

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

**PRODUÇÃO DE ESPOROS, DENSIDADE DE INÓCULO E
CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO PARA
RESISTÊNCIA À MANCHA AMARELA, CAUSADA POR
*PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS***

FRANCIELY MOSCHEN

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, março de 2008.

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

**PRODUÇÃO DE ESPOROS, DENSIDADE DE INÓCULO E
CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE TRIGO PARA
RESISTÊNCIA À MANCHA AMARELA, CAUSADA POR
*PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS***

FRANCIELY MOSCHEN
Engenheira Agrônoma

Orientador: Prof. Dr. Ariano Morais Prestes
Co-orientador: Dr. Pedro Luiz Scheeren

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de Concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, março de 2008

M895p Moschen, Franciely

Produção de esporos, densidade de inóculo e caracterização genótipos de trigo para resistência à mancha amarela, causada por *tritici-repentis*/ Franciely. – 2008.

xiv, 134 f. : il. color. ; 24 cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Ariano Moraes Prestes.

Co-orientador: Pedro Luiz Scheeren.

1. Trigo – Cultivo. 2. Trigo – Inoculação. 3. Trigo – Doenças e pragas. I. Prestes, Ariano Moraes, orientador. II. Scheeren, Pedro Luiz, orientador. III. Título.

CDU: 633.11

Bibliotecária responsável Schirlei T. da Silva Vaz - CRB 10/1364

Tempo é viver...
Fazer é crer...
Sonhar é conquistar...
Amor é para concretizar!

Aos meus pais, Maximino e Enir, aos meus três irmãos. Aos laços que
nos unem a vida, a natureza e a agricultura

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Das várias formas de agradecer, com humildade e sinceridade,
agradeço:

Ao Dr. Ariano M. Prestes pela orientação, experiência, sugestões,
apoio e amizade;

Ao Dr. Pedro L. Scheeren pela co-orientação, incentivo, sugestões, e
amizade;

Ao Dr. Flávio M. Santana pelo incentivo, presença e apoio;

À minha querida família, que mesmo longe, esteve muito presente,
pela paciência, apoio, dedicação e carinho;

A Capes e ao PPGAgro, pela bolsa de estudo no período de abril de
2006 a março de 2008;

À EMBRAPA Trigo pelo apoio corporativo, aos seus pesquisadores
sempre dispostos a dividir conhecimento, a todos os departamentos
sempre muito receptivos, em especial ao Laboratório de Entomologia,
Biblioteca, Laboratório de Biologia Molecular e BAG;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da
UPF, pelos ensinamentos e amizade. Ao professor Carlos Alberto
Forcelini, a professora Jurema Schöns, e a secretária PPGAgro Mari
T. G. Viecelli obrigada pelo apoio.

À Pioneer Sementes Ltda., estação de pesquisa de Coxilha, RS,
agradeço o apoio, incentivo e amizade de todos.

A todos da casa de apoio da EMBRAPA Trigo, vocês são
inesquecíveis: Édson Maciel, Dirceu Rebechi, Elói Primaz, Juarez
Fassini, Jorge Odorizzi, Sebastião Fachi, Sérgio Zancheti, Joacélia

Colla, Marcos Copetti, José G. Paes, e todos os estagiários, obrigada pelas palavras de incentivo, apoio, experiência e amizade;

A todos do laboratório de Fitopatologia da UPF e da EMBRAPA Trigo. Pessoal, obrigada pelo apoio, presença e amizade. Aos amigos M. Sc. Alexandre D. Roese e Cláudia C. Clebsch pela incondicional ajuda, apoio, incentivo, comprometimento e amizade. Aos estagiários Maurício e Fernanda.

Ao Professor Valmor Bianchini e seus estudantes no laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Botânica da UFPel, obrigada pelo acolhimento e ajuda. À professora Sandra A. Dalatorre, e sua estudante de mestrado, Laize Espíndola, minha grande amiga cujo carinho já estimo a algum tempo, obrigada pelo acolhimento e ajuda, no Laboratório de Biologia Molecular do Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS;

Ao Dr. Dr. João L. N. Maciel, pelas palavras de apoio;

Ao “Tio”, Eloni A. Pollo, o campo não seria o mesmo sem a sua ajuda!

As amigas Franciele T. Vieira e Fabiana R. Mühl, caminhamos juntas!

Ao Marcio Nicolau pelo auxílio fundamental nas análises estatísticas, o PROC CLUSTER revelou uma querida amizade. Ao amigo Eder N.

Moreira, obrigada pela ajuda nas análises e comunicação com Prof.

Jefferson Coimbra (CAV-UDESC), obrigada a vocês.

As amigas do apartamento da Travessa Evaristo Tagliaria e a todos os amigos e por ali estiveram... As amigas Fernanda Ramos, Alinne Silva, Poliana Francescato, e Cristiane Gardiano, a distância sempre aumenta nossa amizade.

A todos os colegas da PPGAgro, obrigada pelo companheirismo;

Aos amigos Emerson Limberger, Giseli Arduim, Vânia Bianchin e Alexandre D. Roese com certeza presentes em todos os dias durante este período, obrigada pelo apoio, dedicação e companheirismo. Levo

comigo nossa sólida amizade de forma muito carinhosa;

A todos que de forma direta ou indireta colaboraram para a

concretização desta pesquisa. Ninguém trabalha sozinho.

E, agradeço a Deus pela presença, força constante, e por proporcionar toda esta interação de amizade, conhecimento e perspectivas.

Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE QUADROS	xiii
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 A Cultura do Trigo.....	8
2.1.1 Origem e Importância Econômica.....	8
2.2 Mancha Amarela do Trigo.....	10
2.2.1 Etiologia.....	11
2.2.2 Hospedeiros.....	12
2.2.3 Sintomatologia e Danos.....	13
2.2.4 Epidemiologia.....	14
2.2.5 Fatores que Afetam o Desenvolvimento da Doença.....	15
2.2.6 Infecção.....	16
2.2.7 Variabilidade do patógeno.....	17
2.2.8 Medidas de Controle.....	19
2.2.9 Herança da Resistência.....	20
2.2.10 Bases Genéticas e Melhoramento para Resistência à Mancha Amarela no Brasil.....	22
CAPÍTULO I	24
MORFOLOGIA DOS CONÍDIOS E ESPORULAÇÃO DE <i>Drechslera tritici-repentis</i> EM SEIS MEIOS DE CULTURA, SOB DIFERENTES TÉCNICAS DE INDUÇÃO DA ESPORULAÇÃO	24
RESUMO	24
ABSTRACT	25
1 INTRODUÇÃO	27
2 MATERIAL E MÉTODOS	29
3 RESULTADOS	34
4 DISCUSSÃO	36
5 CONCLUSÕES	44

CAPÍTULO II	46
INTENSIDADE DA MANCHA AMARELA DO TRIGO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO <i>DE</i> <i>Drechslera tritici-repentis</i>	46
RESUMO	46
ABSTRACT	47
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	49
3 RESULTADOS	52
4 DISCUSSÃO	57
4 CONCLUSÕES	64
CAPÍTULO III	65
CARACTERIZAÇÃO DA RESITÊNCIA GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE TRIGO À MANCHA AMARELA	65
RESUMO	65
ABSTRACT	66
1 INTRODUÇÃO	67
2 MATERIAL E MÉTODOS	71
3 RESULTADOS	76
4 DISCUSSÃO	98
5 CONCLUSÕES	106
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
CAPÍTULO I	
1	Composição dos meios de cultura utilizados nos trabalhos de indução de esporulação, crescimento de colônia e morfologia..... 29
2	Esporulação de <i>D. tritici-repentis</i> em seis meios de cultura e diferentes técnicas para indução á esporulação, em esporos/mL. Análise conjunta de dados baseados em três experimentos realizados em cada técnica para os seis meios de cultura..... 35
3	Diâmetro de colônias de <i>D. tritici-repentis</i> em seis meios de cultura em três técnicas de indução a esporulação (mm/placa). Análise conjunta de dados baseados em três experimentos realizados em cada técnica para os seis meios de cultura..... 36
4	Comprimento, largura e número de pseudoseptos de conídios de <i>Drechslera tritici-repentis</i> em diferentes meios de cultura..... 37
5	Valores médios, máximos e mínimos de comprimento x largura (em μm) e número de pseudoseptos encontrados em conídios de <i>D. tritici-repentis</i> desenvolvidos em diferentes meios de cultura..... 38
CAPÍTULO II	
1	Área abaixo da curva de progresso da doença em diferentes densidades de inóculo de <i>Drechslera tritici-repentis</i> em quatro cultivares de trigo..... 56
CAPÍTULO III	
1	Agrupamento dos genótipos para soma das notas de reação e média de severidade da mancha

	amarela do trigo em condições controladas. Baseado no dendograma dos Gráficos 1, 2 e 3, pela análise hierárquica, agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R ² ”	77
2	Agrupamento dos genótipos para soma das notas de reação e média de severidade da mancha amarela do trigo em condições de campo, pela análise hierárquica, agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R ² ”	85
3	Agrupamento dos genótipos para soma das notas de reação e média de severidade da mancha amarela do trigo em condições de campo pela análise hierárquica, agrupamento UPGMA e distância de Canberra entre os genótipos, a 80% de “R ² ”	92
4	Divisão dos genótipos por quadrante de dispersão, conforme relação entre a severidade dos dados observados no Campo (planta adulta) e em Condições Controladas (plântula) observados no Gráfico 7, pela Análise de Escalonamento multidimensional.....	96
5	Informações adicionais sobre os genótipos testados nos experimentos em condições controladas e no campo.....	129

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
CAPÍTULO II		
1	Efeito da densidade de inóculo de <i>D. tritici-repentis</i> no número de lesões por folha de plântulas nas cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23.....	54
2	Efeito da densidade de inóculo de <i>Drechslera tritici-repentis</i> na severidade da mancha amarela em folhas de plântulas nas cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23..	55
3	Relação entre o número de lesões e a severidade representada pelo modelo linear logístico nos gráficos das quatro cultivares em teste BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23 respectivamente.....	57
CAPÍTULO III		
1	Escala de reação (tipo de lesão) induzida em trigo por <i>Drechslera tritici-repentis</i> , baseada em Lamari & Bernier (1989).....	73
2	A) Parcelas irrigadas por aspersão de gotículas finas de água (“mist-irrigation”); B) inoculações sobre as parcelas de campo com o auxílio de um pulverizador costal com barra de 4 bicos espaçadas em 60cm; C, D) Reação de doença em parcela do genótipo BR 23 treze dias após a última inoculação.....	75

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico		Página
1	Dendograma da severidade de mancha amarela em condições controladas com inoculação de 3000 conídios/mL, pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R ² ”.....	81
2	Dendograma da severidade de mancha amarela em condições controladas com inoculação de 7500 conídios/mL, pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R ² ”.....	82
3	Dendograma de reação (escala 0-5) à mancha amarela em condições controladas com inoculação de 3000 conídios/mL, pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R ² ”.....	83
4	Dendograma de reação da escala de (0-5) para <i>Drechslera tritici-repentis</i> em ensaio de condições de campo (folha bandeira menos uma folha – avaliação dia 18/10/2007), pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R ² ”.....	88
5	Dendograma de reação da severidade para <i>Drechslera tritici-repentis</i> em ensaio de condições de campo (folha bandeira menos uma folha “A”/folha bandeira “B”, avaliadas no dia 22/10/2007), pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R ² ”.....	89
6	Dendograma de reação de severidade através da evolução da doença em três avaliações para <i>Drechslera tritici-repentis</i> em ensaio de condições de campo pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância de Canberra	

	entre os genótipos, a 80% de “R ² ”.....	94
7	Divisão dos genótipos por quadrante de dispersão, conforme relação entre a severidade dos dados observados no Campo (planta adulta) e em Condições Controladas (plântula) pela Análise de Escalonamento multidimensional.....	97

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA GENÉTICA À MANCHA AMARELA EM GENÓTIPOS DE TRIGO

FRANCIELY MOSCHEN¹, ARIANO MORAES PRESTES², E
PEDRO LUIZ SCHEEREN³.

RESUMO - A mancha amarela do trigo (*Triticum aestivum*), agente causal *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker forma perfeita ou teleomórfica *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs, é uma doença foliar de expressão econômica em diversas áreas produtoras de trigo no Brasil e no mundo, em lavouras de cultivo mínimo. Danos relatados chegam a valores de 40 a 60% do potencial de rendimento da cultura do trigo. A forma mais indicada de controle é a utilização de cultivares resistentes, porém, em função da ocorrência de um complexo de doenças na cultura do trigo, tornou-se muito difícil à incorporação de resistência genética para vários patógenos e ainda pouco se conhece sobre a herança da resistência a *D. tritici-repentis* no germoplasma de trigo. O objetivo deste trabalho foi estabelecer formas de produção e a densidade de inóculo adequados para a caracterização de genótipos de trigo pertencentes ao Banco de Germoplasma da Embrapa Trigo (BAG), em busca de resistência à mancha amarela. Foram avaliadas quanto à severidade e reação à doença, cultivares e linhagens de uma Coleção Histórica do Trigo

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

³ Co-orientador, Eng. Agrônomo, Dr., pesquisador da Embrapa Trigo.

composta por genótipos criados em diferentes épocas (de 1930 até 2005), linhagens dihaploidizados e genótipos de trigo sintético, em câmara climatizada e no campo, mediante inoculação artificial do patógeno. Detectou-se significativa esporulação do fungo nos substratos à base de suco V8, sob estresse do micélio seguido de alternância de luz/escuro por 24h e alternância de temperaturas. A maior diferenciação dos genótipos ocorreu sobre a concentração de inóculo de seis a nove mil conídios/mL, identificando-se elevado número de genótipos suscetíveis entre os acessos testados, além de uma considerável diferença entre a reação de plântula e a de planta adulta para a maioria dos genótipos. Além disso, ficou evidente a necessidade de se testar genótipos para maior número de isolados do patógeno.

Palavras-chave: Mancha amarela, esporulação, concentração de inóculo, resistência genética.

ABSTRACT – Tan spot of wheat (*Triticum aestivum*), incited by *Drechslera tritici-repentis* is a disease economically important in several wheat growing areas of Brasil, under minimum tillage cropping system. *Drechslera tritici-repentis*, the causal agent of tan spot is a potentially destructive pathogen to wheat crop. The disease management has been done by fungicide spraying associated with genetic resistance of wheat varieties. Yield losses up to 40 to 60% of potential yield of wheat are reported in Brazil. The best way to control the disease is the use of resistant varieties, however, due to the occurrence of a complex of leaf spots on wheat, it is very difficult to

introduce genetic resistance to all causal agents, and besides that little is known about the inheritance of resistance to *D. tritici-repentis* among wheat germplasm. The objective of this work was to establish forms of producing and the density of inoculum of the pathogen ideal for characterizing wheat germplasm belonging to the Embrapa Trigo Germplasm Bank, searching for tan spot resistance. Severity and disease reaction were evaluated on varieties and breeding lines from one the Historic collection of wheat developed in different decades (1930 to 2005), on double haploids lines, and on genotypes of synthetic wheat, under controlled conditions and field, artificially inoculated with the pathogen. It was detected significant spore production of the fungus on the substrate based on V8 juice under stress of the mycelium followed by alternance of light/dark during 24 hours and under alternance of temperature. The best differentiation of genotype occurred with inoculum concentration of 6 to 9 thousand spores per mL. There were a great number of susceptible genotypes among tested material, besides considerable difference between seedling and adult plant reaction for the majority of genotypes tested. It was also noticed the necessity of evaluate the germplasm for a great number of isolates.

Key-words: Tan spot, esporulation, inoculum concentration, genetic resistance.

1.INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma cultura de grande importância no cenário mundial, sendo a principal fonte energética na alimentação da população de muitos países e a segunda em produção de grãos, ficando atrás apenas do milho. No Brasil, o trigo é cultivado, principalmente, na região Sul que é responsável por aproximadamente 90 % da produção brasileira, sendo que o estado do Paraná apresenta a maior área plantada seguindo-se do Rio Grande do Sul (ZYLBERSZTAJN et al., 2004). A China foi o maior produtor mundial de trigo no ano de 2006 com 102.970.000 toneladas de trigo e o Brasil ficou em 21º do ranking com 2.234.300 toneladas, mas com um consumo de 10.393.400 toneladas. Em produtividade foi o 71º país no mundo com 1275 kg/ha na safra de 2006 enquanto países como a Holanda, Alemanha e Dinamarca ultrapassam os 7000 kg/ha (SITE: FAO, JANEIRO 2007). A média de produtividade brasileira dos últimos cinco anos, segunda a CONAB, é de 2231 kg/ha

A baixa produtividade média de trigo no Brasil fez com que os programas de melhoramento buscassem alternativas de maior adaptabilidade às condições climáticas das diferentes regiões do país, com alto potencial de rendimento. Com base principalmente nestes parâmetros os programas de melhoramento de trigo nortearam suas pesquisas.

A mancha amarela do trigo, cujo agente causal é o fungo *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker forma perfeita ou teliomórfica *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs, é uma

doença de expressão econômica em diversas áreas produtoras de trigo sob cultivo mínimo no Brasil.

A preocupação com as manchas foliares, predominando os agentes causais *Stagonospora nodorum*, *Drechslera tritici-repentis* e *Bipolaris sorokiniana*, aumentou com a adoção generalizada das práticas de cultivo mínimo. Conforme estudo realizado por Prestes et al. (2002), as manchas foliares apresentam maior incidência sob o sistema de plantio direto e monocultura, o que pode ser explicado pela emergência das plântulas junto aos restos culturais infectados. O agente da mancha amarela do trigo possui diversos hospedeiros secundários e pode também sobreviver facilmente sobre os restos culturais em sua forma teliomórfica *Pyrenophora tritici-repentis*. Prestes et al. (2002) salientam a importância do plantio direto associado à rotação de culturas para assegurar ganhos em rendimento e segundo Ruedell (1995), dos nove anos de pesquisa na região de Cruz Alta, RS, em oito anos o trigo apresentou rendimento de grãos mais elevado no sistema de cultivo mínimo do que no preparo convencional do solo.

Entre as diversas medidas de controle dessa doença, destacam-se a rotação de culturas, que está limitada pelo grande número de hospedeiros do patógeno que mesmo uma quantidade pequena de inóculo pode promover incidência severa da doença; e, o uso de fungicidas nos quais as limitações estão relacionadas ao custo e o risco de surgimento de variantes resistentes no patógeno, além das consequências negativas ao ecossistema. Por essas razões, é necessária a incorporação de cultivares resistentes num sistema de controle através de manejo integrado da doença. Porém, para o bom

funcionamento do manejo integrado, deve ser levada em consideração a alta variabilidade de *Drechslera tritici-repentis* e a necessidade de estudos de fontes de resistência para contribuição no desenvolvimento de cultivares resistentes. Entretanto, existem poucas fontes de resistência detectadas em *Triticum aestivum* e *Triticum durum*, mas genes de interesse podem ser encontrados na espécie diplóide *Triticum tauschii* (2n=14DD). Por essa razão, o cruzamento de *T. tauschii* com a espécie tetraplóide *T. durum* (2n=28AABB) para a formação do trigo sintético pode servir como ponte para posterior cruzamento com genótipos de *Triticum aestivum* visando à transferência da resistência a várias doenças fúngicas de *T. tauschii*, para o trigo hexaplóide (ANGRA et al. 1997).

O presente trabalho teve por objetivo identificar e caracterizar a resistência à mancha amarela, em acessos de trigo sintético, em linhagens dihaploidizadas e em cultivares desenvolvida desde 1930 até 2005, pertencente ao Banco de Germoplasma da Embrapa Trigo, visando à incorporação de possíveis genes de resistência ao bloco de cruzamentos para o desenvolvimento de novas cultivares, bem como para posteriores estudos genéticos da resistência a esta doença de elevado potencial destrutivo à cultura do trigo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura do trigo

2.1.1 Origem e importância econômica

O trigo é um cereal pertencente à família *Poaceae*, tribo *Triticeae*, subtribo *Triticinae*. Das quatorze espécies dentro do gênero *Triticum*, apenas cinco são cultivadas comercialmente (FEDERIZZI et al., 1999).

Segundo Federizzi et al. 1999, a cultura do trigo possui três *pools* gênicos definidos. O primário compreende espécies diplóides, tetraplóides e hexaplóides do gênero *Triticum*. No secundário, espécies do gênero *Secale*, *Agropyron* e *Haynaldia* que podem ser cruzadas com trigo e produzem híbridos férteis. No *pool* terciário estão as espécies *Hordeum*, *Elymus* e *Agropyron* que necessitam de técnicas especiais de hibridização para produzirem híbridos férteis.

Cruzamentos entre trigo e outras espécies, principalmente *Agropyron* spp. são relatados na busca de introdução de genes principalmente para resistência a doenças e insetos (GILL & RAUPP, 1987). Existem promissoras fontes de variabilidade genética em *Aegilops squarrosa* (também conhecida como *Triticum tauschii*) possuidora do genoma D (2n=14DD), que necessita ser convertida para o nível hexaplóide para uso em programas de melhoramento. O cruzamento de *T. aestivum* com a espécie tetraplóide *Triticum durum* (2n=28AABB), serve como ponte para a transferência da resistência de *T. tauschii* para *T. aestivum*, formando o trigo sintético para ser posteriormente cruzado com a espécie *Triticum aestivum* para

transferir genes de resistência e aumentar a variabilidade genética (ANGRA et al. 1999).

Segundo Osório et al. 1992 a base genética do trigo hexaplóide é limitada, podendo haver uma fragilização do conjunto de variabilidade disponível nos materiais atuais. Existem fontes de resistência nos genótipos de trigo brasileiro hexaplóides cultivados (BRAMMER ET AL., 2000; PRESTES & AITA, 1985; PRESTES, 1990; LUZ, 1995), mas estas são em número reduzido.

No mundo, muitos estudos com *Triticum tauschii* já revelaram bons resultados na busca de genes de resistência ao alumínio tóxico, ferrugem da folha do trigo, septoriose, mancha marron, mancha amarela, nanismo amarelo e carvão (PRESTES & GOULART, 1995). Segundo Cox et al., 1992 avaliando coleções de *Triticum tauschii* (*T. tauschii* provindos de oito regiões do oriente médio, três variedades de *T. tauschii* ssp. *eusquarrosa* – *typica*, *anathera*, e *meyeri*, uma variedade *T. tauschii* ssp. *strangulata* e mais dois grupos divergentes separados com base em vinte locus com marcador molecular - 29 acessos para o grupo “A” e 72 para o grupo “B”) onde ocorreram acessos resistentes à mancha amarela em todos os grupos testados. Para ferrugem da folha e do colmo, os acessos com resistência se concentraram no Irã, Mar de Cáspio e Azerbaijão, e para oídio foram encontrados acessos resistentes no Oriente Médio com exceção de Azerbaijão e Turquia e no grupo divergente “A”.

No Brasil, embora com baixo nível de infecção, Barbosa et al. 1993 testaram cinco genótipos de *Agropyron elongatum* e dois de *A. intermedium* reação a *Drechslera tritici-repentis* e constataram variabilidade entre entradas da mesma espécie e entre espécies

diferentes de *Agropyron*. A infecção foliar variou de 0,7 a 4,4 lesões/cm².

A cultura de tecidos e a haplodiploidização por eliminação somática são técnicas que auxiliam na incorporação de genes advindos de cruzamentos intergenéricos para obtenção de linhagens homozigotas. Depois de obtidos híbridos do cruzamento *T. aestivum* e *A. elongatum*, feitas as seleções para tipo agrônômico e resistência a moléstias, estas plantas serão polinizadas com pólen de milho após 24 e 48h da aplicação de 2,4-D e, passados 12 dias coletam-se os grãos para resgate “*in vitro*” dos embriões, posteriormente tratadas com colchicina, na fase de perfilhamento, para duplicação dos cromossomos das plantas haplóides (ANGRA et al. 1997; SCHEEREN et al. 1997).

A obtenção de cultivares de trigo com características agrônômicas desejáveis, através de cruzamentos, pode ser mais rápida e eficiente com a combinação do uso de técnicas citogenéticas e seleção agrônômica e o conhecimento dos padrões de herança, bem como a localização dos caracteres nos cromossomos, têm permitido ao melhoramento genético avanços na incorporação de genes de importância econômica entre os genótipos promissores (MORAES-FERNANDES ET AL. 2000).

2.2 Mancha Amarela do trigo

A mancha amarela do trigo causada pelo fungo *Drechslera tritici-repentis* é uma das doenças de maior importância econômica no mundo. Esta doença está relacionada ao plantio direto em monocultura, uma vez que esse patógeno é um fungo necrotrófico que sobrevive

facilmente em restos culturais na sua forma teleomórfica e em hospedeiros secundários (PRESTES et al. 2002).

Mancha amarela da folha é assim denominada devido ao amarelecimento que ocorre em volta das lesões, também conhecida como mancha bronzeada em função das lesões apresentarem cor castanho ou marrom e, helmintosporiose porque o agente que causa a doença pertenceu a esse gênero (REIS & CASA 1996).

A doença foi identificada pela primeira vez na Alemanha em 1902, em gramíneas, em 1928 no Japão na cultura do trigo. Posteriormente, ocorreu em outros países como Brasil, Kênia, Zâmbia, Estados Unidos, Canadá, Austrália e Bolívia. Na Bolívia a doença ocorreu de forma severa no ano de 1990. Em 1949, na Austrália, a forma teliomórfica *Pyrenophora tritici-repentis* foi associada pela primeira vez como patógeno em trigo. No Brasil, a mancha amarela foi relatada em 1968, por Costa Neto, no estado do Rio Grande do Sul, e, em 1973, foi observado em Ponta Grossa, no Paraná (METHA 1993). Segundo autor, a partir do ano de 1979, a doença aumentou a incidência em alguns estados como Paraná e São Paulo e hoje é uma das doenças foliares mais frequentes que ocorre reduzindo a produtividade do trigo.

2.2.1 Etiologia

Drechslera tritici-repentis (Died.) Shoemaker é o fungo agente causal da mancha amarela do trigo, sinônimos *Helminthosporium tritici-repentis* Diedicke, *D. tritici-vulgaris* (Nisikado) Ito e *H. tritici-vulgaris* (Nisikado), forma imperfeita ou anamórfica. A forma perfeita

ou teleomórfica corresponde a *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. (sinônimo *P. trichostoma* (Fr.) Fckl.) (WIESE 1987).

