

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

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA,
CITOGENÉTICA E MOLECULAR EM
CULTIVARES DE TRIGO**

GABRIELI SCARIOT

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

Passo Fundo, agosto de 2013

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

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA,
CITOGENÉTICA E MOLECULAR EM CULTIVARES
DE TRIGO**

GABRIELI SCARIOT

Orientador: Prof^ª. Dra. Sandra Patussi Brammer

Coorientador: Dr. Pedro Luiz Scheeren

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

Passo Fundo, agosto de 2013



FAMV - Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária
PPGAgro - Agronomia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

"Caracterização Morfológica, Citogenética e Molecular em Cultivares de Trigo"

Elaborada por

Gabrieli Scariot

Como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em
Agronomia – Área de Produção Vegetal

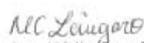
Aprovada em: 22/08/2013
Pela Comissão Examinadora


Dra. Sandra Patussi Brammer
Presidente da Comissão Examinadora
Orientadora


Dra. Simone Meredith Scheffer Basso
Coord. Prog. Pós-Graduação em Agronomia


Dr. Pedro Luiz Scheeren
Coorientador
Embrapa Trigo


Dr. Hélio Carlos Rocha
Diretor FAMV


Dra. Nádia Canali Lângaro
FAMV - UPF


Dra. Simone Meredith Scheffer Basso
FAMV - UPF

CIP – Catalogação na Publicação

S285c Scariot, Gabrieli
Caracterização morfológica, citogenética e molecular em
cultivares de trigo / Gabrieli Scariot. – 2013.
120 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo
Fundo, 2013.

Orientação: Profa. Dra. Sandra Patussi Brammer.

Coorientação: Prof. Dr. Pedro Luiz Scheeren.

1. Trigo - Cultivo. 2. Morfologia vegetal. 3. Citogenética.
4. Genética molecular. 5. Genética vegetal. I. Brammer,
Sandra Patussi, orientadora. II. Scheeren, Pedro Luiz,
coorientador. III. Título.

CDU: 633.1

Catalogação: Bibliotecária Daniele Rosa Monteiro - CRB 10/2091

BIOGRAFIA DO AUTOR

GABRIELI SCARIOT nasceu em Ronda Alta. Em 2010 concluiu o curso de Ciências Biológicas pela Universidade de Passo Fundo – UPF, Rio Grande do Sul. Em 2011 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo, realizando estudos morfológicos, citogenéticos e moleculares em cultivares de trigo para obtenção do título de Mestre em Agronomia – área de concentração “Produção Vegetal”.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado a capacidade de entendimento nesta etapa de minha vida.

À minha orientadora, Dra. Sandra Patussi Brammer, por toda a atenção, apoio, amizade e por partilhar seus conhecimentos.

Ao Dr. Pedro Scheeren, pela sua orientação e ajuda para que este trabalho tivesse início.

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo, seja pelos ensinamentos, pelo apoio ou pelos momentos de descontração.

Ao pesquisador da Embrapa Trigo, Dr. Ricardo Lima de Castro e à Prof^a. Dra. Simone Meredith Scheffer Basso, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos amigos da área de pesquisa em Melhoramento Vegetal da Embrapa Trigo, pela ajuda na execução deste trabalho.

À Embrapa Trigo, pela disponibilização da infraestrutura para que este trabalho se concretizasse.

A Universidade de Passo Fundo – UPF, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e Medicina Veterinária, pela disponibilidade da bolsa.

À minha irmã Núbia, que sempre me encorajou a seguir em frente.

Meu reconhecimento e gratidão aos queridos pais Jairo e Eulanda que colaboraram decisivamente pela oportunidade concedida de poder chegar a mais esta importante etapa da minha vida.

Finalmente a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Trigo: aspectos gerais.....	19
2.2 Produção e distribuição do trigo.....	20
2.2.1 No mundo.....	20
2.2.2 No Brasil.....	21
2.3 Caracterização morfológica em trigo.....	27
2.3.1 Descritores morfológicos e caracteres multicategóricos.....	30
2.4 Uniformidade genética e estratégias metodológicas de análises.....	32
2.4.1 Citogenética.....	32
2.4.2 Biologia molecular e marcadores de DNA.....	35
2.4.3 Marcadores microssatélites.....	36
3 MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1 Material vegetal.....	40
3.2 Métodos.....	43
3.2.1 Caracterização morfológica.....	43
3.2.2 Viabilidade polínica.....	48
3.2.3 Marcadores moleculares.....	49
3.2.3.1 Marcadores microssatélites.....	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Caracterização morfológica.....	52
4.2 Viabilidade polínica.....	74
4.3 Marcadores moleculares.....	81
5 CONCLUSÕES	88
REFERÊNCIAS	90
APÊNCICES	102

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
1	Cultivares de trigo e seus respectivos cruzamentos. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012.....	40
2	Principais características agronômicas das cultivares de trigo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013.....	42
3	Características morfológicas da cultivar BRS 327. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011.....	52
4	Características morfológicas da cultivar BRS 331. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011.....	53
5	Características morfológicas da cultivar BRS 374. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011.....	53
6	Características morfológicas da cultivar BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011.....	54
7	Características morfológicas da cultivar BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011.....	54
8	Características morfológicas da cultivar de trigo BRS 327. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	58
9	Características morfológicas da cultivar de trigo BRS 331. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	59
10	Características morfológicas da cultivar de trigo BRS 374. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	60
11	Características morfológicas da cultivar de trigo BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	61
12	Características morfológicas da cultivar de trigo BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	63
13	Matriz de distância de Mahalanobis a partir dos caracteres quantitativos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS	

	Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011..	67
14	Matriz de distância Euclidiana a partir dos caracteres multicategóricos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2011.....	67
15	Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2011.....	68
16	Contribuição relativa dos caracteres multicategóricos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2011.....	68
17	Matriz de distância de Mahalanobis a partir dos caracteres quantitativos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012..	71
18	Matriz de distância Euclidiana a partir dos caracteres multicategóricos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	71
19	Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012.....	72
20	Contribuição relativa dos caracteres multicategóricos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	72
21	Porcentagem de grãos de pólen uninucleados, bi ou trinucleados e inviáveis nas cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS Guamirim, BRS 327 e	

	BRS 374. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012.....	74
22	Porcentagem de grãos de pólen com tamanho discrepante (% tamanho d) e média do diâmetro dos grãos de pólen, em μm , em cinco cultivares de trigo. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012.....	79
23	Matriz da distância genética de Nei (1972) entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS 327, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Regiões de adaptação para testes de Valor de Cultivo e Uso (VCU) de trigo no Brasil.....	24
2	Demonstração das parcelas de trigo de cada ano: (A) Parcela do primeiro ano de plantio; (B) Parcela do segundo ano de plantio; Fotos: SCARIOT, G. (2011 e 2012).....	44
3	Escalas de desenvolvimento fisiológico dos cereais. Fonte: Zadoks et al (1974).....	45
4	Espiga de trigo e seus componentes. Fonte: Scheeren (1984).....	47
5	Gráfico de temperatura média do ano de 2011. Fonte: Embrapa (2013c).....	55
6	Gráfico de precipitação do ano de 2011. Fonte: Embrapa (2013c).....	56
7	Gráfico de temperatura média do ano de 2012. Fonte: Embrapa (2013c).....	56
8	Gráfico de precipitação do ano de 2012. Fonte: Embrapa (2013c).....	57
9	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para os caracteres quantitativos para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, safra 2011.....	70
10	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para os caracteres multicategóricos para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, safra 2011.....	70
11	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para caracteres quantitativos, para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, safra 2012.....	74
12	Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para caracteres multicategóricos, para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, safra 2012.....	74
13	Grãos de pólen de trigo: (A) Uninucleado; (B)	

