 2002), também demonstrou estabilidade frente à variação ambiental. No entanto, o fato de que essa característica é dependente da adubação nitrogenada (SONEGO et al., 1999) remete à observância do manejo da adubação nos testes de DHE. Em milho (*Zea mays L.*), o

comprimento da lâmina foliar faz parte da lista de descritores mínimos para proteção de híbridos (BRASIL, 1997).

Daqueles que tiveram valor para diferenciar as cultivares, verificou-se um gradiente de estabilidade (Tabelas 4, 5 e 6) frente ao ambiente, o que pode subsidiar na determinação de valor para a etapa de proteção junto aos órgãos governamentais. Dentre os descritores, destacam-se aqueles relativos à fenologia da planta. O período de cultivo em que as cultivares atingiram os requisitos de diferenciação, homogeneidade e estabilidade recomendados pelo MAPA (BRASIL, 2011) foi o outono-hipernal. No período H-P houve encurtamento nas fases fenológicas e, a partir de grão aquoso, as cultivares não mostraram diferença entre si.

Sabe-se que a aveia desenvolve-se melhor quando recebe, antes do florescimento, temperaturas médias do ar relativamente baixas (LOCATELLI et al., 2008; CASTRO et al., 2012; NAVEED et al., 2015), de 15 a 20 °C, como ocorreu no período O-H (Tabela 2). No entanto, o intervalo de tempo entre a semeadura e a maturação é dependente da cultivar, temperatura e fotoperíodo (BROUWER & FLOOD, 1995), de forma que cultivares semeadas no outono tendem a ter ciclo mais longo do que aquelas cultivadas na primavera (SONEGO, 2000).

Aliado às altas temperaturas, plantas sujeitas à baixa precipitação, além de acelerar o ciclo, têm como consequência o rápido amadurecimento dos grãos (CASTRO et al., 2012), como ocorreu no período H-P (Tabela 2). Verificou-se que, além de tais condições, a temperatura do solo elevou, de 15 a 17 °C, com o atraso no período de cultivo (Tabela 2), o que também pode ter influenciado

na fenologia das cultivares, uma vez que tal fator pode influenciar no crescimento e o desenvolvimento vegetal (MOTA, 1989). Em milho, para cada 1 °C de aumento da temperatura do solo, Berlato et al. (1984) observaram redução de meio dia na duração do período sementeira até emergência. Quando o meristema apical está abaixo da superfície, a temperatura do solo é o principal fator determinante do desenvolvimento e após esse estágio, a temperatura do ar é o principal fator que influencia a fenologia e o desenvolvimento das plantas (STONE et al., 1999).

No período O-H as cultivares levaram, em média, 113 dias para concluir o ciclo emergência-maturação, mas no período H-P houve redução de 25 dias no ciclo total. O ciclo é uma característica determinante para diferenciar cultivares e importante no processo de proteção. Essa característica é inerente ao genótipo (MENEZES et al., 2011), mas podem ocorrer variações devido à época de sementeira e condições climáticas (FONSECA et al., 2008). As plantas de aveia caracterizam-se por serem de dias longos e, por isso, noites curtas promovem o florescimento antecipado (LOCATELLI et al., 2008), como foi observado, aqui, no período H-P. Oteros et al. (2015), na Espanha, relataram que, em 26 anos de observação, houve encurtamento das fases fenológicas com o cultivo de aveia-branca na primavera, que reduziram a fase de floração em um dia/ano, decorrente do aumento da temperatura.

O atraso no período de cultivo alterou a expressão de 28 descritores morfológicos das cultivares de aveia-branca, dos quais 14 são quantitativos e 14 são qualitativos, ou seja, 67% do total dos caracteres avaliados sofreram interação G x E. As avaliações dos

descritores qualitativos são subjetivas, quando comparados com os descritores quantitativos, nos quais medições absolutas são realizadas (DIEDERICHSEN, 2009). Por outro lado, os descritores qualitativos são mais confiáveis do que os quantitativos, pelo fato desses serem controlados por muitos genes e, conseqüentemente, afetados pelos fatores ambientais (MARTINELLO et al., 2001).

Dentre os descritores que sofreram efeito ambiental, a maioria dos genótipos (60%) teve comprimento de panícula menor no período O-H em relação ao período H-P. Essa característica é procurada no melhoramento de aveia-branca, pois a redução na inflorescência determina maior número de grãos aumentando o rendimento (CARVALHO & FEDERIZZI, 1989). Porém, como foi verificado neste estudo, tal descritor, por ser influenciado pelo ambiente, dificilmente seria decisivo para diferenciação de genótipos (BONOW et al., 2007).

Já, a densidade da panícula, calculada pela medida do comprimento da ráquis dividida pelo número de entrenós, exceto no genótipo G3, foi maior com o atraso do período de cultivo. Tal fato pode ter sido, em parte, da diminuição na pluviosidade no período H-P (Tabela 2), já que o crescimento dos entrenós é afetado pelo déficit hídrico, tanto na divisão como no alongamento celular (MACHADO et al., 2009).

As cultivares reduziram, em geral, 10 cm, quando cultivadas fora do período recomendado (Tabela 5) e passaram, de acordo com classificação do MAPA, da altura longa (111 cm) para média (101 cm) com o atraso na semeadura. O estresse hídrico que ocorre durante o estágio vegetativo reduz a altura das plantas

(ÇAKIR, 2004), por ser uma característica controlada por vários genes, é fortemente influenciada pela ação do ambiente (BERTAN et al., 2004), como foi verificado em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) (SILVA et al., 2008; MACHADO et al., 2009).

Na divergência fenotípica, a relação entre os genótipos foi alterada quando o período de cultivo foi atrasado, tanto nos descritores quantitativos, como nos qualitativos (Figuras 1 e 2). Uma cultivar caracterizada fora da época recomendada pode ter seu perfil fenotípico mascarado em várias características, como foi observado no presente trabalho. Os resultados deste estudo mostram a importância de compreender os efeitos da interação G x E, ressaltando que, dependendo da época de semeadura, a confiabilidade dos descritores morfofenológicos, bem como a similaridade genética entre os genótipos pode ser alterada.

## 5 CONCLUSÕES

O atraso no período de cultivo da aveia-branca, de outono-hipernal para hiberno-primaveril, reduz o ciclo da cultura e modifica a expressão da maioria dos descritores morfológicos, alterando a divergência fenotípica entre cultivares. Os descritores mais estáveis são cor do lema e comprimento da folha-bandeira.

## CAPÍTULO II

### DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE CULTIVARES DE AVEIA-BRANCA POR MEIO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

Jossana Santos<sup>1</sup>

**RESUMO** – Aveia-branca (*Avena sativa* L.), cereal usado mundialmente na alimentação humana e animal, é uma das espécies mais importantes do gênero *Avena* L. Caracteriza-se por ser alohexaploide e com constituição de genoma AACCCDD. Para os programas de melhoramento genético é essencial conhecer as diferenças entre as cultivares disponíveis no mercado e, nesse sentido, a avaliação molecular tem sido muito utilizada. Os marcadores moleculares do tipo microssatélites (*Simple Sequence Repeats* - SSR) são uma excelente técnica para analisar as diferenças genéticas entre cultivares. O trabalho teve como objetivo avaliar a divergência genética entre cultivares de aveia-branca por meio de marcadores microssatélites. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo, onde foram analisadas cinco cultivares de aveia-branca, utilizando 47 SSR desenvolvidos para *A. sativa*. O DNA foi extraído de plantas jovens pelo método CTAB, com posterior amplificação em PCR e eletroforese em gel de agarose, sendo a visualização via brometo de etídeo. Foi calculado o número de

---

<sup>1</sup>Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF.

alelos por *locus* e o conteúdo de informação polimórfica. As cultivares foram agrupadas pelo índice de Dice e pelo método de otimização Tocher, as análises foram realizadas pelo programa Genes. Os marcadores SSR amplificaram um total de 29 alelos, com uma média de 1,8 alelos por *locus* e conteúdo de informação polimórfica de 0,45. O agrupamento gerado pelo índice de Dice e método UPGMA apresentou a formação de três grupos, e pelo método de Tocher, ocorreu a formação de dois grupos. Os SSR são úteis na determinação da divergência genética entre cultivares de aveia-branca. A dissimilaridade entre as cultivares varia de 25 a 66%. UPFA Ouro é a mais divergente entre as cultivares estudadas.

**Palavras-chave:** *Avena sativa* L., dissimilaridade genética, marcadores moleculares.

#### **GENETIC DIVERGENCE AMONG WHITE OAT CULTIVARS USING MICROSATELLITE MARKERS**

**ABSTRACT** – White oat (*Avena sativa* L.), a worldwide used cereal for human and animal consumption, is one of the most important species of the genus *Avena* L. It is characterized by being alohexaploide and AACCCDD genome constitution. For breeding programs it is essential to know the differences between the varieties available in the market and, accordingly, the molecular assessment has been widely used. Microsatellites molecular markers (Simple Sequence Repeats - SSR) are an excellent technique for analyzing the genetic differences between cultivars. The study aimed to assess the

genetic divergence between white oat cultivars using microsatellite markers. The research was conducted at the Biotechnology Laboratory of Embrapa Wheat, where five white oat cultivars were analyzed using 47 SSR developed for *A. sativa*. DNA was extracted from young plants through the CTAB method, with subsequent PCR amplification, agarose gel electrophoresis and through ethidium bromide visualization. The number of alleles per locus and the polymorphic information content were calculated. The cultivars were grouped by Dice index and the Tocher optimization method, the analysis were performed by the Genes program. The SSR amplified a total of 29 alleles, with an average of 1.8 polymorphic alleles per locus and information content of 0.45. The group generated by Dice index and UPGMA method showed the formation of three groups, and the Tocher method, the formation of two. SSR are useful in determining the genetic divergence among white oat cultivars. The dissimilarity among cultivars ranges from 25 to 66%. UPFA Ouro is the most divergent among the cultivars.

**Key words:** *Avena sativa* L., genetic dissimilarity, molecular markers.



## 1 INTRODUÇÃO

A aveia-branca (*Avena sativa* L.) é um cereal usado no mundo inteiro para a alimentação humana e animal (ACHLEITNER et al., 2008). É uma espécie muito importante e a mais estudada do gênero *Avena*, caracteriza-se por ser alohexaploide  $2n = 6x = 42$  cromossomos, com constituição de genoma AACDD (CHAFFIN et al., 2016).

Em um programa de melhoramento genético é fundamental que o melhorista conheça o germoplasma disponível (VIEIRA et al., 2005). O conhecimento de diferenças em constituições genéticas dentro de grupos ou entre grupos de genótipos, assim como, a quantificação dessa dissimilaridade genética, têm sido importantes parâmetros estimados pelos pesquisadores (BENIN et al., 2003; MARCHIORO et al., 2003).

Estudos de dissimilaridade propiciam informações acerca do grau de semelhança ou de diferença entre dois ou mais genótipos (VASCONCELOS et al., 2007). O ideal é que os genitores tenham ampla divergência genética entre si (BENIN et al., 2003), aumentando assim, as chances de obtenção de genótipos superiores em gerações posteriores (FRANCO et al., 2001; CRUZ & CARNEIRO, 2006).

Essa divergência genética reflete na sobrevivência, adaptação a determinadas condições climáticas e na melhoria de qualquer espécie de cultivo (KHAN et al., 2010) e, é essencial para o sucesso na criação de novas cultivares (MARIC et al., 2004).

Anteriormente ao advento do emprego dos marcadores moleculares, a descrição morfológica era utilizada como a única fonte

de informações sobre as diferenças genéticas. Entretanto, os estudos de diversidade baseados na análise molecular, têm se caracterizado como uma eficiente fonte adicional de informações (VIEIRA et al., 2005; BOCZKOWSKA et al., 2014).

O elevado nível de resolução genética e a confiabilidade obtida por meio da análise com marcadores moleculares possibilitam a discriminação, até mesmo, entre variedades com base genética estreita, o que é comum entre variedades comerciais (BORÉM & MIRANDA, 2005).

Em relação aos caracteres fenotípicos, os marcadores moleculares apresentam a vantagem de não sofrerem influência do ambiente, pois detectam variações de sequências de DNA entre as cultivares e, portanto, ignoram os problemas diretamente ligados com efeitos ambientais (MARIC et al., 2004).

Marcadores moleculares do tipo microssatélite (*Simple Sequence Repeats* - SSR) são muito utilizados na exploração dos recursos genéticos (HOSBINO et al., 2002; VARSHNEY et al., 2005; BOCZKOWSKA & TARCZYK, 2013). A análise com microssatélites é realizada por meio da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizando oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) complementares (18 a 25 bases) às regiões que os flanqueiam (HOSBINO et al., 2002). Várias coleções de aveia por todo mundo foram descritas com marcadores microssatélites (LI et al., 2000; HANIF et al., 2008; BOCZKOWSKA & TARCZYK, 2013; NIKOLOUDAKIS et al., 2015; DUMLUPINAR et al., 2016).

A divergência genética pode ser avaliada de diferentes formas e a comparação dos diferentes métodos, para estimá-la, tem

sido útil no melhoramento de plantas (ALMANZA-PINZÓN et al., 2003). Pode-se utilizar uma ampla gama de metodologias para complementar os resultados obtidos e propiciar subsídios para utilização prática das informações (BENIN et al., 2009).

Na análise dos dados moleculares, as técnicas de agrupamento têm como objetivo agrupar os indivíduos em classes distintas e, pelas diferentes formas de definir a proximidade entre um indivíduo e um grupo já formado, ou entre dois grupos quaisquer (VASCONCELOS et al., 2007). Há vários métodos de agrupamento, sendo os índices e os métodos de otimização os mais utilizados na análise de dissimilaridade. O índice de Dice possibilita analisar a dissimilaridade entre as variedades. Nos métodos de otimização, por sua vez, os grupos são estabelecidos otimizando-se determinado critério de agrupamento, e difere dos outros métodos pelo fato de os grupos formados serem mutuamente exclusivos (CRUZ & CARNEIRO, 2006).

Independente do método utilizado, as informações obtidas por meio das análises moleculares, são imprescindíveis para o conhecimento da diversidade genética, portanto devem ser divulgadas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a divergência genética entre cultivares de aveia-branca, de distintos obtentores, utilizando marcadores microssatélites.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas cinco cultivares de aveia-branca provenientes de diferentes instituições brasileiras de pesquisa de aveia (Tabela 1). O ensaio foi conduzido em 2015, no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo - Passo Fundo, RS.