O fungo apresenta conidióforos simples ou em grupos de 2-3, emergentes entre as células epidérmicas ou através dos estômatos, retos ou flexuosos, cilíndricos ou ligeiramente afilados no ápice e dilatados na base, hialinos a pardo-claros, lisos, medindo 7-8 x 100-300 μm (WIESE 1987) ou 6-12 x 250-400 μm (ELLIS 1971). Conídios são solitários, retos e ligeiramente curvos, com ápice arredondado e base caracterizada de forma cônica, hialinos a ligeira coloração palha, parede finas, 12-21 x 45-200 μm , 4 a 7 pseudoseptos segundo Wiese 1987 ou 14-20 (17,7) x 80-250 (117) μm e 1-9 pseudoseptos segundo (Ellis, 1971).

Pseudotécios eruptivos são produzidos em trigo ou restos culturais de gramíneas, negros, 200-350 μm em diâmetro, algumas vezes com rostrados. Os ascosporos são ovais a globosos, em número de oito, pardo-amarelos e medem de 18-28 x 45-70 μm , com três septos transversais e leve constrição nos septos. As células medianas podem apresentar septação longitudinal (WIESE, 1987).

2.2.2 Hospedeiros

Os principais hospedeiros de *D. tritici-repentis* são o trigo, o centeio, e o triticales (HOSFORD, 1982). O trigo é o hospedeiro mais importante, porém existe uma ampla gama de hospedeiros secundários (REIS & CASA 1996). Segundo Singh 2001, este fungo é capaz de infectar no mínimo 26 espécies, muitas espécies perenes e ou crescem em áreas que produzem trigo, facilitando a sobrevivência e promovendo inóculo inicial de mancha amarela.

2.2.3 Sintomatologia e Danos

Os sintomas da mancha bronzeada dependem das cultivares de trigo plantado e do tipo de patótipo, que se baseia na possibilidade de produzir necrose ou clorose (LUZ 1982). Geralmente os sintomas de necrose estão associados a clorose extensiva nas folhas, resultando em redução na área fotossintética e senescência prematura.

A mancha bronzeada apresenta os sintomas principalmente nas folhas do trigo, logo após a sua emergência, nos primeiros estádios de desenvolvimento, no perfilhamento e no alongamento do trigo. Depois de 24 a 48 horas da penetração do fungo, aparecem pequenas manchas cloróticas, que com o passar dos dias aumentam de tamanho surgindo no centro da região clorótica, uma região necrótica, escura. A região clorótica pode evoluir para necrose levando à morte das plantas. Quando o trigo é muito suscetível ocorrem também lesões marrons sobre as aristas e glumas. No campo os sintomas da enfermidade aparecem entre 25 e 30 dias após a semeadura e, o clima ideal para seu desenvolvimento é chuva abundante e temperatura entre 18 e 20°C. A frutificação do fungo pode ser observada através de lentes de aumento quando as manchas apresentarem de 2 a 15 mm. Quando as mesmas coalescem não é mais possível observar a frutificação (LUZ 1982). Os sintomas também podem aparecer nas sementes onde ocorre escurecimento ou grãos rosados, parecidos com a giberela (REIS & CASA 1996, LUZ 1982, REIS & PLATZ 1979, MEHTA 1993, SANTOS 2000).

Um sintoma muito importante da mancha bronzeada é a clorose que ocorre devido à liberação de uma toxina da *Pyrenophora*

tritici-repentis. Essa toxina é uma proteína e é denominada Ptr necrose toxina (MEHTA 1993).

Os primeiros trabalhos para quantificar perdas foram realizados na Austrália, onde Rees & Platz (1983) relataram danos de 13 a 48 %, sendo grande parte da redução da produtividade devido à redução do tamanho dos grãos. Perello et al (2003) descreveu o crescimento rápido e destrutivo de *Drechslera tritici-repentis* nos países da América do Sul, incluindo Argentina, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai. Durveiller et al. (2005) registrou uma média de 30% na perda em rendimento no sul da Ásia. No Brasil, em avaliações realizadas no Paraná, foram atribuídas perdas de 36 % no rendimento da cultura do trigo (Linhares et. al., 1995). No Rio Grande do Sul em 1991, Picinini & Fernandes (1992) avaliando o controle de manchas foliares com fungicidas, verificaram rendimentos de 46 a 59 % superiores aos da testemunha, quando a predominância foi de mancha amarela em folhas de trigo.

2.2.4 Epidemiologia

As principais fontes de inóculo são as sementes e os restos culturais. É através das sementes que a mancha bronzeada é distribuída a longas distâncias. Geralmente é baixa a incidência do patógeno nas sementes de trigo, bem como sua passagem para a plântula (REIS & CASA 1996). Segundo Loughman et al. (1998), o principal responsável pelas infecções são os restos culturais, sob condições favoráveis patógenos retidos em restos culturais podem causar até 46% de perdas.

Os ascosporos, conídios e fragmentos de micélio jovem formam o inóculo primário, infectando principalmente plantas jovens. Os restos culturais são a principal fonte de inóculo secundário (forma teleomórfica, *Pyrenophora tritici-repentis*) e, são introduzidos em outras regiões através de sementes infectadas. Sendo assim, a monocultura e o plantio direto garantem a sobrevivência do patógeno, a palha permanece na superfície dando condições de sobrevivência para o inóculo (REIS & CASA 1996).

Os respingos de chuva e o vento fazem a disseminação dos ascosporos e conídios a curtas distâncias. Tanto os conídios quanto os ascosporos são infectivos e, ao atingirem a superfície verde da planta, iniciam a infecção na presença de água líquida, sendo o período de molhamento requerido de 6 a 48. A temperatura ótima para o desenvolvimento da doença está entre 18 e 28 °C e, para a infecção, 30 horas de molhamento. A fonte de inóculo secundário são os conídios produzidos sobre as lesões (REIS et al., 2001).

2.2.5 Fatores que afetam o desenvolvimento da doença

A mancha bronzeada do trigo não possui um tipo de clima específico para sua ocorrência, como ocorre em outras doenças que atacam o trigo. Ela tem distribuição em vários países como Austrália, Canadá, Estados Unidos, Brasil, principalmente no Paraná, Paraguai e Uruguai. Portanto, encontra-se em países de clima temperado, bem como em regiões quentes (REIS & CASA 1996).

O desenvolvimento desta doença é atribuído, em diversos estudos, à permanência dos resíduos culturais de trigo no campo após a colheita, ao movimento dos esporos a longas distância, ao estágio de

desenvolvimento da cultura, à temperatura e ao período de molhamento (SINGH 2001).

Segundo Cox & Hosford (1987), folhas velhas são mais suscetíveis à infecção do que folhas jovens. Lamari e Bernier (1989) observaram diferença de resposta a reação do hospedeiro quando avaliaram plantas no estágio de 2 folhas e no estágio de 4 a 6 folhas, indicando que a avaliação quanto a resistência pode ser diferente conforme o estágio em que a planta for analisada.

Os pseudotécios se desenvolvem em restos culturais que estão próximos do solo, em uma temperatura de 15 a 18°C. O colmo é colonizado por *Pyrenophora tritici-repentis*. Depois da colheita, a produção dos corpos frutíferos nos colmos, depende da umidade, principalmente da chuva, não ocorrendo se o potencial hídrico for menor de 98,4%, independente se a cultivar for resistente ou suscetível. Se tiver pouca umidade o número de pseudotécios diminui, não ocorrendo à infecção (REIS & CASA 1996).

Os ascósporos são formados quando ocorrem alta umidade e temperatura de 15°C e não se desenvolvem quando o potencial hídrico for inferior de 97,7%. Os conídios se formam quando a umidade relativa do ar entre 83 a 85% (REIS & CASA 1996).

2.2.6 Infecção

Para identificação de resistência e severidade de cultivares de trigo a *D. tritici-repentis* foram necessários estudos para anteriormente descrever a natureza, período de incubação e de colonização deste fungo (LAREZ et al., 1986; LAMARI & BERNIER 1989).

Larez et. al. (1986), estudando os períodos entre 3 e 72 horas depois da inoculação, observou que demasiada infecção ocorreu entre 6 e 24 horas. Conídios germinaram produzindo tubo germinativo, o qual formou apressório sobre as células epidérmicas. Tubos infectivos desenvolveram apressório e penetraram as células epidérmicas mecanicamente e pela ação de enzimas hidrolíticas. O atraso na infecção ou falha na penetração da parede de células epidérmicas esteve associado à formação de papilas e halos ao redor dos sítios de infecção, tanto em hospedeiros suscetíveis quanto em resistentes. Se a penetração não ocorrer abaixo do apressório, o tubo germinativo continuar crescendo ao longo da superfície da folha produzindo apressórios secundários.

Lamari & Bernier (1989) observaram que a diferença entre reações de compatibilidade e incompatibilidade foi evidente 72 horas depois da inoculação, e que a reação de hospedeiro específico só se expressa depois que o patógeno se desenvolve intercelularmente.

2.2.7 Variabilidade do patógeno

Estudos baseados no tipo de lesão, tamanho de lesão, área foliar infectada, número de lesões por centímetro quadrado e na variação fisiológica de áreas necrosadas da folha, demonstraram a necessidade de um estudo mais aprofundado sobre a variabilidade deste patógeno (SINGH 2001).

Isolados de *P. tritici-repentis* foram inicialmente agrupados em patogenicidade baseados em sua capacidade de induzir necrose bronzeada e ou clorose. Caracterizando que, Patotipo 1 induz de necrose bronzeada e clorose (nec+ chl+), em hospedeiros suscetíveis;

Patotipo 2 induz somente necrose bronzeada (nec+ chl-), Patotipo 3 que induz somente clorose (nec- chl+) e Patotipo 4 que não induz nem clorose nem necrose (GAMBA & LAMARI 1998).

Atualmente, isolados de *P. tritici-repentis* são classificados em 5 raças, baseados em seu padrão de virulência em genótipos diferenciais. Raças de 1 a 4 representam igualmente os respectivos patótipos de 1 a 4 anteriormente descritos. Raça 5 é representada por uma indução clorótica que difere da raça 3 em padrão de virulência e produção de toxina clorótica de hospedeiro específico (GAMBA et al., 1998).

Duas toxinas produzidas em hospedeiros específicos por diferentes raças de *P. tritici-repentis* foram identificadas e caracterizadas. A necrose Ptr toxina foi isolada da raça 2 e é responsável pela produção necrótica em genótipos sensíveis. A clorose Ptr toxina foi isolada da raça 5 e induz clorose em genótipos sensíveis. O novo sistema de nomenclatura denomina: Ptr toxina-necrose produzida pela raça2, como Ptr Tox A; e, Ptr toxina- clorose produzida pela raça 5 , como Ptr Tox B (GAMBA et al., 1998).

Duveiller et al. (2007) enfatiza que atualmente oito raças de *D. tritici-repentis* estão estabelecidas baseadas em padrões de virulência em três efetivos trigos diferenciais, sendo que raça 6-8 tem sido identificada somente em entradas de trigo pertencentes ao centro de diversidade da coleção do Norte da África, o Caucasus e o Fertile Crescent. A raça 6 combina a virulência da raça 3 e 5; a raça 7 combina a virulência da raça 2 e 5; e, a raça 8 combina a virulência da raça 2, 3 e 5.

2.2.8 Medidas de controle

O fungo *D. tritici-repentis* é um parasita necrotrófico, ou seja, possui a habilidade de extrair nutrientes de tecidos mortos do hospedeiro. Assim, a presença dos restos culturais dos cereais de inverno numa lavoura possibilita a sobrevivência deste patógeno (REIS et al., 2001). As principais medidas de controle visam reduzir o inóculo, erradicando ou diminuindo sua densidade a nível inferior ao limiar numérico de infecção (REIS & CASA 1996).

A prática da rotação de culturas por um ou dois anos sem trigo reduz a incidência de manchas foliares em trigo (PRESTES et al. 2002). A prática da rotação de culturas pode erradicar *D. tritici-repentis* de uma área (CARMONA et al. 1999; REIS & CASA 1996) sendo que a aveia e espécies de folha larga como ervilhaca, chícharo, nabo forrageiro, colza, linho, serradela, trevos, etc, não são hospedeiras e, portanto indicadas para a rotação de culturas (SANTOS et al., 1987).

Forcelini (2005) enfatiza que as estratégias do controle integrado, como rotação de culturas, sementes de boa qualidade, tratamento de sementes e aplicação foliar de fungicidas, são medidas preventivas que visam atrasar o estabelecimento das doenças no campo e reduzir sua quantidade inicial. Conforme Indicações (2007), a associação do uso de sementes saudáveis, do tratamento de sementes com fungicidas e doses eficientes e da rotação de culturas, reduz o inóculo primário de fungos causadores de manchas foliares e a aplicação de fungicidas na parte aérea deve ser feita com base no LDE, sendo calculado com base na função de dano $R = 1000 - 5,7 I$ (R = rendimento de grãos e I = incidência foliar da doença) sendo que

a reaplicação dos fungicidas poderá ser feita quando o limiar for novamente atingido.

O uso de variedades resistentes é uma medida de controle muito importante, no entanto, no Brasil ainda não existem cultivares com resistência suficiente para controlar a mancha bronzeada do trigo (REIS et. al., 1997).

2.2.9 Herança da resistência

A resistência à mancha amarela tem sido mencionada em alguns estudos como sendo poligênica e, em outros, monogênica (LAMARI & BERNIER 1989). Segundo Tadesse et al. (2006) existem diferentes relatos relativos à herança da resistência a mancha amarela em trigo. Algumas pesquisas (ELIAS et al., 1989); FARIAS et al., 1997; EFFERTZ et al., 2002) identificaram herança quantitativa, e outras (LAMARI E BERNIER, 1989, 1991; GAMBA E LAMARI, 1998; LEE E GOUGH, 1984) encontraram herança qualitativa para mancha amarela, controlada por um único gene recessivo principal.

Gamba & Lamari (1998) encontraram quatro genes independentes controlando a resistência à mancha amarela em trigos tetraplóides, um deles controlando a clorose induzida pela raça 1 e os outros três genes para resistência à necrose induzida pelas raças 1 e 2, 3, e 5 respectivamente.

Gamba et al. (1998) observaram três genes independente controlando a resistência à mancha amarela em genótipos de trigo hexaplóides, um gene para resistência da necrose causada pela raça 2 e

dois genes para resistência da clorose induzida pelas raças 1 e 3, e um gene para resistência a raça 5.

Lamari e Bernier (2003) encontraram herança qualitativa, segundo os autores na identificação de duas novas raças deste fungo, sendo então 8 raças, completam o número de máximo teórico de raças que podem ser diferenciadas por três locus no hospedeiro ($2^3 = 8$), assumindo uma relação gene-a-gene entre *Triticum/ Drechslera tritici-repentis*. Segundo Tadesse et al. (2006) é essencial a busca de novos genes de resistência sabendo-se que até o momento poucas fontes de resistência foram mapeadas.

Os genes mapeados até o momento são genes recessivos que conferem resistência a isolados que induzem necrose Tsn 1 localizado no cromossomo 5B (FARIS et al., 1996; STOCK et al. 1996); Friesen e Faris (2004) identificaram um QTL no braço curto de cromossomo 2B e designaram tsc2 usando análise molecular; Faris e Friesen (2005) identificou QTL no braço cromossômico 1BS e 3BL na cultivar BR34 usando Ptr raças 1-3 e 5 indicando presença de raça não específica na resistência a mancha amarela; e, Tsn 2 localizado no cromossomo 3D, no estudo encontraram dois genótipos imunes e vinte genótipos resistentes, sendo que os dois genes recessivos Tsn-syn 1 e Tsn-syn 2 precisam de mais estudos para confirmação (TADESSE et al., 2006).

Segundo Sharma et al. 2004, para herança qualitativa um, dois ou três genes recessivos ou dominantes com epistasia estão envolvidos conferindo resistência em manchas foliares. A ocorrência de epistasia em mecanismos de controle genético à resistência em manchas foliares é pesquisada por vários autores (SINGH et al., 1998; SHARMA&BHATTA, 1999) podendo explicar em parte a

inconsistência que ocorre no efeito da habilidade de combinação específica da resistência das manchas foliares. Esta inconsistência sublima a dificuldade de encontrar cruzamentos superiores para o desenvolvimento de resistência em manchas foliares, como a mancha amarela. Sharma et al. 2004 concluíram o trabalho sugerindo que os mecanismos de aditividade genética são mais importantes que os não aditivos para o controle da resistência de manchas foliares, encontrando 77% de herdabilidade para esta característica, demonstrando que a seleção para resistência à mancha amarela pode ser efetiva em muitos cruzamentos.

Anderson et al. (1999) identificam herança quantitativa na resistência à mancha amarela. Anteriormente, Lamari & Bernier (1989) salientaram a necessidade de testes usando isolados de diferentes virulências para assegurar o desenvolvimento de resistência estável à população do patógeno local.

2.2.10 Bases genéticas e melhoramento para resistência a mancha amarela no Brasil

Segundo Luz (1995) a seleção para resistência a mancha amarela em genótipos brasileiros, até aquele momento, não havia sido intencional devido a doença ter se tornado mais presente nos anos noventa. Até então, era de baixíssima intensidade de infestação no Rio Grande do Sul, sendo mais prejudicial no sul do estado do Paraná. Além disso, nenhum trabalho de pesquisa de fontes de resistência à mancha amarela havia sido realizado no Brasil.

Luz (1995) menciona ainda a questão de vários autores já terem publicado estudos da resistência à mancha amarela, e ainda, cita

Rees & Plats (1992) enfatizando que à maioria das cultivares resistentes são brasileiras, sendo genótipos eficientes para resistência incompleta. Como já citado, recentemente Faris e Friesen (2005) identificaram QTL de resistência na cultivar BR 34, na qual já haviam sido observados bons níveis de resistência, juntamente com BR 8 que havia se destacado com níveis abaixo de 15% de severidade em testes de campo e condições controladas. Luz (1995) também observou menores níveis de infecção no campo nas cultivares BH 1146 e Vacaria quando comparados à resposta em condições controladas, sendo BH 1146 citada por várias pesquisas como genótipo resistente a maioria dos isolados e suscetível em outros (Luz & Hosford, 1980; Luz e Bergstron, 1986; e Lamari & Bernier, 1989), não passou do nível de moderadamente resistente na pesquisa realizada por Luz.

Luz (1995) relata ainda que as cultivares BR 32 e CNT 1 comportaram-se como moderadamente resistentes em condições de campo e resistentes em condições controladas. A cultivar BR 43 foi moderadamente resistente em câmara climatizada e suscetível no campo, enquanto que BR 23, BR 35, BR37, BR38, BR 43, IAPAR 6 e OCEPAR 11 demonstraram suscetibilidade, cultivares essas que na época formavam a maioria das áreas cultivadas no país e que até hoje compõem grande parte da genealogia das cultivares no mercado.

Luz realizou nova pesquisa com mais de cem genótipos nos anos de 1996 1997, sob epifítica natural, e obteve poucas diferenças dos resultados encontrados em 1995.

CAPÍTULO I

MORFOLOGIA DOS CONÍDIOS E ESPORULAÇÃO DE *Drechslera tritici-repentis* EM SEIS MEIOS DE CULTURA, SOB DIFERENTES TÉCNICAS DE INDUÇÃO DA ESPORULAÇÃO

**FRANCIELY MOSCHEN¹, ARIANO MORAES PRESTES²,
PEDRO LUIZ SCHEEREN³ E ALEXANDRE D. ROESE⁴.**

RESUMO – *Drechslera tritici-repentis*, agente causal da mancha amarela do trigo é um patógeno potencialmente destrutivo a essa cultura. O manejo da doença tem sido feito com base na aplicação de fungicidas associados à resistência das cultivares em uso. Por essa razão, torna-se necessário caracterizar o nível de resistência dos genótipos a serem usados no manejo integrado da doença. Entretanto, para a avaliação de genótipos, em larga escala, as dificuldades de esporulação do fungo e de calibragem da densidade de inóculo precisam ser equacionadas para execução de trabalhos de pesquisa envolvendo inoculação artificial desse patógeno. Com o objetivo de avaliar a esporulação de *D. tritici-repentis* testou-se seis meios de cultura sob três técnicas de indução da esporulação. Sete dias após repicagem do fungo nos diferentes meios de cultivo, quantificou-se os conídios em hemacitômetro. A análise morfológica dos conídios

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

³ Co-orientador, Eng. Agrônomo, Dr., pesquisador da EMBRPA Trigo.

⁴ Analista, Eng. Agrônomo, M. Sc. Alexandre D. Roese, Embrapa Trigo.

(comprimento, largura e septação) e diâmetro das colônias, também foram avaliadas. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado e em fatorial para interação das técnicas. Observou-se diferença significativa entre meios de cultura e entre técnicas utilizadas na indução da esporulação do fungo. A esporulação de *D. tritici-repentis* foi superior nos meios contendo suco V8, embora estes não tenham diferido estatisticamente de farinha integral de Centeio numa das técnicas de indução da esporulação utilizadas. Porém, o maior desenvolvimento de colônia ocorreu nos meios de farinha e as dimensões dos conídios ficaram com valores extremos superiores ao relatado na literatura devido às condições proporcionadas ao fungo, sendo o suco de tomate o meio onde se observou as maiores dimensões dos conídios. A técnica com regime de cinco dias no escuro seguidos de estresse do micélio e alternância de luz (24h \pm 24°C) /escuro (24h \pm 15°C) propiciou maior esporulação de *D. tritici-repentis*.

Palavras-chave: *Drechslera tritici-repentis*, esporulação, meios de cultura.

ABSTRACT – *Drechslera tritici-repentis*, the causal agent of tan spot is a potentially destructive pathogen to wheat crop. The disease management has been done by fungicide spraying associated with genetic resistance of wheat varieties. For that reason, it has been necessary to characterize the level of resistance of the wheat genotypes to be used in the integrated management of the disease. Nevertheless, for evaluation of wheat genotypes in large scale there

are some difficulties to produce inoculum for artificial inoculation of the pathogen. Aiming at evaluating the sporulation of *Drechslera tritici-repentis* six culture media were tested under three different techniques for inducing spore production of the fungus. After a period of seven days of mycelia development under the six culture media and different techniques the conidia of the fungus were counted in a cell counter. Besides that, a morphologic analysis of conidia and colony diameter were done. The trials were carried out as complete randomized treatments under a factorial design for the technique interaction. It was observed significant differences among culture media and among techniques for induction of spore production. The highest spore production of *Drechslera tritici-repentis* was provided by culture media containing V8, however, it did not differ from the medium containing rye flower under one of the techniques. On the other hand, the best colony development regarding mycelia growth was obtained on media containing wheat and rye flower. Conidia dimensions greater than what is reported in literature were observed on tomato juice media. The technique of growing the fungus for five days on dark followed by stress of mycelia and alternating 24 hours light at 24°C/24 hours dark at 15°C provided the best spore production of *Drechslera tritici-repentis*.

Key-words: *Drechslera tritici-repentis*, sporulation, culture media.

1. INTRODUÇÃO

A mancha amarela do trigo, causada pelo fungo *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker forma perfeita ou teleomórfica *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. tornou-se potencialmente destrutiva, principalmente como consequência da difusão de técnicas de cultivo mínimo que mantêm os restos culturais na lavoura. O surgimento de freqüentes epidemias de mancha amarela em lavouras de trigo fez com que os programas de melhoramento buscassem genótipos mais resistentes à doença. Porém, algumas dificuldades entrevam o desenvolvimento de melhores genótipos. Uma dessas dificuldades é a baixa capacidade de esporulação desse patógeno *in vitro* suficiente à produção de inóculo necessária para pesquisas de resistência varietal. Sendo *D. tritici-repentis* um fungo com grande variabilidade morfológica, genética e patogênica (SANTOS, et al. 2002), faz-se analogia ao fungo *Pyricularia grisea* (Sacc), em que Souve et al. (1975), relaciona a sua pouca esporulação com a grande variabilidade comportamental, mesmo em culturas monospóricas.

A qualidade e intensidade da luz também são fatores que podem influenciar a germinação de conídios, a taxa de crescimento vegetativo, a indução de formação de estruturas reprodutivas, a pigmentação, a forma e o tamanho dos esporos de grande parte das espécies fúngicas. A irradiação luminosa, ou a luz negra, também podem induzir ou inibir o crescimento e a esporulação de fungos (Teixeira et al., 2001).

Apesar de ser um fungo com fase anamorfa produzindo conídios, Lamari e Bernier (1989) descrevem como é tedioso o

processo de esporulação para produção de inóculo em larga escala e citam o trabalho realizado por Odvody e Boosalis (1982) que obtiveram ótima produção de conídios com uma técnica simplificada por Raimond et al. (1985) e modificada pelos próprios Lamari e Bernier (1989). Esses autores mostram que, para boa produção de esporos colônia deste fungo não deve estar muito desenvolvida na placa e o micélio deve sofrer estresse de tal forma a induzir a esporulação. Assim, combinando estas informações com estudos de Kran (1971) que observou que os conidióforos são formados com a presença de luz e os conídios são produzidos no escuro, a técnica descrita por Lamari e Bernier (1989) vem a confirmar a ocorrência de esporulação. Saavedra (1982) já havia estudado em sua dissertação de mestrado, em que descreve a dificuldade em produzir inóculo em quantidades satisfatórias para inoculação em campo, estudou meios de cultura e técnicas diferenciadas para indução de esporulação, e seus melhores resultados foram obtidos com o meio de cultura V8-BDA combinada a técnica de incubação em regime de luz/escuro (10/14h) utilizado em todo seu trabalho de pesquisa. Outros autores citam uma combinação do estresse do micélio causado por 24h de luz ultra violeta para produção de conidióforos (KRAN, 1971 e URASHIMA, 1994).

A dificuldade encontrada na esporulação do fungo *D. tritici repentis* motivou o desenvolvimento deste trabalho com o objetivo de testar alguns meios de cultura em diferentes técnicas para induzir esporulação, a fim de identificar a melhor e mais eficiente maneira de se produzir esporos em quantidade adequada para inoculações artificiais, em campo ou em condições controladas, com a finalidade

de avaliar genótipos quanto à resistência a esse patógeno, bem como avaliar a influência dos diferentes substratos e das técnicas usadas sobre o crescimento e a morfologia do fungo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Produção dos meios de cultura

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo. Foram estudados seis meios de cultura compostos de farinha integral de centeio, farinha integral de trigo, suco de tomate, suco V8 e batata-dextrose-ágar (BDA), conforme composição apresentada na Tabela 1. Os meios compostos de farinha integral de centeio e farinha integral de trigo serão doravante denominados apenas farinha de centeio-ágar (FCA) e farinha de trigo-ágar (FTA).