	Binucleados; (C) Trinucleado; (D) Vazio. Aumento de 400X.....	76
14	Grãos de pólen de trigo: (A) Diferença de tamanhos. Aumento de 1000X; (B) Aspecto geral de vários grãos de pólen, com a medida do diâmetro em (μm). Aumento de 20X.....	78
15	Padrão molecular da cultivar BRS Parrudo. <i>Primer</i> microssatélite WMS 232, em gel de agarose 2%. DNA Ladder de 100pb.....	82
16	Polimorfismo obtido para os DNAs das cultivares, representadas em cinco bulks, respectivamente: (1) BRS Parrudo; (2) BRS 331; (3) BRS Guamirim; (4) BRS 327; (5) BRS 374. Primers WMS 162, WMS 174, WMS 181 e WMS 191, em gel de agarose 2%. DNA Ladder 100pb.....	83
17	Dendrograma obtido para as cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS 327, BRS 374 e BRS Guamirim, a partir da distância de NEI (1972).....	85

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, CITOGENÉTICA E MOLECULAR EM CULTIVARES DE TRIGO

GABRIELI SCARIOT¹

Resumo – A caracterização de cultivares ganhou grande importância nos últimos anos, pelo fato de permitir seu registro e proteção, beneficiando o obtentor, os produtores de sementes e os agricultores. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo quanto aos aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares, descrevendo as diferenças morfológicas existentes entre elas. Tais estudos também visaram à análise da viabilidade polínica e a determinação de distância genética entre as cultivares, permitindo a confirmação de estabilidade, uniformidade e diferenças genéticas intrínsecas dos materiais. Foram coletadas plantas de trigo provenientes de parcelas de multiplicação de sementes genéticas do campo experimental da Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, em 2011 e 2012. A descrição dos genótipos em relação a características morfológicas foi feita de acordo com as normas específicas para o Registro Nacional de Cultivares no Brasil. Verificou-se que para os descritores número de espiguetas por espiga, número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma, recomendados pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares,

¹Bióloga, mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo/RS, Área de Produção Vegetal.

apresentaram o coeficiente de variação próximo ou acima de 20%, o que mostra serem características menos confiáveis e precisas para fins de registro e proteção de cultivares. Quanto às análises citogenéticas e moleculares, estas foram realizadas com uma amostragem das mesmas plantas avaliadas no campo em 2011. No primeiro caso, foram analisadas as variáveis normais ou viáveis (grãos de pólen uninucleados e bi/trinucleados), inviáveis (vazios) e diferenças de tamanhos. Polens uninucleados variaram de 1,16 a 1,57%, bi/trinucleados variaram de 95,8 a 98,0% e vazios de 1,20 a 1,52%. O diâmetro dos grãos de polens variou de 61,77 a 53,80 μm . A genotipagem molecular, por meio de marcadores microssatélites, dispersos nos três genomas de trigo, permitiu a determinação da distância genética entre as cultivares, sendo que no dendrograma gerado, foram evidenciados três grupos distintos: BRS Parrudo e BRS 331 formaram um grupo; BRS 327 e BRS 374 formaram outro grupo, onde ficaram mais distantes geneticamente do que o primeiro e a cultivar BRS Guamirim com maior distância genética que os demais genótipos, consistindo um terceiro grupo. Portanto, esse trabalho representa uma contribuição no estudo dos descritores morfológicos, a fim de se reverem quais são os mais precisos para distinguir uma cultivar, como também o emprego de análises de uniformidade e estabilidade genética para fins de proteção de cultivares, por meio de análises citológicas e moleculares.

Palavras chave: distância genética, microssatélites, proteção de cultivares, *Triticum aestivum*, viabilidade polínica.

MORPHOLOGICAL, CYTOGENIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION IN WHEAT CULTIVAR

Abstract - The characterization of cultivars has got great importance in recent years because of allowing its registration and protection, benefiting the breeder, seed producers and farmers. The objective of this study was to characterize the BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Parrudo and BRS Guamirim cultivars regarding to morphological, cytogenetic and molecular aspects, describing the existing morphological differences between them. These studies have also aimed to analyze pollen viability and determination of genetic distance between cultivars, allowing the confirmation of stability, uniformity and intrinsic genetic differences of the materials. Wheat plants from plots of genetic seed multiplication were collected from the experimental field of Embrapa Wheat, Passo Fundo – RS, in 2011 and 2012. The description of genotypes in relation to morphological characteristics was made in accordance with specific standards for the National Register of Cultivars in Brazil. It was found that the described number of spikelets per spike, number of grains per spike and tooth length of glume, recommended by the National Service for Plant Variety Protection, presented the coefficient of variation close to or above 20% which show that they are less reliable and accurate for registration and protection of plant characteristics. Regarding the cytogenetic and molecular analyzes, these were taken with a sampling from the same plants evaluated in the field in 2011. In the first case, it was analyzed the normal or feasible variables (uninucleate pollen grains of bi/trinucleate) unviable (empty) and sizes differences.

Uninucleate pollen ranged from 1.16 to 1.57%, Bi / trinucleate ranged from 95.8 to 98.0% and empty from 1.20 to 1.52%. The pollen grain diameter ranged from 61.77 to 53.80 micrometers. Molecular genotyping by microsatellite markers dispersed in the three genomes of wheat, allowed the determination of genetic distance between the cultivars and the dendrogram generated were evident in three different groups: BRS Parrudo and BRS 331 formed a group; BRS 327 and BRS 374 formed another group which were genetically more distant than the first, and BRS Guamirim, with greater genetic distance than the other genotypes, consisting of a third group. Therefore, this work represents a contribution to the study of morphological descriptors, in order to revise what are the most accurate to distinguish one cultivar, as well as the use of analyzes of genetic uniformity and stability for the purpose of protection of plant varieties, through analysis cytological and molecular.

Keywords: genetic distance, microsatellites, protection of plant varieties, *Triticum aestivum*, pollen viability.

1 INTRODUÇÃO

Os recursos genéticos vegetais têm desempenhado um papel significativo no melhoramento genético, por fornecerem aos produtores a variabilidade que eles necessitam, proporcionando aumento do rendimento e principalmente pela incorporação de novos genes ou combinações de genes de importância agrônômica. Estes recursos são considerados a base para o desenvolvimento de variedades e cultivares, sempre tentando valorizar a diversidade genética presente.

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é um dos principais cereais cultivado mundialmente, representando a base da dieta alimentar da população ocidental. Cada vez mais esta cultura se tornou um ingrediente especializado no agronegócio brasileiro, com características adequadas e definidas quanto à sanidade, produção e qualidade de uso final. Junta-se a esse cenário, o ambiente criado com a Lei de Proteção de Cultivares (LPC).

O registro e proteção de cultivares, segundo a Lei de Proteção de Cultivares, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, exige dois ou três anos de testes de ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) por região de adaptação e por estado, conforme o número de locais, além da determinação de Distinguíbilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE). Assim, para registrar uma cultivar é necessária a determinação de VCU em ensaios de avaliação de rendimentos de grãos. Para adquirir a proteção da cultivar é necessário determinar, por meio de ensaios de DHE, que a mesma seja distinta, homogênea e estável (SCHEEREN et al., 2011).

Este teste consiste na avaliação de uma série de características morfológicas nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta. Tais características, denominadas descritores mínimos, são específicas para cada espécie e recomendadas pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC). Apesar de recomendado, o emprego destes descritores mínimos para caracterização de trigo apresentam algumas limitações, e, por isso, estão sendo avaliados quanto a sua precisão em diferenciar cultivares para proteção.

As análises citogenéticas são atualmente empregadas na seleção assistida em programas de melhoramento genético, tanto na escolha dos parentais como durante os cruzamentos, visando avaliar e inferir de modo rápido e eficiente à estabilidade genética destes. Destacam-se os estudos de viabilidade polínica, que possibilitam estimar a ocorrência de células normais e viáveis, além de anormalidades que afetam a fertilidade e que são responsáveis pela ocorrência de progênes desuniformes nos cruzamentos e prejudicam a adaptação de cultivares a diferentes ambientes.

O uso potencial de marcadores moleculares para a caracterização de cultivares, bem como para a determinação da similaridade/distância genética é enorme. Com a recente disponibilidade de tecnologias de DNA que revelam elevado nível de polimorfismo, repetibilidade e consistência nos resultados, é provável que os marcadores moleculares passem a ser incluídos no registro e/ou proteção de novos genótipos.