Tabela 1 - Cultivares de aveia-branca e seus respectivos obtentores e genealogias

Cultivar	Obtentor	Genealogia
UPFA Ouro	Universidade de Passo Fundo	UPF 16/UFP 18
IPR Afrodite	Instituto Agrônômico do Paraná	CFT 2/ER 88144-1
FAEM		
Carlasul	Universidade Federal de Pelotas	UFRGS 10/90 SAT -285
URS Corona	Universidade Federal do Rio Grande do Sul	UFRGS 987016-1/ UFRGS 970497-1
URS Taura	Universidade Federal do Rio Grande do Sul	UFRGS 970216-2 / UFRGS 970461

### 2.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi baseada em Doyle & Doyle (1987) e realizada em folhas de plantas jovens (afilhamento), as quais foram maceradas separadamente em nitrogênio líquido. Para a extração, utilizou-se 700 µL de tampão CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) pré-aquecido e adicionado às amostras. Estas foram incubadas a 65 °C em banho-maria por 60 minutos, invertendo os tubos, a cada 10 min, seguidas de resfriamento em temperatura ambiente por 5 min. Após, foram utilizados 450 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1),

invertido por 10 min, seguida de centrifugação a 10.000 rpm por 10 min. Para precipitar o DNA, foi retirado o sobrenadante (aproximadamente 700  $\mu\text{L}$ ) para novos tubos e adicionados 550  $\mu\text{L}$  de isopropanol, incubando-se por no mínimo 30 min a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante foi retirado e o *pellet* lavado com 600  $\mu\text{L}$  de etanol 96 % deixando secar em temperatura ambiente. Para a ressuspensão do *pellet*, foi utilizado o tampão TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM) 100  $\mu\text{L}$  e adicionado 0,3  $\mu\text{L}$  de RNase (10 mg/mL), misturando-se e incubando-se por 1 h a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . As amostras foram quantificadas, diluídas e armazenadas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso.

## 2.2 Marcadores moleculares

As análises moleculares foram realizadas por meio de marcadores microssatélites desenvolvidos para a espécie e descritos por Li et al. (2000) (Apêndice 1). Inicialmente, as cultivares foram avaliadas individualmente, para verificar a pureza genética. Nesse caso foram analisadas 19 plantas de cada cultivar, que foram testadas com cinco pares de *primers*.

Após a análise individual, a estratégia empregada foi a de formação de *bulks*, visando à otimização dos resultados (MICHELMORE et al., 1991). Para a formação dos *bulks*, foi escolhido o DNA de dez plantas de cada cultivar. Foram aliquoteados os DNAs individualmente e posteriormente mantidos juntos em um tubo do tipo eppendorf. A concentração final do DNA nos *bulks* foi de  $25\text{ ng}/\mu\text{l}^{-1}$ . Para as análises de divergência genética foram utilizados 47 marcadores microssatélites (LI et al., 2000).

### 2.3 Amplificação de DNA via PCR

As amplificações foram realizadas pela técnica de PCR. Utilizou-se 15  $\mu$ L de solução contendo: 50 ng de DNA, 0,75 U de Taq polimerase, 0,2  $\mu$ M de cada primer (forward e reverse), 1x de tampão de reação TE, 2,5 mM de  $MgCl_2$ . As reações foram conduzidas em termociclador GeneAmpThermal Cycler 9700 (Applied Biosystems - ABI) com a seguinte programação: um ciclo a 95 °C por 3 min; 10 ciclos de 94 °C por 30 s, 60 °C por 30 s e 72 °C por 30 s (decrecendo 1 °C por ciclo até 50 °C); 25 ciclos de 94 °C por 30 s, 50 °C por 30 s, 72 °C por 30 s e um ciclo de 72 °C por 15 min. Os produtos da amplificação foram identificados em gel de agarose 2 % e o marcador DNA Ladder empregado foi de 100 pb, a uma voltagem de 120 V, por duas horas, e visualizados via brometo de etídeo, em fotodocumentador digital GelDoc XR (Bio-Rad).

### 2.4 Divergência genética e métodos de agrupamento

Os fragmentos amplificados pelos marcadores foram classificados como presente (1) e ausente (0). Foi calculado o número de alelos por *locus*. Os alelos amplificados foram identificados de acordo com o peso molecular das bandas geradas. O conteúdo de informação de polimorfismo (*Polymorphism Information Content* - PIC) dos marcadores foi calculado por meio da equação:  $PIC = 1 - \sum p_{ij}^2$ , onde  $p_{ij}^2$  é a frequência ao quadrado do alelo  $j$  para o *locus*  $i$ , cobrindo todos alelos por *locus* (NEI, 1973).

Foram utilizados dois métodos de agrupamento para estimar a divergência genética entre as cultivares: 1) Índice de Dice (1945), em que as análises foram baseadas na matriz de dissimilaridade e pelo método de agrupamento hierárquico de médias aritméticas não ponderadas (UPGMA). Para este índice, foi gerado um dendrograma, sendo estipulado 0,50 como ponto de corte; 2) Método de otimização de Tocher (RAO, 1952), o qual utiliza as estimativas de distâncias que envolvem cada um dos genótipos em agrupamento. Por esse método, não há formação de dendrograma. Os dados foram analisados, utilizando os recursos computacionais do programa Genes (CRUZ, 2013).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1 Divergência genética**

Os resultados da divergência genética mostraram que há variabilidade entre as cultivares estudadas, o que é muito importante para os programas de melhoramento. Portanto, os marcadores microssatélites foram eficientes na detecção da divergência genética. Esses marcadores têm sido muito utilizados para a caracterização de várias espécies devido suas vantagens em relação a outros marcadores, principalmente por serem codominantes e cobrirem todo genoma (KALIA et al., 2011).

Dos 47 SSR utilizados, 19 (40%) foram monomórficos, 16 (34%) apresentaram polimorfismo e 12 (25%) não amplificaram fragmentos. O número total de alelos obtido foi de 29, com média de

1,8 alelos por *primer* (Tabela 2). Os *primers* AM6, AM12, AM15, AM18, AM19, AM20, AM21, AM25, AM26, AM28, AM29, AM39, AM40, AM42, AM45, AM47, AM50, AM58, AM61 foram monomórficos para todas as cultivares. Onze *primers* amplificaram dois alelos, sendo que o maior número de alelos (3) foi identificado no *primer* AM7. O tamanho das bandas amplificadas ficou entre 100 e 290 pares de base (Figura 1).

Tabela 2 - Número de alelos por *locus*, variação de fragmentos e PIC (*Polymorphism Information Content*) para marcadores microssatélites examinados em cultivares de aveia-branca

Marcador	Número de alelos	Variação fragmentos	PIC
AM3	2	250 – 290	0,48
AM4	2	100 – 130	0,48
AM5	2	150 – 180	0,50
AM7	3	100 – 150	0,61
AM9	2	150 – 180	0,48
AM14	2	130 – 150	0,32
AM22	2	120 – 150	0,45
AM31	2	150 – 180	0,41
AM38	2	160 – 180	0,41
AM41	2	190 – 200	0,32
AM43	2	150 – 180	0,50
AM46	2	110 – 140	0,50



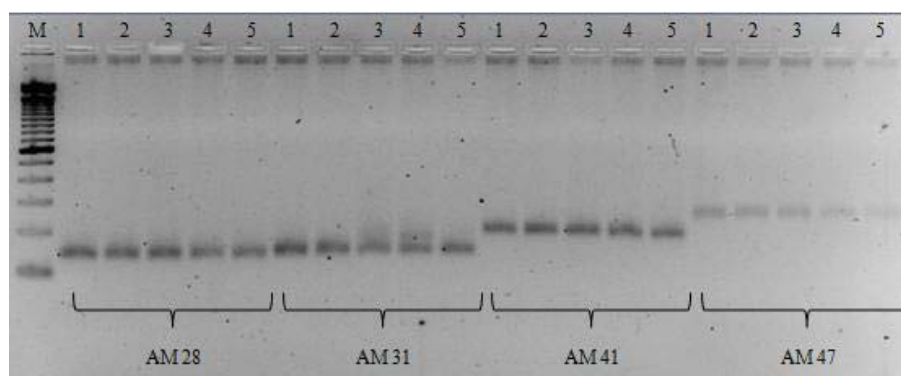


Figura 1 - Padrão eletroforético obtido em gel de agarose, de cultivares de aveia-branca, utilizando marcadores microssatélites. M: Marcador de DNA Ladder 100 pb; 1: IPR Afrodite; 2: URS Corona; 3: FAEM Carlasul; 4: UPFA Ouro; 5: URS Taura.

As diferenças entre os genótipos foram determinadas basicamente em função da frequência de bandas e não da presença ou ausência de bandas específicas. Porém, deve-se considerar que bandas específicas observadas em certas cultivares, a partir de alguns iniciadores (Figura 1), podem ser úteis na diferenciação de cultivares.

O valor de PIC é o indicador da capacidade informativa de um marcador em estudos genéticos. Segundo a classificação de Botstein et al. (1980), marcadores com valor de PIC superiores a 0,5 são considerados muito informativos, com valores entre 0,25 e 0,50 informativos medianamente, e com valores inferiores a 0,25, pouco informativos. Para o presente estudo, o PIC dos marcadores microssatélites teve valor médio de 0,45. O *primer* AM7 teve valor de PIC= 0,61 caracterizando-se como um marcador muito informativo (Tabela 2). Ressalta-se que do total de 47 SSR avaliados, apenas 12 foram considerados como marcadores polimórficos. Entretanto, o PIC variou de 0,32 a 0,61, valores considerados medianamente a muito

informativos, respectivamente, podendo ser úteis no melhoramento genético da espécie.

Em um estudo de diversidade genética, Sharma et al. (2016) utilizaram 21 marcadores ISSR para diferenciar 38 cultivares de aveia-branca e obtiveram valor de PIC= 0,15. Montilla-Bascón et al. (2013), trabalhando com aveias silvestres, relataram alto valor de PIC= 0,80 com 31 marcadores SSR, enquanto Boczkowska & Tarczyk (2013) indicaram um valor de PIC= 0,45 com 143 ISSR em aveia-branca.

Com objetivo de avaliar a diversidade genética em dez genótipos de aveias silvestres, Hanif et al. (2008), utilizando dois marcadores SSR, obtiveram um total de 12 alelos amplificados com média de 1,2 alelos por genótipo, tamanho de fragmentos com média de duzentos e cinquenta (250) pares de base e a distância máxima entre os genótipos foi de 50%. Sood et al. (2014) estimaram a diversidade genética de *Avena* spp., utilizando dez marcadores SSR. Foram geradas 25 bandas polimórficas com média de duas bandas por *primer* e 100% de polimorfismo. Os trabalhos indicam, portanto, que é possível avaliar a divergência genética entre genótipos, mesmo utilizando poucos marcadores moleculares.

Embora exista divergência genética entre as cultivares aqui estudadas, os materiais apresentaram elevada similaridade. Li et al. (2000) analisando vinte cultivares de aveia-branca, com marcadores SSR, obtiveram 36% de polimorfismo, valor similar ao detectado no presente trabalho (34%). Já, em espécies silvestres de *Avena* L., os constataram 72% de polimorfismo. Isso pode ser explicado pelo fato da aveia-branca ter a base genética estreita

(COIMBRA et al., 2005). No caso do Brasil, as cultivares geradas são provenientes do mesmo germoplasma, introduzido na década de 70, proveniente da Universidade de Wisconsin (FEDERIZZI et al., 1997), o que explica a similaridade.

Microssatélite tem sido o método mais adequado para estudos de variabilidade, devido ao alto conteúdo de informação polimórfica (SILVA et al., 2011). Embora, no presente trabalho, a similaridade entre as cultivares de aveia-branca foi alta, o polimorfismo detectado com os marcadores microssatélites utilizados foi considerado adequado. Os pesquisadores em geral, estão interessados em saber o número mínimo de fragmentos (marcadores) e o valor do conteúdo informativo necessários para encontrar os padrões estruturais de diversidade na população de interesse (FRANCO et. al., 2001).

## **3.2 Métodos de agrupamento**

### **3.2.1 Índice de Dice**

As análises de presença/ausência de alelos, obtidos a partir dos marcadores microssatélites e analisadas pelo índice de Dice, possibilitaram a construção da matriz de dissimilaridade genética (Tabela 3). Considerando o dendrograma gerado, foi observada a separação das cultivares em três grupos (Figura 2). O grupo 1 foi formado pelas cultivares IPR Afrodite, FAEM Carlasul e URS Corona. As cultivares URS Taura e UPFA Ouro constituíram os grupos 2 e 3

respectivamente. A maior dissimilaridade foi entre as cultivares IPR Afrodite e UPFA Ouro (66%).

Tabela 3 - Matriz de dissimilaridade genética entre cultivares de aveia-branca, obtida pelo índice de Dice, a partir de marcadores microssatélites

Cultivar	IPR Afrodite	URS Corona	FAEM Carlasul	UPFA Ouro	URS Taura
IPR Afrodite	0,00				
URS Corona	0,25	0,00			
FAEM Carlasul	0,25	0,27	0,00		
UPFA Ouro	0,66	0,54	0,63	0,00	
URS Taura	0,25	0,44	0,44	0,52	0,00

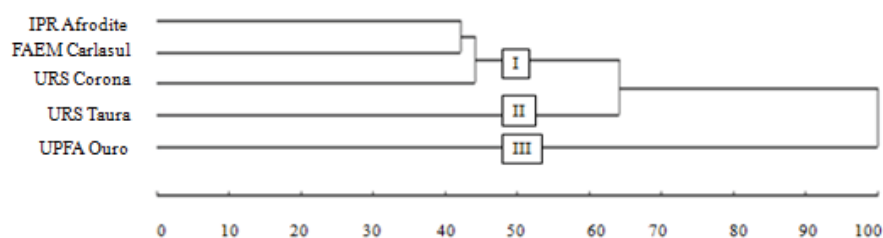


Figura 2 - Dendrograma resultante da análise de cinco cultivares de aveia-branca utilizando marcadores microssatélites, com base na matriz de dissimilaridade genética e método UPGMA, por meio do índice de Dice.

### 3.2.2 Método de otimização Tocher

Quando efetuado o agrupamento pelo método de Tocher, dois grupos foram detectados. No grupo 1 estão incluídas as cultivares IPR Afrodite, FAEM Carlasul, URS Corona e URS Taura. A cultivar UPFA Ouro ficou isolada, formando outro grupo. O método de Tocher identificou as cultivares IPR Afrodite e UPFA Ouro como as mais dissimilares.

A utilização de dois métodos de agrupamento torna-se importante para o conhecimento da variabilidade do material estudado, entretanto, cabe ressaltar que nem sempre os métodos empregados estabeleceram a mesma formação de grupos. Porém, tanto para o índice de Dice como para o método de Tocher, a cultivar UPFA Ouro ficou isolada, diferenciando-se das demais cultivares.

Estudos envolvendo várias análises simultaneamente vêm se tornando cada vez mais importantes no melhoramento vegetal, pois permitem avaliar a sua eficácia e minimizar os erros. Do mesmo modo, o uso de diferentes métodos de agrupamento tem sido utilizado frequentemente em estudos de divergência genética (BOCZKOWSKA et al., 2014). A utilização de uma ou outra técnica vai ao encontro dos objetivos do pesquisador e da situação em que os experimentos foram conduzidos (BENIN et al., 2003).