TABELA 1 – Composição dos meios de cultura utilizados nos trabalhos de indução de esporulação, crescimento de colônia e morfologia, deste capítulo.

MEIOS DE CULTURA	COMPOSIÇÃO
BDA	BDA composto* (39g) + água destilada(1L)
Suco V8-Ágar	Suco V8** (200mL) + ágar(17g) + CaCO ₃ (3g) + água dest. (800mL)
Suco V8-BDA	Suco V8** (150mL) + ágar(10g) + BDA (10g) + CaCO ₃ (3g) + água dest. (800mL)
Suco Tomate - Agar	Suco de tomate** (200mL) + ágar(17g) + CaCO ₃ (3g) + água dest. (800mL)
FCA	Farinha integral de centeio*** (50g) + ágar (15g) + água dest. (1L)
FTA	Farinha integral de trigo*** (50g) + agar (15g) + água dest. (1L)

* Marca comercial “Merch”. ** Marca comercial “Campbell” (produto importado).

***Granulometria de 0,8mm.

Para o preparo dos meios de cultura derivados de suco, foi misturado suco com a água destilada ao Ca CO_3 e levado ao fogo mantendo sob constante agitação até ocorrer fervura. Posteriormente, esses componentes foram misturados em Erlenmeyer com o ágar ou com o BDA. No preparo dos meios de cultura derivados de farinha, misturou-se a farinha integral com a água destilada, levados ao fogo e mantidos sob agitação e fervura por mais 40 minutos. O meio de BDA foi somente adicionado de água destilada.

Após os componentes terem sido misturados e autoclavados a 127°C por 20 minutos, foi vertido em placas de petri de plástico de 90 mm de diâmetro. Posteriormente, o isolado monospórico do fungo foi repicado por meio de disco micelial, posicionado no centro de cada placa.

2.2. Técnicas de esporulação

Para a indução de esporulação nos diferentes meios de cultura, foram utilizadas três técnicas:

Técnica 1

Os procedimentos realizados nesta técnica foram baseados na metodologia utilizada por Lamari e Bernier, 1989 que modificaram a técnica descrita por Raymond et al., 1985, chegando a seguinte descrição. Disco de 5 mm de diâmetro transferidos para placas contendo os meios diferenciados, foram incubados a $24\pm 1^\circ\text{C}$ por cinco dias, em escuro, até preencherem em torno de 5 cm de diâmetro da placa de petri. Ao final do quinto dia, as placas foram retiradas da incubadora e levadas para câmara de fluxo laminar e submetidas à

estresse pela raspagem do micélio com o auxílio de uma lâmina de vidro esterilizada. Posteriormente, as placas foram mantidas por 24h a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ em luz direta, seguidos de 24h a $15\pm 1^{\circ}\text{C}$ em escuro na câmara de crescimento “Percival”. A colônia em esporulação foi avaliada quanto à quantidade de conídios produzidos, conforme descrição nas avaliações abaixo.

Técnica 2

Saavedra, 1982 realizou alguns trabalhos a fim de produzir esporos em quantidades suficientemente adequadas para realizar seus experimentos de tese. Baseado em seus resultados optou-se por testar a técnica dois, conforme segue: Disco de 0,5cm de diâmetro transferidos para placas contendo os meios diferenciados foram incubados a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ por cinco dias em regime de alternância de luz/escuro (14/10h) a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ até preencherem em torno de 5 cm de diâmetro da placa de petri. Ao final do quinto dia, as placas foram retiradas da incubadora, transferidas para a câmara de fluxo laminar e submetidas ao estresse pela raspagem do micélio com o auxílio de uma lâmina de vidro esterilizada. Posteriormente, as placas continuaram em regime de alternância de luz/escuro (14/10h) a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ por mais dois dias. Após esse período, as colônias em esporulação, foram avaliadas quanto à quantidade de conídios produzidos.

Técnica 3

Baseado nas pesquisas de Kran (1971), Urashima & Kato (1994), Saavedra (1982), que exploram a utilização de luz ultravioleta

(UV) para indução de esporulação de *D. tritici-repentis* e de outros fungos, foi estabelecida a seguinte proposta da técnica 3: Disco de 5mm de diâmetro transferido para placas contendo os meios diferenciados, foram incubados a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ por cinco dias em escuro contínuo até preencherem em torno de 5 cm de diâmetro da placa de petri. Ao final do quinto dia, as placas foram retiradas da incubação e levadas para câmara de fluxo laminar e submetidas à estresse pela raspagem do micélio com o auxílio de uma lâmina de vidro esterilizada. Posteriormente as placas foram mantidas por 24h a sob luz UV direta, seguida de 24h em regime de escuro à temperatura de 24°C . Após esse período, avaliou-se a quantidade de conídios produzidos.

2.3. Morfologia de conídios

Para os estudos de morfologia dos conídios foram preparadas três placas de petri de cada meio de cultura, submetidas a técnica 1. Foram mensurados o comprimento (aumento de 10x ao microscópio), largura e números de pseudoséptos (aumento de 40x ao microscópio) de 50 conídios.

2.4. Avaliações

A medida do diâmetro (mm) das colônias e quantificação dos conídios, em hemacitômetro de Neubauer, foram determinados ao sétimo dia de crescimento das colônias. Foram efetuadas seis leituras por placa, sendo que os seis meios de cultura foram representados em cada técnica por seis repetições inteiramente casualizadas, em que cada repetição consistiu de uma placa de petri.

A repicagem do fungo sobre as placas de petri contendo os diferentes meios de cultura foi realizada simultaneamente durante a condução de cada técnica em experimentos diferentes.

Para o preparo da suspensão de conídios, cada placa contendo a colônia em esporulação foi preenchida com 8 mL de água destilada, adicionada de Tween 20 (1 gota/200mL de água). Com o auxílio de uma lâmina de vidro, a colônia foi raspada de forma que os conídios produzidos sobre a mesma fossem liberados, formando uma suspensão de esporos, que foi coada em peneira fina a fim de reter fragmentos do micélio e do meio de cultura. Para quantificação e mensuração dos conídios por placa no hemacitômetro de Neubauer foi utilizado uma alíquota de 200 μ L dessa suspensão.

Para todas as pesquisas deste trabalho utilizou-se um isolado monospórico que foi repicado de uma mesma base de inóculo devidamente armazenada, em placas contendo meio BDA+A e mantidos a temperatura de 10°C.

Cada técnica foi testada três vezes para os mesmos meios de cultura sob as mesmas condições obtendo-se três resultados por técnica.

Os dados de todos os experimentos foram reunidos separadamente, submetidos ao teste “Shapiro Wilk” para analisar a normalidade da distribuição de erros no programa SAS (Statistical Analysis Systems Institute, Cary, NC) versão 8.00, transformados em $\sqrt{x+0,5}$, e posteriormente, procedeu-se a análise da variância, que sendo significativa levou a análise conjunta em teste de comparação de médias pelo teste Tukey e de Duncan (P=0,05).

3. RESULTADOS

Esporulação

A análise conjunta dos dados dos experimentos entre os meios de cultura utilizados nas técnicas de esporulação a que foram submetidos, mostra que ocorreu interação entre meios de cultura e as técnicas utilizadas (TABELA 2).

Os meios de cultura contendo o suco V8 apresentaram esporulação superior aos demais, independente do regime de luz e da técnica utilizados.

Na técnica 1, V8-BDA proporcionou esporulação dez vezes superior a testemunha BDA, não diferindo estatisticamente dos meios de FCA e V8-ÁGAR. O meio FTA apresentou baixa esporulação, não diferindo de BDA pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Na técnica 2, em que o enfoque foi a alternância de luz/escuro (14/10h), o meio de cultura de suco V8-BDA e suco V8-ÁGAR destacam-se como os melhores meios para esporulação do fungo. Os meios de cultura de FCA, FTA, suco de tomate e BDA apresentaram pouca esporulação do fungo por esta técnica, chegando ao ponto de não serem encontrados conídios em algumas quantificações efetuadas (TABELA 2). Nesses meios de cultura o fungo apresentou formação de micélio em abundância, sem a formação de conidióforos e conídios. V8-BDA esporulou 143 vezes a mais que BDA.

Destacando-se o estresse com luz UV por 24h (técnica 3), os meios de cultura contendo suco V8 novamente apresentaram a melhor esporulação do fungo(134 vezes superior a BDA), diferenciando-se dos demais meios de cultura (TABELA 2).

Na comparação das técnicas, sem dúvida, a técnica 1 na qual foi utilizada a alternância de 24h luz e 24h escuro com diferentes temperaturas, após o estresse do micélio, foi aquela que proporcionou melhor desempenho dos meios de cultura. Essa técnica proporcionou maior formação de conídios para todos os meios de cultura testados, apresentando diferenças significativamente sobre as demais. Consequentemente, as técnicas 2 e 3 mostraram-se menos efetivas para esporulação entre os meios de cultura. sendo que a técnica 2, na média dos diferentes meios mostrou as menores esporulações. Essas duas técnicas apresentaram desempenho semelhante, somente mostrando diferenças quando utilizados os meios contendo suco V8.

TABELA 2 – Esporulação de *D. tritici-repentis* em seis meios de cultura e diferentes técnicas para indução á esporulação, em esporos/mL. Análise conjunta de dados baseados em três experimentos realizados em cada técnica para os seis meios de cultura.

TÉCNICAS/ MEIOS	TÉCNICA 1	TÉCNICA 2	TÉCNICA 3	CV(%)
V8-BDA	A* 19953,70 a**	C 3316,90 a	B 10208,33 a	18,38
V8-ÁGAR	A 13009,26 ab	B 3024,74 a	A 9305,56 a	13,59
FCA	A 19050,93 a	B 46,30 b	B 46,30 c	55,65
Suco Tomate	A 9074,07 bc	B 324,07 b	B 949,07 b	47,14
FTA	A 5588,24 cd	B 0 b	B 0 c	74,78
BDA	A 1872,75 d	B 23,15 b	B 69,44 c	90,18
CV(%)	40,77	89,59	54,13	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. *Letras maiúsculas representam diferenças entre técnicas; **Letras minúsculas representam diferenças entre meios de cultura.

Diâmetro de colônias

Quando foram relacionados os experimentos das técnicas com respectivos meios de cultura conjuntamente para o crescimento de colônias de *Drechslera tritici-repentis* em sete dias de incubação (TABELA 3), o maior crescimento do diâmetro de colônias do fungo foi observado nos meios de FCA e FTA para todas as técnicas, sendo que não diferenciaram significativamente de V8-ÁGAR na técnica 1. O meio FTA não se diferenciou significativamente de V8-ÁGAR, Tomate e V8-BDA na técnica 2 e, na técnica 3 não se diferenciou de V8-ÁGAR. O menor crescimento micelial do fungo foi observado no meio BDA para todas as técnicas, diferenciando-se significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não se observou interação entre os experimentos nas diferentes técnicas utilizadas, somente entre os experimentos no que se refere aos meios utilizados nas diferentes técnicas.

TABELA 3 – Diâmetro de colônias de *D. tritici-repentis* em seis meios de cultura em três técnicas de indução a esporulação (mm/placa). Análise conjunta de dados baseados em três experimentos realizados em cada técnica para os seis meios de cultura.

TÉCNICAS/ MEIOS	TÉCNICA 1	TÉCNICA 2	TÉCNICA 3	MÉDIAS
FCA	69,83 a*	76,76 a	73,86 a	73,48
FTA	70,14 a	68,59 ab	71,58 ab	70,10
V8-ÁGAR	53,64b	60,67 b	58,17 bc	57,49
TOMATE	58,00 ab	59,67 b	53,31 c	53,99
V8-BDA	55,14 b**	59,73 b	56,17 c	57,01
BDA	34,75 c	26,42c	39,53 d	33,56
CV(%)	8,24	11,15	12,25	

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade.

Morfologia de conídios

As características dos conídios de *Drechslera tritici-repentis* relativas a comprimento, largura e formação de pseudoseptos foram afetados significativamente pelos diferentes meios de cultura testados observar (TABELA 4).

Pode-se observar que, entre os meios de cultura utilizados, os conídios desenvolvidos no meio de suco de tomate apresentaram os maiores valores médios de comprimento (246 μm), assim como os conídios mais largos (21,7 μm) o e maior número médio de pseudoséptos (7,08). Os menores conídios foram encontrados no meio BDA. Os meios de FTA e FCA não apresentaram diferenças significativas entre si. Além desses, o meio composto por V8 não apresentou diferença quando adicionado de ágar ou BDA quanto a comprimento e largura de conídios. Porém, a formação de pseudoséptos foi menor em V8-ÁGAR.

TABELA 4 - Comprimento, largura e número de pseudoseptos de conídios de *Drechslera tritici-repentis* em diferentes meios de cultura.

MEIOS DE CULTURA	COMPRIMEN TO (μm)	LARGURA (μm)	NÚMERO DE PSEUDOSÉPT OS
Suco Tomate	246,0 a*	21,7 a	7,08 a
V8-BDA	194,0 b	17,85 b	4,14 d
V8-ÁGAR	193,2 b	19,05 b	3,70 e
FCA	186,6 bc	19,7 b	5,46 b
FTA	177,8 c	19,6 b	5,40 b
BDA	167,2 d	17,15 c	4,98 c
CV(%)	7,21	4,85	9,4

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 0,05 de probabilidade.

Valores extremos de comprimento, largura e número de pseudoseptos dos conídios de *Drechslera tritici-repentis* produzidos em diferentes substratos também foram observados (TABELA 5). Os valores máximos oscilaram de 230 a 290 µm de comprimento, e de 20 a 25 µm de largura, com 6 a 9 pseudoseptos; os valores mínimos oscilaram de 100 a 140 µm de comprimento, e de 15 a 17,5 µm de largura, com 2 a 4 pseudoseptos. O meio de cultura composto de suco de tomate foi onde observou-se as maiores dimensões de conídios, para os valores extremos tanto máximo quanto mínimo).

TABELA 5. Valores médios, máximos e mínimos de comprimento x largura (em µm) e número de pseudoseptos encontrados em conídios de *D. tritici-repentis* desenvolvidos em diferentes meios de cultura.

MEIOS DE CULTURA	VALORES MÁXIMOS	VALORES MÍNIMOS	VALORES MÉDIOS
TOMATE	290x25(9)*	140x17,5(4)	246x21,7(7,08)
V8-BDA	230x22,5(6)	140x15(2)	194x17,85(4,14)
V8-ÁGAR	250x25(6)	140x15(2)	193,2x19,05(3,7)
FCA	270x22,5(9)	100x17,5(3)	186,6x19,7(5,46)
FTA	230x25(7)	100x15(3)	177,8x19,6(5,4)
BDA	230x20(7)	120x15(4)	167,2x17,15(4,98)
MÉDIA	250x23,33(7,33)	123,33x15,83(3)	194,13x19,18(5,13)

(*) número extremo de pseudoséptos.

4. DISCUSSÃO

Efeito dos meios de cultura e diferentes técnicas na esporulação

Na interação significativa entre os meios de cultura e as técnicas testadas, as melhores esporulações foram observados na associação de estresse do micélio com o estresse causado por alguma

fonte de luz por 24h ininterruptas aplicadas tanto na técnica 1 quanto na técnica 3 (TABELA 2). O estresse causado por luz fluorescente direta por 24h produziu a melhor esporulação, seguida pelo estresse de 24h no escuro direto a temperatura de $\pm 15^{\circ}\text{C}$ da técnica descrita por Raymond et al. (1985), Lamari e Bernier (1989), em que a luz direta induz o desenvolvimento de conidióforos e o escuro a 15°C conduz a produção dos conídios.

Quando utilizadas as técnicas 2 e 3, ocorreram menores esporulações, sendo que em algumas quantificações não foram encontrados conídios. Este resultado se deve a pouca esporulação ocorrida na placa que provavelmente dificultou a distribuição e localização dos conídios removidos, e que, por essa razão não chegam a ser observados no hemacitômetro de Neubauer na alíquota de $200\mu\text{L}$ colocada na lâmina.

Na terceira técnica utilizada, obtiveram-se bons resultados na esporulação deste fungo nos meios de cultura de suco V8-BDA e V8-ÁGAR, no entanto esta esporulação foi inferior àquela produzida na técnica 1, indicando que o estresse do micélio pela luz fluorescente associada à menor temperatura no período de formação dos conídios, causa maior efeito que o estresse da luz UV em temperatura constante. O comprimento de onda diferente não causou o mesmo efeito na produção de conidióforos para posterior indução de conídios. Sem dúvida, a qualidade da luz utilizada para indução de conidióforos e a inibição na formação de conídios é relevante, seguindo os resultados encontrados na pesquisa de Kran (1971).

Os meios de cultura de suco contendo V8 proporcionaram as esporulações mais significativas, conforme já relatado por outros

autores (LUZ et al. 1980; KHAN, 1971; PLATT et al., 1977). O desempenho dos meios derivados de suco V8 está de acordo com a afirmação de Lamari e Bernier (1989) em que meios com maior consistência condicionam melhores esporulações desse fungo. Já, o meio de centeio contrasta com essa afirmação uma vez que não se diferenciou estatisticamente dos meios derivados de suco V8 na técnica 1, que foi a única em que foi possível observar bons resultados com esse meio. Essa esporulação poderá estar ligada ao tipo de estresse produzido sobre a colônia no meio de centeio. Estes resultados vêm ao encontro a questões econômicas e práticas na produção de inóculo, uma vez que o meio composto por farinha de centeio é fácil de preparar e muito mais barato. Seu custo não chega a 10% do custo do meio V8 que é produto importado e tem preparação mais complexa, mesmo que se produza o suco V8 com base na receita descrito por Seixas et al., 2000, o custo e o trabalho disposto ao preparo não é superado, na técnica 1 de indução a esporulação.

Os meios de BDA e farinha integral de trigo apresentaram resultados insatisfatórios, em todas as técnicas testadas. Em geral os meios de farinha não apresentaram boa esporulação, com exceção do centeio na técnica 1.

Acredita-se que o crescimento demasiado da colônia, como observado nas avaliações de crescimento em diâmetro, não favorece a esporulação de *D. tritici-repensis*, como argumentado por Luz (1986). O meio BDA apresentou baixa esporulação, talvez por sua composição menos favorecida em nutrientes. No entanto, em observações não experimentais, o meio BDA produzido de forma caseira, com a inclusão da calda de batatas (140g) apresenta resultados

satisfatórios, em que genericamente podem ser comparados aos resultados do meio de suco de tomate, devendo ser levados em consideração em futuras pesquisas.

Os coeficientes de variação altos na maioria dos experimentos podem ser explicados pelo mesmo fato ocorrido em que em algumas leituras não continham conídios, ou seja, ocorreu uma dificuldade em separar os conídios removidos das placas, dentro dos 8 mL utilizados para se fazer esta remoção, sendo que os conídios ficam agrupados não sendo observados no hemacitômetro de Neubauer na alíquota de 200 μ L que preenchem a lâmina. Esta foi uma dificuldade encontrada no estudo e que não foi possível fazer a correção. No entanto, tentou-se aumentar a confiabilidade dos resultados pelo número de repetições (seis placas de petri por meio de cultura em cada experimento) e leituras (seis leituras por placa).

Efeito dos diferentes meios de cultura no desenvolvimento das colônias

Os meios derivados de farinha integral produziram o melhor desenvolvimento da colônia do fungo, medido em diâmetro, observado principalmente devido ao crescimento micelial ocorrido nos primeiros cinco dias de inoculação. O meio de centeio mostrou os maiores diâmetros, não diferindo significativamente de trigo. Embora as colônias do meio de farinha de trigo tenham desenvolvido de forma mais uniforme em relação aos outros meios de cultura, segundo Nozaki et al. (2004) nem sempre as condições que favorecem o crescimento micelial do fungo são as mesmas para a esporulação. No caso do meio de farinha integral de trigo, o fungo apresentou bom

crescimento micelial, mas o mesmo não ocorre com relação a esporulação, mesmo nas diferentes técnicas de indução. De acordo com observações de Moore-Landecker (1972) citado por Queiroz et al. (2004), isso ocorre pelo fato que os meios de cultura contendo altas concentrações de nutrientes inibem a reprodução dos fungos sem afetar o crescimento micelial.

O meio BDA demonstrou inconstância de crescimento e de esporulação. Em alguns experimentos demonstrou esporulação e crescimento de micélio razoável, em outros os resultados foram abaixo da média dos demais meios testados, o que talvez possa ser explicado pela sua composição mais pobre em nutrientes quando relacionada aos outros meios de cultura com fonte de carbono (ELLIOTT, 1949), bem como a pouca energia acumulada até o momento do estresse induzido pelas técnicas para favorecer a esporulação.

Os meios derivados de suco, V8-BDA, V8-ÁGAR e tomate, mostraram crescimento intermediário, em que se pode discutir a questão da fase de desenvolvimento da colônia para esporulação, uma vez que, de acordo com os autores das técnicas, o ideal é que a placa não atinja a extremidade, pois a maior parte dos conídios é produzida nas bordas das colônias quando induzidas à esporulação (Lamari e Bernier, 1989). Exceção se dá aos diâmetros encontrados no meio suco de tomate usado na técnica 1, mostrando não se diferenciar dos resultados observados em meio de centeio e de trigo, sem se diferenciar dos meios derivados de suco V8, ou seja, os procedimentos utilizados na indução à esporulação na técnica 1 obtiveram efeito

positivo para o crescimento micelial de *D. tritici-repentis* no meio de tomate, podendo ter prejudicado o efeito de produção de esporos.

Efeito dos diferentes meios de cultura na morfologia dos conídios

Nem sempre o melhor meio para esporulação proporcionou também o melhor crescimento e desenvolvimento do fungo. O suco de tomate se destacou nas características morfológicas do fungo garantindo diferenças marcantes em dimensões dos conídios com um aumento de, aproximadamente, 30% em relação aos meios em que se observaram as menores dimensões dos conídios.

Com relação aos valores extremos máximos, mínimos e médios (TABELA 5), as características conidiais estudadas, o comprimento e a largura ficaram acima do limite superior da descrição de Ellis (1971) para o comprimento dos conídios (80 a 250 μm) e a de Wiese (1987) para a largura (12 a 21 μm). O número de pseudoseptos encontrados (2 a 9) em geral, está dentro dos limites descritos na literatura por Ellis (1971) (1 a 9) e por Wiese (1987) (4 a 7). Porém, Ruppel (1974) observou que temperaturas altas (28°C) induzem a formação de conídios curtos, ao passo que temperaturas baixas (14°C) são responsáveis pela produção de conídios mais longos. A técnica utilizada para a indução de esporulação, no trabalho presente, a colônia chega permanecer 24h a 15°C no escuro. O comprimento, a largura e a septação podem variar devido a variações de concentração de glicose e de carbono, com efeito, menos significativo, adicionadas ao meio de cultura (ELLIOTT, 1949). Assim como o pH inicial do meio, as fontes de nitrogênio e a idade do meio de cultura também

podem afetar estas características, como citado por Barba et al. (2004).

Finalmente, devido às variações nos resultados observados neste trabalho, e como já foi sugerido por Barba et al.(2004), o ideal para reconhecimento do fungo através do conídio, sempre que possível, é sobre o substrato natural do hospedeiro.

5. CONCLUSÕES

1. A esporulação de *D. tritici-repentis* é influenciada pela composição do meio de cultura e pelo estresse do micélio sofrido no período de incubação. Os regimes de alternância de períodos de “luz” e de escuro com estresse de temperatura proporcionaram esporulações mais abundantes e, a raspagem do micélio por si, não é suficiente para induzir a esporulação.
2. Independente do regime de luz, os meios de cultura suco V8 proporcionam esporulação abundante de *Drechslera tritici-repentis*.
3. O meio de farinha Integral de centeio produz bons resultados e poderá ser alternativa ao uso do meio V8.
4. A esporulação de *D. tritici-repentis* não é diretamente proporcional a seu crescimento micelial. Os meios de cultura de farinhas destacaram-se com o maior crescimento micelial da colônia, mas resultam em pouca esporulação. Quanto maior o preenchimento da placa com a colônia, em geral, menores serão os resultados em esporulação.

5. O comprimento, largura e septação dos conídios de *Drechslera tritici-repentis* são influenciados pelo meio de cultura em que se desenvolvem, principalmente no meio de suco de tomate, que proporcionou as maiores dimensões morfológicas dos conídios. Deve-se sempre referenciar o meio de cultura utilizado para caracterização de isolados.

CAPÍTULO II

INTENSIDADE DA MANCHA AMARELA DO TRIGO EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Drechslera* *tritici-repentis*

FRANCIELY MOSCHEN¹, ARIANO MORAES PRESTES²,
PEDRO LUIZ SCHEEREN³ E ALEXANDRE D. ROESE⁴.

RESUMO – A mancha amarela do trigo, causada por *Drechslera tritici-repentis*, é uma doença foliar de importância mundial. Uma das principais estratégias de controle é a resistência genética, no entanto, não estão disponíveis ao produtor genótipos com bom nível de resistência à doença. A variabilidade do patógeno pode ser visualmente observada pela presença dos sintomas de clorose ou de necrose, que se apresentam numa relação patógeno/hospedeiro bastante específica. O tipo e tamanho de lesão e, a densidade ideal de conídios para a observação da doença, adequada para identificação de genótipos com genes potenciais de resistência, foram os objetivos deste trabalho. Através do estudo de quatro cultivares comerciais, com diferenças quanto à reação ao patógeno e submetidas a cinco pressões de inóculo (1, 3, 6, 9 e 12 mil conídios/mL) foi possível observar suas curvas polinomiais quadráticas, e respectivas equações, com relação

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

³ Co-orientador, Eng. Agrônomo, Dr., pesquisador da EMBRPA Trigo.

⁴ Analista, Eng. Agrônomo, M. Sc. Alexandre D. Roese, Embrapa Trigo.

ao número de lesões por folha em cada cultivar; e, as equações e projeções lineares resultantes da quantificação da área foliar afetada pela doença, em cada cultivar e nas diferentes densidades de inóculo. Dificuldades foram encontradas na quantificação de inóculo em baixas concentrações e observou-se que as concentrações entre seis e nove mil conídios/mL foram mais adequadas para a avaliação de genótipos quanto à resistência à mancha amarela do trigo.

Palavras chave: Mancha amarela, densidade de inóculo, resistência.