Neste contexto, objetivou-se, no presente trabalho, caracterizar cinco cultivares de trigo quanto aos aspectos morfológicos, citogenéticos e moleculares, a fim de verificar a

uniformidade, estabilidade dentro das cultivares e a distância genética entre as cultivares.

Os objetivos específicos foram os seguintes:

- Validar algumas das principais características morfológicas necessárias para o registro e proteção de cultivares de trigo, e verificar aquelas que podem interferir na caracterização eficiente nos ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) e de Distinguibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE);
- Avaliar a viabilidade polínica nas cultivares de trigo e inferir quanto à fertilidade dos grãos de polens e estabilidade genética, a fim de validar este tipo de análise em um programa de melhoramento genético;
- Determinar a distância genética entre as cultivares de trigo, por meio de marcadores microssatélites, e verificar os grupos formados com relação às genealogias de cada uma.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Trigo: aspectos gerais

O trigo tem sido uma das principais fontes de alimento do homem desde os tempos pré-históricos. O cultivo do trigo remonta à época dos primórdios da agricultura, há cerca de 10.000 anos, quando o homem troca sua característica nômade e extrativista por uma civilização sedentária e agrícola (CALDEIRA et al., 2000).

Vestígios fósseis da cultura do trigo foram encontrados em antigos povoados agrícolas numa região conhecida como Crescente Fértil, no sudoeste da Ásia (Oriente Próximo). O Crescente Fértil era uma região propícia à agricultura, que abrangia uma faixa de terra em forma de meia-lua (lua crescente), partindo da costa leste do Mar Mediterrâneo, avançando na direção do Golfo Pérsico e incluindo toda a Mesopotâmia (área entre os rios Tigre e Eufrates). No Brasil, o trigo foi introduzido, provavelmente, por Martim Afonso de Souza, em 1534, e expandiu-se da Capitania de São Vicente para outras regiões do País, acompanhando os deslocamentos das populações de origem europeia ou os trabalhos de catequização realizados pelas missões religiosas (PIANA et al., 2008).

O trigo é o segundo cereal mais produzido no mundo, após o milho (*Zea mays* L.), com significativo peso na economia agrícola global (BRASIL, 2013a). O trigo é uma planta de ciclo anual, cultivada durante o inverno e a primavera. O grão é consumido, principalmente, na forma de pão, massa alimentícia, bolo e biscoito. É

usado também como ração animal, quando não atinge a qualidade exigida para consumo humano (EMBRAPA, 2013a).

Existem cerca de 30 tipos de trigo, geneticamente diferenciados, dos quais metade pode ser cultivada; o restante cresce de forma silvestre. Em busca de produtividade, conteúdo de farinha no grão, teor de nutrientes, resistência a doenças ou adaptação ao clima e ao solo, pesquisadores e agricultores já testaram milhares de cruzamentos, chegando a obter cerca de 30 mil variedades de trigo. (ABITRIGO, 2013a).

2.2 Produção e distribuição do trigo

2.2.1 No mundo

A produção mundial de trigo em 2012 foi de 661 milhões de toneladas, 5,5% abaixo do nível do ano anterior, mas perto da média dos últimos cinco anos (FAO, 2012). A União Europeia (20,2%), a China (17,1%), a Índia (13,0%), os Estados Unidos (8,2%) e a Rússia (7,6%) mantêm-se como maiores produtores mundiais (USDA, 2013).

Durante os últimos sessenta anos, o rendimento médio do trigo aumentou de $1,0 \text{ t.ha}^{-1}$ para $3,0 \text{ t.ha}^{-1}$, principalmente em virtude do uso de adubos, fungicidas, herbicidas, inseticidas e de cultivares melhoradas (PIANA et al., 2008).

A maior produtividade média entre os principais países e regiões produtoras de trigo, é da União Europeia, onde o rendimento médio na última década oscilou entre $4,5$ e $5,5 \text{ t.ha}^{-1}$, quase o dobro do

rendimento médio mundial da cultura (CUNHA, 2009). A produtividade na China tem crescido acentuadamente, chegando a superar $4,5 \text{ t.ha}^{-1}$ nos últimos anos. Os cinco principais países e bloco produtores de trigo são pela ordem: União Europeia, China, Índia, Estados Unidos e Rússia. O Brasil não figura entre os principais países produtores de trigo. A participação da produção brasileira no total mundial costuma oscilar entre 0,5% e 1%.

O trigo é, entre os cereais de estação fria, o que apresenta a maior área e produtividade. Ele é produzido desde a linha do equador até zonas de maiores latitudes. As zonas de maior concentração da produção estão entre 30 e 60° N . As áreas de maior produção situam-se no Hemisfério Norte (Europa, Ásia e América do Norte) em latitudes de até 66° N como no Canadá, norte da Europa e Rússia. No Hemisfério Sul, a maior produção é obtida entre latitudes de 25 e 40° S , destacando-se a Argentina e Austrália. Em baixas latitudes, nos dois hemisférios, destacam-se o México, a Índia e a China (MUNDSTOCK, 1999).

2.2.2 No Brasil

A decisão de cultivar trigo no Brasil passa pela análise histórica da evolução da cultura no país. O trigo foi umas das poucas culturas que esteve presente desde o início da colonização, sendo introduzida pouco depois do descobrimento (MUNDSTOCK, 1999).

O melhoramento de trigo começou no Brasil em 1919 com o estabelecimento, pelo Ministério da Agricultura, da Estação experimental de Ponta Grossa, PR, a Estação Experimental de Alfredo

Chaves, hoje Veranópolis, RS, onde trabalhou, entre aquele ano e 1924, o agrônomo tcheco Carlos Gayer. Seu mérito principal foi ter reunido as antigas variedades cultivadas na zona colonial, bem como ter praticado nas principais delas, uma obra inicial de separação de formas. Várias dessas linhagens se destacaram na Estação Experimental de Alfredo Chaves. Essas linhagens, conhecidas como linhas Alfredo Chaves, fazem parte do pedigree de todas as variedades até hoje cultivadas no Brasil. Assim começou a pesquisa de trigo no país. Com a criação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, em 1973, foi instalado, o Centro Nacional de Pesquisa de Trigo – CNPT onde antes funcionava a Estação Experimental de Passo Fundo. Já, em 1974, o CNPT começou a funcionar ainda que precariamente (ABITRIGO, 2005).

A boa adaptação de algumas cultivares italianas introduzidas no Brasil marcou o início do trigo no sul do país no século XIX. No entanto, a expansão e o desenvolvimento da cultura em outros estados do Brasil processaram-se mais tarde do que no Rio Grande do Sul. No Paraná, o cultivo de trigo expandiu-se, primeiro, na região de Ponta Grossa. Posteriormente, nos anos 80 e 90, o trigo adquiriu grande importância no norte e no oeste desse estado, tornando-se a principal área produtora de trigo no País. Naquele período, a área de trigo também cresceu no oeste do estado de São Paulo e no sul do Mato Grosso do Sul. Atualmente, a pesquisa vem trabalhando para o aumento da área tritícola no Brasil Central, na região dos Cerrados, mais precisamente nos estados de Goiás, oeste de Minas Gerais e sul do Mato Grosso. Ainda merece destaque a Bahia,

que tem regiões potencialmente favoráveis à cultura do trigo, mas que ainda não foram exploradas (LUNARDI et al., 2011).

O território brasileiro, historicamente, para fins de organização da pesquisa agrícola e de sistematização do processo de transferência de tecnologia em trigo, é dividido em três regiões tritícolas: sul-brasileira (RS e SC, operacionalmente – quanto às características ambientais, abrange o sul do PR), centro-sul-brasileira (norte e oeste do PR, MS e SP) e centro-brasileira (GO, DF, MG, MT e BA), (CUNHA et al., 2011).