Para caracterizar e avaliar a diversidade genética em variedades crioulas e comerciais de aveia Montilla-Bascón et al. (2013) utilizaram o índice de Dice e o método de agrupamento UPGMA. Marchioro et al. (2003) utilizaram o método de agrupamento Tocher para avaliação da divergência genética entre genótipos de aveia, e Ribeiro et al. (2011) agruparam as cultivares utilizando simultaneamente os métodos UPGMA e Tocher, o que possibilitou evidenciar a variabilidade entre genótipos de trigo.

De modo geral, os resultados dos métodos de agrupamentos evidenciaram que os marcadores SSR foram eficientes na investigação da diversidade genética entre as cultivares de aveia-branca. Além de apresentarem agrupamentos não coincidentes, o índice de Dice e o método de otimização permitiram uma distribuição

especial dos genótipos. Os grupos formados por apenas um indivíduo apontam na direção de que tais indivíduos sejam mais divergentes em relação aos demais (VIEIRA et al., 2005), podendo ser potenciais genitores, em termos de valor genético a ser passado para os seus descendentes, possibilitando que novas combinações alélicas possam ser obtidas e selecionadas, facilitando a projeção dos trabalhos de melhoramento, encontrando assim genótipos distintos para futuros cruzamentos (ROTILI et al., 2012).

Em contrapartida, o sistema atual de melhoramento empregado na cultura da aveia está gerando como consequências o desenvolvimento de constituições genéticas com elevado potencial produtivo e reduzida variabilidade (BERTAN et al., 2004), levando a um estreitamento significativo na base genética da cultura (BOCZKOWSKA et al., 2014). Isso foi observado neste trabalho, devido ao baixo número de alelos presentes nas cultivares de aveia-branca. Outros autores, com base em estudos moleculares, também apontaram baixa diversidade genética entre cultivares de aveia (BAOHONG et al., 2003; FU et al., 2004; LEISOVA et al., 2007).

Esse fato tem um importante impacto sobre a erosão genética da espécie. Fu et al. (2003) apontaram, ao estudar cultivares de aveia-branca liberadas de 1886 a 2001, que o melhoramento de plantas reduziu a diversidade genética. Os autores concluíram que uma diminuição significativa de alelos foi evidente em cultivares criadas depois de 1970, com consequências graves para resistência a pragas e doenças. Por isso, torna-se muito importante procurar novas fontes de variação genética, como por exemplo, cultivares silvestres

poderiam ser utilizadas como potenciais fontes de variação (BOCZKOWSKA et al., 2014).

Os resultados do presente trabalho utilizando SSR são importantes e eficientes para o conhecimento do material genético de aveia-branca disponível no mercado. Porém, o emprego de outras estratégias, o aumento no número de marcadores e/ou métodos mais recentes, como genotipagem molecular via sequenciamento automático de DNA, bem como o uso de SNPs (*Single Nucleotide Polimorphism*), têm gerado bons resultados em relação à diversidade genética (CHAFFIN et al., 2016).

#### **4 CONCLUSÕES**

O emprego de marcadores moleculares microssatélites é uma estratégia útil para determinar a divergência genética entre cultivares de aveia-branca. A dissimilaridade entre as cultivares varia de 25 a 66%. UPFA Ouro é a mais divergente entre as cultivares estudadas.

### CAPÍTULO III

## REAÇÃO DE CULTIVARES DE AVEIA-BRANCA À BRUSONE

Jossana Santos<sup>1</sup>

**RESUMO** – A brusone, causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* Cav., possui vários hospedeiros na família Poaceae, e dentre eles, a aveia-branca (*Avena sativa* L.). Como o patógeno ocasiona queda na quantidade e qualidade de forragem e de grãos da cultura, o conhecimento da reação dos genótipos em resposta ao fungo é prioritário para os programas de melhoramento. O trabalho teve como objetivo avaliar cinco cultivares de aveia-branca quanto à reação à brusone sob condições controladas. A reação à brusone foi testada em folhas, utilizando-se quatro isolados de *P. oryzae*, na concentração de  $2 \times 10^5$  conídios/mL. A partir do surgimento das lesões, as avaliações foram realizadas a cada três dias, totalizando nove avaliações. Foram quantificados: número e expansão de lesões, severidade e área abaixo da curva do progresso da doença. As folhas foram avaliadas histoquimicamente na pré-inoculação e 48 horas pós-inoculação do fungo para verificar possível efeito da doença nos grupos químicos lipídios, lignina, fenóis, flavonoides e taninos. Os dados foram submetidos às análises de variância, regressão e multivariada, agrupando as cultivares pela distância euclidiana média e método

---

<sup>1</sup> Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF.



UPGMA. Pela análise multivariada foi possível agrupar as cinco cultivares em três grupos. As folhas apresentaram aumento na concentração de flavonoides na pós-inoculação do fungo. As cultivares estudadas apresentam variabilidade quanto à reação à brusone. Em ordem de menor a maior suscetibilidade observa-se: URS Taura < UPFA Ouro < IPR Afrodite < FAEM Carlasul < URS Corona.

**Palavras-chave:** *Avena sativa* L., histoquímica, *Pyricularia oryzae* Cav.

#### WHITE OAT CULTIVARS REACTION TO BLAST

**ABSTRACT** – The blast, caused by the fungus *Pyricularia oryzae* Cav., has several hosts in the family Poaceae, and among them the white oat (*Avena sativa* L.). As the pathogen causes decrease in the quantity and quality of forage and crop grain, being aware of the genotype reaction in response to the fungus is a priority for the breeding programs. The study aimed to assess five cultivars of white oat for rice blast resistance under controlled conditions. The reaction to blast was tested on leaves, using four isolates of *P. oryzae*, with the concentration of  $2 \times 10^5$  conidia/mL. As soon as lesions emerged, the assessment was performed every three days, on a total of nine ratings. It were quantified: the number and extension of lesions, severity and area under the disease progress curve. The leaves were histochemically assessed in pre-inoculation and 48 hours post-inoculation of the fungus to verify the possible effect of the disease on

the chemical groups, lipids, lignin, phenols, flavonoids and tannins. Data were submitted to analysis of variance, regression and multivariate, grouping the crops for the average Euclidean distance and UPGMA method. Through the multivariate analysis it was possible to group the five cultivars into three groups. The leaves showed an increase in the concentration of flavonoids in post-inoculation of the fungus. The studied cultivars have genetic variability for resistance to rice blast. From lower to higher susceptibility it is observed: URS Taura < UPFA Ouro < IPR Afrodite < FAEM Carlasul < URS Corona.

**Key words:** *Avena sativa* L., histochemistry, *Pyricularia oryzae* Cav.

## 1 INTRODUÇÃO

A aveia-branca (*Avena sativa* L.) ocupa lugar de destaque entre os cereais por ser uma cultura de múltiplos propósitos, utilizada mundialmente tanto na alimentação humana como animal (TANG et al., 2014). No entanto, uma das limitações da cultura é a suscetibilidade a doenças, o que reduz a qualidade e o rendimento de forragem e dos grãos. Dentre essas, está a brusone, doença causada pelo fungo *Pyricularia oryzae* Cavara (teleomorfa *Magnaporthe oryzae* B. Couch).

No Brasil, a ocorrência de brusone em *Avena* L. foi relatada pela primeira vez em aveia-preta (*A. strigosa*), no Paraná, em 2005 (MEHTA et al., 2006; NUNES et al., 2006). Para aveia-branca, há variabilidade quanto à suscetibilidade à doença (MARANGONI et al., 2013), o que indica a importância da avaliação de cultivares que serão utilizadas como parentais em cruzamentos nos programas de melhoramento genético.

Os fungos filamentosos, como *P. oryzae*, apresentam mecanismos de variabilidade genética que lhes conferem adaptação a distintos ambientes e hospedeiros (CRUZ et al., 2010). A diversidade de virulência na população do patógeno é desafiadora para os melhoristas que visam o desenvolvimento de cultivares com resistência a esse patógeno. A avaliação dos sintomas, tanto para a diagnose, como para a quantificação dessa doença, é fundamental (TORRES et al., 2015).

A brusone ocorre nas partes vegetativas e reprodutivas da planta. Quando o fungo ataca a ráquis, a porção acima do ponto de

infecção fica esbranquiçada e o grão não se forma, ao passo que a parte inferior permanece saudável e produz grãos normais (KOHLI et al., 2011). Nas folhas, surgem manchas, geralmente elípticas ou arredondadas, com margem marrom escura e centro acinzentado (CRUZ et al., 2009).

As fontes de inóculo da doença são os hospedeiros secundários, restos culturais de plantas cultivadas e sementes infectadas. Os conídios são liberados dos substratos na fase saprofítica e, como são leves, podem atingir longas distâncias ao serem transportados pelo vento (REIS & FORCELINI, 1995). O desenvolvimento do ciclo da brusone, desde a germinação dos conídios até o surgimento das primeiras lesões, depende de condições climáticas adequadas. A doença ocorre em maior intensidade sob condições de altas temperaturas (entre 25 e 30 °C) e umidade (acima de 10 horas de molhamento foliar) (CARDOSO et al., 2008).

O controle dessa doença, no Brasil, é difícil, devido às condições climáticas extremamente favoráveis à doença e à falta de resistência durável (KOHLI et al., 2011). No entanto, há cultivares de aveia-branca com resistência ao patógeno (MARANGONI et al., 2013). Portanto, o conhecimento do progresso da doença pode auxiliar os melhoristas na escolha das cultivares.

As toxinas produzidas por *P. oryzae*, denominadas de pircularina e ácido  $\alpha$ -picolínico, são tóxicas às plantas, ocasionando aumento na atividade respiratória e em variedades suscetíveis, as toxinas induzem clorose e manchas foliares (PASCHOLATI, 1995). Compostos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas são sintetizados com maior frequência quando em situações de estresse e,

como consequência, a célula vegetal pode reagir com inúmeras estratégias de defesa, dentre elas as estruturais e barreiras bioquímicas (AGRIOS, 2005). Uma vez reconhecida a molécula elicitora do patógeno pela planta, segue-se uma série de reações num esforço de deter o patógeno e defender a planta, sendo ativados genes de alerta das plantas, resultando na síntese de compostos tóxicos que resultam no atraso da infecção (SILVA et al., 2008) ou então, a ativação de compostos pré-formados, que exibem atividade antimicrobiana e estão envolvidas na resistência das plantas contra fitopatógenos, como fenóis, flavonoides e lignina (PASCHOLATI, 1995). Desse modo, estudos histoquímicos podem contribuir na detecção de compostos de defesa produzidos pela planta.

Medidas de controle como tratamento de sementes e químico, rotação de culturas, eliminação de plantas voluntárias e de hospedeiros secundários auxiliam na redução do inóculo (BEBENDO & PRABHU, 2005). Porém, o uso de cultivares resistentes é o melhor método de controle da doença, tanto pelas vantagens do ponto de vista econômico, quanto ambiental (ROCHA et al., 2014). Pelo fato de que o uso de cultivares de aveia-branca suscetíveis limitaria a opção de rotação de culturas de inverno e acrescentaria inóculo de *P. oryzae* na atmosfera, o que complicaria ainda mais as estratégias de gestão da doença (MARANGONI et al., 2013). Este estudo teve como objetivo avaliar se cultivares de aveia-branca tem distinta reação à brusone.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal e delineamento experimental

Foram avaliadas cinco cultivares de aveia-branca provenientes de diferentes instituições brasileiras de pesquisa de aveia (Tabela 1). Os ensaios foram conduzidos na Embrapa Trigo. O cultivo foi em vasos plásticos contendo 5 kg de solo fértil, mantendo-se cinco plantas por vaso, que permaneceram em casa-de-vegetação, sob 25 °C, desde a semeadura (junho/2015). O delineamento utilizado foi de blocos casualizados, com quatro repetições.

Tabela 1 - Cultivares de aveia-branca e seus respectivos obtentores e genealogias

Cultivar	Obtentor	Genealogia
UPFA Ouro	Universidade de Passo Fundo	UPF 16/UFP 18
IPR Afrodite FAEM	Instituto Agrônomo do Paraná	CFT 2/ER 88144-1
Carlasul	Universidade Federal de Pelotas	UFRGS 10/90 SAT -285
URS Corona	Universidade Federal do Rio Grande do Sul	UFRGS 987016-1/ UFRGS 970497-1
URS Taura	Universidade Federal do Rio Grande do Sul	UFRGS 970216-2 / UFRGS 970461

### 2.2 Isolados de *Pyricularia oryzae*

Foram utilizados quatro isolados monospóricos de *P. oryzae* (Py120104; Py120321; Py120322; Py120343), obtidos de folhas de aveia-preta. Os isolados, preservados em papel-filtro, foram repicados em placas de Petry com meio aveia-ágar e incubados em câmara de crescimento, entre 23 a 26 °C, por 12 dias. Para preparação

do inóculo, as placas foram lavadas com água destilada acrescida de espalhante adesivo Tween 80 (3 gotas/L), seguido da filtração da suspensão em gaze estéril e quantificação dos conídios em câmara de Neubauer. O volume e a concentração da suspensão utilizada no ensaio foram de 400 mL e  $2 \times 10^5$  conídios/mL, respectivamente. Foi utilizada uma mistura dos quatro isolados.

### **2.3 Inoculação**

A inoculação ocorreu trinta dias após a emergência, quando as plantas estavam no afilhamento e foi realizada com um pulverizador manual nos quatro vasos de cada cultivar. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida e incubadas por 24 h em escuro total, a 25 °C, sob nebulização de 120 s, em intervalos de 60 s. Após 24 h, retirou-se a câmara úmida e o fotoperíodo foi ajustado para 12 h de luz e a nebulização para 60 s, a cada 1800 s.

As plantas permaneceram dez dias após a inoculação em uma câmara de crescimento (modelo Menoncin) e, posteriormente, foram removidas para outra câmara de crescimento com as mesmas condições, mas de manutenção mais rigorosa (modelo Fitotron), onde permaneceram até a última avaliação.

## **2.4 Avaliações**

### **2.4.1 Amostragem**

As cultivares foram avaliadas quanto ao grau de infecção da doença nas folhas, por meio de observação visual, e por técnicas histoquímicas, para verificar se há alteração na expressão de compostos químicos liberado pela planta na pós-inoculação do fungo. A primeira avaliação, quanto aos sintomas da doença, foi realizada cinco dias após a inoculação e, a partir daí, a cada três dias, totalizando nove avaliações. Foram observados: tipo, número, expansão das lesões (comprimento e largura) e a severidade do progresso da doença. Para os testes histoquímicos foi retirada uma folha por planta/vaso, totalizando vinte folhas/cultivar, antes da inoculação e, 48 horas depois de inocular conídios do fungo.

### **2.4.2 Análise dos sintomas externos da doença**

Os tipos de lesões nas folhas foram classificados em cinco categorias, seguindo a classificação de Urashima et al. (2004): 0= sem sintoma visível da doença; 1= lesões minúsculas do tamanho “cabeça de alfinete”; 2= manchas amarronzadas, embora possa haver variação quanto à coloração, sem centro discernível; 3= pequenas lesões com formato de olho e centro cinza; 4= lesões típicas de brusone, elíptica e centro cinza. Foi contado o número de lesões nas folhas marcadas. Para realizar as medições do comprimento e largura das lesões utilizou-se um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. As folhas



mais sintomáticas foram selecionadas e marcadas. As amostragens não foram destrutivas, de modo que a mesma lesão era medida em cada avaliação.