ABSTRACT – Tan spot of wheat, incited by *Drechslera tritici-repentis*, is a leaf disease of economic importance around the world. One of the strategies for controlling the disease is the use of genetic resistance; nevertheless, there are not enough varieties with good level of resistance to this disease. The variability of the pathogen can be identified by the presence of chlorosis and/or necrosis on the host which shows a very specific pathogen/host relationship. The type and size of lesion produced, and the density of spores ideal for testing the intensity of the disease adequate for characterize wheat genotypes for resistance to tan spot, were the objectives of this work. Through this study, four commercial varieties with known reaction to the pathogen were challenged with five inoculum densities (1, 3, 6, 9 and 12 thousand spores per millilitre. It was possible to observe their quadratic curves and their corresponding equations regarding the number of lesions per leaf for each variety as well as the equations and linear projections resulted from the quantification of disease

severity on the leaf area affected on each variety for each density of inoculum. Some difficulties were found for quantifying the propagules of the pathogen on lower densities of inoculum. However, it was observed that concentrations of six and nine thousands spores /mL showed to be more suitable to evaluate wheat varieties for resistance to tan spot.

Key-words: Tan spot, inoculum density, resistance.

1.INTRODUÇÃO

Os sintomas da mancha amarela dependem do genótipo de trigo e do tipo de patótipo do fungo que conduz a possibilidade de produzir necrose ou clorose na planta (LUZ, 1982). A mancha amarela do trigo vem sendo estudada com relação ao tipo e tamanho de lesão, área foliar infectada, número de lesões por centímetro quadrado, período de incubação e colonização do fungo, e têm-se observado resultados divergentes com relação a esses aspectos, dependendo da bibliografia consultada, principalmente devido à relação patógeno/hospedeiro ser bastante específica, a variabilidade do fungo e a resposta do hospedeiro.

Segundo vários autores, a quantidade de inóculo utilizada para produzir doença em um nível adequado é de 2 mil a 3 mil conídios/mL (LAMARI & BERNIER, 1989; LUZ, 1995; GAMBÀ & LAMARI, 1998; XU et al., 2004; e TADESSE et al., 2006). Entretanto, Hosford & Hammond (1990) chegaram a utilizar até 25 mil conídios e conidióforos/mL em seus estudos, enquanto que

Gilchrist et al. (1984) utilizaram 30 mil conídios/mL para fazer a diferenciação de genótipos em seu trabalho de dissertação. Ainda, Lee & Gough (1984), em estudos de herança da resistência de *D. tritici-repentis* e de *Septoria tritici* na cultivar de trigo “Carifen 12” utilizaram somente fragmentos infectivos de micélio de *D. tritici-repentis*. A densidade de inóculo se torna ainda mais importante quando se necessita avaliar o nível de resistência de genótipos. Segundo Carvalho et al. (1981), baixa ou alta concentração de inóculo pode comprometer a reação do hospedeiro, uma vez que a utilização de pressão de inóculo inadequada poderá tirar ou colocar um genótipo da lista de genótipos portadores de genes de resistência em programas de melhoramento.

Devido a falta de uniformização na literatura, talvez pelas dificuldades já encontradas anteriormente com relação a esporulação e a presente dificuldade na contagem dos esporos (Rodríguez & Bockus, 1996), a partir de uma curva de concentração de inóculo em resposta as diferentes quantidades de conídios em suspensão para inoculações deste perfil, este trabalho foi assim proposto na busca de maior consistência na resposta das cultivares.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo das plantas

Sementes das cultivares de trigo BRS Umbu (resistente - R), FCEP Nova Era (moderadamente resistente - MR), BRS 179 (moderadamente suscetível - MS) e BR 23 (suscetível - S), foram distribuídas em 96 copos (quatro repetição de cada cultivar) com

capacidade de 500g de substrato, contendo solo peneirado com pH 6, correspondentes a quatro repetições por densidade de inóculo. Os vasos permaneceram em casa de vegetação por 15 dias, sendo então transferidos para uma câmara climatizada ($22 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo 12 h) por 7 dias. No estágio de duas a três folhas verdadeiras, as plantas foram inoculadas com *Drechslera tritici-repentis*.

Obtenção do inóculo

O inóculo foi obtido a partir de colônias monospóricas desenvolvidas em meio de batata-dextrose-ágar + antibiótico estreptomicina (BDA + A).

O isolado de *Drechslera tritici-repentis* utilizado foi obtido em folhas da cultivar Fundacep 46, proveniente do município de Lagoa Vermelha, RS. A partir do reisolamento em folhas da cultivar de trigo BR 23, em abril de 2007, com a ajuda de uma agulha histológica flambada, conídios de *Drechslera tritici-repentis* foram transferidos para placa de petri contendo ágar-água. Conídios individuais foram, então, transferidos para o meio de cultura definitivo (BDA + A). A incubação ocorreu por dez dias em regime de fotoperíodo 12h à $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

Após a colônia monospórica estar desenvolvida, trabalhou-se com a mesma base para inóculo em meio BDA + A.

Os discos de repicagem foram transferidos para o meio suco V8-BDA onde permaneceram incubados por cinco dias em escuro direto $\pm 24 \pm 1^\circ\text{C}$, seguidos do estresse do micélio em câmara de fluxo com o auxílio de uma lâmina de vidro. Posteriormente, as placas foram mantidas por 24h sob luz direta (para formação dos

conidióforos), seguido de 24h no escuro (para desenvolvimento dos conídios).

Preparo da suspensão de inóculo e Inoculação do Patógeno

A partir do inóculo produzido nas placas com meio V8-BDA incubadas por sete dias, conforme descrito acima, preparou-se uma suspensão de esporos em água esterilizada + Tween 20 (1gota por 200 mL), cuja densidade de inóculo foi determinada através da quantificação de conídios na câmara de Neubauer (200 μ L da solução). A concentração final foi ajustada em 12 mil conídios/ mL. A partir dessa concentração, e por diluição, obtiveram-se concentrações de 9 mil conídios/mL, 6 mil conídios/mL, 3 mil conídios/mL e 1 mil conídios/mL.

Plantas com 15 dias de idade (duas a três folhas desenvolvidas) foram inoculadas com as cinco concentrações de inóculo (descritas no parágrafo anterior). Para isso, preparou-se um volume de 200mL de suspensão de conídios em água esterilizada para cada uma das concentrações. Este volume foi usado por tratamento (quatro repetições ou vasos por cultivar), sendo aplicado através de um atomizador comum de plástico. Plantas de quatro vasos de cada cultivar foram inoculadas com a testemunha (somente água) e, na seqüência, da menor para a maior concentração.

Nas primeiras 48h de incubação, as plantas foram mantidas sob caixas de madeira revestidas com plástico transparente, a fim de garantir maior umidade do ar e evitar a contaminação cruzada dos tratamentos e nebulização intermitente, suficiente para manter a umidade relativa do ar em torno de 90%. As plantas inoculadas foram

mantidas em câmara climatizada por sete dias, com fotoperíodo 12h começando pelo escuro, a $22 \pm 1^\circ\text{C}$.

Características avaliadas e análise estatística

Quando ocorreu o aparecimento dos sintomas e antes das manchas coalescerem, procedeu-se à contagem do número de lesões por folha considerando-se a segunda folha, cinco dias após a inoculação, enquanto a avaliação da severidade por folha ou porcentagem da área foliar afetada (% AFA) foi efetuada sete dias após a inoculação. As avaliações foram feitas na segunda folha desenvolvida após a plúmula. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os valores obtidos foram submetidos a análise de distribuição normal, e transformados por $\sqrt{x+0,5}$, submetidos a análise de variância e a regressão no programa SAS (Statistical Analysis Systems Institute, Cory, NC) versão 8. A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) nas diferentes densidades de inoculo testadas.

3. RESULTADOS

Incidência da Doença (número de lesões)

Os dados foram ajustados significativamente por equações polinomiais quadráticas, com coeficiente de determinação de 46, 67, 72 e 73%, respectivamente, para as cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23 (FIGURA 1). Todas as densidades de inóculo testados resultaram em alguma intensidade de doença em número de lesões. As concentrações de esporos de 9 a 12 mil

conídios/mL foram aquelas que proporcionaram os maior incidência da doença nas cultivares BRS Umbu, FCEP Nova Era e BR 23. Para BRS 179, os maiores números de lesões por folha foram lidos entre 6 e 9 mil conídios /mL, e também, nesta concentração revelou-se uma diferença de intensidade de doença pelo número de lesões entre as cultivares testadas.

A incidência da doença aumentou consideravelmente conforme o aumento da densidade de inóculo, sendo que para densidade de 3 mil conídios/mL ocorreu a menor incidência da doença.

Entre as densidades de inóculo de 6 a 9 mil conídios/mL, na cultivar BRS Umbu ocorreram 65 a 125 leões por folha, estabilizando entre 9 a 12 mil conídios/mL, tendendo a diminuir o número de lesões a partir de 12 mil conídios/mL; BRS 179 entre 75 e 130 lesões por folha, decrescendo a partir de 9 mil conídios/mL; FCEP Nova Era entre 65 a 125 lesões por folha, não demonstrando declínio neste progresso até 12 mil conídios/mL; e, BR 23 entre 95 e 150 lesões, respondeu com maiores intensidade da doença em número de lesões por folha entre as cultivares testadas, estabilizando este progresso na densidade de 12 mil com./mL.

Na cultivar FCEP Nova Era o número de lesões por folha foi diretamente relacionado à densidade de inóculo usada.

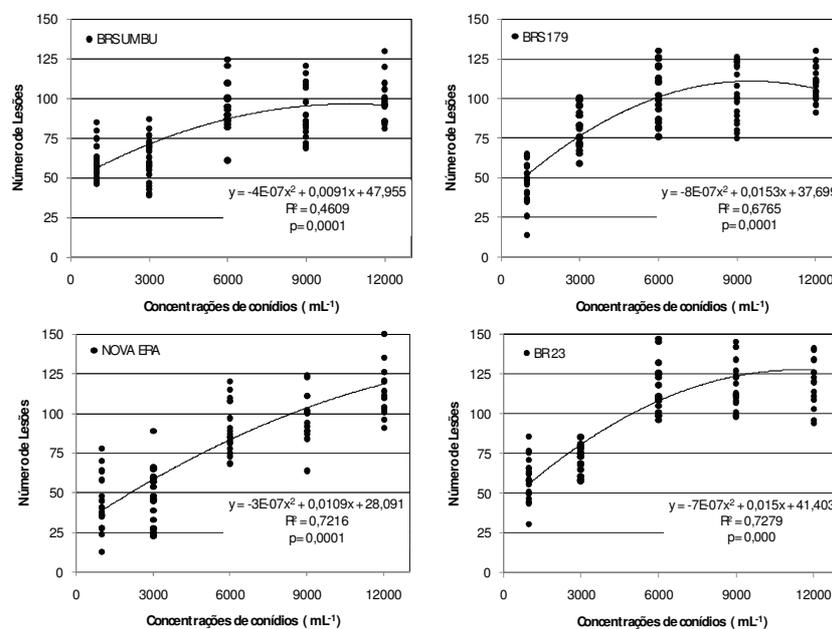


FIGURA 1 – Efeito da densidade de inóculo de *D. tritici-repentis* no número de lesões por folha de plântulas nas cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23.

Severidade da Doença

Os resultados para dados de severidade nas quatro cultivares (FIGURA 2) foram significativos pela regressão linear explicando suas projeções, com coeficientes de determinação de 70, 57, 79 e 63%, respectivamente, para as cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23, demonstrando haver um aumento linear na intensidade de doença com o aumento da densidade de inóculo utilizada.

As projeções encontradas entre as cultivares em teste ficaram muito semelhantes. Quando se relaciona as taxas de progresso da

doença a cultivar BRS 179 tem a menor taxa, e FCEP Nova Era a maior taxa de crescimento da doença com relação à intensidade de doença causada pela medida de severidade.

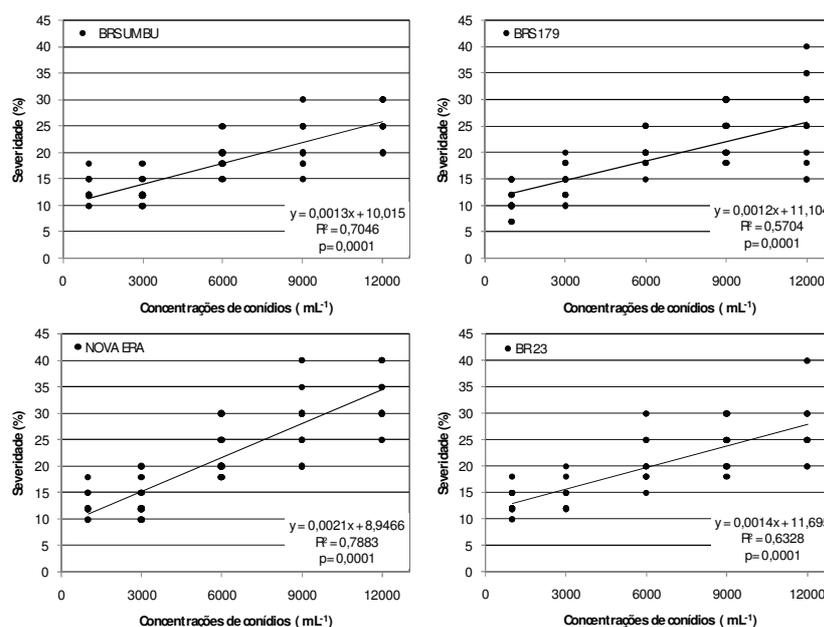


FIGURA 2 – Efeito da densidade de inóculo de *Drechslera tritici-repentis* na severidade da mancha amarela em folhas de plântulas nas cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23.

Área abaixo da curva do progresso da doença

Outra variável utilizada para comparar o progresso da doença em função da quantidade de inóculo foi a AACPD. As respostas das cultivares para cada concentração de conídios são apresentadas na TABELA 1, em que se pode observar que somente para o número de

lesão ocorreu diferença significativa entre o desenvolvimento de a doença na cultivar BR 23, que apesar de não diferenciar significativamente de BRS 179, apresentou a maior AACPD, correspondendo a cultivar de maior suscetibilidade à doença quanto a densidades de inóculo entre 1 e 12 mil conídios/mL.

TABELA 1 – Área abaixo da curva de progresso da doença em diferentes densidades de inóculo de *Drechslera tritici-repentis* em quatro cultivares de trigo.

Cultivar	Incidência	Severidade
BR 23	1138425 A*	228625 A
BRS 179	1038100 AB	212500 A
BRS UMBU	922100 B	216225 A
FCEP NOVA ERA	911750 B	227425 A
CV (%)	8,42	1,089

*Médias seguidas de letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Relação número de lesões/severidade nas diferentes densidades de inóculo testadas para as quatro cultivares.

De uma maneira geral, quando se fez a relação entre a incidência de lesões e a severidade em que as quatro cultivares responderam as densidades de inóculo testadas, podemos observar que até 90 lesões por folha a severidade agrupou de forma mais amena, e a partir de 90 lesões por folha (com exceção a cultivar BRS 179 onde este aumento ocorreu a partir de 70 lesões por folha) a severidade agrupou em valores mais altos aumentando consideravelmente a epidemia, como podemos observar na FIGURA 3.

A correlação, de acordo com o coeficiente de Pearson, existente entre o número de lesões e severidade para cada uma das cultivares foi significativo 66, 66, 82 e 75% respectivamente para BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23.

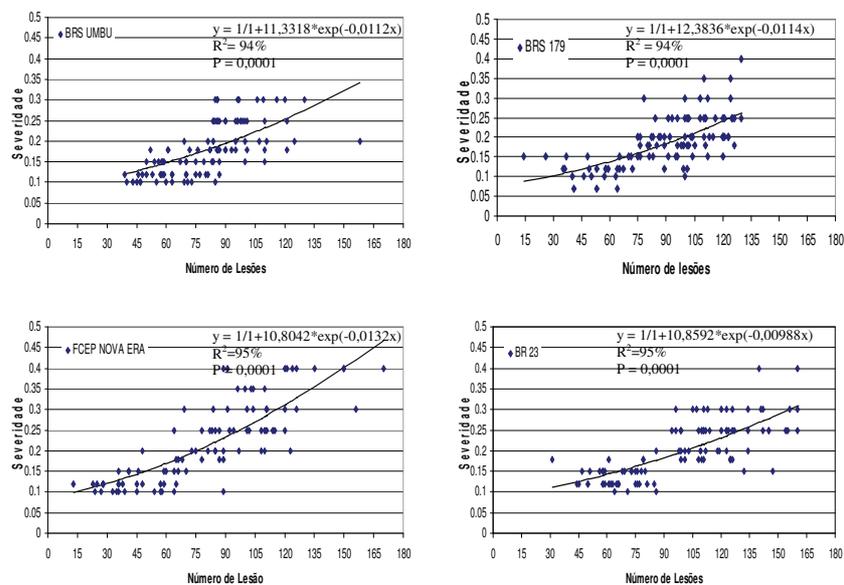


FIGURA 3 – Relação entre o número de lesões e a severidade representada pelo modelo linear logístico nos gráficos das quatro cultivares em teste BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23 respectivamente.

4.DISSCUSSÕES

As condições propiciadas para o desenvolvimento da doença mostraram que com o aumento de inóculo o número de lesões produzidas cresceu seguindo o modelo quadrático, enquanto que para severidade foi o modelo linear, com considerável coeficiente de determinação para todas as cultivares em teste, como observado nas FIGURAS 1 e 2.

Níveis de incidência e severidade visualizadas neste trabalho indicam a viabilidade do isolado utilizado. Com 48h de incubação á

22 ±2°C e umidade relativa de 90%, a partir do segundo dia após a inoculação já era possível observar pequenas lesões escuras, que ao quinto dia estavam nítidas para a quantificação na segunda folha totalmente expandida. Ao sétimo dia a doença se mostrava avançada o suficiente para a quantificação da severidade. Os pesquisadores Lamari & Bernier (1989), Singh & Hughes (2006), Tadesse et al. (2006) indicam 24 horas; enquanto que Luz (1995), Shilder & Bergstrom (1990) apontam 30h de incubação, necessária para causar infecção e desenvolvimento de sintomas de mancha amarela do trigo. Hosford & Hammond (1990), também inoculando plântulas em estágio de cinco folhas, relataram um aumento significativo no número de lesões ao quantificar a terceira folha expandida, e quarta folha expandida, o que não ocorreu para as avaliações na quinta folha expandida, ou seja, a melhor separação dos genótipos quanto ao número e expansão de lesão ocorre em folhas totalmente expandidas de 48 a 96 h de incubação. Segundo Elias et al. (1989) a lesão de *D. tritici-repentis* é causada pela presença de água livre sobre o tecido, temperatura adequada e suscetibilidade do hospedeiro sendo que a infecção ocorre poucas horas depois da deposição do inóculo e o fungo requer de 24 a 48h de molhamento pós-inoculação para as lesões resultarem em severidade. Para cultivares suscetível seriam necessários de 6 às 12h. Por este motivo, Lamari & Bernier (1989) sugerem que para estudos baseados em grau de severidade o ideal seria período maior ou igual às 30h de incubação. Entretanto, para estudos baseados no tipo e tamanho de lesão é melhor trabalhar com 24h de incubação para visualização dos resultados.

Para o número de lesões por folha, os resultados representados pelo modelo quadrático (Figura 1), pode-se observar que a densidade de inóculo entre 9 e 12 mil conídios/mL proporcionou o maior número de lesão por folha, e entre 6 e 9 mil conídios/mL onde ocorreu pequena variação na quantidade de doença entre as cultivares testadas. Esse resultado é diferente de relatos na literatura que citam de 2 a 3 mil conídios/mL em estudos de diferenciação de genótipos (LAMARI & BERNIER, 1989; LUZ, 1995; GAMBA & LAMARI, 1998; XU et al., 2004; e TADESSE et al., 2006), Orolaza et al.(1995) utilizaram 5 mil conídios/mL em sua pesquisa, revelando haver uma dissimilaridade entre respostas a quantificação de inóculo utilizada entre autores. O que parecia consolidada em torno de 2 a 3 mil conídios/mL pode ser muito pouco, ou quantificado de forma pouco segura. Segundo Francl (1998), em estudo de reação com algumas cultivares, a inoculação de conidióforos causa menores severidade que o equivalente a inoculação com conídios e que, fragmentos de hifas raramente causam infecção até 24h de incubação. Entretanto, Lamari e Bernier (1991) afirmam que conidióforos resultam no equivalente a 25% da infecção causada por conídios.

Para obtenção de dados reproduzíveis é necessária a determinação da concentração de inóculo bem como sua prova de virulência ou potencial de causar doença (FERNANDES et al., 1991). Nos gráficos da FIGURA 1, verificou-se um incremento na intensidade de doença até a densidade de 9 mil con./mL, a queda em número de lesões entre as cultivares testadas, com exceção da cultivar FCEP Nova Era, na concentração de conídios em torno de 12 mil conídios/mL pode estar relacionado ao fato citado por Barba et al.

(2004), em que altas densidades de inóculo podem produzir efeito antagônico na germinação dos esporos e/ou vários esporos podem participar de uma única infecção ou ainda, a severidade de doença pode aumentar proporcionalmente com a concentração de esporos do patógeno até uma determinada concentração onde pode ocorrer uma redução, provavelmente causada pela auto-inibição da germinação dos esporos ou pela limitação nos sítios de infecção. Segundo Bergamim Filho e Amorin (1996) a expansão da lesão representa uma forma alternativa para o aumento da doença em condições desfavoráveis à esporulação. Portanto, esta queda no número de lesões poderia ter sido maior se a quantificação tivesse sido realizada dois dias depois, junto com a severidade. No presente trabalho, esta relação pode ser feita ao número de lesão por folha, que foi quantificada na segunda folha totalmente expandida, o que não foi observado nos dados de severidade, FIGURA 2, em que o progresso é linear, sendo este fato explicado devido a nota de severidade ter sido representativa de todas as folhas do vaso, ou seja, a discriminação utilizada na segunda folha expandida segue a lógica de uma área delimitada e a nota de severidade do total de plantas no vaso generaliza a questão de disposição e posição das folhas, expansão da lesão pelo fato de ter sido quantificada dois dias depois do número de lesões e ainda a dispersão do inóculo sobre os vasos, evidenciando um progresso mais lento da doença, necessitando até mesmo a inclusão de uma concentração maior de inóculo para ter maior visualização do patossistema.

Observando o aumento linear significativo da doença em severidade com o aumento da densidade de inóculo utilizada para

todas as cultivares, pode-se relacionar as taxas de progresso de 0,0013; 0,0021, 0,0021 e 0,0014 para as cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23, respectivamente. A cultivar BRS 179 pode ser considerada mais resistente que as demais e FCEP Nova Era a mais suscetível, devido ao progresso mais acelerado da doença com relação ao incremento de inóculo. No entanto, nas recomendações técnicas para a cultura do trigo no Rio grande do Sul e Santa Catarina BRS 179 é denominada como moderadamente suscetível e FCEP Nova Era como moderadamente resistente, sendo que esta última alcançou as maiores severidades em todas as densidades de inóculo. Para cultivar BRS Umbu, considerada resistente, observa-se o menor número e declínio no número de lesões por folha, relacionado a um tamanho menor de lesão. Na severidade este comportamento intermediário entre BRS 179 e FCEP Nova Era, ressalta a não utilização de densidade elevadas de inóculo para diferenciação de cultivares para níveis de resistência (CARVALHO et al., 1981), já que mesmo observando os valores críticos de variabilidade nas observações quantificadas, BRS Umbu continua com a maioria das quantificações superestimadas, e para separar as cultivares o intervalo entre as densidades de 6 mil a 9 mil conídios/mL continua melhor diferenciando as cultivares. A cultivar BR 23, considerada suscetível, apresentou baixos níveis de severidade para densidade inferior a 6 mil conídios/mL, ao número de lesões por folha obteve curva devidamente quadrática com aumento na incidência até a 12 mil conídios/mL, revelando menor tamanho de lesão em relação as outras, já para a severidade entre 9 mil e 12 mil conídios/mL demonstrou entre os valores críticos uma certa estabilidade revelada

por um progresso linear pela projeção da curva, obtendo severidades maiores que FCEP Nova Era. Em decorrência desses dados podemos relacionar principalmente ao progresso linear na severidade, a necessidade de controle em níveis iniciais da doença em parâmetros comerciais das cultivares, em condições de campo tanto o inóculo inicial vindo de sementes, quanto dos restos culturais que resultaram em lesões esporulativas dispersadas pelo vento em condições favoráveis, podem chegar a elevada densidade de inóculo em condições naturais, respondendo com altas intensidade de doença em uma lavoura.

A dificuldade encontrada em separar uma quantidade de inóculo que melhor separe as cultivares quanto a resistência ou suscetibilidade a *D. tritici-repentis* foi claramente evidenciada quando comparadas as curvas de progresso da doença, a área abaixo da curva relacionando as densidades de inóculo testadas e as duas mediadas parâmetros utilizadas para revelar a quantidade de doença, mostraram não haver diferença entre o progresso da doença entre as cultivares testadas para estas concentrações de inóculo. Somente BR 23 mostrou diferença significativa quanto a AACPD para o número de lesões por folha (TABELA 1), não diferindo significativamente de BRS 179, mas diferindo das demais cultivares, mostrando realmente a não ocorrência de interação entre as cultivares testadas e as densidades de inóculo, e sim somente uma diferença dentro de cada cultivar para cada concentração testada.

A correlação encontrada entre o número de lesões e a severidade para cada cultivar testado foram em geral altas de acordo com o coeficiente de correlação de Pearson de 66; 65,9; 82,6 e 75%

respectivamente para as cultivares de trigo BRS Umbu, BRS 179, FCEP Nova Era e BR 23. Através da plotagem gráfica de regressão representada pelo modelo logístico (FIGURA 3), podemos observar que através dos coeficientes de determinação as equações explicam 94% para BRS Umbu, BRS 179, e 95% para FCEP Nova Era e BR 23, mostrando haver uma alta relação entre o número de lesões contabilizadas ao quinto dia de ensaio e a severidade quantificada ao sétimo dia revelando-se uma boa avaliação de severidade, muitas vezes considerada subjetiva. Esta alta relação entre as quantificações realizadas também possibilita a utilização das equações encontradas na determinação do número de lesões encontradas ao quinto dia para inferir a severidade alcançada em até sete dias de ensaio, devido à quantificação de severidade ser um parâmetro subjetivo.