Para a realização de ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU), de trigo no Brasil foram delimitadas quatro regiões homogêneas de adaptação de cultivares de trigo. Uma região úmida, que vai do Rio Grande do Sul até o norte do Paraná com, pelo menos, duas divisões, uma parte fria (Região 1) e outra parte quente (Região 2). A região moderadamente seca e quente (Região 3), porém ainda passível de cultivo de trigo sem irrigação, compreende o norte do PR, sul de SP e parte do MS. Por último, uma região quente e seca (Região 4), que envolve parte dos estados de SP e MS, além de GO, DF, MG, MT e BA (CUNHA et al., 2006) (Figura 1).

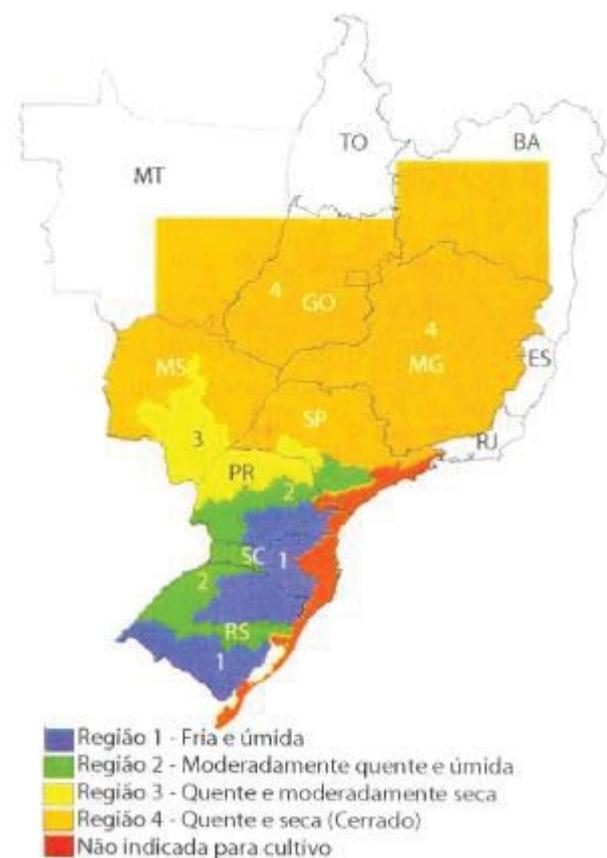


Figura 1 – Regiões de adaptação para testes de Valor de Cultivo e Uso (VCU) de trigo no Brasil. Fonte: Cunha et al. (2011).

O registro e proteção de cultivares, segundo a Lei de Proteção de Cultivares (LPC), regulamentada pela Lei nº 9.456, e pelo Decreto nº 2.366, de 5 de novembro de 1997 (BRASIL, 2013b) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, exige dois ou três anos de testes de ensaios de VCU, por região de adaptação e por estado, conforme o número de locais, além da determinação de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE). Assim, para registrar uma cultivar é necessário à determinação de VCU em ensaios de avaliação de rendimentos de grãos. Para adquirir a proteção da

cultivar, é necessário determinar, por meio de ensaios de DHE, que a mesma seja distinta, homogênea e estável (SCHEEREN, 2011).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria do Trigo, o Brasil consome cerca de 10 milhões de toneladas de trigo moído. Destas, apenas cinco milhões é o que se produz no país. O restante vem principalmente da Argentina, que tem uma produção anual de cerca de 14 milhões de toneladas (AGRO LINK, 2011).

A região Sul do Brasil sempre foi a maior produtora de trigo do país, respondendo por mais de 90% do total nacional. O clima frio exigido pela cultura e o desenvolvimento de cultivares adaptadas a essa região pela pesquisa, explicam a predominância do cultivo do trigo no Brasil em áreas situadas abaixo do paralelo 24 (Trópico de Capricórnio). Dos Estados brasileiros do Sul, Paraná e Rio Grande do Sul são os únicos de expressão nacional de trigo (CUNHA, 2009).

Conforme a Companhia Nacional de Abastecimento - Conab (Conab, 2012), no Brasil, a produtividade do trigo varia conforme a região, a variedade cultivada, e o tipo de cultivo, mas o fator preponderante é o clima.

Segundo dados 2011/2012, a produção do Paraná foi a mais baixa em cinco anos. Pela primeira vez em 12 anos, o estado do Rio Grande do Sul ultrapassou o estado do Paraná como o estado com a maior quantidade de área colhida de trigo. Uma das razões para essa mudança é que produtores no Rio Grande do Sul foram incentivados a plantar trigo, como uma maneira de se recuperar de perdas com a seca de dezembro a janeiro que significativamente reduziu as safras de milho e soja. O clima no Rio Grande do Sul revelou-se mais propício. No entanto, geadas no florescimento e as chuvas em excesso no final do

inverno comprometeram o rendimento e a qualidade (O'KRAY, 2012).

Entretanto, a estimativa de safra da Conab realizada em dezembro de 2012 apontou para uma produção de trigo de 4.300,4 mil toneladas contra 5.788,6 mil de toneladas, em 2011/12, representando uma redução de 25,7%, da ordem de 1.488,2 mil toneladas, em função do recuo da produtividade da cultura no Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, devido a problemas climáticos. O cultivo de trigo no Rio Grande do Sul não teve o clima como aliado como na safra anterior. A falta de chuvas na época do plantio atrasou a implantação do cultivo e na fase final ocorreram geadas, chuvas de granizo, vendavais e excesso de chuvas nas épocas de maturação e colheita, período crítico da lavoura. Como resultado, grande parcela da produção nacional, principalmente do Rio Grande do Sul, apresentou produto com baixos pesos de hectolitro (PH) e número de queda (NQ) (CONAB, 2013).

No Brasil, a produtividade recuou de 2.672 kg ha⁻¹ em 2011/12, para 2.269 kg ha⁻¹ atuais. Na região Sul caiu de 2.671 kg para 2.240 kg ha⁻¹ e no Rio Grande do Sul, recuou 36,7%, de 2.941 kg para 1.860 kg por hectare.

Portanto, verifica-se que a evolução da triticultura no Rio Grande do Sul está diretamente ligada ao desenvolvimento de informações tecnológicas geradas pela pesquisa. A produtividade do trigo na região Sul do Brasil evoluiu nos últimos 35 anos de cerca de 600 kg ha⁻¹ para acima 2.500 kg ha⁻¹ (ROSA, 2012). De tradicional produtor de trigo de qualidade comum, o estado passou a ser produtor de trigo de qualidade panificativa superior. Além disso, o Rio Grande do Sul tem potencial para ser um importante fornecedor de trigos

brandos para atender à crescente demanda de consumo de biscoitos, não só para o país como também para exportação (CUNHA, 1999).

2.3 Caracterização morfológica em trigo

Os marcadores morfológicos, ou características fenotípicas, são utilizados desde os tempos de Mendel, em seus estudos de genética e evolução. Sax, em 1923, estudando a massa média de grãos em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) fez a primeira tentativa de caracterização de *loci* envolvidos na expressão de um caráter quantitativo. Apesar de diferentes caracteres serem utilizados como marcadores morfológicos, o efeito do ambiente, a ação gênica, a pleiotropia e epistasia também são fatores que podem interferir na avaliação. Entretanto, diversos pesquisadores têm utilizado caracteres morfológicos para caracterização de germoplasma (BERED et al., 2000). De acordo com os mesmos autores, vários caracteres de importância agrônômica em trigo vêm sendo manipulados pelos melhoristas. No entanto, o ciclo e a estatura são caracteres adaptativos de suma importância e foram modificados intensamente nas últimas décadas.

O interesse e a importância da caracterização de cultivares têm aumentado muito nos últimos anos, tendo como motivos principais, a necessidade do registro e proteção de cultivares, além de estudos genéticos. A partir de 1997, foram estabelecidas as leis e normas sobre o registro e a proteção de cultivares de trigo. Por essa nova sistemática, a decisão de se lançar uma nova cultivar passou a ser de total responsabilidade do detentor do material, não sendo

necessária a aprovação prévia da comissão de pesquisa (SCHEEREN et al., 2007).