O grau de severidade da doença foi avaliado de acordo com a porcentagem da área da folha afetada de acordo com a escala diagramática de Notteghem (1981) (Figura 1). Ao final da avaliação de severidade, as cultivares foram classificadas quanto à resistência de acordo com a escala de Goulart et al. (1991), com adaptação para folhas: resistente (R)= de 1 a 5%; moderadamente resistente (MR)= 6 a 25%; moderadamente suscetível (MS)= 26 a 50%; suscetível (S)= 51 a 75%; altamente suscetível (AS)= >75% de severidade.

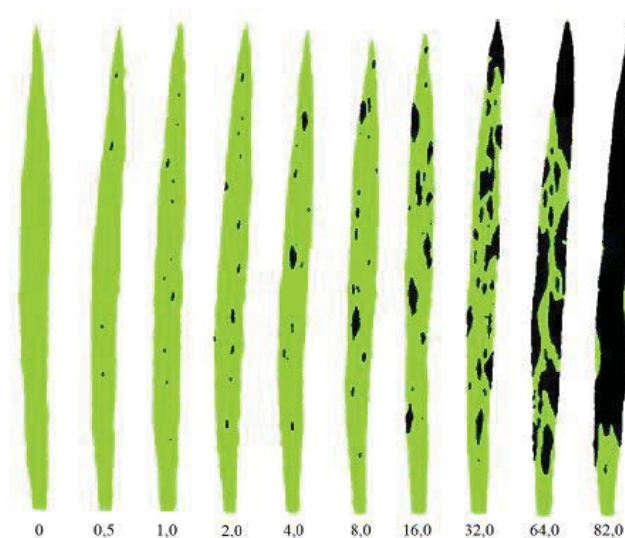


Figura 1 - Escala diagramática de Notteghem (1981) utilizada para avaliação da severidade de brusone em folhas de aveia-branca.

A avaliação da AACPD representa o resultado acumulado do efeito dos componentes de resistência ao longo do tempo e foi calculada pela equação:

$AACPD = \sum ((Y_i + Y_{(i+1)}) \times 0,5) \times (T_{(i+1)} - T_i)$ , onde  $Y_i$  e  $Y_{(i+1)}$  são os valores de incidência observados entre as avaliações consecutivas;  $T_{(i+1)} - T_i$  é o intervalo entre duas avaliações.

### **2.4.3 Avaliação histoquímica**

Foram realizados cortes manuais do material vegetal fresco, na porção central da última folha totalmente expandida, com auxílio de navalha de aço inoxidável. Os cortes transversais foram submetidos a corantes específicos para determinar os grupos químicos: a) Sudam III, para indicar a presença de lipídios totais; b) floroglucina, para lignina; c) cloreto férrico, para compostos fenólicos; d) cloreto de alumínio, para flavonoides; e e) vanilina 5%, para taninos (MACE & HOWELL, 1974), seguindo metodologia proposta por Ascensão (2003). Foram montadas lâminas e as reações histoquímicas foram analisadas em microscópio ótico e em microscópio de fluorescência para detecção de flavonóides. Posteriormente, as reações foram fotografadas, seguido da qualificação comparativa através dos seguintes sinais: (+) positiva, (++) fortemente positiva e (-) negativa.

### **2.5 Análise estatística**

Os dados da evolução da doença referentes ao número e expansão das lesões (comprimento e largura), severidade e AACPD foram submetidos à análise de variância, com comparação de médias

pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro e à análise de regressão.

Complementarmente, foi realizada a análise de variância, das mesmas variáveis descritas anteriormente, somente para a última avaliação. Posteriormente, com os dados finais, realizou-se a análise multivariada, mediante a geração da matriz de distância euclidiana média e agrupamento pelo método hierárquico de médias aritméticas não ponderadas (UPGMA), utilizando o programa Genes (CRUZ, 2013).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Todas as cultivares de aveia-branca apresentaram sintomas em resposta à reação à brusone. Em relação ao tipo de lesão, as cultivares apresentaram lesões do tipo 4 (Figura 2), caracterizadas como elípticas e com centro cinza (URASHIMA et al., 2004). Esse tipo de lesão também foi predominante em cultivares de aveia-preta, quando inoculadas com brusone (URASHIMA & SILVA, 2011).

As cultivares de aveia-branca diferiram de acordo com a reação à brusone. No entanto, para número, comprimento e largura das lesões, as cultivares avaliadas tiveram comportamento semelhante, mostrando aumento linear em função de dias após a inoculação (Figuras 3, 4 e 5).

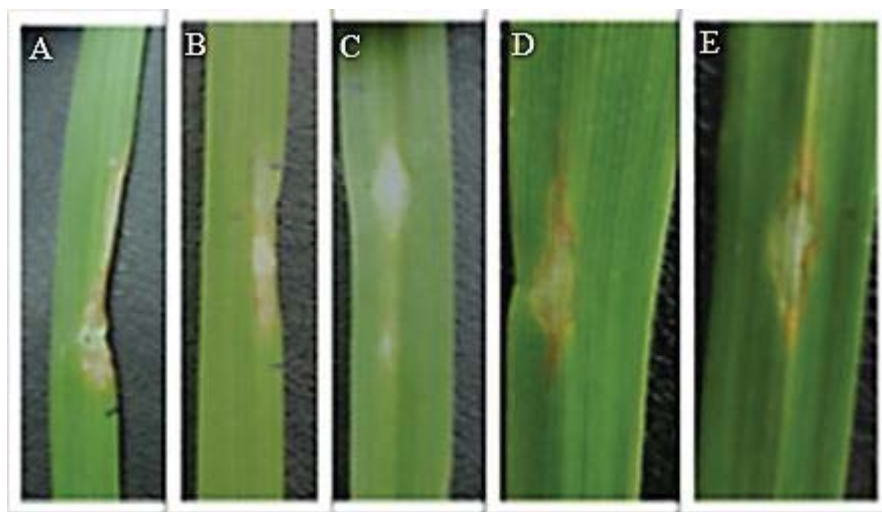


Figura 2 - Lesões causadas por *Pyricularia oryzae* em folhas de cultivares de aveia-branca. A: IPR Afrodite; B: URS Corona; C: FAEM Carlasul; D: UPFA Ouro; E: URS Taura.

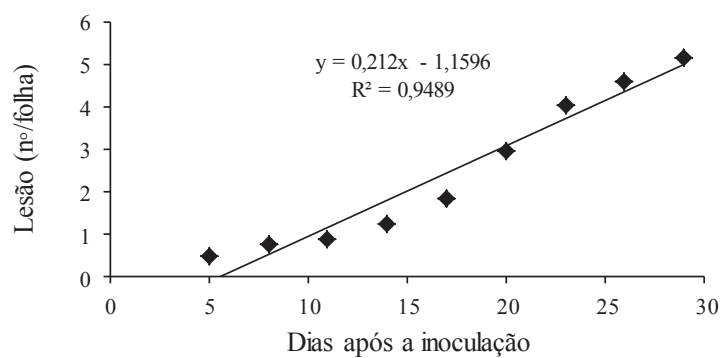


Figura 3 – Regressão do número de lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após a inoculação com *Pyricularia oryzae*.

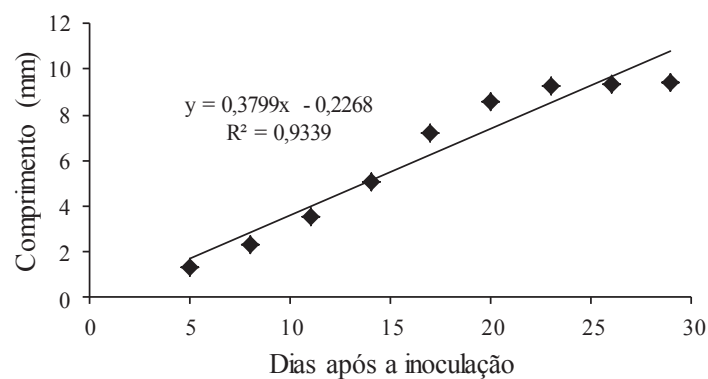


Figura 4 – Comprimento das lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após a inoculação com *Pyricularia oryzae*.

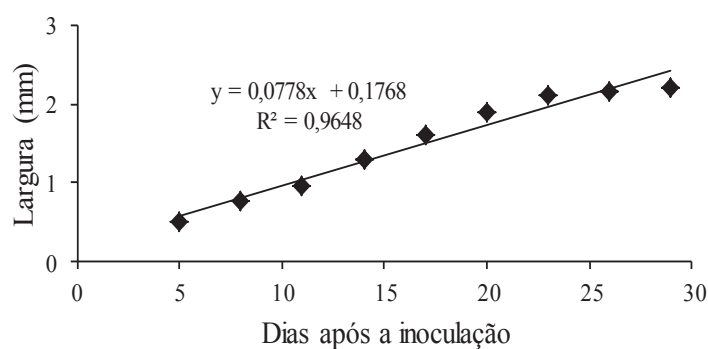


Figura 5 – Largura das lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após inoculação com *Pyricularia oryzae*.

Quanto à severidade, a cultivar URS Taura não apresentou regressão significativa. Já, as cultivares URS Corona e FAEM Carlasul tiveram evolução quadrática e IPR Afrodite e UPFA Ouro tiveram aumento linear. As cultivares URS Corona e FAEM Carlasul apresentaram os maiores índices de severidade, 37 e 34%, respectivamente. Essa diferença entre o comportamento das cultivares

foi destacado a partir do 18º dia de avaliação (Figura 6). Resultado semelhante ocorreu para AACPD (Figura 7).

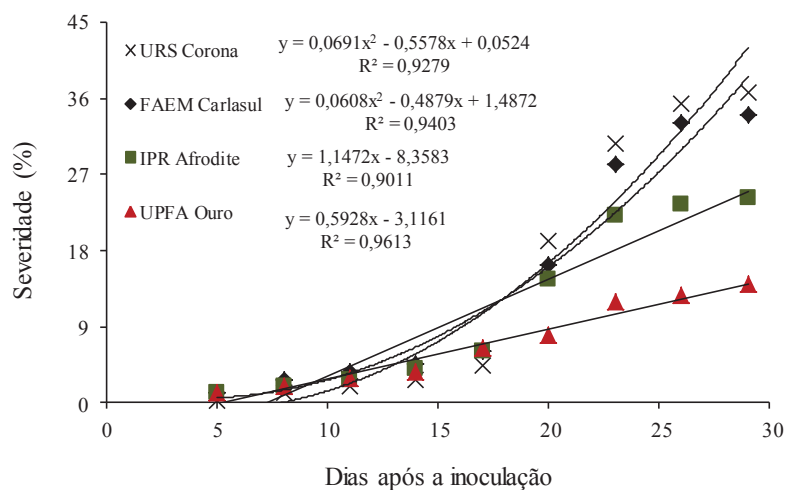


Figura 6 – Dinâmica da severidade das lesões em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após inoculação com *Pyricularia oryzae*.

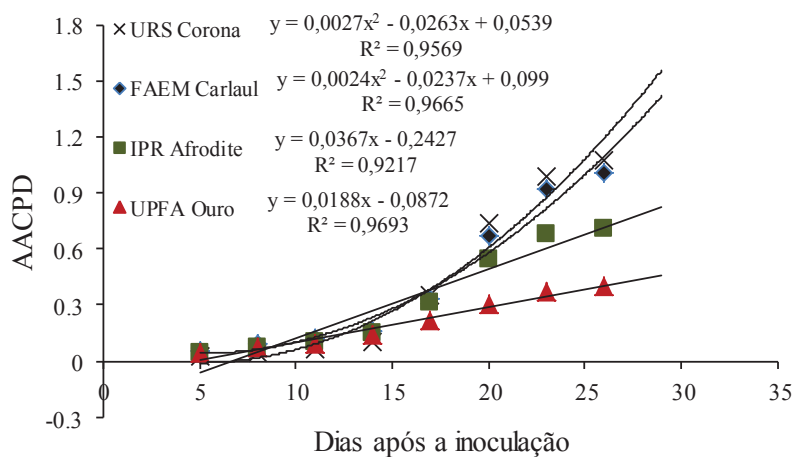


Figura 7 – Dinâmica da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em folhas de cultivares de aveia-branca em função de dias após inoculação com *Pyricularia oryzae*.

Em relação à avaliação final, as cultivares de aveia-branca apresentaram variabilidade quanto à reação à brusone, com relação ao número de lesões, severidade e área abaixo da curva de progresso da doença (Tabela 2).

A maior diferença entre as cultivares foi mostrada pelo número de lesões, na qual a cultivar FAEM Carlasul se destacou como a mais suscetível em relação às cultivares UPFA Ouro e URS Taura, mas não diferiu das demais (Tabela 2). O número de lesões é uma variável importante pelo fato de que o progresso da doença pode ser explicado tanto pelo aumento do número de novas lesões como pelo crescimento das lesões existentes (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996).

O tamanho final das lesões (Tabela 2) esteve de acordo com o que é comumente relatado para a doença, de até 2 cm de comprimento e 0,5 cm de largura (CÔRTEZ et al., 2010). As avaliações de severidade foram de acordo com a escala de Goulart et al. (1991). As cultivares IPR Afrodite, URS Corona, FAEM Carlasul foram classificadas como moderadamente suscetíveis.

Marangoni et al. (2013) avaliaram a resistência de cultivares de aveia-branca à brusone e também classificaram a cultivar IPR Afrodite como moderadamente suscetível. Já, URS Taura foi considerada como suscetível, diferente do que foi observado no presente trabalho, em que essa cultivar destacou-se como moderadamente resistente. Possivelmente, essa divergência pode ser devido aos diferentes isolados do fungo utilizados nos dois estudos, uma vez que existe alta variabilidade de isolados que compõem a população do patógeno (URASHIMA et al., 1999).

Em genótipos moderadamente resistentes geralmente a doença se manifesta mais tarde e/ou desenvolve-se mais lentamente, resultando em baixos valores da AACPD. Neste estudo, a cultivar URS Taura apresentou o menor valor final para tal variável (Tabela 2) diferindo das cultivares URS Corona e FAEM Carlasul, que foram consideradas moderadamente suscetíveis e apresentaram os maiores valores de área abaixo da curva de progresso da doença.

Tabela 2 – Resposta final de cultivares de aveia-branca à inoculação com *Pyricularia oryzae* quanto à lesão nas folhas

Cultivar	Número de lesões/folha	Comprimento da lesão (mm)	Largura da lesão (mm)	Severidade (%)	AACPD*
IPR Afrodite	6,10 ab	9,65 a	2,19 a	24,20 ab	2,62 ab
URS Corona	5,45 ab	12,56 a	2,81 a	36,65 a	3,40 a
FAEM Carlasul	9,00 a	20,07 a	2,72 a	34,10 a	3,36 a
UPFA Ouro	2,95 b	12,33 a	2,12 a	14,00 ab	1,65 ab
URS Taura	2,85 b	4,72 a	1,25 a	5,80 b	0,65 b

\*AACPD: área abaixo da curva de progresso da doença. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ ).