Até 70 a 90 lesões por folha a severidade nas plantas agrupou de forma mais amena, em torno de 7 a 20%, e a partir de 90 lesões de 20 a 40% de severidade, mostrando haver um incremento no tamanho da lesão desde o quinto dia quando foi possível a contagem do número de lesões até a quantificação da severidade (FIGURA 3). Ocorreu também um agrupamento maior, na figura 3, onde podemos observar que a partir de 75 lesões/folha as manchas se tornaram mais numerosas juntamente com o maior aumento da severidade, Zambolin et al. 2004, referenciam que o hospedeiro pode resistir ao parasita, reduzindo seu crescimento, ou tolerar sua presença e sofrer pouco dano, no entanto, o gráfico mostra um maior progresso da doença após 75 lesões/folha na maioria das cultivares, demonstrando ocorrer uma dinâmica diferente no progresso da doença.

Ainda observando a FIGURA 3, a cultivar FCEP Nova Era mostrou maiores respostas em severidade para o mesmo número de lesões em relação às outras cultivares. Isso pode ser explicado pelo tamanho das lesões encontradas na cultivar FCEP Nova Era que foi relativamente maior que nas demais cultivares. Para evidenciar o tamanho de lesões podemos fazer a relação que a cultivar BRS UMBU com 35 lesões contabilizadas ao quinto dia, mostrou uma severidade de 13% ao sétimo dia, para BRS 179 com 15 lesões que mostrou 9% de severidade, na FCEP Nova Era 15 lesões para 10% de severidade e na cultivar BR 23 para 30 lesões 12% de severidade, condizendo com o observado no ensaio onde as cultivares BRS 179 e FCEP Nova Era tinham lesões maiores que BRS Umbu e BR 23.

5. CONCLUSÕES

1. Baixas quantidades de conídios dificultam a quantificação precisa do inóculo a ser usado em inoculações do patógeno;
2. Densidade de inóculo de 6 a 9 mil conídios/mL são adequadas para a avaliação de genótipos quanto a resistência à mancha amarela do trigo.

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE TRIGO À MANCHA AMARELA

FRANCIELY MOSCHEN¹, ARIANO MORAES PRESTES²,
PEDRO SCHEEREN³, FLAVIO MARTINS SANTANA⁴ E
MARCIO NICOLAU⁵.

RESUMO – A mancha amarela do trigo, cujo agente causal é o fungo *Drechslera tritici-repentis*, é uma doença que reduz drasticamente a produtividade da cultura do trigo (*Triticum aestivum*) em diversos países. Epífitas severas vêm sendo observadas em áreas do Brasil e da América do Sul, onde a maioria das cultivares não apresenta bom nível de resistência. O presente trabalho teve por objetivo caracterizar a resistência de genótipos provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Trigo (BAG), incluindo 63 cultivares e linhagens desenvolvidas de 1930 até 2005, 18 genótipos dihaploidizados e 18 genótipos de trigo sintético (derivados de *Triticum tauschii*). Em experimentos conduzidos em câmara climatizada e em condições de campo os genótipos foram avaliados quanto ao tipo de lesão e área foliar infectada. Através de análises de agrupamento, foi possível observar pequenos grupos de genótipos com resistência moderada e

¹ Eng. Agrônoma, mestranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

² Orientador, Eng. Agrônomo, Ph.D., professor da FAMV/PPGAgro/UPF.

³ Co-orientador, Eng. Agrônomo, Dr., pesquisador da Embrapa Trigo.

⁴ Eng. Agrônomo, Dr., pesquisador da Embrapa Trigo.

⁵ Estatístico, Analista da Embrapa Trigo.

um elevado número de genótipos suscetíveis à doença, tanto em condições controladas quanto no campo. Observou-se também, diferenças entre a reação de genótipos nas avaliações em plântula (câmara climatizada) e de planta adulta (campo) para a maioria dos genótipos testados, indicando pouca relação entre a reação à doença nesses dois estádios de desenvolvimento da planta.

Palavras-chave: Mancha amarela, resistência, cultivares, condições controladas, campo.

ABSTRACT – Tan spot of wheat (*Triticum aestivum*), incited by *Drechslera tritici-repentis* is a disease that may drastically reduce yield of wheat crop in several countries. Severe epidemics have been observed in South America and in Brazil were the great majority of wheat varieties do not possess a good level of resistance. This work has the objective of characterize the resistance of genotypes belonging to Germplasm Bank of Embrapa Trigo (BAG), including 63 varieties and lines developed from 1930 to 2005, 18 lines double haploids and 18 genotypes of synthetic wheat derived from *Triticum tauschii*. All the genotypes were evaluated in trials carried out in greenhouse and field condition, considering lesion type and leaf area infected. It was possible to observe groups of few genotypes with moderate resistance and groups of high number of susceptible ones, in greenhouse as well in the field. It was also possible to observe great differences between reaction in seedling and adult plant stages for the majority of genotypes tested, indicating a poor correlation of disease reaction between those plant growth stages.

Key-words: Tan spot, genetic resistance, greenhouse, field.

1. INTRODUÇÃO

A mancha amarela do trigo, causada por *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker forma perfeita ou teleomórfica *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs., é uma doença de ocorrência mundial. A importância na pesquisa ressurgiu com as técnicas de cultivo mínimo em monocultura, pela utilização generalizada do plantio direto na palha aumentando consideravelmente a incidência de patógenos que sobrevivem em restos culturais, como é o caso de *Drechslera tritici-repentis*, que, além de ser um patógeno necrotrófico possui mais de 26 espécies hospedeiras na natureza (HOSFORD, 1982). Segundo revisão de Tadesse et al. (2007), a mancha amarela foi a doença com maior prevalência nas lavouras de trigo no Canadá, no ano de 2003, provocando perdas de 3 à 50% em variedades suscetíveis. Duveiller et al. (2005) relatou uma média de 30% na redução da produtividade no Sul da Ásia. Anteriormente, há relatos na literatura que apontam 75% de perdas em trigo cultivado na Austrália (REES et al., 1981). Perello et al. (2003) notificou o crescente desenvolvimento da doença nos países do Cone Sul e da América do Sul (Argentina, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai). No Brasil, segundo Balardin (2001), juntamente com outras manchas foliares da cultura, a mancha amarela causada por *Drechslera tritici-repentis* é responsável por uma diminuição no rendimento em até 49,36%. Porém, Picinini et al. (1996) e, mais recentemente Dallagnol et al. (2006) relataram redução em

produtividade de 44,6% e 86,74%, respectivamente, devido a incidência de manchas foliares na cultivar de trigo EMBRAPA 16.

A principal medida de controle da mancha amarela juntamente com a rotação de culturas, na busca da eliminação dos restos culturais, é a resistência genética. O tratamento químico da semente é recomendado para semente em lotes com incidência inferior a 30%. As recomendações técnicas do trigo elegeram dez fungicidas com controle acima de 70%, entre eles Iprodione + thiram. Na parte aérea são indicados mais quatorze fungicidas entre triazóis, estrobilurinas e suas misturas. Assim, analisando os resultados de Dallagnol et al. (2006) testando nove fungicidas dentre os citados nas indicações técnicas, os resultados encontrados para o controle químico podem fornecer proteção à planta contra o avanço das doenças foliares possibilitando as cultivares expressar o seu potencial genético de produtividade, sendo estes resultados variáveis entre os princípios ativos. No entanto o uso de fungicidas aumenta consideravelmente o custo da lavoura, além do considerável custo ecológico na utilização de produtos químicos. Segundo Luz e Bergstrom (1986) e o observado em pesquisas desde então, *Triticum aestivum* contém genes de resistência, mas não conferem resistência completa, e embora a resistência incompleta seja eficiente (REES & PLATZ, 1992), a utilização de manejo integrado para o controle da doença é necessário (FORCELINI, 2005).

A resistência genética é expressa segundo Palevliet, (1997) como a capacidade do hospedeiro em impedir o crescimento e desenvolvimento do patógeno, e pode ser obtida por meio da incorporação de um, de poucos ou de vários genes de resistência de

um genótipo (AGRIOS, 1988). O conhecimento da variabilidade do patógeno e o tipo de herança da resistência são de fundamental importância para a obtenção de resistência durável e aplicação da mesma no melhoramento para desenvolvimento de cultivares (VIEIRA et al. 2006). *Drechslera tritici-repentis* é um patógeno com conhecida variabilidade genética, sendo identificadas até o momento oito patótipos relacionados a presença ou ausência de necrose e clorose na mancha (nec, chl), desenvolvida através do tipo de toxina expressa na relação patógeno/hospedeiro (DUVEILLER et al., 2007). Os oito patótipos foram denominados como raças (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8) devido a identificação em genótipos distintos. As toxinas identificadas foram Ptr Tox A, que produz necrose na mancha, e Ptr Tox B e Ptr Tox C, produzindo clorose (OROLAZA et al., 1995; De WOLF et al., 1998). Ainda não foram identificadas as raças presentes nas lavouras brasileiras, mas são conhecidas diferenças de virulência entre isolados (LUZ, 1995).

Algumas pesquisas (ELIAS et al. (1989); FARIAS et al. 1997; EFFERTZ et al. 2002) identificaram herança quantitativa, e outras (LAMARI E BERNIER, 1989, 1991; GAMBA E LAMARI, 1998; LEE E GOUGH, 1984) descreveram herança qualitativa para mancha amarela, controlada por um único gene recessivo principal. Genes de resistência são encontrados no genoma D, encontrado no ancestral *Triticum tauschii*, usado no cruzamento entre trigo e outras espécies, principalmente *Agropyron* spp., são relatadas na busca de introdução de genes principalmente para resistência a doenças e insetos (GILL & RAUPP, 1987). Até o momento foram mapeados genes recessivos que conferem resistência a isolados que induzem necrose Tsn 1 localizado

no cromossomo 5B (FARIS et al.,1996; STOCK et al. 1996). Friesen e Faris (2004) identificaram um QTL no braço curto de cromossomo 2B e designaram *tsc2* usando análise molecular; Faris e Friesen (2005) identificaram QTL no braço cromossômico 1BS e 3BL, na cultivar BR 34, usando Ptr raças 1-3 e 5 indicando presença de raça não específica na resistência a mancha amarela; e, Tsn 2 localizado no cromossomo 3D, e nesse estudo identificaram dois genótipos imunes e vinte genótipos resistentes, sendo que os dois genes recessivos Tsn-syn 1 e Tsn-syn 2 precisam de mais estudos para confirmação (TADESSE et al., 2006). Segundo Sharma et al. 2004, para herança qualitativa um, dois ou três genes recessivos ou dominantes com epistasia estão envolvidos conferindo resistência em manchas foliares, e concluíram esse estudo genético relatando 77% de herdabilidade para resistência em manchas foliares, sendo que os mecanismos de aditividade genética apresentaram maior importância no controle de resistência de manchas foliares. Lamari & Bernier (1989) salientam a necessidade de testes usando isolados de diferentes virulências para assegurar o desenvolvimento de resistência estável à população do patógeno local.

Na tentativa de identificação de genótipos com considerável resistência a *Drechslera tritici-repentis*, esta pesquisa foi proposta para caracterizar genótipos de trigo sintéticos, genótipos Diaploidizados e cultivares e linhagens desenvolvidas desde 1930, pertencentes ao Banco de Germoplasma da Embrapa Trigo, com intuito da introdução de possíveis genes de resistência ao bloco de cruzamentos para desenvolvimento de novas cultivares, assim como

para posteriores estudos genéticos da resistência a esta doença de potencial importância mundial na cultura do trigo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no campo e em condições controladas (câmara “Menoncin”) nas instalações do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (EMBRAPA Trigo) em Passo Fundo, RS, no ano de 2007.

Escolha dos genótipos a serem testadas

Os genótipos de trigo avaliados neste trabalho pertencem a “Coleção História do Trigo”, composta por genótipos criados em diferentes épocas, desde 1930 até 2005 (linhagens e cultivares) como, por exemplo, BH 1146, Mentana, Fronteira, Frontana, BRS Guamirim, Pampeano, Ônix, entre outros, totalizando 65 acessos dessa coleção; incluindo ainda 18 linhagens Dihaploidizadas (DHM) derivadas de cruzamentos intergenéricos (*T. aestivum* X *Agropyron elongatum*) formadas em 2001, e 12 acessos de trigo sintético resultantes do cruzamento de *Aegilops squarrosa* diplóide (DD) com *Triticum durum* tetraplóide (AB). A cultivar BR 23 e o sintético PF 844008 foram utilizados como testemunha suscetível e resistente respectivamente

Ensaio em condições controladas

Os testes em condições controladas foram executadas em câmara climatizada na casa-de-apoio da EMBRAPA Trigo.

Noventa e cinco genótipos foram utilizados para avaliação em condições controladas (TABELA 1), semeados em vasos de 500g de capacidade de solo e distribuídos em bandejas aleatoriamente, devidamente adubados. Dez sementes de cada genótipo foram distribuídas a 1cm de profundidade. Passados quinze dias, em estádio de quatro a cinco folhas, as bandejas foram transferidas da casa de vegetação para a câmara climatizada, onde foram inoculadas com uma suspensão ajustada em 3000 conídios por mL e 7500 conídios por mL de água destilada, mantidas em incubação por 48h em fotoperíodo de 12h iniciando com escuro, sob nebulização, para manutenção de 90% de umidade relativa, com o auxílio de caixas de madeira revestidas com plástico transparente.

O inóculo foi produzido no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo. O isolado 4* utilizado no presente estudo foi reisolado em plântulas de BR 23 e repicado em meio BDA para formar a base de inoculação. A partir da base em BDA de colônias não esporulativas, seguindo a técnica descrita por Lamari & Bernier (1989), discos de repicagem de 5 mm foram transferidos para placas contendo meio de farinha integral de centeio. As mesmas foram incubadas a $\pm 24^{\circ}\text{C}$ por cinco dias, em escuro contínuo, até preencherem em torno de 4 a 5 cm de diâmetro da placa de petri. Ao final do quinto dia, as placas foram retiradas da incubação e levadas à câmara de fluxo laminar e submetidas ao estresse pela raspagem do micélio com o auxílio de uma lâmina de vidro esterilizada.

* Isolado da cultivar Fundacep 46, no município de Lagoa Vermelha, RS, pela primeira vez em setembro de 2005 em folhas de trigo (*Triticum aestivum*). Reisolado para os estudos em janeiro de 2007, em folhas da cultivar BR 23.

Posteriormente, as placas foram mantidas por 24h a $\pm 24^{\circ}\text{C}$ em luz direta, seguidos de 24h a $\pm 15^{\circ}\text{C}$ em escuro direto na câmara de crescimento “Percival”. A partir deste procedimento, ao sétimo dia, as colônias em esporulação foram raspadas com uma lâmina de vidro removendo os conídios, obtendo-se conídios de *D. tritici-repentis* para 800mL de suspensão de inóculo com 3000 conídios/mL de água destilada + 2 gotas Tween 20 (polyoxyetileno sorbitan monolaurato).

Em sete dias após a inoculação, as plantas foram avaliadas quanto à severidade (0-100%) da área foliar e escala de 0-5 (FIGURA 1).

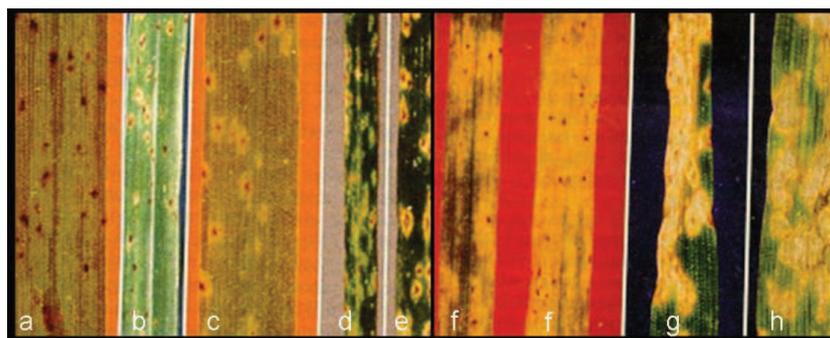


FIGURA 1 – Escala de reação (tipo de lesão) induzida em trigo por *Drechslera tritici-repentis*, baseada em Lamari & Bernier (1989). a) Lesão tipo 1 – presença de pequenas manchas escuras com ausência de clorose e necrose; b) lesão tipo 2 – pequenas manchas escuras rodeadas com necrose bronzeada; c) lesão tipo 3 – pequenas manchas escuras rodeadas por um anel clorótico; d, e) lesão tipo 4 – com clorose (d) e necrose bronzeada em (e); f) lesão tipo 5 – extensiva clorose cobrindo a maioria das folhas, com ausência do contorno das lesões; g) lesão tipo 5 – necrose bronzeada (bordas das lesões bem definidas); h) lesão tipo 5 – necrose bronzeada com ausência de definição das bordas da mancha.

Ensaio em condições de campo

Os genótipos foram semeados em parcelas de três linhas de 3m de comprimento, espaçadas 20 cm. Os genótipos que serviram como testemunha foram BR 23 para suscetibilidade e PF 844008 para resistência. O ensaio foi conduzido conforme as indicações técnicas para cultivo do trigo até quinze dias antes do início das inoculações, com a aplicação de fungicidas a base de misturas de triazóis e estrobilurinas para o controle da ferrugem (*Puccinia triticina*) e oídio (*Brumeria graminis*) para não ocorrer interferências nas futuras avaliações da mancha amarela (*D. tritici repentis*).

Oitenta e seis genótipos foram avaliados no ensaio em condições de campo (TABELA 2), realizado na área experimental da Embrapa Trigo no município de Passo Fundo, RS, em 2007 em uma área sob sistema de plantio direto.

As produções de inóculo para inoculações no campo seguiram as mesmas técnicas empregadas para os ensaios em condições controladas no laboratório de fitopatologia da Embrapa Trigo. Foram realizadas seis inoculações sobre as parcelas de campo, com o auxílio de um pulverizador costal utilizando-se 210 placas da colônia esporulativa sobre o meio de cultura de farinha integral de centeio para produzir 10L de solução com água destilada e a proporção de 0,05 de Tween 20 (Figura 2- B).

As inoculações foram realizadas quando 50% dos genótipos estavam no estágio de alongamento, entre 9 a 10 na escala de Feekes e Large, devido ao número de seis inoculações realizadas. Depois das 17h e, a partir da terceira inoculação, as parcelas eram irrigadas meia hora antes e no dia seguinte à inoculação, através de aspersão de

gotículas finas de água (“mist-irrigation”) conforme (FIGURA 2-A), buscando o molhamento foliar necessário para o desenvolvimento da doença.

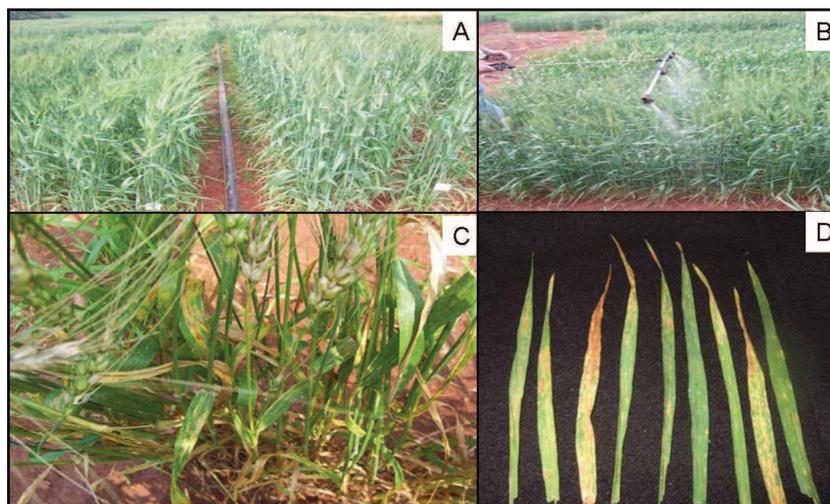


FIGURA 2 – A) Parcelas irrigadas por aspersão de gotículas finas de água (“mist-irrigation”); B) inoculações sobre as parcelas de campo com o auxílio de um pulverizador costal com barra de 4 bicos espaçadas em 60cm; C, D) Reação de doença em parcela do genótipo BR 23 treze dias após a última inoculação.

Os genótipos em campo foram avaliados quanto a severidade (0-100%) da área foliar e escala de 0-5, conforme escala usada em condições controladas, com a diferença que foram coletadas amostras destrutivas de 20 folhas por parcela nas duas folhas superiores da planta - folha bandeira (FB) e folha bandeira menos um (FB-1) - em três datas de coletas 18, 22 e 25/10 (Figura 2 –C/D).

Os dados de ambos foram analisados utilizando os PROC CLUSTER e TREE do SAS (SAS, 1999). Para formar os grupos, utilizou-se o método hierárquico por meio da distância Euclidiana calculada entre os genótipos (tanto para o percentual de severidade

quanto para nota de escala). Para a evolução da doença no campo, utilizou-se a distância de Canberra para gerar os grupos. Em todos os casos, utilizou-se o método de agrupamento UPGMA. O relacionamento entre os dados de campo (planta adulta) e os observados em condições controladas (plântula) foi avaliado com o método de Escalonamento Multidimensional (EMD), com base na distância Euclidiana com auxílio do programa estatístico R Development Core Team (2008).

3. RESULTADOS

As avaliações dos genótipos, em condições controladas, resultaram em três agrupamentos: para os dados de notas atribuídas pela escala de 0-5 (somadas as notas das repetições de cada genótipo), dados médios de severidade por genótipo utilizando dados de dois experimentos com inoculações de densidades de inóculo 3000 e 7500 conídios/mL (TABELA 1, GRÁFICOS 1, 2 e 3).

De modo geral, baseado nos dendogramas (Gráficos 1, 2, 3, 4, 5, e 6), a análise de agrupamentos gerou grupos com similaridade interna próxima a 80% ($R^2 = 0,8$). Obteve-se então, quatro grupos de genótipos: (1) com maior resistência ao fungo; (2) com moderada resistência; (3) moderada suscetibilidade; e (4) com maior sensibilidade ao fungo, respectivamente relacionado aos dados de cada genótipo, resumidos na Tabela 1. Em que, o grupo 1 compreende severidades abaixo de 8% (para o experimento utilizando 3000 conídios/mL) e abaixo de 20% (para experimento utilizando 7500 conídios/mL); o grupo 2 compreende de 8,13 à 12,9% e 25,23 à

37,04% respectivamente para os experimentos utilizando 3000 e 7500 conídios/mL; assim como o grupo 3 compreende de 13,08 à 17,15% e 40,88 à 49,50; e o grupo 4 de 17,55 à 22,13% e 51,38 à 73% respectivamente para experimento com 3000 e 7500 conídios/mL.

A densidade de inóculo de 3000 conídios/mL permitiu uma boa visualização do tipo de lesão resultante da reação entre patógeno/hospedeiro no ensaio, e diferenciou melhor os genótipos. No entanto, a densidade de 7500 conídios/mL proporcionou maior quantidade de doença para avaliação de severidade.

TABELA 1 - Agrupamento dos genótipos para soma das notas de reação e média de severidade da mancha amarela do trigo em condições controladas. Baseado no dendograma dos Gráficos 1, 2 e 3, pela análise hierárquica, agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R²”.

GENÓTIPOS	CLASSE DO GENÓTIPO ¹	AGRUP ² escala (3000 con./mL)	AGRUP (3000 con./mL)	SEV ³ (%) (3000 con./mL)	AGRUP (7500 con./mL)	SEV (%) (7500 con./mL)
ABALONE	HT	2	2	8.63	2	27.13
ANAUACH 75	HT	4	3	14.75	2	34.75
BH 1146	HT	3	3	14.58	4	56.63
BR 18	HT	4	3	15.63	4	70.00
BR 23	HT	4	4	20.83	3	47.25
BR 32	HT	4	3	16.98	4	63.50
BR 35	HT	2	2	11.6	3	41.88
BRS 177	HT	2	2	9.03	3	46.18
BRS 179	HT	2	2	8.13	4	54.63
BRS 194	HT	3	2	9.8	2	33.30
BRS 208	HT	2	2	8.75	3	49.13
BRS 220	HT	4	4	20.18	4	72.00
BRS 49	HT	3	3	14.43	3	49.00
BRS CAMBOATA	HT	4	3	16.93	4	55.75
BRS CAMBOIM	HT	4	3	15.85	4	61.25
BRS CANELA	HT	4	3	13.89	4	57.75
BRS GUABIJU	HT	4	4	21.3	3	49.50
BRS GUAMIRIM	HT	3	3	13.5	4	58.75

GENÓTIPOS	CLASSE DO GENÓTIPO ¹	AGRUP ² escala (3000 con./mL)	AGRUP (3000 con./mL)	SEV ³ (%) (3000 con./mL)	AGRUP (7500 con./mL)	SEV (%) (7500 con./mL)
BRS LOURO	HT	4	3	13.1	4	73.00
BRS TIMBAUVA	HT	4	3	14.85	4	60.46
BRS UMBU	HT	3	3	13.7	2	30.00
CD 104	HT	4	3	16.38	4	60.63
CEP 11	HT	4	4	21.95	4	56.25
CEP 14	HT	3	2	9.2	4	56.11
CEP 24	HT	4	2	12.75	4	60.50
CEP 27	HT	4	3	16.63	3	45.38
CNT 10	HT	3	3	13.08	4	68.75
CNT 7	HT	3	4	18.05	2	35.75
CNT 8	HT	4	4	19.5	4	63.75
COTIPORÁ	HT	2	3	14.45	3	48.00
EMBRAPA 16	HT	1	2	10.6	3	42.38
EMBRAPA 27	HT	4	3	15.98	4	54.25
FUNDACEP 30	HT	2	2	12.73	4	58.88
FUNDACEP 52	HT	3	3	14.8	4	53.25
FCEP NOVA ERA	HT	2	3	14.53	4	55.88
FRONTANA	HT	4	3	15.63	2	31.25
FRONTEIRA	HT	3	2	9.67	3	44.38
HULHA NEGRA	HT	4	4	19.1	4	64.75
IAC 5	HT	3	3	14.58	4	67.88
IAS 20	HT	3	3	13.98	3	46.05
IAS 54-SEL21	HT	3	2	11.28	3	44.00
IPR 84	HT	3	2	12.9	3	44.38
IWT 05003-2	TS	4	4	20.18	4	60.38
IWT 05003-3	TS	4	4	18.98	4	58.50
IWT 05003-4	TS	4	4	18.08	4	61.75
IWT 05021	TS	2	2	12.05	3	49.00
LONDRINA	HT	4	3	16.1	4	52.33
MENTANA	HT	4	3	16.85	4	57.38
NE 20156-B	TS	3	2	11.2	1	18.13
NE 20159-C	TS	-	-	-	4	63.50
NE 20168-C	TS	1	2	10.18	4	61.07
NE 20168-P	TS	1	2	10.9	4	61.58
NE 20169-C	TS	3	2	12.27	4	70.70
ÔNIX	HT	3	2	12.3	2	37.04
OR 1	HT	4	3	15.73	3	40.88
PAMPEANO	HT	4	3	14.23	3	49.50
PF 007402	DHM	4	3	15.5	3	47.63

GENÓTIPOS	CLASSE DO GENÓTIPO ¹	AGRUP ² escala (3000 con./mL)	AGRUP (3000 con./mL)	SEV ³ (%) (3000 con./mL)	AGRUP (7500 com./mL)	SEV (%) (7500 con./mL)
PF 007403	DHM	2	3	16.25	3	46.75
PF 007404	DHM	2	3	17.15	3	45.13
PF 007405	DHM	2	4	18.25	4	51.63
PF 007410	DHM	4	2	9.38	3	44.88
PF 007414	DHM	3	2	10.55	4	57.80
PF 007415	DHM	4	2	12.18	4	68.58
PF 007419	DHM	4	2	11.93	4	64.25
PF 007436	DHM	4	2	10.06	2	34.25
PF 007437	DHM	4	2	10.11	3	48.75
PF 007438	DHM	4	2	10.13	3	41.75
PF 007439	DHM	3	2	9.68	2	36.63
PF 007449	DHM	4	2	11.73	4	54.00
PF 007450	DHM	4	2	12.71	4	66.01
PF 007451	DHM	2	3	14.56	4	57.13
PF 007452	DHM	4	2	11.9	2	36.73
PF 007455	DHM	4	3	14.56	3	49.13
PF 007457	DHM	3	3	13.81	4	56.88
PF 031190	HT	4	3	16.38	4	61.63
PF 804001	TS	3	2	9.43	4	51.38
PF 804002	TS	3	2	12.76	2	33.25
PF 844001	TS	4	3	13.13	4	63.00
PF 844002	TS	4	3	14.2	4	56.25
PF 844005	TS	-	-	-	-	63.50
PF 844008	TS	2	3	14.8	4	72.15
PF 964009	TS	2	2	12.53	2	25.23
PF 970215	HT	2	3	14.97	4	57.25
PF 973279-A	HT	2	2	12.57	4	62.00
PF 980241	HT	3	3	15.1	3	45.38
PF 980537	HT	3	4	17.6	3	48.02
PF 980557	HT	3	2	11.5	3	43.75
PF 980560	HT	4	2	12.45	4	57.25
PF 990283	HT	3	3	13.28	3	43.75
PF 990606	HT	4	2	10.28	4	53.63
PFS 801	TS	2	2	11.35	4	68.76
PFS 802	TS	2	3	13.4	4	57.53
PG 1	HT	1	1	5.75	3	41.38
RL 5701	TS	3	3	15.23	4	54.63
RUBI	HT	4	4	22.13	4	60.68
SAFIRA	HT	4	3	16.12	4	59.88

GENÓTIPOS	CLASSE DO GENÓTIPO ¹	AGRUP ² escala (3000 con./mL)	AGRUP (3000 con./mL)	SEV ³ (%) (3000 con./mL)	AGRUP (7500 con./mL)	SEV (%) (7500 con./mL)
SONORA 64	HT	4	4	17.55	4	62.63

¹CLASSE DOS GENÓTIPOS relaciona a classificação quanto: HT – Cultivares e Linhagens da História do Trigo; DHM – genótipos diaploidizados; e, TS- Genótipos Sintéticos derivados de *Triticum tauschii*.