No Brasil, a Lei de Proteção de Cultivares n.º 9.456, sancionada em 25 de abril de 1997, abriu uma nova perspectiva e interesse na proteção e lançamento de materiais genéticos. Os descritores oficiais prescritos nessa lei são baseados em características morfológicas.

Desde os primórdios da proteção de novas cultivares de plantas, a denominação, ou seja, o fato de se dar um "nome" específico a uma nova cultivar, sempre mereceu destaque por parte dos especialistas envolvidos, dada a relevância que este fato tem no processo de proteção de cultivares e na sua posterior comercialização. No Brasil, cabe ao Ministério da Agricultura e do Abastecimento, por intermédio do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC) da Secretaria de Desenvolvimento Rural, esclarecer as dúvidas sobre esse assunto (BRASIL, 2013c).

O Registro Nacional de Cultivares é um instrumento que permite o cadastramento de cultivares, nacionais e estrangeiras, habilitando-as para a produção e comercialização de sementes e mudas certificadas e fiscalizadas, em todo território nacional, mediante inscrição prévia. Constitui-se um instrumento de ordenamento do mercado que protege o agricultor da venda indiscriminada de sementes e mudas de cultivares que não tenham sido testadas nas condições da agricultura brasileira ou de cultivares que já perderam suas características de pureza genética (BRASIL, 2010d).

Alguns requisitos são necessários para a cultivar candidata à proteção, entre eles estão: ser produto de melhoramento genético; ser de uma espécie passível de proteção no Brasil; não haver sido comercializada no exterior há mais de quatro anos, ou há mais de seis anos, no caso de videiras ou árvores; não haver sido comercializada no Brasil há mais de um ano; ser distinta; ser homogênea; ser estável. Os três últimos requisitos são comprovados através de testes específicos de DHE - Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade, realizados pelo próprio obtentor ou, em se tratando de cultivar estrangeira, por autoridade estrangeira reconhecida pelo governo (BRASIL, 2010b).

No Brasil, os testes de DHE são realizados pelos melhoristas em estações experimentais. São ensaios de campo (identificados por características geográficas de latitude e longitude) nos quais são testadas as características de: Distinguilidade (diferenças claras de qualquer outra cuja existência na data do pedido de proteção seja reconhecida); Homogeneidade (uniformidade entre plantas dentro da mesma geração); e Estabilidade (manutenção das características através de gerações sucessivas) da cultivar. Os testes de DHE seguem metodologia própria para cada espécie e exigem do examinador um conhecimento aprofundado da espécie, do seu comportamento, dos grupos e das variedades existentes da mesma, sendo indispensáveis, em alguns casos, a utilização de cultivares de referência para a caracterização da nova cultivar (BRASIL, 2013a).

2.3.1 Descritores morfológicos e caracteres multicategóricos

No Brasil, o órgão competente para a aplicação da lei e para acatar os pedidos de proteção de cultivares, é o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC). O SNPC tem como missão garantir o livre exercício do direito de propriedade intelectual dos obtentores de novas combinações filogenéticas na forma de cultivares vegetais distintos, homogêneos e estáveis, zelando pelo interesse nacional no campo da proteção de cultivares (BRASIL, 2013b).

A distinguibilidade entre as cultivares é feita por meio do preenchimento de um formulário contendo os descritores mínimos recomendados pelo SNPC. O SNPC, seguindo as recomendações da UPOV, já possui listas de descritores mínimos para um grande número de espécies. Esses descritores baseiam-se principalmente em características morfológicas de sementes, plântulas, folhas, flores e frutos e apresentam algumas limitações como o tempo gasto para realizar as avaliações e a falta de acurácia devido ao efeito ambiental e à subjetividade de alguns descritores. Além disso, com o estreitamento da base genética da maioria das espécies cultivadas, as cultivares apresentam muitos marcadores morfológicos em comum, não podendo ser distinguidos (SCHUSTER et al., 2009). Os descritores são atributos, características ou caracteres mensuráveis, que são observados em uma subamostra do banco de germoplasma, para os quais são alocados códigos numéricos (Biodiversity International, 2007), caracterizando-se, estatisticamente, como variáveis multicategóricas.

Na exploração de dados multicategóricos, a análise multivariada tem sido largamente aplicada, permitindo verificar a dissimilaridade no germoplasma, representar a relação entre as subamostras, por dendrogramas ou gráficos de dispersão, e identificar os caracteres com maior contribuição para divergência genética, dentre outras aplicações. Quando é possível ordenar esse tipo de dados, estabelecendo-se uma escala, é possível analisá-los como variáveis quantitativas discretas (SNEATH et al., 1973). No entanto, em muitos casos, os valores de certas variáveis multicategóricas não podem ser ordenados, remetendo à análise mediante índices de similaridade, cujo valor expressa o nível, ou a percentagem, de coincidência de valores (CRUZ, 2006).

Quando são utilizados descritores quantitativos, o cálculo das medidas de dissimilaridade pode ser obtido pelo método da Distância Euclidiana, Distância Euclidiana Média, Distância de Mahalanobis ou Distância de Manhattan. A distância generalizada de Mahalanobis (D^2) é a medida de dissimilaridade preferida pelos pesquisadores, por serem estimados a partir de ensaios experimentais com repetições, permitindo a obtenção da matriz de variâncias e covariâncias residuais (SUDRÉ et al., 2005; ROCHA et al., 2009; GONÇALVES et al., 2009; NEITZKE et al., 2010). Quando os descritores são qualitativos, a análise da divergência é feita por meio da moda de cada genótipo para cada descritor, sendo calculado um índice de dissimilaridade (CRUZ et al., 2003).

A coleta de dados multicategóricos leva vantagem em relação à coleta de dados moleculares e quantitativos por serem facilmente observados e requerem menos tempo e mão de obra na sua

realização (SUDRÉ et al., 2006). Entretanto, os limites estabelecidos entre uma e outra classe podem não ser tão facilmente identificados e, assim, as informações coletadas poderão ser carregadas de certa imprecisão tendo em vista a subjetividade de classificação realizada pelo observador.

2.4 Uniformidade genética e estratégias metodológicas de análise

Estratégias metodológicas visando analisar a uniformidade genética de uma cultura são extremamente importantes nos programas de melhoramento, principalmente nas fases de DHE e VCU. Diversas são as maneiras de se analisar esta uniformidade, sendo que a escolha da melhor estratégia depende da dimensão do programa, de recursos financeiros e de parceiros associados. Destacam-se, a seguir, algumas das atividades que vem sendo rotineiramente empregadas como apoio ao melhoramento genético.

2.4.1 Citogenética

Desde a época de Mendel, a citologia e a genética passaram a colocar seus conhecimentos numa área comum, mais tarde denominada citogenética. A partir disso, a citogenética expandiu-se enormemente, se inserindo em vários outros campos da biologia, como a taxonomia, a bioquímica, a medicina clínica e o melhoramento animal e vegetal, visando prioritariamente à seleção do material genético de uma determinada espécie. Atualmente, as análises realizadas referem-se à viabilidade polínica e à estabilidade genética

durante os processos de cruzamentos, a fim de monitorar as progênies resultantes e o mecanismo de herança das espécies, permitindo, assim, o uso de procedimentos adequados à manipulação genética em um programa de melhoramento (BRAMMER et al., 2007).

Dentre as análises citológicas importantes e que devem ser utilizadas como seleção assistida em programa de melhoramento genético, destaca-se o índice meiótico descrito por Love (1949), o qual é empregado rotineiramente para muitas espécies agrícolas. Esse estudo é muito simples para determinar se o comportamento meiótico dos cromossomos é normal, por meio da análise de pólen ou micrósporos, com um ou mais micronúcleos. Assim, rapidamente pode-se examinar uma centena de pólenes e contar o número de micronúcleos em cada um deles (ZANOTTO et al., 2009).