Os dados das avaliações de brusone permitiram separar as cultivares em três grupos, utilizando a distância euclidiana média e método de agrupamento UPGMA, utilizou-se como ponto de corte 0,50 (Figura 8). O grupo 1 reuniu as cultivares IPR Afrodite, URS Corona e FAEM Carlasul. Esse grupo foi integrado pelas cultivares com mais números de lesões de brusone nas folhas. As cultivares UPFA Ouro e URS Taura formaram os grupos 2 e 3 respectivamente.



De acordo com a matriz de distâncias genéticas, a distância máxima (95%) foi entre as cultivares FAEM Carlasul e URS Taura e a distância mínima (21%) entre as cultivares IPR Afrodite e URS Corona.

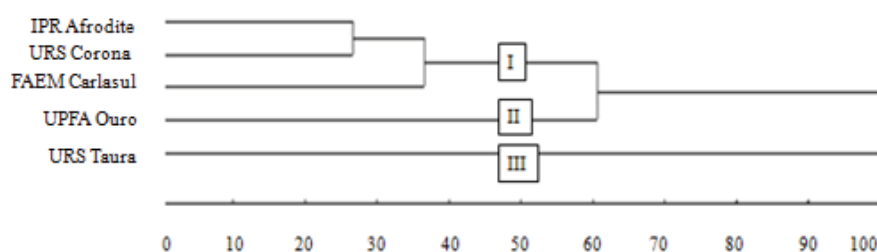


Figura 8 - Dendrograma obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA, com base na matriz de distância euclidiana média, a partir de dados de número e expansão de lesão, severidade e área abaixo da curva de progresso da doença em folhas de cultivares de aveia-branca inoculadas com *Pyricularia oryzae*.

Os resultados dos testes histoquímicos (Tabela 3) visam um melhor entendimento das interações patógeno-hospedeiro e podem auxiliar na avaliação das cultivares de aveia-branca. Os testes indicaram a presença de lipídios totais, antes e depois da inoculação, na cutícula e nos feixes vasculares das folhas, que foram evidenciados devido à coloração vermelha (Figura 9). A partir dos compostos fenólicos avaliados, foram observados, antes e depois da inoculação, fenóis nas células do mesofilo, lignina no xilema e nos feixes vasculares (Figura 9). Tanto na pré, como na pós-inoculação, os resultados mostraram ausência de taninos. A reação para detecção de flavonoides foi positiva na pré-inoculação e fortemente positiva na pós-inoculação, mostrando a presença desses compostos na epiderme,

no mesófilo, nos feixes vasculares e na extensão esclerenquimática dos feixes (Figura 10).

Os compostos fenólicos são grupos heterogêneos de substâncias presentes em quase todos vegetais e, geralmente, impregnados à parede celular (FAHN, 1990). Tais compostos podem estar relacionados à proteção da planta quanto ao ataque de animais e patógenos (SANTOS et al., 2009). A maior produção de flavonoides nas folhas de aveia na pós-inoculação de brusone sugere uma resposta ao estresse sofrido pela planta. As estratégias de defesa das plantas contra os patógenos são múltiplas e incluem o uso de produtos do metabolismo secundário como antifúngicos (GRAYER & KOKUBUN, 2001) como é o caso dos flavonoides, que provavelmente estão envolvidos na hipersensibilidade e morte celular programada como mecanismos comuns de resposta em defesa do patógeno (TREUTTER et al., 2006).

Alguns estudos *in vitro* indicam efeito antifúngico dos flavonoides, mostrando sensibilidade do fungo *P. oryzae* a estes compostos e como consequência inibindo o crescimento de esporos e micélios (PADMAVATI et al., 1997). Em trigo, sabe-se que um aumento da concentração de silício e a presença de flavonoides foram correlacionados com a redução do crescimento de fungos e diminuição dos sintomas de *P. oryzae* nas folhas, aumentando resistência de trigo à brusone (SILVA et al., 2015). Em aveia, pesquisas nesse sentido, ainda são escassas. Apesar da contribuição deste estudo, são necessárias avaliações em mais horários na pós-inoculação, além da inclusão de testes para outros compostos químicos relacionados à defesa das plantas.

Tabela 3 - Resultados dos testes histoquímicos na pré e pós-inoculação de *Pyricularia oryzae* em folhas de cultivares de aveia-branca

Cultivar	Lipídios		Fenóis		Lignina		Flavonoides		Taninos	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
IPR Afrodite	+	+	+	+	+	+	+	++	-	-
URS Corona	+	+	+	+	+	+	+	++	-	-
FAEM	+	+	+	+	+	+	+	++	-	-
Carlasul										
UPFA Ouro	+	+	+	+	+	+	+	++	-	-
URS Taura	+	+	+	+	+	+	+	++	-	-

Reação (+) positiva; (++) fortemente positiva; (-) negativa.

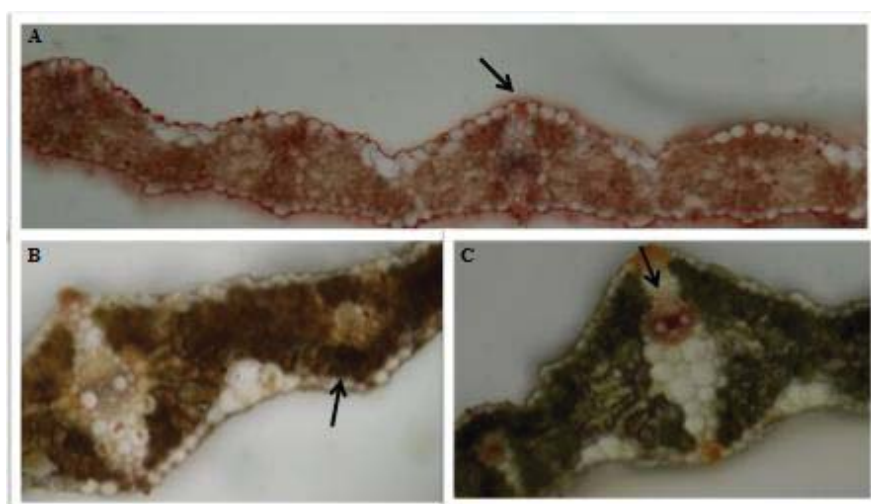


Figura 9 – Testes histoquímicos em folhas de aveia-branca. A: detecção de lipídios; B: detecção de fenóis; C: detecção de lignina.

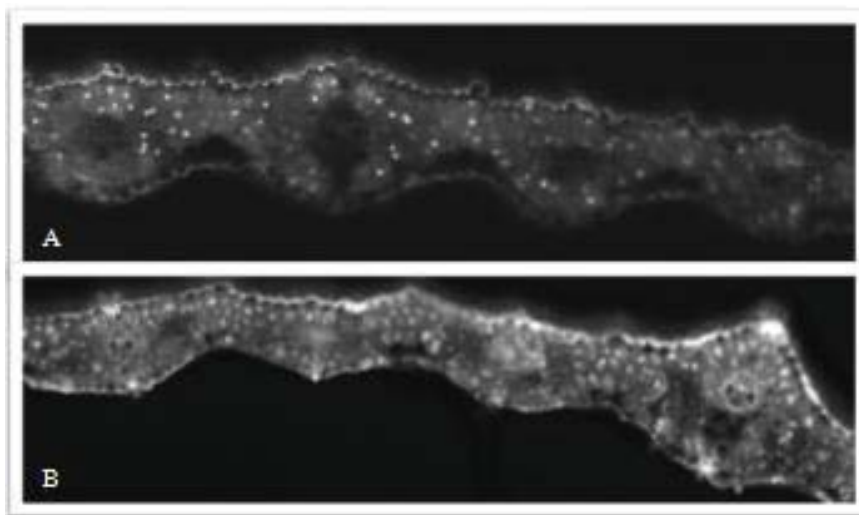


Figura 10 – Testes histoquímicos em folhas de aveia-branca. Detecção de flavonoides na pré (A) e pós-inoculação (B) de brusone.

### CONCLUSÕES

Cultivares de aveia-branca apresentam variabilidade quanto à reação à brusone, avaliada pelo número de lesões, severidade e área abaixo da curva de progresso da doença. Em ordem de menor para maior suscetibilidade estão as cultivares: URS Taura, UPFA Ouro, IPR Afrodite, FAEM Carlasul e URS Corona.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados apresentados sobre expressão fenotípica, recomenda-se a realização dos ensaios de DHE para fins de proteção de cultivares dentro da época indicada para a cultura da aveia, evitando assim, que os materiais sejam caracterizados erroneamente. Com o cultivo da aveia fora da época recomendada, o ciclo total da cultura (emergência-maturação) diminui significativamente e vários descritores morfológicos são alterados. Os descritores mais estáveis são cor do lema e comprimento da folha-bandeira

Os resultados referentes às avaliações moleculares detectam variabilidade entre as cultivares estudadas, porém, o número de alelos obtido com os marcadores microssatélites é baixo. Considerando que o germoplasma de aveia-branca disponível no Brasil é proveniente dos Estados Unidos, especificamente da Universidade de Wisconsin, isso possivelmente explica a similaridade e o baixo número de alelos nos materiais estudados. Dessa forma, é importante complementar as avaliações acrescentando maior número de marcadores microssatélites.

Verifica-se que as cultivares avaliadas nesse trabalho apresentam distinta reação à brusone para as variáveis número de lesões nas folhas, severidade e área abaixo da curva de progresso da doença, variando de moderadamente suscetíveis a moderadamente resistentes. URS Taura, UPFA Ouro e IPR Afrodite apresentaram os menores índices de severidade nas folhas, sendo cultivares

promissoras em programas de melhoramento que visem lançar materiais com baixa suscetibilidade a brusone.

Os resultados obtidos com as avaliações histoquímicas são pioneiros no patossistema brusone–aveia e visam um melhor entendimento na relação patógeno–hospedeiro. A partir da utilização da técnica histoquímica é possível verificar a síntese aumentada de flavonoides nas folhas das cultivares de aveia-branca 48 horas após a inoculação de conídios de *Pyricularia oryzae*, sugerindo uma forma de defesa das plantas ao estresse causado pelo ataque do fungo. Em trabalhos posteriores, recomenda-se o acréscimo de compostos químicos analisados, bem como, a execução da técnica em mais horários na pós-inoculação.

Os resultados dos métodos de agrupamento são os mais próximos da natureza dos dados, refletindo a constituição dos grupos esperados. Os resultados dos agrupamentos obtidos com os marcadores microssatélites e com a reação à brusone são semelhantes. É interessante notar que a cultivar UPFA Ouro permanece isolada, mostrando-se divergente das demais, em ambos os experimentos. Destaca-se a eficiência dessas metodologias na análise de divergência genética entre cultivares.

## REFERÊNCIAS

ACHLEITNER, A.; TINKER, N. A.; ZECHNER, E.; BUERSTMAYR, H. Genetic diversity among oat varieties of world wide origin and associations of AFLP markers with quantitative traits. *Theoretical Applied Genetics*, New York, v. 117, p. 1041-1053, 2008.

ACHTAR, S.; MOUALLA, M. Y.; KALHOUT, A.; RODER, M. S.; MIRALID, N. Analysis of genetic diversity among syrian durum (*Triticum ssp. durum*) and bread wheat (*Triticum aestivum* L.) using SSR markers. *Russian Journal of Genetics*, New York, v. 46, p. 1320-1326, 2010.

AGRIOS, G. N. How plants defend themselves against pathogens, In: *Plant Pathology*. San Diego: Academic Press, 2005. p. 208-248.

AHMADI, J.; MOHAMMADI, A.; MIRAK, N. Targeting promising bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines for cold climate growing environments using AMMI and SREG GGE biplot analyses. *Journal of Agricultural Science and Technology*, Tehran, v. 14, p. 645-657, 2012.

ALLARD, R. W. *Principles of plant breeding*. 3. ed. Nova Iorque: J. Wiley, 1960. 485 p.

ALMANZA-PINZÓN, M. I.; KHAIRALLAH, M.; FOX, P. N.; WARBURTON, M. L. Comparison of molecular markers and coefficients of parentage for the analysis of genetic diversity among spring bread wheat accessions. *Euphytica*, Wageningen, v. 130, p. 77-86, 2003.

AMORIM, L. Avaliação de doenças. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*. 3. ed. São Paulo: Editora Ceres, 1995. p. 650-658.

ARAÚJO, L. D.; PRABHU, A. S. Progresso da brusone nas folhas e características agronômicas nas gerações avançadas de somaclones aromáticos da cultivar de arroz IAC 47. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 26, p. 606-613, 2001.

ARAÚJO, L. G.; PRABHU, A. S. Resistência parcial à brusone em somaclones da cultivar de arroz CICA-8. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, n. 4, p. 394-398, 2004.

ASCENSÃO, L. *Técnicas histoquímicas convencionais de microscopia de fluorescência aplicadas em espécies de Cerrado*. Botucatu: UNESP, 2003. 20 p.

BAOHONG, G.; ZHOU, X.; MURPHY, J. P. Genetic variation within Chinese and Western cultivated oat accessions. *Cereal Research Communications*, Budapest, v. 1, p. 339-346, 2003.

BARBOSA NETO, J. F.; MATIELLO, R. R.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, J. M. S.; PEGORARO, D. G.; SCHNEIDER, F.; SORDI, M. E. B.; VACARO, E. Progresso genético no melhoramento da aveia-branca no Sul do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 35, p. 1605-1612, 2000.

BAWA, A.; ADDAI, I. K.; ABDULAI, M. S. SSR markers as tools for screening genotypes of maize (*Zea mays* L.) for tolerance to drought and *Striga hermonthica* (Del) Benth in the North Guinea Savanna Zone of Gana. *Research in Plant Biology*, Vellore, v. 5, p. 17-30, 2015.

BEBENDO, I. P.; PRABHU, A. S. Doenças do arroz. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Eds.) *Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas*. 4. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. p. 79-90.

BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; MARCHIORO, V.S.; LORENCETTI, C.; KUREK, A. J.; SILVA, J. A. G.; CRUZ, P. J.; HARTWIG, I.; SCHMIDT, D. A. M. Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, p. 657-662, 2003.

BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; LORENCETTI, C.; VIEIRA, E. A.; COIMBRA, J. L. M.; VALÉRIO, I. P.; FLOSS, E. L.; BERTAN, I.; SILVA, G. O. Adaptabilidade e



estabilidade em aveia em ambientes estratificados. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, p. 295-302, 2005.

BENIN, G.; SILVA, G. O. da; PAGLIOSA, E. S.; LEMES, C.; SIGNORINI, A.; BECHE, E.; CAPELIN, M. A. Capacidade de combinação em genótipos de trigo estimada por meio de análise multivariada. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, p. 1145-1151, 2009.