²AGRUP refere-se ao agrupamento observado dos genótipos através de “Cluster Analysis” para soma das notas de escala por genótipo, média de severidade por genótipo para 3000 e 7500 conídios/mL respectivamente.

³SEV refere-se a severidade média, em porcentagem, observada por para 3000 e 7500 conídios/mL respectivamente.

GRÁFICO 2- Dendograma da severidade de mancha amarela em condições controladas com inoculação de 7500 conídios/mL, pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R²”.

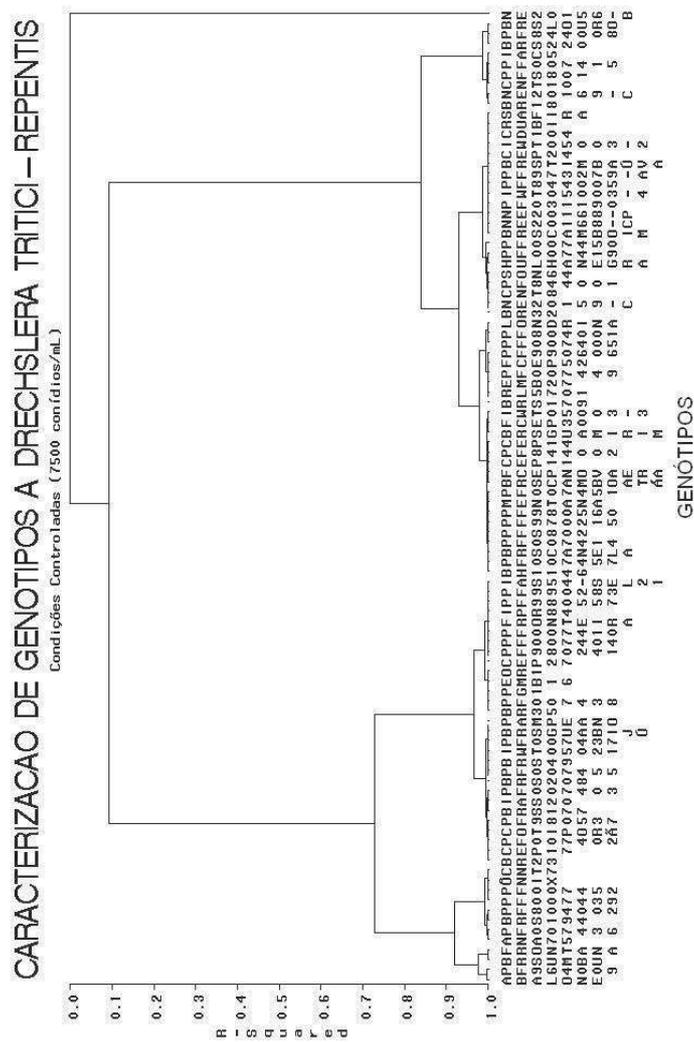
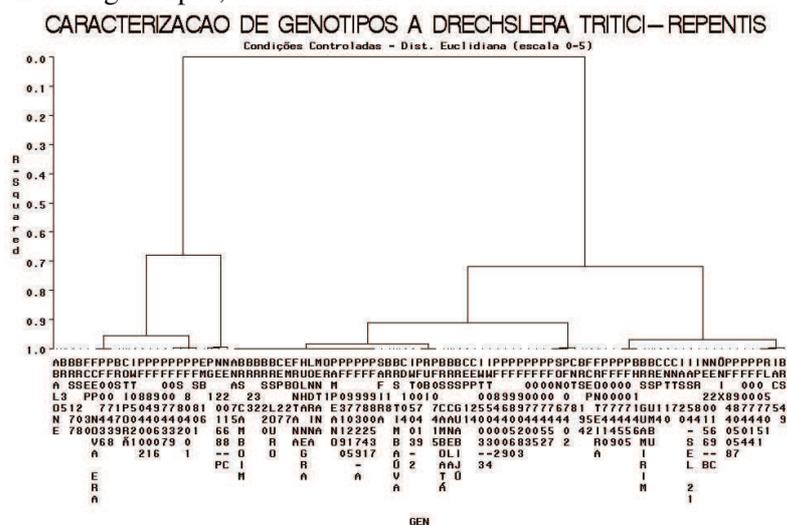


GRÁFICO 3 - Dendrograma de reação (escala 0-5) à mancha amarela em condições controladas com inoculação de 3000 conídios/mL, pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R²”.



A severidade média máxima encontrada no experimento utilizando-se 3000 conídios/mL foi de 22,13% para a cultivar Rubi classificada entre os genótipos da “Coleção Histórica do Trigo”. Outros genótipos com alta severidade neste experimento foram: BR 23, BRS 220, BRS Guabiju, CEP 11 e IWT 05003-2. A severidade mínima observada foi de 5,75% para a cultivar PG1, também da “Coleção Histórica do Trigo”, sendo que os genótipos Abalone, BRS 177, BRS 179, BRS 208, CEP 14, Fronteira, PF 007410, e PF 804001 também apresentaram baixa severidade da doença. Para este mesmo ensaio EMBRAPA 16, NE 20168-C, NE 20168-P, e PG 1 tiveram a menor soma de notas da escala de 0-5 baseada no tamanho da lesão. Enquanto isso, noventa e quatro genótipos foram agrupados com as maiores somas de notas, entre eles aparecem: BRS Timbaúva, CD

104, IWT 05003-2, PF 007419 e Rubi, entre os genótipos com maior soma das notas da escala de 0-5 atribuídas nas repetições avaliadas.

A máxima severidade média observada em inoculações utilizando-se 7500 conídios/mL foi de 73% para a cultivar BRS Louro da “Coleção Histórica do Trigo”, e demais genótipos com maior severidade neste experimento foram: BR 18, BRS 220, NE 20169-C, e PF 844008, com severidade acima de 70%. A severidade mínima encontrada foi de 18,13% para o genótipo NE20156-B, sendo um sintético derivado de *Triticum tauschii*, e outros genótipos com menor severidade foram: Abalone, BRS Umbu, e PF 964009, com severidades abaixo de 30%. Para este experimento, os dados de nota da escala de 0-5 não foram analisados devido a alta severidade da doença, não sendo possível fazer diferenciação adequada quanto ao tipo de lesão (TABELA 1).

Conforme Tabela 2, as avaliações em condições de campo resultaram em quatro agrupamentos para os dados de notas pela escala de 0-5 somadas as repetições de cada genótipo nas avaliações do dia 18/10 na folha bandeira menos um, dados médios de severidade para cada genótipo, em porcentagem de 0-100%, utilizando dados de avaliações do experimento na coleta de folhas FB-1 nos dias 18 e 22/10 e para folha bandeira no dia 22/10.

De modo geral, baseado nos dendogramas (Gráficos 1, 2, 3, 4, 5, e 6), a análise hierárquica gerou grupos com similaridade interna próxima a 80% ($R^2 = 0,8$), os mesmos dividiram-se em quatro grupos conforme os critérios estabelecidos em condições controladas.

TABELA 2- Agrupamento dos genótipos para soma das notas de reação e média de severidade da mancha amarela do trigo em condições de campo, pela análise hierárquica, agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R²”.

GENÓTIPOS ¹	AGRUP ² escala 18/10 (FB-1 ⁴)	AGRUP 18/10 (FB-1)	SEV ³ (%) 18/10 (FB-1)	AGRUP 22/10 (FB-1)	SEV(%) 22/10 (FB-1)	AGRUP 22/10 (FB ⁵)	SEV(%) 22/10 (FB)
ABALONE	4	2	20.06	3	58	2	29
ANAUACH 75	4	3	29.25	3	36.39	1	19
BH 1146	4	4	40.00	4	82	2	29
BR 18	4	4	40.50	3	58.25	2	39.25
BR 23	4	3	28.75	3	52	2	31.58
BR 32	3	1	8.50	2	13.8	1	3.9
BR 35	4	3	34.50	3	40.5	1	24
BRS 177	4	3	25.25	3	52	1	23.75
BRS 179	4	2	21.00	2	31.75	1	11.85
BRS 194	4	2	20.50	2	19.75	1	8.75
BRS 208	4	3	29.44	2	26.75	1	21.5
BRS 220	4	3	34.25	3	46	2	28.75
BRS 49	4	3	25.28	3	44.25	1	13.5
BRS CAMBOATÁ	4	3	32.89	4	67.89	2	32.75
BRS CAMBOIM	4	3	29.25	2	29.75	1	17.75
BRS CANELA	4	4	43.50	4	80.5	3	49.75
BRS GUABIJU	4	3	25.75	3	40.79	1	17.25
BRS GUAMIRIM	4	2	17.00	2	24.25	1	9.1
BRS LOURO	4	3	23.06	3	55.5	1	14.8
BRS TIMBAÚVA	4	2	20.59	3	34	1	9.8
BRS UMBU	3	3	25.00	2	30	1	23
CD 104	4	3	27.50	-	-	4	76.75
CEP 11	3	1	12.45	3	45.75	1	22.05
CEP 14	3	2	14.55	2	14.5	1	4.2
CEP 17	3	2	21.50	3	43.95	1	6.35
CEP 24	3	1	12.40	2	17.5	1	6.3
CEP 27	4	3	23.50	2	30.5	1	16.75
CNT 10	3	2	22.11	3	36	1	11.25
CNT 7	4	3	29.75	3	42.75	2	32.63
CNT 8	4	3	24.75	2	27.6	1	11
COTIPORÃ	4	3	25.50	3	50.75	1	17

GENÓTIPOS ¹	AGRUP ² escala 18/10 (FB-1 ⁴)	AGRUP 18/10 (FB-1)	SEV ³ (%) 18/10 (FB-1)	AGRUP 22/10 (FB-1)	SEV(%) 22/10 (FB-1)	AGRUP 22/10 (FB ⁵)	SEV(%) 22/10 (FB)
EMBRAPA 16	4	3	26.00	3	56.75	2	31
EMBRAPA 27	4	3	32.00	3	36.75	1	9.8
FUNDACEP 30	3	2	16.85	2	30.25	1	5.3
FUNDACEP 52	4	2	17.00	-	-	3	51.75
FCEP NOVA ERA	4	3	23.75	3	37.5	1	10
FRONTANA	3	1	8.65	2	27.75	1	3.6
FRONTEIRA	3	1	11.55	2	26.75	1	3.85
HULHA NEGRA	3	3	27.63	3	39.25	1	6.9
IAC 5	4	2	17.00	3	50.25	2	37.75
IAS 20	4	3	25.25	3	40	1	10.25
IAS 54-SEL21	4	3	31.58	4	67.5	1	10.3
IPR 84	4	2	16.25	2	31.25	1	10.5
LONDRINA	4	3	23.75	2	25	1	9.5
MENTANA	4	3	33.89	3	55.25	1	26.25
NE 20156-B	4	1	9.28	2	21	1	18.6
NE 20168-P	1	1	2.70	1	4.75	1	1.7
ÔNIX	4	3	25.50	2	25.59	1	7.1
OR 1	4	3	31.25	3	37.75	1	15.75
PAMPEANO	4	4	43.00	3	33.25	1	20.5
PF 007402	4	2	19.21	2	29.5	1	50.25
PF 007403	4	3	26.00	3	44	1	30.5
PF 007404	4	2	17.00	3	33.75	1	17.75
PF 007405	4	3	36.75	3	52.5	1	48
PF 007410	3	2	15.35	-	-	1	0.64
PF 007414	4	3	23.75	-	-	1	21.5
PF 007415	4	2	20.75	-	-	2	10.75
PF 007419	4	3	27.25	-	-	2	12.5
PF 007436	4	1	11.00	2	28.75	1	9.25
PF 007437	3	1	11.75	2	15.5	1	8.05
PF 007438	3	2	13.80	2	25.75	1	8.8
PF 007439	4	2	15.00	2	21.58	1	4.35
PF 007449	3	2	19.00	3	36.25	1	8.5
PF 007450	4	3	28.25	2	27.1	1	6.89
PF 007451	3	3	24.85	2	30.25	1	9.25
PF 007452	4	3	27.75	2	19.55	1	9.5

GENÓTIPOS ¹	AGRUP ² escala 18/10 (FB-1 ⁴)	AGRUP 18/10 (FB-1)	SEV ³ (%) 18/10 (FB-1)	AGRUP 22/10 (FB-1)	SEV(%) 22/10 (FB-1)	AGRUP 22/10 (FB ⁵)	SEV(%) 22/10 (FB)
PF 007455	4	2	18.25	2	29.75	1	10.65
PF 007457	4	2	14.00	2	26.5	1	15.05
PF 031190	4	2	16.17	-	-	3	22.5
PF 031191	4	3	26.25	-	-	2	17.75
PF 804002	4	2	19.00	2	31	1	23.68
PF 844002	4	3	23.75	4	67.25	3	37.25
PF 844008	1	1	1.20	1	2.5	1	29.25
PF 964009	4	2	14.55	3	35	1	4.4
PF 970215	4	3	28.75	3	44.25	1	8.25
PF 973279-A	4	3	32.75	3	50.75	1	6.55
PF 980203	4	3	26.00	3	33.5	1	8.8
PF 980241	3	1	12.00	2	26.75	1	6.15
PF 980537	4	2	22.25	3	39.25	1	6.25
PF 980557	4	3	26.25	3	47.89	1	4.65
PF 980560	4	2	20.25	2	24.25	1	5.05
PF 990283	2	1	10.15	2	26.5	1	22
PF 990606	3	3	24.10	2	19	1	16.5
PFS 802	2	1	8.35	1	5.35	1	1.47
PG 1	2	1	4.55	2	29.75	1	3.35
RL 5701	3	1	8.00	1	8.15	1	3.5
RUBI	4	3	313157.00	3	51	1	10.3
SAFIRA	3	2	15.75	4	78	2	31
SONORA 64	4	3	34.00	3	60.53	1	22.22

¹GENÓTIPOS já classificados na Tabela 1 quanto a: HT – Cultivares e linhagens da História do trigo; DHM – genótipos diaplóidizados; e, TS- Genótipos Sintéticos derivados de *Triticum tauschii*.

²AGRUP refere-se ao agrupamento observado dos genótipos através de “Cluster Analysis” para soma das notas de escala 0-5 de tipo de lesão por genótipo, média de severidade por genótipo para cada data na respectiva folha de avaliação.

³SEV refere-se a severidade média, em porcentagem, observada para cada data na respectiva folha de avaliação.

⁴(FB-1) refere-se a folha bandeira menos uma folha.

⁵(FB) refere-se a folha bandeira.

GRÁFICO 4 – Dendograma de reação da escala de (0-5) para *Drechslera tritici-repentis* em ensaio de condições de campo (folha bandeira menos uma folha – avaliação dia 18/10/2007), pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R²”.

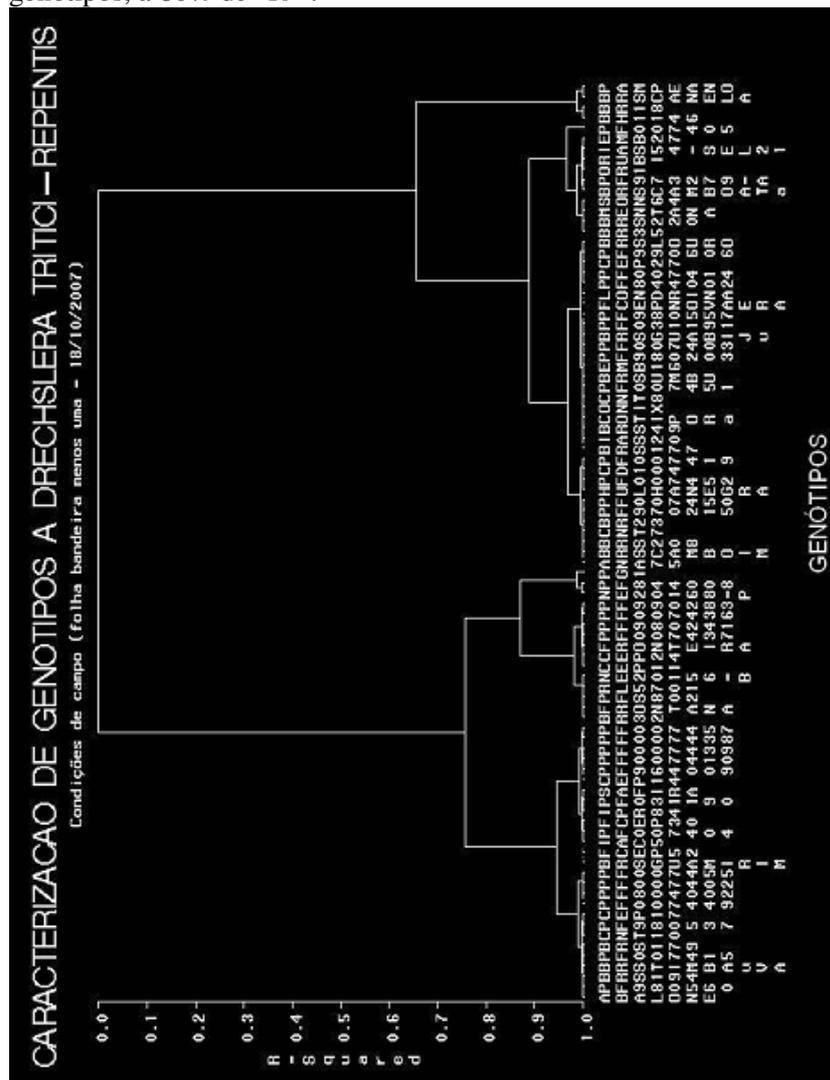
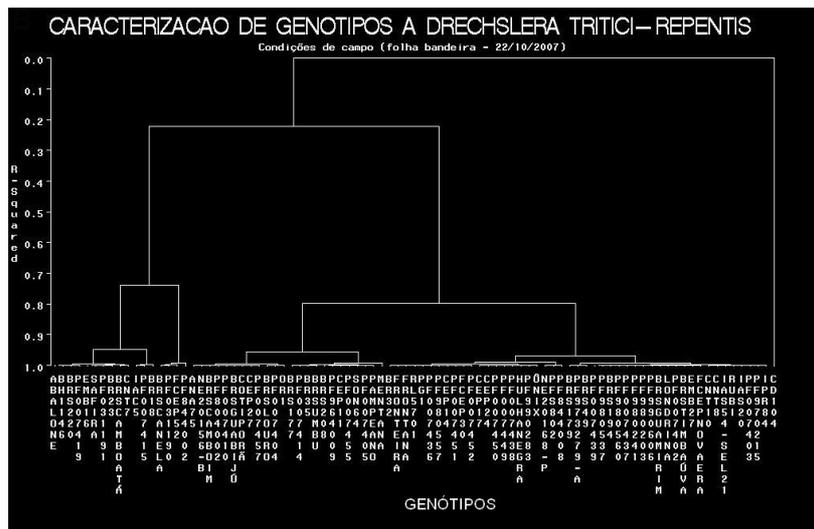
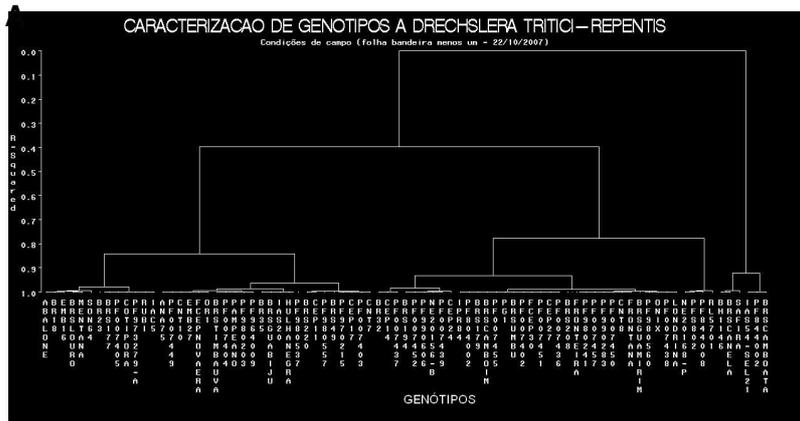


GRÁFICO 5 – Dendrograma de reação da severidade para *Drechslera tritici-repentis* em ensaio de condições de campo (folha bandeira menos uma folha “A”/folha bandeira “B”, avaliadas no dia 22/10/2007), pela análise hierárquica com agrupamento UPGMA e distância Euclidiana entre os genótipos, a 80% de “R²”.



Em condições de campo, com inoculação artificial do patógeno e irrigação das parcelas do ensaio, observou-se que os genótipos NE 20168-P e PF 844008 mostraram as menores somas das notas de escala de 0-5 quanto ao tamanho de lesão. Esses genótipos são sintéticos derivados do cruzamento *Triticum durum/Triticum tauschii*, juntamente com: PF 990283, PFS 802, e PG 1. A severidade máxima na FB-1, na primeira avaliação foi de 43,5% no genótipo BRS Canela (considerando a média das avaliações), outros genótipos apresentaram alta severidade como BH 1146, BR 18, e Pampeano, com severidades acima de 40%. Enquanto que o genótipo PF 007414 apresentou severidade mínima (média de 1,2%) na mesma avaliação, juntamente com outros genótipos com baixa severidade: BR 32, Frontana, NE 20168-P, PFS 802, PG 1, e RL 5701 que mostraram severidade abaixo de 9% (TABELA 1).

Na segunda avaliação da severidade da doença na FB-1 realizada com quatro dias de diferença da primeira avaliação, com temperatura e molhamento propício para o desenvolvimento da doença, o genótipo com maior severidade média (82%) foi BH1146. Os genótipos BRS Camboatá, BRS Canela, IAS 54-SEL21, PF 844002, Safira apresentaram severidade superior a 67%. O genótipo com menor severidade média (2,5%) foi PF 844008, que juntamente com os genótipos NE 20168-P, PFS 802, e RL 5701, apresentaram severidade inferior a 10%.

Na folha bandeira, o genótipo que apresentou a severidade mais elevada foi CD 104 com 76,75% da área média das folhas afetada. Além desse, outros genótipos como, por exemplo, BRS

Canela, FCEP 52, e PF 007402, com severidades superiores a 58%, porém aproximadamente 25% a menos que a severidade média do genótipo CD 104. Nessa avaliação, o genótipo com menor severidade média foi PF 007410 com 0,64% de severidade média nas folhas avaliadas. Outros genótipos como, por exemplo, Frontana, NE 20168-P, PFS 802, PG 1, e RL 5701, também mostraram média de severidade baixa, inferior a 3,8%.

Então, no ensaio de campo o genótipo sintético PF 844008 mostrou alta resistência a *Drechslera tritici-repentis*, agrupando sempre com maior resistência no campo, até mesmo para a evolução da doença e AACPD, mostrando alta suscetibilidade em condições controladas em plântula. O genótipo BR 32 mostrou moderada resistência, assim como os genótipos com sua presença no cruzamento. E NE 20168-P, PFS 802, RL 5701, genótipos sintéticos, também mostraram moderada resistência no campo. Os genótipos BR 23 e Rubi mostraram alta suscetibilidade à doença, juntamente com BRS Camboatá, BRS Canela, Safira e BH 1146. Apesar de alguns autores afirmarem correlação entre os dados encontrados em avaliações de plântula e planta adulta, inclusive recomendado para otimização e diminuição de custos para teste de um grande número de genótipos, no presente trabalho não podemos afirmar que ocorreu relação entre os resultados de plântula e condições controladas, necessitando maiores estudos interagindo esta correlação e o rendimento dos genótipos atacados pela doença, devido a diferença encontrada nas avaliações da FB.