Com relação à análise de micronúcleos, esta é de grande valia, pois a partir deste tipo de estudo, pode-se inferir sobre a estabilidade dos genótipos em questão, uma vez que micronúcleos se originam de fragmentos cromossômicos ou até mesmo cromossomos inteiros, que devido a eventos clastogênicos (quebram cromossomos) ou aneugênicos (induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal) durante a anáfase, se perdem formando massas de cromatina. Estes podem também se originar a partir de interações entre agentes químicos, físicos e/ou biológicos com a possibilidade de promover distúrbios mitóticos. Além disso, os micronúcleos podem ser formados por cromossomos bivalentes não orientados, assim como por cromossomos com ascensão precoce ou retardatária que ocorrem nas metafases e anáfases da primeira e/ou da segunda divisão da meiose (MENDES-BONATO, 2006). A principal consequência da

ocorrência de micronúcleos é a perda de cromossomos e a formação de grãos de pólen geneticamente desbalanceados e/ou estéreis.

O exame de pólen jovens é, então, um método rápido para determinar as anormalidades de comportamento cromossômico durante a meiose. Quando observados em fase mais tardia ou de desenvolvimento mais avançado, a análise de grãos de pólen permite avaliar algumas características anatômicas e fisiológicas importantes, fundamentais para a sua completa maturação e desenvolvimento, tais como: número de núcleos e poros, tamanho do pólen e quantidade de amido. Portanto, os estudos dos quartetos servem de critério adicional ao programa de melhoramento, ou seja, plantas que são anormais citologicamente podem ser descartadas ou reservadas para estudos posteriores mais intensos (ZANOTTO et al., 2009).

A citogenética, quando aplicada aos recursos genéticos vegetais, pode contribuir, também, nos estudos de evolução e citotaxonomia, no auxílio à caracterização molecular, pela localização de sequências específicas de DNA, pela hibridização *in situ*. Pode servir como um instrumento de avaliação das plantas regeneradas *in vitro* e de plantas transformadas. Além disso, pode fornecer dados importantes para estudos sobre a instabilidade cromossômica do material conservado, identificando possíveis modificações no número e estrutura dos cromossomos, apoiar trabalhos de pré-melhoramento e melhoramento de plantas, por meio da análise dos híbridos obtidos nos programas que utilizam parentais silvestres (NASS, 2007). Portanto, o conhecimento das relações citotaxonômicas, estrutura citogenética e história evolutiva das espécies envolvidas nos cruzamentos também são importantes para a escolha da espécie

doadora. A obtenção de cultivares de trigo com características agronômicas desejáveis, através de cruzamentos, pode ser mais rápida e eficiente com a combinação do uso de técnicas citogenéticas e seleção agronômica, pois permitem ao melhorista, conjuntamente com o citogeneticista, analisar, mediante testes de progênies, a influência do genótipo quanto à ocorrência de anormalidades cromossômicas, bem como anomalias na estrutura dos grãos de polens, principalmente quando se apresentam vazios. Essas anormalidades afetam a fertilidade, são responsáveis pela ocorrência de progênies desuniformes nos cruzamentos e prejudicam a adaptação de cultivares (MORAES-FERNANDES et al., 2000).

2.4.2 Biologia molecular e marcadores de DNA

O melhoramento genético, ao selecionar variedades mais produtivas, de melhor qualidade industrial, mais tolerantes a estresses e com melhor adaptação ecológica, possibilita aumentar os rendimentos agrícolas e até mesmo reduzir o uso de insumos pelo agricultor, o que ajuda a preservar a saúde humana e o meio ambiente. Porém, alguns caracteres agronômicos, especialmente os de herança quantitativa, apresentam dificuldades na seleção fenotípica, tanto na escolha dos pais como na seleção em populações segregantes. Deste modo, a biologia molecular disponibiliza ferramentas que podem eliminar essas dificuldades (BRAMMER, 2000).

É indiscutível que o uso de marcadores genéticos está levando a um desenvolvimento significativo no conhecimento de espécies nativas e na prática do melhoramento vegetal. Também está

viabilizando o conhecimento das principais plantas cultivadas, o que impulsionará seu melhoramento. É da reunião dos esforços resultantes do melhoramento clássico e das técnicas mais recentes de biologia molecular que se chegará a uma nova agricultura com preocupações referentes a uma nova eficiente conservação dos recursos de germoplasma, maior produtividade das culturas e racionalização de espaços ocupados para o plantio (FREITAS et al., 2003).

Com a aprovação da Lei de Proteção de Cultivares (LPC), para uma nova cultivar ser submetida à proteção, a distinção de genótipos é oficialmente realizada por meio de características morfológicas, que apresentam como desvantagens a necessidade de um grande número de descritores que são identificados na planta inteira ou adulta. Além do tempo gasto e da necessidade de espaço físico para a avaliação do material, os marcadores morfológicos são influenciados pelo ambiente, podendo gerar resultados pouco confiáveis. A possibilidade de acessar a variabilidade genética diretamente ao nível de DNA faz com que, cada vez mais, sejam disponibilizadas técnicas precisas que podem vir a auxiliar o processo de proteção intelectual de materiais genéticos. Dentre as técnicas moleculares, os marcadores microssatélites podem ser destacados pela precisão, simplicidade e possibilidade de automação.

2.4.3 Marcadores microssatélites

Os microssatélites, denominados também por SSR (Simple Sequence Repeats), são sequências de um a quatro pares de bases repetidas e adjacentes, distribuídas no genoma. Podem ser

encontradas numa taxa menor em sequência de regiões promotoras codificantes e em sítios de ligação para várias proteínas regulatórias (LEOI, 2003). Esse tipo de marcador utiliza *primers* específicos que amplificam regiões com DNA repetitivo. A maior vantagem dessa técnica é o elevado polimorfismo revelado, o que o torna uma das melhores opções para uso na caracterização de cultivares e mapeamento genético, especialmente em germoplasma aparentado e de baixa variabilidade, como é o caso de espécies como soja (MILACH, 1998).

Nos últimos anos, marcadores do tipo microssatélite têm sido a ferramenta molecular mais utilizada em estudos genéticos. O polimorfismo alélico entre os indivíduos ocorre em um loco SSR devido a mudanças no número de repetições. Estes polimorfismos são detectados por uma amplificação de DNA usando *primers* que flanqueiam as repetições e os produtos da amplificação são visualizados em gel de agarose corado com brometo de etídeo e visualizado sob luz UV e/ou poliacrilamida corado com nitrato de prata ou visualização através de marcação com fluorescência e laser (SALLES et al., 2003).

De acordo com Freitas et al. (2003), os marcadores microssatélites apresentam algumas vantagens em suas análises, como: possuir expressão codominante; são hipervariáveis no que diz respeito ao número de alelos por locus e, por isso, têm se tornado uma fonte importante de marcadores genéticos polimórficos; são muito frequentes e distribuídos ao acaso ao longo de todo o genoma e a existência de conservação de sítios de microssatélites entre espécies relacionadas torna possível, em alguns casos, a utilização de

iniciadores obtidos em uma espécie para outras espécies afins (iniciadores heterólogos). Contudo, há limitações nas análises de microssatélites, como: necessidade do desenvolvimento de iniciadores para cada espécie (ou grupos de espécies relacionadas), o que implica no sequenciamento prévio de partes específicas do DNA e não se conhece o papel funcional das sequências estudadas.

Os marcadores microssatélites têm eliminado a necessidade de cruzamentos distantes para maximizar o polimorfismo molecular, ou seja, qualquer cruzamento é potencialmente informativo para o mapeamento molecular. Isto é particularmente importante para espécies autógamas, como é o caso de trigo (BRAMMER, 2000).

Devido à sua distribuição regular no genoma das plantas, este tipo de marcador é utilizado, também, nos testes de identidade genética, onde há necessidade de discriminação de indivíduos e identificação de parentesco, além de serem os mais utilizados para obtenção de mapas genéticos. Apesar de ainda não serem utilizados para registro e proteção de cultivares, exames baseados em DNA tem permitido dirimir dúvidas entre cultivares semelhantes e auxiliado no manejo de coleções de germoplasma. Em outros países, testes de identificação baseados em DNA foram utilizados, inclusive, para resolver problemas de direitos de propriedade intelectual, utilizando amostras coletadas em supermercados e de produtores (REVERS, 2007).