BENIN, G.; STORCK, L.; MARCHIORO, V. S.; FRANCO, F. de A.; TREVIZAN, D. M. Número ótimo de ensaios de competição de trigo em diferentes regiões de adaptação. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 44, p. 247-252, 2014.

BERGAMIN FILHO, A. A epidemia como um sistema In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. 3. ed. São Paulo: Editora Ceres, 1995. p. 574-602.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. *Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1996. 299p.

BERLATO, M. A.; MATZENAUER, R.; SUTILI, V. R. Relação entre temperatura e o aparecimento de fases fenológicas do milho (*Zea mays* L.). *Agronomia Sulriograndense*, Porto Alegre, v. 20, p. 111-132, 1984.

BERTAN, I.; KUREK, A. J.; CARVALHO, F. I. F.; ASSMANN, I. C.; SILVA, G. O.; COSSA, M. L. Estimativa do ganho genotípico por meio de seleção em geração segregante de aveia. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 5, p. 29-33, 2004.

BERTAN, I.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; VIEIRA, E. A.; HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G. da; SHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; BUSATO, C. C.; RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 12, p. 279-286, 2006.

BERTAN, I.; VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F de. Genetic variability in wheat measured by pedigree and morphological distance. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 8, p. 67-74, 2007.

BEZERRA NETO, F. V.; LEAL, N. R.; GONÇALVES, L. S. A.; FILHO, L. M. R.; JÚNIOR, A. T. A. Descritores quantitativos na estimativa da divergência genética entre genótipos de mamoneira utilizando análises multivariadas. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 41, p. 294-299, 2010.

BIOVERSITY INTERNATIONAL. *Guidelines for the development of crop descriptor lists*. Rome: Bioversity International, 2007. (Bioversity Technical Bulletin Series, 13).

BOCZKOWSKA, M.; TARCZYK, E. Genetic diversity among Polish landraces of common oat (*Avena sativa* L.). *Genetic Resources Crop Evolution*, Dordrecht, v. 60, p. 2157-2169, 2013.

BOCZKOWSKA, M.; NOWOSIELSKI, J.; NOWOSIELSKA, D.; PODYMA, W. Assessing genetic diversity in 23 early Polish oat cultivars based on molecular and morphological studies. *Genetic Resources Crop Evolution*, Dordrecht, v. 61, p. 927-941, 2014.

BONMAN, J. M. Durable resistance to rice blast disease environmental influences. *Euphytica*, Wageningen v. 63, p. 115-123, 1992.

BONOW, S.; VILELA, E.; PINHO, R. V.; SOARES, A. A.; JÚNIOR, S. S. Caracterização morfológica de cultivares de arroz visando a certificação da pureza varietal. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 31, p. 619-627, 2007.

BORÉM, A. *Melhoramento de plantas*. Viçosa: Editora UFV, 1997. 547 p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. *Melhoramento de plantas*. 5. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005. 525 p.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; STOLNICK, M.; DAVIS, M. Construction of a genetic linkage map in man using restriction

fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, Cambridge, v. 32, p. 314-331, 1980.

BOWMAN, J. C. Genotype  $\times$  environment interactions. *Annales de Génétique et de Sélection Animale*, Paris, v. 4, p. 117-123. 1972.

BRASIL. *Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997*. Institui a Lei de Proteção de Cultivares. [S.I.]. Disponível em: <<http://www.planalto.gov.br/ccivil/leis/L9456.htm>>. Acesso em: 23 nov. 2015.

BRASIL. *Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de genótipos de milho (Zea mays L.)*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Brasília, 1997. 12 p.

BRASIL. *Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de aveia (Avena spp.)*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Brasília, 2002. 12 p..

BRASIL. *Proteção de Cultivares no Brasil*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: Mapa, 2011. 202 p.

BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V. Germoplasma: base para a nova agricultura. *Ciência Hoje*, Belo Horizonte, v. 35, p. 70-73, 2004.

BROUWER, J. B.; FLOOD, R. G. Aspects of oat physiology. In: WELCH, R. W (Ed.). *The oat crop: production and utilization*. Chapman & Hall: London, 1995. p. 177-22.

BURLE, M. L.; OLIVEIRA, M. S. P. *Manual de curadores de germoplasma vegetal: caracterização morfológica*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. (Documentos, 378).

CABRAL, A. L.; KARAOGLU, H.; PARK, R. F. The use of microsatellite polymorphisms to characterize and compare genetic variability in *Avena strigosa* and *A. barbata*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 60, p. 1153-1163, 2013.

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*, Botucatu, v. 34, p. 216-221, 2008.

CARGNIN, A.; SOUZA, M. A.; CARNEIRO, P. C. S.; SOFIATTI, V. Interação entre genótipos e ambientes e implicações em ganhos com seleção em trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, p. 987-993, 2006.

CARVALHO, F. I. F.; FEDERIZZI, L. C. Evolução da cultura da aveia no sul do Brasil. *Trigo e Soja*, Porto Alegre, v. 102, p. 16-19, 1989.

CASTRO, G. S. A.; COSTA, C. H. M.; NETO, J. F. Ecofisiologia da aveia branca. *Scientia Agraria Paranaensis*, Cascavel, v. 11, p. 1-15, 2012.

ÇAKIR, R. Effect of water stress at different developmental stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Research*, Amsterdam, v. 89, p. 1-16, 2004.

CBPA. *Indicações técnicas para cultura da aveia*. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2014. 136 p.

CHAFFIN, A. S.; HUANG, Y. F.; SMITH, S.; BEKELE, W. A.; BABIKER, E.; GNANESH, B. N.; FORESMAN, B. J.; BLANCHARD, S. G.; JAY, J. J.; REID, R. W.; WIGHT, C. P.; CHAO, S.; OLIVER, R.; ISLAMOVIC, E.; KOLB, F. L.; MCCARTNEY, C.; FETCH, J. W. M.; BEATTIE, A. D.; BJØRNSTAD, Å.; BONMAN, J. M.; LANGDON, T.; HOWARTH, C. J.; BROUWER, C. R.; JELLEN, E. N.; KLOS, K. E.; POLAND, J. A.; HSIEH, T. F.; BROWN, R.; JACKSON, E.; SCHLUETER, J. A.; TINKER, N. A. A consensus map in cultivated hexaploid oat reveals conserved grass synteny with substantial sub-genome rearrangement. *The Plant Genome*, Madison, p. 1-35, 2016.

CHAVES, M. S.; MARTINELLI, J. A.; FEDERIZZI, L. C. Resistência quantitativa à ferrugem da folha em genótipos de aveia

branca: Caracterização da reação em condições de campo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, p. 35-42, 2004.

COFFMAN, F. A. *Inheritance of morphologic characters in Avena*. Washington: United States Department of Agriculture, 1964. (Technical Bulletin, 1308).

COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; SILVA, J. A. G.; LORENCETTI, C. Comparação entre mutagênicos químico e físico em populações de aveia. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, p. 12-18, 2005.

CÔRTEZ, M. V. de C. B.; DUARTE, L. T.; FILIPPI, M. C. C. de; LÔBO, V. L. da S.; PRABHU, A. S.; GONÇALVES, F. J.; FREITAS, B. R. de; GUIMARÃES, L. A. F.; WENDLAND, A. *A coleção de isolados de Magnaporthe oryzae da Embrapa Arroz e Feijão: uma micoteca para uso na pesquisa com brusone*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2010. (Documentos, 259).

COSTA, J. G.; MARINHO, J. T. de S.; PEREIRA, R. de C. A.; LEDO, F. J. da S.; MORAES, R. N. de S. Adaptabilidade e estabilidade da produção de cultivares de milho recomendadas para o Estado do Acre. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 23, p. 7-11, 1999.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 585 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2004. 480 p.

CRUZ, M. F.; MACIEL, J. L. N.; PRESTES, A. M.; BOMBONATTO, E. A. S.; PEREIRA, J. F.; CONSOLI, L. Caracterização genética e fenotípica de isolados de *Pyricularia grisea* do trigo. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 34, p. 393-401, 2009.

CRUZ, M. F.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N.; SCHEEREN, P. L. Resistência parcial à brusone de genótipos de trigo comum e sintético nos estádios de planta jovem e de planta adulta. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 35, p. 24-31, 2010.

CRUZ, C. D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum Agronomy*, Maringá, v. 35, p. 271-276, 2013.

DICE, L. R. Measures of the amount of ecologic association because between species. *Ecological Society of America*, Washington, v. 26, p. 297-302, 1945.

DIEDERICHSEN, A. Assessments of genetic diversity within a world collection of cultivated hexaploid oat (*Avena sativa* L.) based on qualitative morphological characters. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 55, p. 419-440, 2008.

DIEDERICHSEN, A. Duplication assessments in nordic *Avena sativa* accessions at the Canadian national genebank. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 56, p. 587-597, 2009.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, Irvini, v. 19, p. 11-15, 1987.

DUMLUPINAR, Z.; JELLEN, E. N.; BONMAN, J. M.; JACKSON, E. W. Genetic diversity and crown rust resistance of oat landraces from various locations throughout Turkey. *Turkish Journal Agriculture Forestry*, Ancara, v. 40, p. 262-268, 2016.

EAGLES, H. A.; FREY, K. J. Repeatability of the stability variance parameters in oats. *Crop Science*, Madison, v. 17, p. 253-256, 1977.

ESTAÇÃO METEOROLÓGICA - EMBRAPA TRIGO. *Laboratório de Agrometeorologia*. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/agromet.php>>. Acesso em: 15 dez. 2014.

FAHN, A. *Plant Anatomy*. 4ed. Oxford: Pergamon Press, 1990. 588 p.

FAO. *Food Agriculture Organization of the United Nation. Banco de dados estatísticos de 2014*. Disponível em: <<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/E>>. Acesso em: 13 jan. 2015.

FEDERIZZI, L. C.; MILACH, S. C. K.; BARBOSA NETO, J. F.; PACHECO, M. T. Melhoramento genético de trigo e aveia no Brasil. In: SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 1997, *Anais...* Lavras: UFL, 1997. p. 127-146.

FEDERIZZI, L. C.; MILACH, S. C. K.; PACHECO, M. T.; BARBOSA NETO, J. F.; SERENO, M. J. C. M. Melhoramento da aveia. In: BORÉM, A. (Ed.). *Melhoramento de espécies cultivadas*. 2ed. Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 141-169.

FIGUEIREDO, A. C. da S.; BARROSO, J. M. G.; PEDRO, L. M. G.; ASCENSÃO, L. *Histoquímica e citouímica em plantas: princípios e protocolos*. Lisboa: REPRO, 2007. 80 p.

FILIPPI, M. C.; CORTES, C.; BECKERMAN, J.; SWEIGARD, J.; VALENT, B.; GONZALEZ, C.; EBBOLE, D. *Novos aspectos da patogenicidade de Magnaporthe grisea*. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 22).

FILIPPI, M. C. C.; SILVA, G. B.; PRABHU, A. S. Indução de resistência à brusone em folhas de arroz por isolado avirulento de *Magnaporthe oryzae*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 32, p. 387-392, 2007.

FLARESSO, J. A.; GROSS, C. D.; ALMEIDA, E. X. Época e densidade de semeadura de aveia preta (*Avena strigosa* Schreb.) e azevém (*Lolium multiflorum* Lam.) no Alto Vale do Itajaí, Santa Catarina. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, v. 30, p. 1969-1974, 2001.

FLOSS, E. L. Aveia. In: BAIER, E. L.; FLOSS, E. L.; AUDE, M. L. S. *As lavouras de inverno*. Rio de Janeiro: Editora Globo, 1988. p. 16-74.

FONSECA, J. R.; CUTRIM, V. A.; RANGEL, P. H. N.; MORAIS, O. P.; CASTRO, A. P.; GUSMÃO, A. R. E.; FARIA, J. M. *Descritores morfo agrônômicos e fenológicos de linhagens de arroz (Oriza sativa L.) de várzeas e de terras altas*. Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2008. (Documentos, 219).

FORSTHOFER, E. L.; SILVA, P. R. F.; STRIEDER, M. L.; MINETTO, T.; RAMBO, L.; ARGENTA, G.; SANGOI, L.; SUHRE, E.; SILVA, A. A. Desempenho agrônômico e econômico do milho em diferentes níveis de manejo e épocas de semeadura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 41, p. 399-407, 2006.

FRANCO, J. J.; CROSSA, J. M.; RIBAUT, J.; BETRAN, M.; WARBURTON, L.; KHAIRALLAH, M. A method for combining molecular markers and phenotypic attributes for classifying plant genotypes. *Theoretical Applied Genetics*, New York, v. 103, p. 944-952, 2001.

FRANCO, T. L.; HIDALGO, R. *Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. Cali: IPGRI, 2003. (Boletim Técnico, 8).

FU, Y. B.; PETERSON, G. W.; SCOLES, G.; ROSSNAGEL, B.; SCHOEN, D. J.; RICHARDS, K. W. Allelic diversity changes in 96 Canadian oat varieties released from 1886 to 2001. *Crop Science*, Madison, v. 43, p. 1989-1995, 2003.

FU, Y. B.; KIBITE, S.; RICHARDS, K. W. Amplified fragment length polymorphism analysis of 96 Canadian oat varieties released between 1886 and 2001. *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, v. 84, p. 23-30, 2004.

FU, Y. B.; CHONG, J.; FETCH, T.; WANG, M. L. Microsatellite variation in *Avena sterilis* oat germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 114, p. 1029-1038, 2007.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. A.; COLMAN, O. P. *Reação de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) à brusone (*Pyricularia oryzae* Cav.) em condições de campo*. Embrapa: UEPAE, 1991. (Documentos, 47).

GUIMARÃES, W. N. R.; MARTINS, L. S. S.; SILVA, E. F.; FERRAZ, G. M. G.; OLIVEIRA, F. J. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v. 11, p. 37-45, 2007.



GRAYER, R. J.; KOKUBUN, T. Plant fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry*, Pullman, v. 56, p. 253-263, 2001.

HANIF, Z.; SWATI, Z. A.; KHAN, I.; HASSAN, G.; MARWAT, K. B.; ALI, S.; KHAN, M. I. RAPD and SSR analysis of wild oats (*Avena* species) from North West frontier province of Pakistan. *African Journal of Plant Science*, Nairobi, v. 11, p. 133-139, 2008.

HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G. da; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; BERTAN, I.; VALÉRIO, I. P.; SILVA, G. O. da; RIBEIRO, G.; FINATTO, T.; SILVEIRA, G. Variabilidade fenotípica de caracteres adaptativos da aveia branca (*Avena sativa* L.) em cruzamentos dialélicos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, p. 337-345, 2007.

HE, X.; BJORNSTAD, A. Diversity of North European oat analyzed by SSR, AFLP and DArT markers. *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 125, p. 57-70, 2012.

HOLLAND, J. B.; BJORNSTAD, A.; FREY, M.; GULLORD M.; WESENBERG, D. M.; BURAS, T. Recurrent selection in oat for adaptation to diverse environments. *Euphytica*, Wageningen, v. 113, p. 195-205, 2000.