Conforme Tabela 3, considerando três avaliações na FB-1 em intervalos de quatro dias, medindo o percentual de área foliar afetada

(severidade), foi possível obter grupos com similaridade interna próxima a 80% ($R^2 = 0,8$). A partir da estrutura dos dados – medidas coletadas ao longo do tempo – foi possível utilizar a distância de Canberra para avaliar a evolução da severidade. Observou-se a divisão dos genótipos em quatro grupos quanto a evolução da doença, fazendo relação a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) das cultivares (Tabela 3).

TABELA 3 - Agrupamento dos genótipos para soma das notas de reação e média de severidade da mancha amarela do trigo em condições de campo pela análise hierárquica, agrupamento UPGMA e distância de Canberra entre os genótipos, a 80% de “ R^2 ”.

GENÓTIPOS ¹	AGRUP ²	SEV ³ (%) 18/10	SEV (%) 22/10	SEV (%) 25/10	AACPD ⁴
BR 23	4	28.75	52.00	53.63	319.94
BRS 179	4	21.00	31.75	60.59	244.01
BRS 194	4	20.50	19.75	84.12	236.30
BRS GUAMIRIM	4	17.00	24.50	36.39	174.33
BRS UMBU	4	25.00	30.00	29.21	198.82
CNT 10	4	22.11	36.00	38.16	227.45
FUNDACEP 30	4	16.85	30.25	34.50	191.33
HULHA NEGRA	4	27.63	39.25	36.25	247.01
ÔNIX	4	25.50	25.59	39.00	199.06
PF 007402	4	19.21	29.50	38.50	199.42
PF 007449	4	19.00	36.25	24.00	200.88
PF 007451	4	24.85	30.25	30.75	201.70
PF 007452	4	27.75	19.55	24.75	161.05
PF 007455	4	18.25	29.75	41.50	202.88
PF 007457	4	14.00	26.50	47.75	192.38
PF 970215	4	28.75	44.25	46.25	281.75
PF 973279-A	4	32.75	50.75	80.50	363.88
PF 980241	4	12.00	26.75	40.50	178.38
PF 980537	4	22.25	39.25	39.00	240.38
PF 980560	4	20.25	24.25	39.74	184.98
PF 990283	4	10.15	26.50	21.75	145.68

GENÓTIPOS¹	AGRUP²	SEV³ (%) 18/10	SEV (%) 22/10	SEV (%) 25/10	AACPD⁴
NE 20168-P	3	2.70	4.75	19.50	51.28
PFS 802	3	8.35	5.35	15.37	58.48
RL 5701	3	8.00	8.15	21.05	76.10
BR 32	2	8.50	13.80	56.67	150.30
PF 844008	1	0.95	1.33	3.95	12.49

¹GENÓTIPOS já classificados na Tabela 1.

²AGRUP refere-se ao agrupamento observado dos genótipos através de “Cluster Analysis” para proporção média de severidade por genótipo para cada data.

³SEV refere-se a severidade média de 20 folhas por genótipo, em porcentagem, observada para cada data de avaliação.

⁴AACPD refere-se a área abaixo da curva do progresso da doença, calculada a partir dos dados de severidade médios de 20 folhas por genótipo avaliadas nas três referentes datas.

Considerando a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), o genótipo PF 844008 mostrou a menor evolução da doença no campo com AACPD de 12,46. E devido a diferença dos genótipos, este constitui sozinho o grupo de maior resistência pela análise de agrupamento, diferindo dos demais. Num segundo grupo o genótipo BR 32 (150,30) que apresenta resistência moderada, em campo, formou grupo isolado, entretanto, outros genótipos como PF 990283, NE 20168-P, PFS 802 e RL 5701 apresentaram AACPD inferior à BR 32 e formaram grupo distinto. Os outros 21 genótipos testados mostraram suscetibilidade, entre eles BR 23 de reação conhecida ao patógeno com a maior AACPD (319,94).

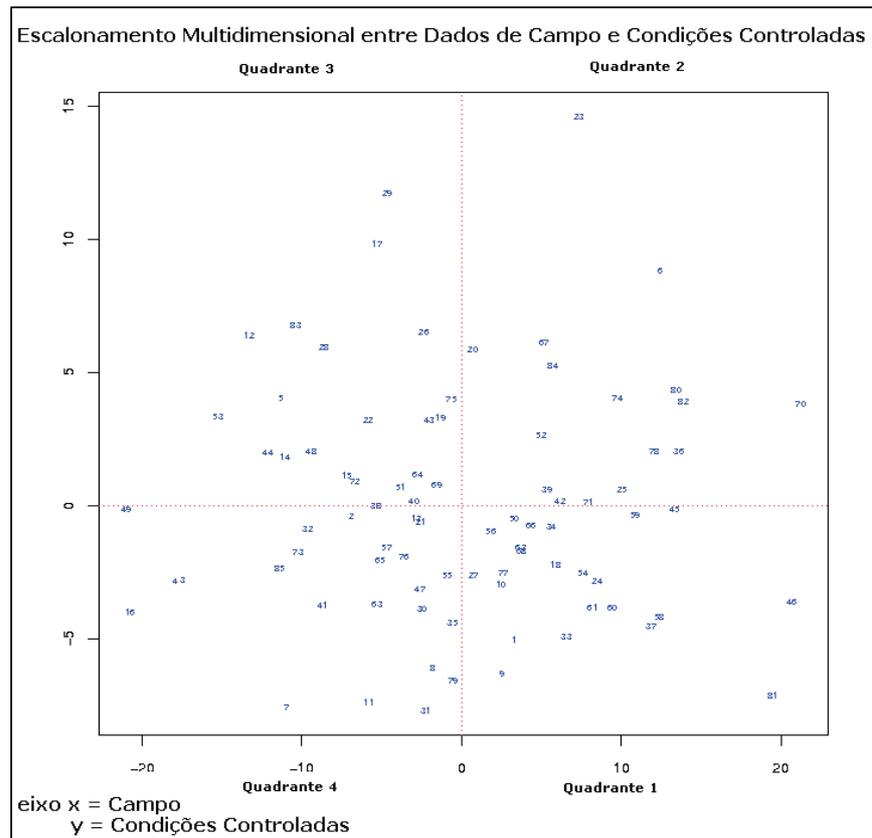
Para relacionar os dados de campo (planta adulta) com os dados de genótipos testados em condições controladas (plântula) foi efetuada análise de Escalonamento Multidimensional (EDM), apresentada na Tabela 4 e no Gráfico 7 de distribuição dos genótipos, conforme matriz de correlação calculada pela distância Euclidiana. Existem genótipos que apresentam uma boa relação entre os dados observados no campo e em condições controladas, mesmo em estádios diferentes da planta, como foi o caso dos genótipos PG 1 e NE 20168-P, que juntamente com mais 21 genótipos estão localizados no primeiro quadrante da distribuição com relativamente baixa severidade da doença. BR 23 e Rubi localizados no terceiro quadrante aparecem junto com mais 20 genótipos que apresentaram alta severidade em ambas as situações. O segundo e quarto quadrante incluem os genótipos com dissimilaridade entre os dados de campo e condições controladas, apresentando sensibilidade em uma condição e grau de resistência em outra (TABELA 4). No segundo quadrante, PF

844008, mostrou sensibilidade em plântula sob condições controladas e resistência no ambiente de campo, e vice versa para os genótipos no quadrante quatro. Dos genótipos avaliados 53,57% possuem similaridade entre os dados de campo e condições controladas.

TABELA 4 – Divisão dos genótipos por quadrante de dispersão, conforme relação entre a severidade dos dados observados no Campo (planta adulta) e em Condições Controladas (plântula) observados no Gráfico 7, pela Análise de Escalonamento multidimensional.

GENÓTIPOS QUADRANTE 1		GENÓTIPOS QUADRANTE 2		GENÓTIPOS QUADRANTE 3		GENÓTIPOS QUADRANTE 4	
1	ABALONE	6	BR 32	5	BR 23	2	ANAHUAC 75
9	BRS 179	20	BRS TIMBAUVA	12	BRS 220	3	BH 1146
10	BRS 194	23	CEP 11	14	BRS CAMBOATA	4	BR 18
18	BRS GUAMIRIM	25	CEP 24	15	BRS CAMBOIM	7	BR 35
24	CEP 14	36	FRONTANA	17	BRS GUABIJU	8	BRS 177
27	CNT 10	39	IAC 5	19	BRS LOURO	11	BRS 208
33	FCEP 30	42	IPR 84	22	CD 104	13	BRS 49
34	FCEP 52	52	PF 007404	26	CEP 27	16	BRS CANELA
37	FRONTEIRA	67	PF 031190	28	CNT 7	21	BRS UMBU
45	NE 20156B	70	PF 844008	29	CNT 8	30	COTIPORÃ
46	NE 20168P	71	PF 964009	38	HULHANEGRA	31	EMBRAPA 16
50	PF 007402	74	PF 980241	40	IAS 20	32	EMBRAPA 27
54	PF 007410	78	PF 990283	43	LONDRINA	35	FCEP NOVA ERA
56	PF 007415	80	PFS 802	44	MENTANA	41	IAS 54SEL21
58	PF 007436	82	RL 5701	48	OR 1	47	ÔNIX
59	PF 007437	84	SAFIRA	51	PF 007403	49	PAMPEANO
60	PF 007438			53	PF 007405	55	PF 007414
61	PF 007439			64	PF 007451	57	PF 007419
62	PF 007449			69	PF 844002	63	PF 007450
66	PF 007455			72	PF 970215	65	PF 007452
68	PF 804002			75	PF 980537	73	PF 973279 ^a
77	PF 980560			83	RUBI	76	PF 980557
81	PG 1					79	PF 990606

GRÁFICO 7 – Divisão dos genótipos por quadrante de dispersão, conforme relação entre a severidade dos dados observados no Campo (planta adulta) e em Condições Controladas (plântula) pela Análise de Escalonamento multidimensional.



4. DISCUSSÕES

Os dados apresentados neste trabalho corroboram com os estudos de Luz (1995 e 1997), pois os genótipos suscetíveis são predominantes, devido à base do germoplasma de 1995 até os dias atuais ser a mesma, com apenas reciclo de alguns genótipos chaves que deram origem a cultivares novas.

Foi possível detectar mudança no caráter de resistência/suscetibilidade de alguns genótipos, na condução de experimentos em condições controladas (plântula) e condições de campo (planta adulta). Isso pode ocorrer devido a diferenças de expressão dos genes em plântula ou em planta adulta, Embora Riede et al. (1996) e Luz (1995) tenham relatado correlação de resultados de plântula e planta adulta, enquanto que Evans et al. (1999) chegaram a recomendar utilização de testes em plântulas para diminuição de tempo e custo na avaliação de elevado número de genótipos. Porém, neste trabalho não foi observado relação estreita da reação plântula e planta adulta. Embora os genótipos do quadrante 1 e 3 tenham respostas similares de reação ao patógeno em ambas as condições, os genótipos nos quadrantes 2 e 4 mostraram respostas adversas entre as duas condições pela análise de Escalonamento Multidimensional (Tabela 4, Gráfico 7).

Para estudar a relação de dados obtidos no campo (planta adulta) com dados gerados com genótipos testados em condições controladas (plântula) foi utilizado o escalonamento multidimensional, que segundo Telles et al. (2003), descreve medidas de semelhança da percepção da amostra estudada, e trata-se de uma exploração visual

dos pontos, contrariando o tradicional arranjo numérico. Esta técnica posiciona dados x y de forma que a distância entre eles no espaço dimensional seja menor que a distância entre quaisquer outros pares de objetos, e o mapa perceptivo resultante mostra a posição relativa de todos os objetos. O objetivo geral é o de determinar dimensões subjacentes significativas que permitam ao pesquisador explicar similaridades ou dissimilaridades observadas entre objetos investigados (ALMEIDA, 2008).

Diferenças de reação das cultivares ao patógeno relativos a outros estudos foram encontrados (RIEDE et al., 1996; e LUZ, 1995 e 1997) que pode ser atribuído a diferenças de virulência no patógeno, devido a existência de variabilidade entre patótipos de *Drechslera tritici-repentis*. Assim, é impossível saber qual raça foi utilizada e se é equivalente a raça dos estudos anteriores, e se a reação das cultivares é a mesma, considerando que nem sempre é realizada com clareza a distinção os dois tipos de sintomas (clorose e necrose) devido a presença das toxinas, e dependendo da raça uma ou mais toxinas são produzidas (CIUFFETTI & TUORI, 1999).

Ensaio em Condições Controladas (plântula)

Sob condições controladas, o grupo 1 com o melhor nível de resistência observado, agrupou o genótipo PG1 tanto quando foi usado a escala de notas quanto para a variável severidade no experimento com a densidade de inóculo de 3000 conídios/mL. O genótipo PG 1 foi lançado em 1924 com alta resistência à acidez nociva do solo. Esse genótipo foi originado de uma seleção de POLYSSU que havia sido selecionada por Jorge Polyssu, em 1922, a partir de sementes

provenientes de Guaporé, RS, “provavelmente” de um trigo Turco. Essa cultivar foi um marco para resistência a ferrugem *Puccinia triticina*, e para resistência a toxicidade ao alumínio, onde o número de genes deste genótipo no germoplasma brasileiro é expressivo. Relatos sobre a reação deste genótipo à mancha amarela datam de 1996 - 1997 (publicação online EMBRAPA Trigo) e mostram que em condições de campo apresenta moderada resistência. Esse resultado confere com dados obtidos por Riede et al. (1996), na Universidade de North Dakota, EUA utilizando o isolado 86-124 em condições controladas em plântula, observando uma severidade de 5% e reação “2” pela escala de Lamari & Bernier (1989).

Também deve ser destacado o desempenho dos genótipos de trigo sintético NE 20168-C e NE 20168-P, derivados de *T. tauschii* (genoma D), que demonstraram menor suscetibilidade ao patógeno no grupo 1 tanto para a soma da nota pela escala usada quanto para porcentagem de área foliar infectada no experimento em condições controladas com 3000 conídios/mL. Entretanto, o sintético NE 20156-B demonstrou menor suscetibilidade com maior concentração de inóculo, (7500 conídios/mL). Porém, em menor concentração de esporos, esse genótipo mostrou moderada suscetibilidade e enquadrou-se no grupo 2 para severidade e no grupo 3 pela escala de notas. Para alguns genótipos, mesmo mostrando lesão com notas elevadas, pela escala usada, a severidade pode ser menor em função do tamanho da lesão, não estando necessariamente relacionada com a área foliar afetada. Entretanto, para a severidade a variação entre os grupos 1 e 2, deve ser levada em consideração a maior quantidade de doença produzida no experimento com 7500 conídios/mL. Neste caso,

os genótipos podem agrupar de forma menos severa quanto à quantidade de doença pelo patamar geral dos genótipos avaliados.

O genótipo EMBRAPA 16, teve um comportamento moderado para a área foliar afetada em severidade em ambos os experimentos, permanecendo entre os grupos 2 e 3, respectivamente. Segundo Luz (1995), esta cultivar é classificada como suscetível em condições controladas, atingindo severidade de 65%. Este resultado pode ser explicado pela diferença de isolados utilizados na inoculação, ao qual esta cultivar apresentou resistência moderada. Este genótipo ainda recebeu notas menores para o tamanho da lesão baseado na escala, permanecendo no grupo 1, com menor soma de notas entre 0-5.

A cultivar BRS Umbu, resistente pelas Indicações Técnicas da Cultura do Trigo (2007), foi inserida no experimento como testemunha resistente. Em plântula, sob condições controladas, apresentou resistência moderada para as duas concentrações de inóculo pela escala de notas em tamanho de lesão classificada no grupo 3, 3 e 2 respectivamente para nota de escala FB-1, severidade FB-1 e FB para o isolado testado, chegando a severidade de 30% em 7500 conídios/mL.

Na busca de informações sobre a cultivar BR 23, foi possível identificar que esta se originou do cruzamento CORRE CAMINOS / ALONDRA SIB /3/ IAS 54-20 / COTIPORÃ // CNT8. Este cruzamento foi realizado em Passo Fundo, RS, em 1976, pela EMBRAPA Trigo, sua indicação para cultivo iniciou no Rio Grande do Sul em 1987, e ainda permaneceu indicada para cultivo em 2004 para os estados do RS, SC como cultivar tolerada, e no PR até 2005.

Esteve indicada para o MS de 1993 a 1997; foi também indicada para cultivo em Zâmbia, na África.

BR 23, genótipo considerado como testemunha de suscetibilidade, confirmou essa reação, com exceção da severidade encontrada no experimento com 7500 conídios/mL, em que agrupou como moderadamente suscetível no grupo 3, com severidade de 47,25%, enquanto que a severidade máxima encontrada neste experimento foi de 73% no genótipo BRS Louro. Para o experimento utilizando 3000 conídios/mL os genótipos BRS Guabiju, CEP 11, e Rubi, mostraram severidades mais altas que BR 23. A suscetibilidade de BR 23, provavelmente, venha do genótipo Alondra, considerado suscetível a alguns isolados (RIEDE, et al., 1996)

O genótipo Rubi “ORL 9285=EMBRAPA 27/KLEIN H 3450 C 3131” comportou-se como suscetível assim como outros genótipos contendo EMBRAPA 27 no cruzamento.

BH 1146, considerado resistente a moderadamente resistente na literatura para vários isolados, (Hosford, 1982; Schilder & Bergstrom, 1990; Riede et al., 1996; Luz, 95/1997) no presente trabalho, em condições controladas, com 7500 conídios mostrou-se moderadamente suscetível a suscetível, com severidade média de 56,63% . Segundo trabalho realizado por Bertan et al. (2007), utilizando 19 genótipos, BH 1146, BR 35 e BRS 49 foram os que representaram maior grau de parentesco, ao passo que o restante dos genótipos formaram agrupamentos com elevada distância genealógica, revelando reduzidas relações de genealogia entre seus genitores. Resultados semelhantes foram obtidos por BERED et al. (2001) avaliando 40 cultivares e 10 linhagens de trigos brasileiros, sendo que

alguns genótipos coincidem aos avaliados (BH 1146, BR 18, BR 23, BR 35, CEP 24 e Sonora 64). No presente trabalho, para a caracterização da resistência à mancha amarela suas reações foram muito parecidas, em condições controladas, agrupando entre moderadamente suscetível para 3000 conídios/mL e suscetível para 7500 conídios/mL; com exceção do genótipo BR 35 que mostrou moderada resistência ao ser avaliada nos experimentos de inoculação com 3000 conídios/mL e CEP 24 com moderada resistência em 3000 conídios/mL.

Anahuac 75, considerada suscetível, no presente trabalho mostrou-se moderadamente suscetível em ambas as inoculações em condições controladas, mas foi suscetível para a avaliação de lesão.

Ensaio em Condições de campo (planta adulta)

Destaque deve ser feito aos genótipos sintéticos NE 20168-P, PF 844008, PFS 802, e RL 5701, derivados de *T. tauschii*, que mostraram resistência em campo em planta adulta. PFS 802 e RL 5701 agruparam por suscetibilidade moderada para o tamanho de mancha e evolução da doença baseado da distância de Canberra e relacionando à AACPD.

PF 844008 mostrou resistência ao patógeno de forma a permanecer sempre no grupo de maior resistência, inclusive para a evolução da doença no campo e AACPD. Em estudo realizado por Riede et al. (1996), este genótipo demonstrou resistência tanto no estágio de plântula em condições controladas quanto em estágio de planta adulta no campo. Porém, neste estudo, contrariando os

resultados obtidos em condições controladas em todas as inoculações, mostrou maior suscetibilidade em plântula.

O genótipo BR 23, apesar de ter atingido a severidade média de 52% na segunda avaliação da FB, quinze dias após a última inoculação, mostrou comportamento moderado para severidade á campo na FB e FB-1, mas foi suscetível para avaliação da lesão e evolução da doença, atingindo AACPD de 319,94.

BR 32 variou entre resistência e moderada resistência para as diferentes folhas avaliadas nas diferentes datas, mas comportou-se como moderadamente suscetível na avaliação do tipo de lesão. Para a evolução da doença, apesar de ter apresentado AACPD de 150,3, superior que a AACPD de genótipos agrupados como suscetíveis, o agrupamento levou em consideração a evolução da doença no campo em que este genótipo apresentou resistência nas duas primeiras avaliações, evidenciando menor evolução da doença, considerada pela distância de Canberra a 80% de R^2 . Esta resistência moderada observada neste genótipo pode ser derivada do parental IAS 59, descrita como fonte de resistência na literatura (Osório, 1982). Assim, os genótipos descendentes de BR 32, que foram BRS Timbaúva e FUNDACEP 30, avaliados neste ensaio apresentaram resistência moderada ao patógeno.

O genótipo Rubi apresentou moderada suscetibilidade na avaliação de severidade, e suscetibilidade para tipo de lesão no campo, sendo que a avaliação realizada na folha bandeira foi de resistência comparada as demais cultivares em distância euclidiana a 80% de R^2 . Este resultado é relevante a questão de rendimento, não avaliado no presente trabalho. Observou-se que 82 genótipos tiveram severidade

abaixo de 15% na avaliação da FB quinze dias após a inoculação, dentre eles os genótipo que demonstraram resistência e resistência moderada na FB-1 e para tipo de lesão, e 18 que mostram moderada suscetibilidade e suscetibilidade como: BRS 49, BRS Louro, BRS Timbaúva, CEP 17, CNT 10, EMBRAPA 27, FCEP Nova Era, Hulha Negra, IAS 20, IAS 54-SEL21, PF 007449, PF 964009, PF 970215, PF 973279-A, PF 980203, PF 980537, PF 980557, e Rubi. CD 104 ficou isolada e não agrupou com outras cultivares quanto a suscetibilidade na FB, atingindo 76,75% de severidade na data de avaliação. Segundo Osório (1982) e Riede et al. (1996), existe pouca relação entre a infecção nas folhas e a redução no número e peso de grãos de variedades de trigo atacadas por *Drechslera tritici-repentis*, havendo a necessidade de maiores estudos ligados a esta questão. Porém, deve ser levado em consideração que esses estudos foram realizados a vários anos atrás quando a pressão de inóculo era menor e que com a disseminação do plantio direto na palha, a mancha amarela teve sua importância aumentada devido sua sobrevivência em restos culturais. Década de 90, 1 milhão de hectares eram sob o sistema de plantio direto no Brasil, e partir daí os restos culturais que permanecem na lavoura contribuem com a permanência de algumas doenças quando não se faz uso da rotação de culturas (KOCHHANN & DENARDIN, 1992; FERNANDES, 1999)

O genótipo BH 1146 mostrou suscetibilidade nas avaliações de severidade e de lesão na FB-1, e moderada resistência na folha bandeira. Entretanto, segundo a literatura, em condições controladas, o resultado esperado para este genótipo era de resistência. Hosford (1982), em estudo com 12 patótipos em North Dakota (EUA),

observou suscetibilidade de BH 1146 a apenas um entre osdoze patótipos estudados, mostrando elevada resistência ao patógeno. No entanto, no presente trabalho este resultado não foi confirmado, talvez por diferença devido ao patótipo, ou mesmo pela diferença em evolução da relação patógeno/hospedeiro desde o ano de 1982, considerado por Luz (1995) que observou resistência moderada desse genótipo ao patótipo testado na época. Schilder & Bergstrom (1990), testaram 17 patótipos em New York (EUA), que foram comparados pela “Cluster Análisis” pelo método Centróide, e agruparam BH 1146 juntamente a Houser, Frankenmuth e BR 8, como moderadamente resistente aos patótipos, baseados na média de dois experimentos.

Outros genótipos agruparam com suscetibilidade elevada entre eles BRS Camboatá, BRS Canela, IAS 54-SEL21, Safira e. PF 844002, sintético derivado de “*Triticum durum* BOLÍVIA (118572)/*Triticum tauschii* RL 5271, NE 29341(118523)”.

Esses resultados sugerem a necessidade de estudos sobre localização e número de genes de resistência à mancha amarela do trigo, oriundos de espécies afins, e a nível hexaplóide (*Triticum aestivum*).

5. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos neste trabalho, é possível concluir que:

1. Existem poucas fontes de resistência à mancha amarela do trigo.
2. O genótipo PG1 apresenta resistência tanto em condições controladas quanto no campo, e pode ser usada em programas de melhoramento para resistência à mancha amarela.
3. Os genótipos de trigo sintético NE 20168-C e NE 20168-P, derivados de *T. tauschii* (genoma D), apresentam potencial de resistência em condições controladas.
4. O genótipo de trigo sintético PF 844008 apresenta resistência de campo a *D. tritici-repentis*. Os genótipos BR 32, NE 20168-P, PFS 802 e RL 5701 apresentam resistência moderada no campo.
5. Não há relação direta da reação de plântula com a reação de planta adulta para a mancha amarela do trigo para todas os genótipos testados.
6. Densidades de inóculo mais baixas são adequadas para avaliação da reação de genótipos quando considerado o tipo de lesão, entretanto, as densidades de inóculo mais elevadas são mais apropriadas para determinar a severidade da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOMPANHAMENTO DA SAFRA 2007, RS. Disponível no site: <http://www.cnpt.embrapa.br/>. Acesso em: 22 de Janeiro de 2008.

AGRIOS, G.N. Plant Pathology, 3rd. ed. Academic Press, Inc.: New York. 803pp, 1988.

ALMEIDA, T. L. de. Escalonamento Multidimensional. Disponível em: <http://www.dmat.furg.br/~taba/posescmult.htm>. Acesso em: 06 de março de 2008.

ANDERSON, J.A., EFFETZ, R.J., FARIS, J.D., MEINHARDT, S.W., and GRILL, B.S. Genetic análisis of sensivity to a Pyrenophora tritici-repentis necrosis-inducing toxin in durum and common wheat. Phytopathology n. 89, p. 293-297, 1999.

ANGRA, D. C., MARTINELLI, P., PRESTES, A. M., MORAES-FERNANDES, M. I. B. Produção de trigos sintéticos a partir do cruzamento entre Triticum durum e Aegilops squarrosa. In: II Encontro de Biotecnologia Vegetal. Anais de Congresso - B.84. 1997.