Neste contexto, a introdução de técnicas moleculares para caracterizar e identificar cultivares é um processo atual e, apesar de ainda não ser reconhecida como metodologia oficial, vem sendo fortalecida em função do alto grau de precisão e informação que pode

ser obtido pelo *fingerprinting* molecular. O *fingerprinting* ou genotipagem molecular é a “impressão digital” de um determinado genótipo, que permite a obtenção de seu perfil genético e sua diferenciação inequívoca de outro genótipo (GUIMARÃES et al., 2004). Esta estratégia tem sido usada para mapeamento de ligação do genoma, teste de identidade de cultivares, determinação da relação de parentesco e da variação genética, análise de populações e de pedigree, localização de loco para doenças e epidemiologia (BRAMMER, 2000).

Neste contexto, Sabadin et al. (2009), abordam que dentro dos programas de melhoramento, o interesse pela caracterização molecular das cultivares vem crescendo, principalmente para o processo de proteção legal dos genótipos desenvolvidos, contribuindo para descrição detalhada dos mesmos.

A caracterização de variedades, linhagens ou híbridos por meio de marcadores de DNA tem sido de grande importância na proteção do direito intelectual do melhorista, sendo utilizada como prova legal em processos jurídicos nos países em que já vigoram as leis de proteção de cultivares. Assim sendo, por meio da Lei de Proteção de Cultivares, espera-se que o *fingerprinting* genético seja também utilizado na caracterização de cultivares e assegure os direitos da propriedade intelectual. Destaca-se, ainda que o elevado nível de resolução genética e confiabilidade possibilita a discriminação entre linhagens ou variedades com base genética estreita, o que é comum entre variedades comerciais (BORÉM, 1999).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Para a caracterização morfológica, citogenética e molecular, foram avaliadas cinco cultivares de trigo da Embrapa Trigo. A escolha das cinco cultivares foi devido à constituição genética de cada uma e o método de seleção empregado (Tabela 1).

Tabela 1 - Cultivares de trigo sua genealogia e método de seleção. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Genótipos	Genealogia	Método de seleção
BRS 327	CEP 24/BRS 194	Massal
BRS 331	PF 990606/WT 98109	Duplo-haploide
BRS 374	PF 88618/Koker 80.33//Frontana/Karl	Massal
BRS Guamirim	EMB 27/Buck Nandu//PF 93159	Genealógico
BRS Parrudo	WT 98109/ TB 0001	Genealógico

Fonte: Adaptada de: Informações Técnicas para Trigo e Triticale Safra 2013/Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 2013.

As cultivares de trigo BRS Guamirim e BRS Parrudo, foram selecionadas pelo método genealógico, onde BRS Guamirim foi reunida em F₇ e a cultivar BRS Parrudo na geração F₈. As cultivares BRS 327 e BRS 374 foram selecionadas pelo método massal, sendo que a cultivar BRS 327 foi reunida em F₅-F₆, e BRS 374 reunida na geração F₇. No caso da cultivar BRS 331, esta foi gerada pela técnica de obtenção de plantas duplo-haploide na geração F₂.

A escolha das cultivares também levou em conta as características agronômicas distintas de cada uma (Tabela 2). Destaca-

se que estas cultivares são pertencentes aos ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) da Embrapa Trigo, lançadas para cultivo há poucos anos e constam, atualmente, nas indicações de semeadura nas regiões de adaptação de trigo.

Tabela 2 – Principais características agronômicas de cinco cultivares de trigo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2013

Cultivar	Ciclo	Estatura de planta	Coloração das aurículas	Forma da espiga	Forma de obtenção	Ano de lançamento	Classe comercial	Regiões de tritícolas de adaptação
BRS 327	Precoce	Alta/Média	Incolor	Fusiforme compacta	F ₅ – F ₆	2010	Pão	PR, SC e RS, MS e SP
BRS 331	Superprecoce	Baixa	Púrpura	Fusiforme	Duplo-haploide	2011	Pão	PR, SC e RS
BRS 374	Precoce	Baixa	Incolor	Fusiforme compacta	F ₇	2011	Básico	RS e SC (I e II), PR (I)
BRS Guamirim	Precoce	Baixa	Incolor	Fusiforme	F ₇	2005	Pão	PR, SC e RS; MS e SP
BRS Parrudo	Precoce/Médio	Média	Incolor	Fusiforme	F ₈	2013	Melhorador	SC, RS (I e II) PR (I)

Fonte: Adaptada de: Informações Técnicas para Trigo e Triticale Safra 2013/Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 2013.

3.2 Métodos

3.2.1 Caracterização morfológica

Plantas de trigo das cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo foram cultivadas em ensaios de VCU, obedecendo aos critérios estabelecidos pelo MAPA, no Campo Experimental da Embrapa Trigo – Passo Fundo, em 2011 e 2012. O município está situado na região fisiográfica do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, a 28° 15' de latitude sul e 52° 24' de longitude oeste, a uma altitude média de 687 m, com clima fundamental úmido (f) e variedade subtropical (Cfa) (Kuinchner & Burial, 2001). O tipo de solo é Latossolo Vermelho Distrófico.

Em 2011, as parcelas foram compostas de nove fileiras de 100 m x 10 m. Em 2012, as parcelas foram compostas de nove fileiras de 11,1 m x 1,8 m, sendo o espaçamento entre linhas de 0,17 m. A adubação de base foi de 250 kg ha⁻¹ de NPK (5-25-25), mais 100 kg ha⁻¹ de nitrogênio aplicado no afilamento e mais 100 kg ha⁻¹ no emborrachamento. O controle de ervas daninha foi realizado com controle químico e o combate de formigas cortadeiras com a aplicação de formicida granulado. O controle de pragas e moléstias foi realizado de acordo com as informações técnicas para trigo (Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 2013).



Figura 2 – Demonstração das parcelas de trigo de cada ano: (A) Parcela do primeiro ano de plantio; (B) Parcela do segundo ano de plantio; Fotos: SCARIOT, G. (2011 e 2012).

Para a mensuração dos caracteres morfológicos em 2011, as plantas em estágio de maturação (estádio 90 da escala de Zadoks et al., 1974) (Figura 3), foram cortadas rente ao solo e armazenadas em temperatura entre 25° C a 30° C, sem umidade, até serem analisados 20 afilehos principais de cada planta por cultivar, para ter a máxima expressão.

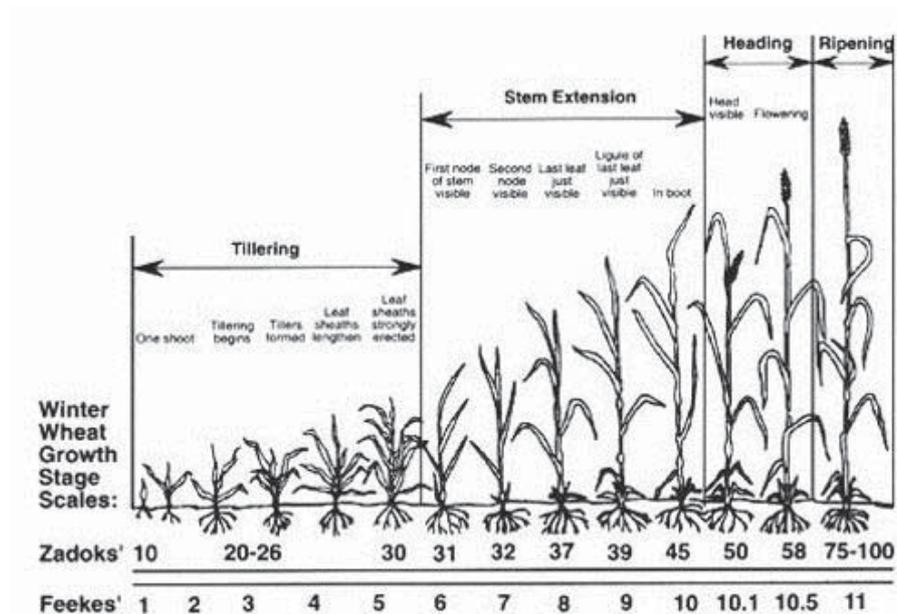


Figura 3 – Escalas de desenvolvimento fisiológico dos cereais. Fonte: Zadoks et al. (1974)

O material para todas as análises foi obtido através da semeadura no campo no ano de 2011. Da parcela de cada cultivar foi coletado plantas inteiras para a análise morfológica, espigas na fase anterior à antese para a citogenética e sementes, colhidas na fase final do ciclo de desenvolvimento, para as análises moleculares. Para esta última coleta, espigas de plantas individuais foram ensacadas para obtenção de sementes geneticamente puras, evitando-se, desse modo polinizações indevidas.