HOSBINO, A. A.; PALMIERI, D. A.; BRAVO, J. P.; PEREIRA, T. E. B.; LOPES, C. R.; GIMENES, M. A. Marcador microssatélite na conservação de germoplasma vegetal. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, Uberlândia, v. 29, p. 146-150, 2002.

HUA, W.; ZHANG, X.; ZHU, J.; SHANG, Y.; WANG, J.; JIA, Q.; LI, C.; YANG, J. A study of genetic diversity of colored barley (*Hordeum vulgare* L.) using SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 62, p. 395-406, 2014.

IANNUCCI, A.; CODIANNI, P., CATTIVELLI, L. Evaluation of genotype diversity in oat germplasm and definition of ideotypes adapted to the mediterranean environment. *International Journal of Agronomy*, Cairo, p. 1-8, 2011.

IBGE. *Produção Agrícola 2015*. Disponível em: <[http://ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/LevantamentoSistematico\\_da\\_Producao\\_Agricola\\_\[mensal\]/Comentarios/lspa.pdf](http://ibge.gov.br/Producao_Agricola/LevantamentoSistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Comentarios/lspa.pdf)>. Acesso em: 13 nov. 2015.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C. M.; IGARASHI, L. C.; KAZUMA, A. H.; LOPES, R. S. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no Estado do Paraná. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 14., 1986, Londrina. *Resumos...* Londrina: IAPAR, 1986. p. 57-59.

IBPGR. *Oats descriptors*. Rome: IBPGR, 1985. 21 p.

JACOBI, U. S.; FLECK, N. G. Avaliação do potencial alelopático de genótipos de aveia no final do ciclo. *Planta Daninha*, Viçosa, v. 16, p. 187-207, 1998.

JEHANGIR, I. A.; KHAN, H. U.; KHAN, M. H.; UR-RASOOL, F.; BHAT, R. A.; MUBARAK, T.; BHAT, M. A.; RASOOL, S. Effect of sowing dates, fertility levels and cutting managements on growth, yield and quality of oats (*Avena sativa* L.). *African Journal of Agricultural Research*, Nairobi, v. 8, p. 648-51, 2013.

KHOUFI, S.; KHAMASSI, K.; SILVA J. A. T. da; CHAABANE R.; NACEUR, M. B. B. Morphological and molecular characterization of six of the most frequently cultivated hard wheat varieties in Tunisia. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, Ebene, v. 4, p. 106-114, 2012.

KALIA, R. K.; RAÍ, M. K.; KALIA, S.; DHAWAN, A. K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, Dordrecht, v. 177, p. 309-334, 2011.

KHAN, I.; HASSAN, G.; KHAN, M. I.; KHAN, N. U.; MARWAT K. B. Agronomic and polymorphism study of wild oat (*Avena fatua* L.) biotypes at DNA level. *Pakistan Journal of Botany*, Karachi, v. 42, p. 841-848, 2010.

KHAN, A.; ANJUM, M. H.; KHASHI, M.; REHMAN, M. K. U.; ZAMAN, Q.; ULLAH, R. Comparative study on quantitative and qualitative characters of different oat (*Avena sativa* L.) genotypes

under agro-climatic conditions of Sarghoda, Pakistan. *American Journal of Plant Sciences*, Washington, v. 5, p. 3097-3103, 2014.

KOHLI, M. M.; MEHTA, Y. R.; GUZMAN, E.; DE VIEDMA, L.; CUBILLA, L. E. *Pyricularia* blast – a threat to wheat cultivation. *Czech Journal of Genetics and Plant-Breeding*, Praga, v. 47, p. 130-134, 2011.

KRUGNER, T. L. A natureza da doença. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 35-45.

KULEUNG, C.; BAENZIGER, P. S.; DWEIKAT, I. Transferability of SSR markers among wheat, rye and triticale. *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 108, p. 1147-1150, 2004.

LARCHER, W. As influências do ambiente sobre o crescimento e sobre o desenvolvimento. In: LARCHER, W. (Ed.). *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2000. p. 295-338.

LI, C. D.; ROSSNAGEL, B. G.; SCOLES, G. J. The development of oat microsatellite markers and their use in identifying relationships among *Avena* species and oat cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 101, p. 1259-1268, 2000.

LEISOVA, L.; KUCERA, L.; DOTLACIL, L. Genetic resources of barley and oat characterized by microsatellites. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, Praga, v. 43, p. 97-104, 2007.

LOCATELLI, A. B.; FEDERIZZI, L. C.; MILACH, S. C. K.; MCELROY E. R. Flowering time in oat: Genotype characterization for photoperiod and vernalization response. *Field Crops Research*, Wageningen, v. 106, p. 242-247, 2008.

LORENCETTI, C.; CARVALHO, F. I. F. de; MARCHIORO, V. S. M.; BENIN, G.; OLIVEIRA, A. C. de; FLOSS, E. L. Implicações da aplicação de fungicida na adaptabilidade e estabilidade de rendimento de grãos em aveia branca. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, p. 693-700, 2004.

LOVATO, F. A. Uso de características de resistência a doenças em testes de DHE. In: BRASIL. *Proteção de Cultivares no Brasil*. Brasília: Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo, 2011. p. 147-154.

LUND, B.; ORTIZ, R.; BOTHMER, R. von; ANDERSEN, S. B. Detection of duplicates among repatriated Nordic spring barley (*Hordeum vulgare* L. s.l.) accessions using agronomic and morphological descriptors and microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 60, p. 1-11, 2013.

MACE, M. E.; HOWELL, C. R. Histochemistry and identification of condensed tannin precursor in root of cotton seedlings. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v. 11, p. 2423-2426, 1974.

MACIEL, J. L. N.; CERESINI, P. C.; CASTROAGUDIN, V. L.; ZALA, M.; KEMA, G. H. J.; MCDONALD, B. A. Population structure and pathotype diversity of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae* 25 years after its emergence in Brazil. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 104, p. 95-107, 2014.

MACHADO, R. S.; RIBEIRO, R. V.; MARCHIORI, P. E. R.; MACHAD, D. F. S. P.; MACHADO, E. C.; LANDELL, M. G. A. Respostas biométricas e fisiológicas ao déficit hídrico em cana-de-açúcar, em diferentes fases fenológicas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 44, p. 1575-1582, 2009.

MALUF, J. R. T. Nova classificação climática do Estado do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Agrometeorologia*, Santa Maria, v. 8, p. 141-150, 2000.

MAPA. *Cultivares protegidas*. Disponível em <[http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares\\_protegidas.php](http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_protegidas.php)>. Acesso em: 15 dez. 2015.

MARANGONI, M. S.; NUNES, M. P.; FONSECA JR. N.; MEHTA, Y. R. *Pyricularia* blast on white oats - a new threat to wheat cultivation. *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 38, p. 198-202, 2013.

MARCHIORO, V. S.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; KUREK, A. J.; LORENCETTI, C.; SILVA, J. A. G.; CARGNIN, A. Estratégias para a modificação do potencial de rendimento de grãos em genótipos de aveia: época de semeadura e aplicação de fungicida. *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v. 8, p. 13-17, 2001.

MARIC, S.; BOLARÍC, S.; MARTINCIC, J.; PEJÍC, I.; KOZUMPLINK, V. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. *Plant Breeding*, Berlin, v. 123, p. 366-369, 2004.

MARTINELLO, G. E.; LEAL, N. R.; AMARAL, J. A. T.; PEREIRA, M. G.; DAHER, R. F. Divergência genética em acessos de quiabeiro com base em marcadores morfológicos. *Horticultura Brasileira*, Campinas, v. 20, p. 52-58, 2001.

MEHTA, Y. R.; NUNES, M. P.; OLIVEIRA, J. C. Ocorrência de brusone em aveia no Estado do Paraná. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, Guarapuava: FAPA, 2006. p. 55-57.

MENEGON, A. P.; FORCELINI, C. A.; FERNANDES, J. M. C. Expansão de lesão por manchas foliares em cevada e sua interação com a aplicação foliar de fungicidas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, p. 134-138, 2005.

MENEZES, B. R. S.; MOREIRA, L. B.; LOPES, H. M.; PEREIRA, M. B. Caracterização morfoagronômica em arroz vermelho e arroz de sequeiro. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 41, p. 490-499, 2011.

MICHELMORE, R. W.; PARAN, I.; KESSELI, R.V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 88, p. 9828-9832, 1991.

MILACH, S. C. K. Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Ed). *Recursos genéticos e melhoramento de*

*plantas para o Nordeste brasileiro*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. p. 1-8.

MOLLA, K. A.; DEBNATH, A. B.; GANIE, S. A.; MONDAL, T. K. Identification and analysis of novel salt responsive candidate gene based SSRs (cgSSRs) from rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biology*, London, v. 15, p. 1-11, 2015.

MONTILLA-BASCÓN, G.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J.; RISPAIL, N.; RUBIALES, D.; MUR, L.; LANGDON, T.; GRIFFITHS, I.; HOWARTH, C.; PRATS, E. Genetic diversity and population structure among oat cultivars and landraces. *Plant Molecular Biology Reporter*, Athens, v. 31, p. 1305-1314, 2013.

MOTA, F. S. *Meteorologia agrícola*. São Paulo: Nobel, 1989. 201 p.

MURPHY, J. P.; HOFFMAN, L. A. Origin, history and production of oat. In: MARSHALL, H. G.; SORRELS, M. E. (Eds.) *Oat science and technology*. Madison: Crop Science Society of American, 1992. p. 1-28.

NAVA, I. C.; DUARTE, I. T. DE L.; PACHECO, M. T.; FEDERIZZI, L. C. Genetic control of agronomic traits in an oat population of recombinant lines. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Londrina, v. 10, p. 305-311, 2010.

NAVEED, K.; KHAN, M. A.; BALOCH, M. S.; ARIF, M.; NAQVI, A. S.; KHAN, J.; ALI, S. Early planting date can compensate the reduction in wheat yield due to fodder cutting in dual purpose wheat. *Pakistan Journal Agricultural Sciences*, Lahore, v. 52, p. 467-475, 2015.

NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Science*, Washington, v. 70, p. 3321-3323, 1973.

NERSTING, L. G.; ANDERSEN, S. B.; VON BOTHMER, R.; GULLORD, M.; JORGENSEN, R. B. Morphological and molecular diversity of Nordic oat through one hundred years of breeding. *Euphytica*, Wageningen, v. 150, p. 327-337, 2006.

NIKOLOUDAKIS, N.; BLADENOPOULOS, K.; KATSIOTIS, A. Structural patterns and genetic diversity among oat (*Avena*) landraces assessed by microsatellite markers and morphological analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, p. 1-11, 2015.

NORNBERG, R.; RIBEIRO, G.; SILVEIRA, G. da; LUCHE, H. de S.; BARETTA, D.; TESSMANN, E. W.; WOYANN, L. G.; OLIVEIRA, A. C. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de aveia branca. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, Curitiba, v. 12, p. 181-190, 2014.

NOTTEGHEM, J. L. Cooperative experiment on horizontal resistance to rice blast. In: NOTTEGHEM, J. L. *Blast and upland rice: report and recommendations from the meeting for international collaboration in upland rice improvement*. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. p. 43-51.

NUNES, M. P; OLIVEIRA, J. C.; MEHTA, Y. R. Identificação de fontes de resistência a *Pyricularia grisea* em aveia. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 31, p. 254-255, 2006.

OTEROS, J.; GARCÍA-MOZO, H.; BOTEY, R.; MESTRE, A.; GALÁN, C. Variations in cereal crop phenology in Spain over the last twenty-six years (1986–2012). *Climatic Change*, Dordrecht, v. 130, p. 545-558, 2015.

OU, S. H. Fungus diseases: foliage diseases. In: OU, S. H. *Rice diseases*. 1ed. Surrey: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1972. p. 97-184.

PADMAVATI, M.; SAKTHIVEL, N; THARA, K. V.; REDDY, A. R. Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. *Phytochemistry*, Pullman, v. 46, p. 499-502, 1997.

PASCHOLATI, S. F. Fitopatógenos: Fitoxinas e hormônios. In: BERGAMIN FILHO, A. H.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo: Ceres, 1995. p. 365-392.

PIRES, J. L. F.; SANTOS, H. P. dos; SCHEEREN, P. L.; MIRANDA, M. Z. de; DE MORI, C.; CASTRO, R. L. de; CAIERÃO, E.; PILAU, J. *Avaliação de cultivares de trigo em diferentes níveis de manejo na região do Planalto do Rio Grande do Sul*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento *on line*, 74).

PHABHU, A. S.; FILLIPI, M. C. C.; RIBEIRO, A. S. Doenças e seu controle. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Ed.). *A cultura do arroz no Brasil*. 2. ed. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA/CNPAP, 2006. p. 561-590.

PREMKUMAR, R.; NIRMALAKUMARI, A.; ANANDAKUMAR, C. R. Morphological characterization and assessment of variability in selected oat *Avena sativa* L. germplasm accessions. *International Journal of Farm Sciences*, Solan, v. 5, p. 63-69, 2015.

PURCHIO-MUCHOVEJ, A.; MUCHOVEJ, J. J. O gênero *Pyricularia* e seus teleomorfos. In: LUZ, W. C.; FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Eds.). *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. Rio Grande do Sul: Passo Fundo, 1994. p. 175-208.

RAO, R. C. *Advanced statistical methods in biometric research*. New York: J. Wiley, 1952. 390 p.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Controle cultural. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). *Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos*. São Paulo: Ceres, 1995. p. 710-716.

REIS, E. M.; CASA, R. T. Doenças do Trigo. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Eds.) *Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Editora Ceres, 2005. p. 637-643.

RIBEIRO, C. Z.; PINTO, R. J. B.; FRANCO, F. A.; MARCHIORO, V. S.; SCHUSTER, I.; VIEIRA, E. S. N. Análise dialéctica e uso de marcadores microssatélites na avaliação de cultivares de trigo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, p. 1732-1737, 2011.



RIBOT, C.; HIRSCH, J.; BALZERGUE, S.; THARREAU, D.; NOTTEGHEM, J. L.; LEBRUN, M. H.; MOREL, J. B. Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Journal of Plant Physiology*, Stuttgart, v. 165, p. 114-124, 2008.

RINES, H. W.; MOLNAR, S. J.; TINKER, N. A.; PHILLIPS, R. L. Oat. In: KOLE, C. (Ed.) *Cereals and millets: genome mapping and molecular breeding in plants*. New York: Springer Berlin Heidelberg, 2006. p. 211-242.

RODER, M. S.; WENDEHAKE, K.; KORZUN, V.; BREDEMEIJER, G.; LABORIE, D.; BERTRAND, L.; ISAAC, P.; RENDELL, S.; JACKSON, J.; COOKE, R. J.; VOSMANN, B.; GANAL, M. W. Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 106, p. 67-73, 2002.

ROCHA, J. R. do A. S. de C.; PIMENTEL, A. J. B.; RIBEIRO, G.; SOUZA, M. A. Eficiência de fungicidas no controle da brusone em trigo. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 40, p. 347-352, 2014.