ANGRA, D. C.; BARBOSA, M. M.; PRESTES, A. M.; FERNADES, M. I. B. De M. Cultivo de Embriões em Retrocruzamentos entre Triticum aestivum Thell e Agropyron elongatum Host. & Beauv. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v. 34, n.2, p. 209-215, fev. 1999.

BALARDIN, R. S. Eficiência de Metconazole, Stratego, PE 11200, Artea, Foliur 200 CE, Propiconazole + Tebuconazole 250 CE, Horizon, JAU 6476 250 CE no controle de mancha na folha na cultivar BR 16 de trigo (Triticum aestivum). XXXIII REUNIAO DA COMISSAO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DO TRIGO. Atas e Resumos. Passo Fundo, 2001. pág,118.

BARBA, J. T.; REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Efeito do Substrato na Morfologia de Conídios de Bipolaris sorokiniana e da Densidade de Inóculo na Intensidade da Mancha Marrom em Cevada. Fitopatologia Brasileira, v. 29, n. 1, p. 5-10, 2004.

BARBOSA, M.M.; PRESTES, A.M.; ANGRA, D. C. Agropyron como fonte de resistência à mancha bronzeada do trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 18, n. 2, p. 335, 1993.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J.F.; ROCHA, B.M.; CARVALHO, F.I.F. Genetic Variability in Common Wheat Based on Morphological Traits, Coefficients of Parentage and RAPDs. *Journal of New Seeds*, Binghamton, v. 3, n. 2, p. 73-87, 2001.

BERGAMIN FILHO, A. & AMORIM, L. Doenças de Plantas Tropicais: Epidemiologia e Controle Econômico. São Paulo. Ceres. 1996.

BERTAN, I.; VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F.I.F. OLIVEIRA, A. C. de; SCHEEREN, P. L.; OLIVO, F. Variabilidade Genética em Trigo Aferida por Meio da Distância Genealógica e Morfológica. *Scientia Agraria*, v.8, n.1, p.67-74, 2007.

BRAMMER, S. P. A citogenética na caracterização genômica do trigo. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2003. 6 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online; 31). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do31.htm.

BRAMMER, S. P.; BARCELLOS, A. L.; MORAES-FERNANDES, M. I. B. de; MILACH, S. K. Bases genéticas da resistência durável à ferrugem da folha do trigo e estratégias biotecnológicas para o melhoramento no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, v. 25, p. 5-20, 2000.

BRAMMER, S. P.; MARTINELLI, P.; MORAES-FERNANDES, M.I.B. de; PRESTES, A. M.; ANGRA, D. C. A potencialidade de Agropyron, espécie afim ao trigo cultivado, como fonte de introgressão de genes agronomicamente importantes. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. 8 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online;8). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do08.htm.

CARMONA, M.; REIS, E. M.; CORTESE, P. Manchas Foliares Del Trigo - Mancha Amarilla, Septoriosis De La Hoja - Diagnóstico, Epidemiologia Y Nuevos Critérios Para El Manejo. Basf Argentina S. A. Buenos Aires: 1999, 32 p.

CARVALHO, L.P., CARVALHO, J.M.F.C., LIMA, E.F. & CAVALCANTE, F.B. Influência da concentração de esporos da patogenicidade de *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* A.S. Costa e avaliação da resistência de cultivares e linhagens de algodoeiro herbáceo à ramulose. *Fitopatologia Brasileira* 6:395-402. 1981.

CIUFFETTI, L. M. & TUORI, R. P. Advances in the characterization of the *Pyrenophora tritici-repentis*-wheat interaction. *Phytopathology*, n.89:v9. 1999.

COMISSÃO SUL-BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO. Recomendações da Comissão Sul-Brasileira de Pesquisa de Trigo. Passo Fundo. 2007.

COX, T.S.; RAUPP, W.J.; WILSON, D.L.; GILL, B.S.; LEATH, W.W.; BROWDER, L.E. Resistance to foliar disease in a collection of *Triticum tauschii* germoplasm. *Plant Disease*, v. 76, p.1061-1064, 1992.

COX, T.S., HOSFORD Jr. R.M., Resistente winter wheats compared at differing growth stages and leaf position for tan spot severity. *Plant Dis.* 71:883-886, 1987.

DALLAGNOL, L. J.; BALARDIN, R. S.; NAVARINI, L.; KIRINUS, E. M. Influência das Doenças Foliares no Rendimento de Grãos na Cultura do Trigo. *Revista da FZVA. Uruguaiana*, v.13, n.2, p. 20-27. 2006.

DE WOLF, E. D.; EFFERTZ, R. J.; ALI, S.; FRANCL L. J. Vistas of tan spot research. *Can, J. Plant Pathol*, n.20, p.349-370, 1998.

DUVEILLER, E.; KANDEL, Y.R.; SHARMA, R.C.; and SHRESTHA, S.M. Epidemiology of foliar blights (spot blotch and tan spot) of wheat in the plains bordering the Himalayas. *Phytopathology* 95:248–256. 2005.

DUVEILLER, E.; SHARMA, R. C.; CUKADAR, B.; GINKEL, M. van. Genetic analysis of Field resistance to tan spot in spring wheat. *Field Crop Research* 101, p.62-67, 2007.

EFFERTZ, R. J.; MEINHARDT, S. W.; ANDERSON, J. A.; JORDAHL, J. G.; FRANCL, L. J.. Identification of a Chlorosis-Inducing Toxin from *Pyrenophora tritici-repentis* and the Chromosomal Location of an Insensitivity Locus in Wheat. *PHYTOPATHOLOGY* . Vol. 92, No. 5, p. 527-533, 2002 .

ELIAS, E., CANTRELL, R.G., AND HOSFORD Jr. R.M.. Herdability of resistance to tan spot in durum wheat and its association whith other agronomic traits. *Crop Sci.* 29:299-304, 1989.

ELIAS, E.; CANTRELL, R. G.; e HOSFORD, R. M. Jr.. Herdability of Resistance to Tan Spot in Durum Wheat and Its Association whith Other Agronomic Traits. *Crop Sci.* 29:299-304, 1989.

ELLIOTT, E.S. The effect of the sugar concentration on conidial size of some species de *Helminthosporium*. *Phytopathology* 39:953-958. 1949.

ELLIS, M. B. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1971, 608 p.

EVANS, C. K.; HUNGER, R. M.; e SIEGERIST, W. C.. Comparison of Greenhouse and Field Testing to Identify Wheat Resistant to Tan Spot. *Plant Disease*, V. 83, n. 3, p. 269-273, 1999.

FAO, 2008. Disponível em: <<http://www.fao.org.br>>. Acesso em: 25 jan. 2008.

FARIS, J. D.; ANDERSON, J. A.; FRANCL, L. J., JORDAHL, J. G.. Chromosomal Location of a Gene Conditioning Insensitivity in Wheat to a Necrosis-Inducing Culture Filtrate from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology*. Vol. 86, nº5, 1996.

FARIS, J.D., and FRIESEN, T.L.. Identification of quantitative trait loci for race-nonspecific resistance to tan spot in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 111:386–392. 2005.

FARIS, J.D.; ANDERSON, J.A.; FRANCL, L. J.; JORDAHL, J.G.. RFLP mapping of resistance to cidorosis induction by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Theor. Appl. Genet*, n.94:98- 103, 1997.

FEDERIZZI, L. C., SCHEEREN, P. L., BARBOSA NETO, J. F., MILACH, S. C. K., PACHECO, M. T. Melhoramento do trigo. In: BORÉM, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Ed. UFV, p. 535-569, 1999.

FERNANDES, J. M. C. O Sistema Plantio Direto e a ocorrência de Doenças nos Cereais de Inverno. P. 44-58. In: Anais: XVIII REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO. Passo Fundo, 1999. 2v.

FERNANDES, C.D., DEL PELOSO, M.C., MAFFIA, L.A., DO VALLE, F.X.R. & ZAMBOLIM, L. Influência da concentração de inóculo de *Cercospora coffeicola* e do período de molhamento foliar na intensidade da cercosporiose do cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 16:39-43. 1991.

FORCELINI, C. A. Doenças Fúngicas do Trigo: resgatando os princípios do controle. In: Tecnologia de Produção Para a Cultura do Trigo - Atualidades Técnicas 1. Passo Fundo: Aldeia Norte, 2005, p. 55-60.

FRANCL, L. 1998. Components of the tan spot disease cycle. P. 28-36. In: *Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot*. E. Duveiller, H. J. Dubin, J. Reeves, and A. McNab, eds. CIMMYT (Inter-national Maize and Wheat Improvement Center), Mexico, D.F., Mexico.

FRIESEN, T.L., e FARIS, J. D. Molecular mapping of resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* race 5 and sensitivity to Ptr ToxB in wheat. *Theor. Appl. Genet*. 109:464-471, 2004.

GAMBA, F.M., and LAMARI, L. Medelian inheritance of resistance to tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) in selected genotypes of durum wheat (*Triticum turgidum*). *Can. J. Plant Pathol*. 20:408-414, 1998.

GAMBA, F.M., LAMARI, L. and BRULE-BABEL, A.O. Inheritance of race-specific necrotic and chlorotic reactions induced by *Pyrenophora tritici-repentis* in hexaploid wheats. *Can. J. Plant Pathol.* 20:401-407, 1998.

GILCHRIST, S.L.; FUENTES, F.S.; M. DE L. DE LA ISLA DE BAUER. Determinacion de funentes de resistencia contra *Helminthosporium tritici-repentis* bajo condiciones de campo e invernadero. *Agrociencia* 56:95-105, 1984.

GILL, B.S.; RAUPP, W.J. Direct genetic transfers from *Aegilops squarrosa* l. to hexaploid wheat. *Crop Science*, v. 27, p. 445-450, 1987.

HOSFORD, R. M.; JR., JORDAHL, J. G., HAMMOND, J. J. Effect of wheat genotype, leaf position, growth stage, fungal isolate and wet period on tan spot lesions. *Plant disease* 74: 385-390, 1990.

HOSFORD, R.M. Jr. Tan spot of Wheat and Related Diseases Workshop. North Dakota Abc. Exp. Station. Fargo. USA. 1982.

KRAN, T. N. Effect of light on sporulation in *Drechslera tritici-repentis*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 56 (2), 1971.

KOCHHANN, R. A.; DENARDIN, J. E. Sistema de Plantio Direto no Brasil. P. 277- 315. In: 1º CONGRESO INTERAMERICANO DE SIEMBRA DIRECTA, 2º Jornadas Binacionales de Cero Labranza. Villa Giardino, Córdoba, Argentina, 1992. p. 354.

LAMARI, L., and BERNIER, C.C. Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) based on lesion type. *Can. J. Plant Pathol.* 11:49-56, 1989.

LAMARI, L., STRELKOV, A., YAHYAOU, J. O. e SMITH, R. B. The Identification of New Races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the Host Center of Diversity Confirms a One-to-One Relationship in Tan Spot of Wheat. *Genetic and Resistance*. Vol. 93, nº 4, 2003.

LAMARI, L.; e BERNIER, C.C. Genetics of tan necrosis and extensive chlorosis in tan spot of wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 81:1092–1095.1991;

LAREZ, C.R., HOSFORD Jr., R.M. and FREEMAN, T.P. Infection of wheat and oat by *Pyrenophora tritici-repentis* and initial characterization of resistance. *Phytopathology*. 76:931-938, 1986.

LEE, T. S.; GOUGH, F. J. Inheritance of *Septoria* Leaf Blotch (*S. tritici*) and *Pyrenophora* Tan Spot (*P. tritici-repentis*) Resistance in *Triticum aestivum* cv. Carifan 12. *Plant Disease*/ Vol. 68 nº10, 1984.

LINHARES, A.I., MATSUMURA, A.T.S., e LUZ, V.C. Avaliação da amplitude de ação antagonística de microrganismos epífitas do trigo sobre o crescimento radial de *Drechslera tritici-repentis*. *Ver. Bras. De Agrociência*, v. 1, n. 3, p. 119-126, 1995.

LOUGHMAN, R.; WILSON, R. E.; ROAKE, J. E.; PLATZ, G. J.; REES, R. G.; ELLISON, F. W. Crop Management and Breeding for Control of *Pyrenophora tritici-repentis* Causing Yellow Spot of Wheat in Australia. In: E. Duveiller, H.J. Dubin, J. Reeves & A. McNab (Eds.), *Helminthosporium* Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot, pp. 259–263. CIMMYT, Mexico, D.F. 1998.

LUZ, W. C. Avaliação da resistência de cultivares de trigo à mancha bronzeada. *Fitopatologia Brasileira*, v. 20, n. 3, p. 444-448, 1995.

LUZ, W. C. da. Mancha bronzeada. In: Osório, E. A. *Trigo no Brasil*. Campinas, Fundação Cargil, p. 531-533. 1982.

LUZ, W. C. da; BERGSTROM, G. C. Temperature-Sensitive Development of Spot Blotch in Spring Wheat Cultivars Differing in Resistance. *Fitopatologia Brasileira*, p. 197-204, v. 11, 1986.

LUZ, W. C. Avaliação da Resistência de Cultivares de Trigo à Mancha-Bronzeada. *Fitopatologia Brasileira*. 20 (3), setembro, 1995.

LUZ, W. C.; HOSFORD, R. M. Jr. Twelve *Pyrenophora trichostoma* Races for Virulence to Wheat in the Central Plains of North América. *Phytopathology*. Vol. 70, nº12, 1980.

LUZ, W.C. da. Resistência à Mancha Bronzeada em germoplasma de trigo no Brasil. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. 4p.html. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 37). Disponível: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co37.htm

LUZ, W.C. DA & R.M. HOSFORD JR. Twelve *Pyrenophora tricostroma* races for virulence to wheat in the central plains of North America. *Phytopathology*, n.70, p.1193-1196, 1980.

MEHTA, Y. R. Manejo integrado de enfermidades del trigo. Bolívia: Ed. Imprensa Landivar S. R. L. 314 p. 1993.

MORAES-FERNANDES, M.I.B.; ZANATTA, A.C.A.; PRESTES, A.M.; CAETANO, V.R.; BARCELLOS, A.L.; ANGRA, D.C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature culture embryo at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat *Triticum aestivum* L. em Thell). *Genetics and Molecular Biology*, v. 23, n.4, p. 051-1062, 2000.

MORAES-FERNANDES, M.I.B. Domesticar o grão. *Ciência Hoje*, São Paulo, v.3, n.17, p. 36-45, mar-abr. 1985.

NOZAKI, M.H., CAMARGO, M. & BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em meios de cultura e diferentes condições de temperatura e luminosidade. *Fitopatologia Brasileira* 29:429-432. 2004.

OROLAZA, N. P., LAMARI, L., AND BALANCE, G. M. Evidence of a host specific chlorosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology* 85:1282-1287, 1995.

OSÓRIO, E. A.; PIEROBOM, C. R.; LUZZARDI, G. C. Genealogy of Brazilian wheats included in AUSEN. *Australian Septoria Newsletter*, n. 37, 1992. Appendix V.

OSÓRIO, E.A. Variedades e melhoramento. In: Fundação Cargill. *Trigo no Brasil*. Campinas, SP, 1982, v.1, cap.5, p.145-197.

PARLEVLIET, J.E. Present concepts in breeding for disease resistance. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.22, n.1, p.7-15, 1997.

PERELLO, A., MORENO, V.; SIMON, M.R.; e SISTERNA, M. Tan spot of wheat infection at different stages of crop development and inoculum type. *Crop Prot.* 22:157–169.2003.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Efeito do Tratamento de Sementes com Fungicidas sobre o Controle de Doenças na Parte Aérea do Trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 5, p.515-520, 2003.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Ensaio Preliminares e Cooperativos de Fungicidas - Resultados Obtidos no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo no Período 1988 - 1991. Passo fundo: Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, 1992, 28 p.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C.; IGNACZAK, J. C.; AMBROSI, I. Impacto Econômico do Uso do Fungicida Propiconazole na Cultura do Trigo. *Fitopatologia Brasileira*, v. 21, n. 3, p. 362-368, 1996.

PLATT, H. W.; MORRALL, R. A. A.; GRUEN, H. E. The effects of substrate, temperature, and photoperiod on conidiation of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can. J. Bot.* 55:256-259, 1977. ploid wheats. *Crop Sci.* 44:2238–2245, 2004.

PRESTES, A. M. Evaluación de la resistencia a la septoriose del trigo en el Brasil. In: *CONFERÊNCIA REGIONAL SOBRE LA SEPTORIOSIS DEL TRIGO*, 1987, Montevideo. México: CIMMYT, p.154-156, 1990.

PRESTES, A. M.; AITA, L. Reação de cultivares de trigo à mancha marrom, causada por *Cochliobolus sativus*. *Fitopatologia Brasileira*, v. 10, n. 2, p. 289, jun. 1985. ref. 151. Edição de Resumos do XVIII Congresso da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, Fortaleza, CE, jun. 1985.

PRESTES, A. M.; SANTOS, H. P. dos; REIS, E. M. Práticas culturais e incidência de manchas foliares em trigo. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília: v. 37, n. 6, p. 791-797, 2002.

PRESTES, A.M.; GOULART, L.R. Transferência de resistência a doenças de espécies silvestres para espécies cultivadas. In: LUZ, W.C. (Ed.). *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v.3, p. 315-353. 1995.

QUEIROZ, F. M.; BATISTA, U. G.; e BROMMNSCHENKE, S. H. Avaliação de Meios de Cultura no Crescimento Micelial e Esporulação de *Alternaria brasiliensis*. *Fitopatologia Brasileira* 29:541-543. 2004.

R Development Core Team (2008). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

RAYMOND, P. J.; BOCKUS, W. W.; NORMAN, B. L.. Tan Spot of Winter Wheat: Procedures to Determine Host Response. *Phytopathology*. Vol. 75, nº 6, 1985.

REES, R. G., e PLATZ, G. J. Tan spot and its control—Some Australian experiences. Pages 1-9 in: *Advances in Tan Spot Research*. Proc. Int. Tan Spot Workshop, 2nd. Francl, L. J.; Krupinsky, J. M.; e McMullen, M. P. eds. N.D. Agric. Exp. Stn., Fargo, 1992.

REES, R. G.; PLATZ, G. J. Effects of Yellow Spot on Wheat: Comparision of Epidemics at Different Stages of Crop Development. *Australian Journal of Agricultural Research*, n. 34, p. 39-46, 1983.

REES, R. G.; PLATZ, G. J. The ocurrence ans control of yellow spot of wheat in North-Eastern Australia. *Australian Journal Exp. Agricultural Anim. Husb.* n.19, p. 369-372, 1979.

REES, R.G., MAYER, R.J., PLATZ, G.J.. Yield losses in wheat from yellow spot: a disease-loss relationship derivated from single tillers. *Aust. J. Agric. Res.* 32, 851–859, 1981.

REIS, E. M.; CASA, R. T. Doenças do Trigo VI - Mancha Amarela da Folha. Passo Fundo: Bayer S. A., 1996, 16 p.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; FORCELINI, C. A. Doenças do Trigo. In: KIMATI, H. et al. Manual de Fitopatologia - Volume 2: Doenças das Plantas Cultivadas. 3 ed. São Paulo: Ceres, 1997. p. 725-735.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. Diagnose, Patometria e Controle de Doenças de Cereais de Inverno. Londrina: E. S. Comunicação S/C Ltda, 2001a, 94 p.

REIS, E. M.; SILVA, C. E. L.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. Decomposição dos Restos Culturais do Trigo e Sobrevivência Saprófitica de *Bipolaris sorokiniana*. Fitopatologia Brasileira, v. 23, n. 1, p. 62-64, 1998.

RIEDE, C. B., FRANCL, L. J., ANDERSON, J. A.; JORDAHL, J. G., MEINHARDT, S. W. Additional sources of resistance to tan spot of wheat. Crop Science 36 (3): 771-777, 1996.

RODRIGEZ, R. W.; e BOCKUS, W. W. Differences among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* in production of conidia on wheat leaves. Plant Dis. 80:478-483, 1996.

RUEDELL, J. Plantio direto na região de Cruz Alta. Cruz Alta: Fundacep Fecotrigo, 1995. 134 p.

RUPPEL, E.G. Factors affecting conidial dimensions of a *Drechslera* species. Mycologia 66:803-807. 1974.

SAAVEDRA, L. I. G. *Helminthosporium tritici-repentis* (= *Pyrenophora trichostoma*), como Agente Causal Del Rizon Del Trigo, Prevalente em el Estado de Michoacan, México. 1982. Dissertação (Tesis de Mestria em Ciências). Colégio de Postgraduados, Instituto de Enseñanza e Investigación em Ciencias Agrícolas, Centro de Fitopatologia. Chapingo, México, 1982.

SANTANA, F. M.; & FRIESEN, T. L. Mancha Amarela do Trigo: Caracterização de Raças. Passo Fundo, 2007. 14 p. html. (Embrpa

Trigo. Documentos Online, 83). Disponível em: <://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do83.htm>.

SANTOS, A. M. P. V. dos; MATSUMURA, A. T. S.; VAN DER SAND, S. T. Intraespecific Genetic Diversity of *Drechslera tritici-repentis* as Detected by Random Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Genetic and Molecular Biology*, v. 25, n. 2, p. 243-250, 2002.

SANTOS, H. P. Análise econômica e de risco de sistemas de rotação de culturas para trigo. In: Cunha, G. R., Bacaltchuk, B. *Séries Culturas- Trigo*. Porto Alegre. p. 58-73, 2000.

SANTOS, P. H.; REIS, E. M.; VIEIRA, S. A.; PEREIRA, L. R. Rotação de Culturas e Produtividade de Trigo no RS. Passo Fundo: Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, 1987, 32 p.

SAS Institute. SAS/STAT user's guide. Releases 8.2, 8.1, 8.0. SAS Inst., Cary, NC, 1999.

SCHEEREN, P. L., FERNANDES, M. I. B. de M., BRAMMER, S. P., SILVA, S. D. dos A. Uso de haploidização de genes favoráveis em cultivares de trigo. In: II Encontro de Biotecnologia Vegetal. Anais de Congresso - B.86. 1997.

SCHILDER, A. M. C., BERGSTROM, G. C.. Variation in virulence within the population of *Pyrenophora tritici-repentis* in New York. *Phytopathology* 80: 84-90, 1990.

SHARMA, R.C.; & BHATTA, M. R. Inheritance of field resistance to spot blotch in threewheat crosses. *J InstAgricAnimSci* 19–20:111–118. 1999.

SHARMA, R.C.; SAH, S.N.; DUVEILLER, E. Combining ability analysis of resistance to *Helminthosporium* leaf blight in spring wheat. *Euphytica*. P.341-348. 2004

SINGH, D., SINGH, R.V.; SINGH A.K.; & SINGH, B.N. Identification and inheritance of resistance to the foliar blight of wheat In: E. Duveiller, H.J. Dubin, J. Reeves & A. McNab (Eds.),

Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot, pp. 259–263. CIMMYT, Mexico, D.F. 1998.

SEIXAS, C. D. S. ; PEREIRA, J. M. ; BARRETO, R. W. . Caldo de vegetais ágar: um substituto adequado para o meio V8 ágar. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2000, Belém- PA. Resumos: XXXIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Brasília- DF : Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2000. v. 25. p. 419.

SINGH, P. K.; & HUGHES, G. R. Inheritance of Insensitivity to Culture Filtrate of *Pyrenophora tritici-repentis*, Race 2, in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Breeding* 125: 206-210, 2006.

SINGH, P.K. Genetic studies on the resistance to tan spot of wheat and genetic similarity among isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. 2001. A Thesis Submitted to the College of Graduate Studies and Research in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in the Department of Plant Sciences. University of Saskatchewan. Saskatoon. Canadá, 2001.

SOAVE, J.; GALLI, F; KIMATI, H. Estudo do crescimento vegetativo e da esporulação de *Pyricularia oryzae* Cavara, em diferentes meios de cultura. *Summa Phytopathologica*, São Paulo, v.1, n.4, p.258-266, dez. 1975.

SOUSA, C. N. A. de. Cultivares de trigo no Brasil. IV -Cultivares de siglas CNT e Trigo BR. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 70 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online; 17). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do17.htm

STOCK, W. S.; BRÛLÉ-BABEL, A. L.; PENNER, G. A. A Gene for Resistance to a Necrosis-inducing Isolate of *Pyrenophora tritici-repentis* Located on 5BL of *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring. et al. 1996);

TADESSE, W., HSAM, S. L. K., WENZEL, G., ZELLER, F. J. Identification and Monosomic Analysis of Tan Spot Resistance Genes in Synthetic Wheat Lines (*Triticum turgidum* L. x *Aegilops tauschii* Cross.) *Crop Science*. 46: 1212-1217, 2006.

TEIXEIRA, H.; CHITARRA, L. G.; ARIAS, S. M. S.; MACHADO, J. da C. Efeito de Diferentes Fontes de Luz no Crescimento e Esporulação in vitro de Fungos Fitopatogênicos. Ciênc. Agrotec.. Lavras, v.25, n°6, p. 1314-1320, nov./dez., 2001.

TELLES, M.P. C.; VALVA, F.D.; BANDEIRA, L. F.; e COELHO, A. S. G. Caracterização genética de populações naturais de araticunzeiro (*Annona crassiflora* Mart. - Annonaceae) no Estado de Goiás. Revista Brasil. Bot., V.26, n.1, p.123-129, 2003.

URASHIMA, A. S.; KATO, H. Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. Summa Phytopathologica. Vol. 20, n°2, 1994.

VIEIRA, E.A. Genética da interação: *Puccinia coronata* f. sp. *Avenae* x Aveia branca (*Avena sativa*). 2005. 96f. Tese (Doutorado em Fitomelhoramento) – Universidade Federal de Pelotas.

WELTER, B. et al. Tecnologias de produção para a cultura do trigo. Passo Fundo: Plantio Direto Eventos, 2005. (Atualidades técnicas, 1).

WIESE, M. V. Compendium of Wheat Diseases. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1987, 112 p.

XU, S.S.; FRIESEN, T.L., E MUJEEB-KAZI, A. Seedling resistance to tan spot and *Stagonospora nodorum* blotch in synthetic hexaploid wheats. Crop Sci. 44:2238–2245, 2004.

ZYLBERSZTAJN, D.; NEVES (Coord.), M. F.; ROSSI, R. M. (Coord.); FERRAZ, R. M. M.; CASTRO, L. T. ; MARINO, M. K.; MIZUMOTO, F. M.; CONEJERO, M. A.; FERREIRA, T. F.; ORATI, R. A. Estratégias Para o Trigo no Brasil. São Paulo: Atlas, 2004, 224 p.