ROTILI, E. A.; CANCELLIER, L. L.; DOTTO, M. A.; PELUZIO, J. M.; CARVALHO, E. V. Divergência genética em genótipos de milho, no Estado do Tocantins. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 43, p. 516-521, 2012.

SALAMI, H. A.; ADJANOHOON, A.; PADONOU, W.; YACOUBOU, A. M.; ALY, D.; YALLOU, C.; SINA, H.; BABAMOUSA, L. Morphological diversity of corn's (*Zea mays* L.) local cultivar and improved varieties in central and North of Benin. *American Journal of Plant Sciences*, Washington, v. 6, p. 2867-2877, 2015.

SALOMÃO, A. N. *Manual de curadores de germoplasma vegetal: glossário*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. (Documentos, 326).

SANTOS, M. C. A.; FREITAS, S. de P.; AROUCHA, E. M. M.; SANTOS, A. L. A. Anatomia e histoquímica de folhas e raízes de vinca (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don). *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, Campina Grande, v. 9, p. 24-30, 2009.

SCHEFFER-BASSO, S. M.; ORSATO, J.; MORO, G. V.; ALBUQUERQUE, A. C. S. Divergência genética em germoplasma de aveias silvestres com base em caracteres multicategóricos e quantitativos. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 59, p. 654-667, 2012.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I.; OLIVARES, F. L. *Defesa de plantas contra fitopatógenos*. Embrapa Agrobiologia: Seropédica, 2008. (Documentos, 250).

SILVA, M. A.; SOARES, R. A. B.; LANDELL, M. G. A.; CAMPANA, M. P. Agronomic performance of sugarcane families in response to water stress. *Bragantia*, Campinas, v. 67, p. 656-661, 2008.

SILVA, R. R.; BENIN, G.; SILVA, G. O.; MARCHIORO, V. S.; ALMEIDA, J. L.; MATEI, G. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de trigo em diferentes épocas de semeadura, no Paraná. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 46, p. 1439-1447, 2011.

SILVA, P. R. da; MILACH, S. C. K.; TISIAN, L. M. Transferability and utility of white oat (*Avena sativa*) microsatellite markers for genetic studies in black oat (*Avena strigosa*). *Genetics and Molecular Research*, Ribeirão Preto, v. 10, p. 2916-2923, 2011.

SILVA, A. R.; DIAS, C. T. dos S. A cophenetic correlation coefficient for Tocher's method. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v. 48, n. 6, p. 589-596, 2013.

SILVA, C. L.; BORNHOFEN, E.; TODESCHINI, M. H.; MILIOLI, A. S.; TREVIZAN, D. M.; BENIN, G. Seleção de genótipos de trigo para rendimento de grãos e qualidade de panificação em ensaios multiambientes. *Revista Ceres*, Viçosa, v. 62, p. 360-371, 2015.

SILVA, W. L.; CRUZ, M. F. A.; FORTUNATO, A. A.; RODRIGUES, F. A. Histochemical aspects of wheat resistance to leaf blast mediated by silicon. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 72, p. 322-327, 2015.

SILVEIRA, G. da; MOLITERNO, E.; RIBEIRO, G.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; NORNBORG, R.; BARETTA, D.; MEZZALIRA, I. Variabilidade genética para características agronômicas superiores em cruzamentos biparentais de aveia preta. *Bragantia*, Campinas, v. 69, p. 823-832, 2010.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, New Delhi, v. 41, p. 237-245, 1981.

SHARMA, P.; TIWARI, S.; TRIPATHI, N.; MEHTA, A. K. Polymorphism analysis in advanced mutant population of oat (*Avena sativa* L.) using ISSR markers. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, New Delhi, p. 1-6, 2016.

SONEGO, M.; JAMIESON, P. D.; MOOT, D. J., MARTIN, R. J. Development and growth of oat leaves at different temperatures and nitrogen levels. *Journal Agronomy*, New Zealand, v. 29, p. 75-81, 1999.

SONEGO, M. *Effect of temperature and daylength on the phenological development of oats (Avena sativa L.)*. 2000. 129 f. Tesis (Doctoral Thesis/Philosophy) - Lincoln University, New Zealand, 2000.

SOOD, V. K.; RANA, I.; HUSSAIN, W.; CHAUDHARY, H. K. Genetic diversity of genus *Avena* from North Western-Himalayas using molecular markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, p. 1-8, 2014.

SQUEO, F.; OLIVARES, N.; OLIVARES, S.; POLLASTRI, A.; AGUIRRE, E.; ARAVENA, R.; JORQUERA, C.; EHLERINGER, J. R. Functional groups in North Chilean desert shrub species, based on the water sources used. *Gayana Botanica*, Concepcion, v. 56, p. 1-15, 1999.

STONE, P. J.; SORENSEN, I. B.; JAMIESON, P. D. Effect of soil temperature on phenology, canopy development, biomass and yield of maize in a cool-temperate climate. *Field Crops Research*, Amsterdam, v. 63, p. 169-178, 1999.

SUBEDI, K. D.; MA, B. L.; XUE, A. G. Planting date and nitrogen effects on grain yield and protein content of spring wheat. *Crop Science*, Madison, v. 47, p. 36-47, 2007.

SUDRÉ, C. P.; CRUZ, C. D.; RODRIGUES, R.; RIVA, E. M.; KARASAWA, M.; AMARAL JUNIOR, A. T. Variáveis multicategóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 24, p. 88-93, 2006.

TANG, X. Q.; YAN, H. H.; WANG, Z. Y.; LI, W.; WEI, Y. M.; REN, C. Z.; ZHAO, G.; PENG, Y. Y. Evaluation of diversity and the relationship of *Avena* species based on agronomic characters. *International Journal of Agriculture and Biology*, Faisalabad, v. 16, p. 14-22, 2014.

TORRES, G. A. M.; GONZÁLES, H. H. S.; WEBBER, N. F.; SCHERER, H. M. *Tipos de lesão de brusone em trigo*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2015. (Comunicado técnico, 346).

TREUTTER D. Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, Dordrecht, v. 4, p. 147-157, 2006.

URASHIMA, A. S.; HASHIMOTO, Y.; DON, L. D.; KUSABA, M.; TOSA, Y.; NAKAYASHIKI, H.; MAYAMA, S. Molecular analysis of the wheat blast population in Brazil with a homolog of retrotransposon MGR583. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, Tokyo, v. 65, p. 429-436, 1999.

URASHIMA, A. S.; LAVORENT, N. A.; GOULART, A. C. P.; METHA, Y. R. Resistance spectra of wheat cultivars and virulence diversity of *Magnaporthe grisea* isolates in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, p. 511-518, 2004.

URASHIMA, A. S. Blast In: BOCKUS, W. W.; BOWDOWN, R. L.; HUNGER, R. M.; MORRIL, W. L.; MURRAY, T. D.; SMILEY, R. W. *Compendium of wheat diseases and pests*. 3 ed. Minnesota: The American Phytopathological Society, 2010. p. 55-121.

URASHIMA, A. S.; SILVA, O. S. Characterization of *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia grisea*) from black oat in Brasil. *Journal of Phytopathology*, Gottingen, v. 159, p. 789-795, 2011.

VALÉRIO, I. P.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; LORENCETTI, C.; SOUZA, V. Q.; SILVA, J. A. G.; HARWIG, I.; SCHMIDT, D. A. M.; BERTAN, I.; RIBEIRO, G. Estabilidade da produção e da capacidade de combinação de diferentes populações de aveia. *Semina*, Londrina, v. 30, p. 331-346, 2009.

VALLE, J. I. J. *Descriptores varietales de avena (Avena sp.) cultivadas en México*. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Institución de Enseñanza e Investigación em Ciências Agrícolas, México, 2009.

VARSHNEY, R. K.; GRANER, A.; SORRELLS, M. E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends Biotechnology*, Amsterdam, v. 23, p. 48-55, 2005.

VASCONCELOS, E. S. de; CRUZ, C. D.; BHERING, L. L.; JÚNIOR, M. F. R. R. Método alternativo para análise de agrupamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 42, p. 1421-1428, 2007.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; BENIN, G.; ZIMMER, P. D.; SILVA, J. A. G. da; MARTINS, A. F.; BERTAN, I.; SILVA, G. O. da; SCHMIDT, D. A. M. Comparação entre medidas de distância genealógica, morfológica e molecular em aveia em experimentos com e sem a aplicação de fungicida. *Bragantia*, Campinas, v. 64, p. 51-60, 2005.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F.; BERTAN, I.; KOPP, M. M.; ZIMMER, P. D.; BENIN, G.; SILVA, J. A. G.; HARTWIG, I.; MALONE, G.; OLIVEIRA, A. C. Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 30, p. 392-399, 2007.

WANG, Y. J.; WANG, C. Y.; ZHANG, H.; YUE, Z. N.; LIU, X. L.; JI, W. Q. Genetic analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) and related

species with SSR markers. *Genetic Resources Crop Evolution*, Dordrecht, v. 60, p. 1105-1117, 2012.

WILCOXSON, R. D. Genetics of slow rusting in cereals. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 71, p. 989-992, 1981.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAC, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, Council, v. 14, p 415-421, 1974.

Apêndice 1 - Descrição, sequência e temperatura de anelamento dos marcadores microssatélites utilizados na análise de divergência genética entre cultivares de aveia-branca

Marcador *	Sequência 5' → 3'	Temperatura °C
AM1	GGA TCC TCC ACG CTG TTG A CTC ATC CGT ATG GGC TTT A	46
AM2	TGA ATT CGT GGC ATA GTC ACA AGA AAG GAG GGC ATA GGG AGG TAT TT	49
AM3	CTG GTC ATC CTC GCC GTT CA CAT TTA GCC AGG TTG CCA GGT C	51
AM4	GGT AAG GTT TCG AAG AGC AAA G GGG CTA TAT CCA TCC CTC AC	48
AM5	TTG TCA GCG AAA TAA GCA GAG A GAA TTC GTG ACC AGC AAC AG	46
AM6	AAT GAA GAA ACG GGT GAG GAA GTG CCA GCC CAG TAG TTA GCC CAT CT	52
AM7	GTG AGC GCC GAA TAC ATA TTG GCT AGC TGC TTG AAA CT	48
AM8	CAA GGC ATG GAA AGA AGT AAG AT TCG AAG CAA CAA ATG GTC ACA C	47
AM9	CAA AGC ATT GGG CCC TTG T GGC TTT GGG ACC TCC TTT CC	48
AM10	AAA ATC GGG GAA GGA AAC C GAA GGC AAA ATA CAT GGA GTC AC	46
AM11	TCG TGG CAG AGA ATC AAA GAC AC TGG GTG GAG GCA AAA ACA AAA C	49
AM12	TGC TGA AGT GAA CAA TCG C CCT TCT CCA ACA ACT CTA C	44
AM13	CGG CGT GAT TTG GGG AAG AAG CTA GTA ACG GCC GCC AGT GTG CTG	54
AM14	GTG GTG GGC ACG GTA TCA TGG GTG GCG AAG CGA ATC	48
AM15	GTG ACC GTA AAC GAT AAC AAC AAG CAA GAC GCG AGA GTA GG	47
AM16	CGG GTT GGC ATC GAC TAT TGA CCA GGC TCT AAC ACA	44
AM17	CGA GAT TTC GGT GTA GAC CCG GGA ATT AAC GGA GTC	44
AM18	CAA TGT CGT CGG TGT GAG TTT TAC GAG TGT GGC ACG AGC	47
AM19	ATA GAA CGG CAT GAT AAC GAA ATA GCG CGA CAA CAG GAC CTT C	48
AM20	TGT CGA TTT CTT TAG GGC AGC ACT TCG CGA GAA AGA TGG AAA GGA GA	50
AM21	ACG TTG GTC TCG GGT TGG AAA TCC TTG ACT TCG CTC TGA	46
AM22	ATT GTA TTT GTA GCC CCA GTT C AAG AGC GAC CCA GTT GTA TG	46

## Apêndice 1 – Continuação

Marcador *	Sequência 5' → 3'	Temperatura °C
AM24	GTT ATT GAT TTC CTG ATG TAG AGA AGA GCC AAG AAA GCA ACT G	45
AM25	AGC CTG GAC ATG TAA TCT GGT AGC CCT GGT CTT CTT CAA CA	47
AM26	ATA AAG GGG GCA TTG GAT T AAC ATA TTG GGC ATT CAC AT	41
AM27	CAA AGG CCA AAT GGT GAG CCG CAA AGT CAT ATG GAG CAT	45
AM28	GAC CTC TTG AGT AAG CAA CG TGG TCT TCC TAT CCA CAA TG	46
AM29	TCC CGC AAA ATC ATC ACG A AAG GGA GCA TTG GTT TTG TT	43
AM31	GCA AAG GCC ATA TGG TGA GAA CAT AGG TTT GCC ATT CGT GGT	47
AM32	AGT GAA GGC GAT GGC GAA GGA TAA TGC ACC CGA GTT GC	47
AM33	GCA AAG GTT AAA TGG TGA GA GCC AAC ATA TTG TGC ATA CA	43
AM34	GAG TAA GCA AAG GTC AAA TG GTT AGC ACT TCC CAC AAA ATC A	44
AM36	CTT CCC GCA AAG TTA TCA T AGG GGC ATT GGC TTT GTC	43
AM37	CTT CCA CAA GGC AAC GAG TC GGT TAG CAC TTC CCG CAA A	47
AM38	TGA TGA CCT CTT GAG TAA GCA TGC CTT TCG TGG ACT TAC TA	45
AM39	TTG GGC ATG CCC TTG TT GCC TTG GAG AGT AAA TTC TC	43
AM40	CTC TGG GGG TGG TAG TTC CT GAA AGA CAG GCC TCC ACA AAT	49
AM41	CCA AAG GAA ACA AGT CAA TAG TTC CCG CAA AGT CAT CAT	42
AM42	GCT TCC CGC AAA TCA TCA T GAG TAA GCA AAG GCC AAA AAG T	45
AM43	• AGC CCC TAC AAA GCC ATC A CAA GCA AAG GAC GAA CAA TAG	46
AM44	CGT TGG CCC CTT TTT TCA GTG AGG GGC ATT GGC TTT GTC C	49
AM45	AGG GAA AAA CAA AAC GTG AGA GTA ATG CAA CAG ATA GAC AAG GGA TTA	47
AM46	TTG GCA AGG CGA GGT CT CCA AAA GGC TAC AAC ATC ACA C	46
AM47	GCA CCG GTT AAA AAG GAG TCA G TTT CTT CTT ACC CAC CCA CCA C	50
AM50	CTT GAG CGC TAG ATG GTT CC CTC TGT TAC TCA AGT GTT TCA ATA	47



## Apêndice 1 – Continuação...

<b>Marcador *</b>	<b>Sequência 5' → 3'</b>	<b>Temperatura °C</b>
AM58	GTT TAG ATG GGG GTG GCT TAG TTT CTT GTT CTT TGG ATT TTA TTT	45
AM61	TCG GAG CCG GTA TGG AAG C GGT GGC AAG GGG TGT ATG AG	51

\* Obtidos de Li et al. (2000).