Especificamente em 2012, foram coletadas plantas inteiras e analisados 30 afilhos das cinco cultivares. A metodologia levou em conta as instruções para execução dos ensaios de Distinguilidade, Homogeneidade e Estabilidade de cultivares de trigo (BRASIL, 2013b) e conforme (SCHEEREN, 1984). As plantas foram

caracterizadas de acordo com os descritores mínimos para trigo para caracteres multicategóricos e caracteres quantitativos.

Os caracteres multicategóricos avaliados foram: forma do ombro da gluma (FOGL) e forma do grão (FG). Os caracteres quantitativos foram: número de espiguetas por espiga (NE); número de grãos por espiga (NG); comprimento da espiga (CE); densidade da espiga (DE); comprimento da gluma (CGL); largura da gluma (LGL); comprimento do dente da gluma (CDGL); largura do grão (LG), comprimento do grão (CG) e altura da planta (AP).

Para comprimento de espiga, os descritores foram analisados com régua. Para avaliar a densidade da espiga foram retiradas todas as espiguetas e medido o comprimento da distância dos dez internódios centrais. Foi contado o número de espiguetas por espiga e o número de grãos por espiguetas. Foi usado um paquímetro para medir o comprimento e largura da gluma, do grão e o comprimento do dente da gluma. Para obtenção da medida da gluma, retirou-se a gluma da sétima espiguetas contada da esquerda para a direita da base para o ápice da espiga. Da mesma posição que foi retirada a gluma, retirou-se o grão para ser efetuada sua medida de comprimento e largura (Figura 4).

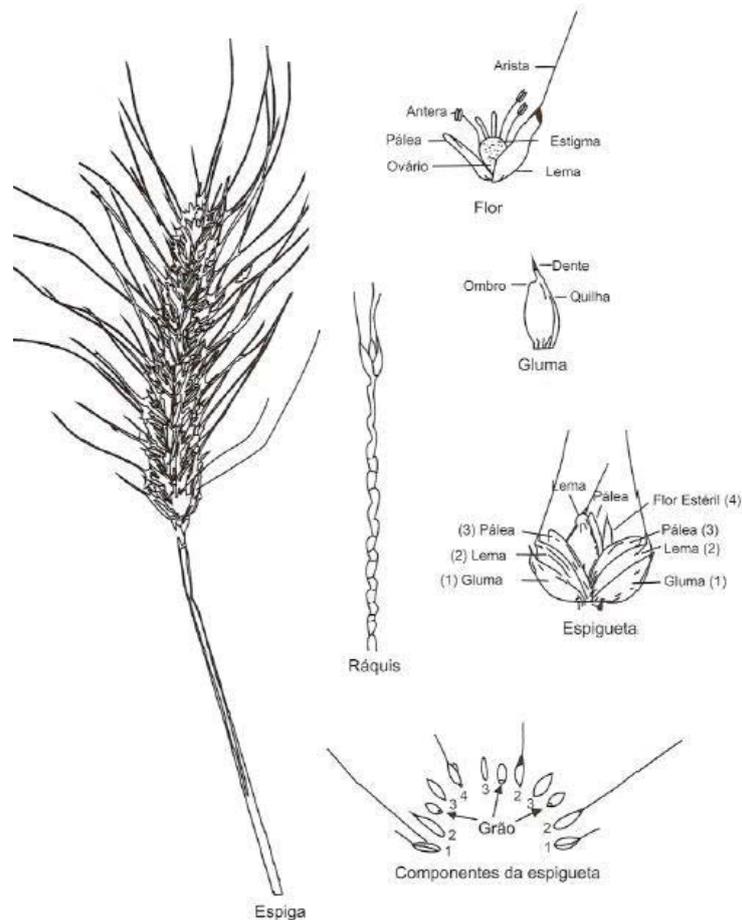


Figura 4 – Espiga de trigo e seus componentes. Fonte: Scheeren (1984).

A partir dos dados originais das variáveis multicategóricas foi obtida a moda para cada amostra, mas, para a análise multivariada, essas variáveis foram caracterizadas como quantitativas discretas ordenadas. Procederam-se às análises de variância, para os caracteres quantitativos, e multivariada, para ambos os tipos de caracteres e comparação de médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. Os dados aferidos foram submetidos à análise de variância, tendo

vido estimada a matriz de distância de Mahalanobis (D^2) (caracteres quantitativos), visando ilustrar a distância entre as amostras. Para analisar as mesmas variáveis transformadas em códigos, também foi gerada a distância euclidiana média (caracteres multicategóricos). Para ilustrar a relação entre as cultivares, mediante dendrogramas, foi escolhido o método ligação média entre grupos (UPGMA). Para os dois tipos de variáveis foram obtidos a contribuição relativa dos caracteres para divergência genética (CRDG), pelo método de Singh (1981). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Genes (CRUZ, 2006). Em delineamento inteiramente casualizado, com uma repetição.

3.2.2 Viabilidade polínica

A coleta das espigas foi feita na fase do espigamento completo e antes da antese (Estádio 10.5 da escala de Feekes e Large), visando o estudo da viabilidade polínica e do tamanho dos grãos de pólen. Foram coletadas 25 espigas totalmente formadas e expostas.

Após a coleta, foi feita a fixação em Carnoy (retirada das folhas e imersão em álcool etílico absoluto e ácido acético, na composição de 3:1) por 24 horas em temperatura ambiente, seguido de armazenamento a -20°C .

As lâminas citológicas foram preparadas a partir de maceração e coloração das anteras oriundas da região central das espigas, utilizando a técnica de “Squash” e a visualização pelo programa Pinnacle Studio Plus, em microscópio óptico Zeiss – Axiolab, com aumento de 400x. O experimento foi conduzido em

delineamento inteiramente casualizado. Com a contagem de 100 grãos de pólen para cada 25 lâminas de pólen por cultivar, sendo, portanto, analisados 2.500 grãos de pólen por cultivar.

Foram analisadas: porcentagem de grãos de pólen vazios ou inviáveis, grãos de pólen uninucleados, bi ou trinucleados, grãos de pólen com tamanhos discrepantes e médias do diâmetro dos grãos de polens.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%, pelo programa Genes (CRUZ, 2006).

3.2.3 Marcadores moleculares

Para as análises moleculares, por meio de marcadores microssatélites, 25 sementes, escolhidas aleatoriamente, de cada uma das cultivares, foram germinadas em papel Germitest até o estágio de plântula, visando obtenção de tecido foliar para extração de DNA.

Para tal, as folhas coletadas foram maceradas em nitrogênio líquido. Para a extração, utilizou-se o tampão CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) (700 μ L) pré-aquecido e adicionado às amostras. Estas foram incubadas a 65° C em banho-maria por 60 minutos, invertendo os tubos, a cada 10 min., seguidas de resfriamento em temperatura ambiente por 5 min. Após, foram utilizados 450 μ L de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), invertido por 10 min, seguida de centrifugação a 10.000 rpm por 10 min. Para precipitar o DNA, foi retirado o sobrenadante (aproximadamente 700 μ L) para novos tubos e adicionados 550 μ L de isopropanol, incubando-se por no mínimo 30

min. a -20° C. O sobrenadante foi retirado e o *pellet* lavado com 600 μ L de etanol 96% deixando secar em temperatura ambiente. Para a ressuspensão do *pellet*, foi utilizado o tampão TE (Tris-HCl 10 mM, pH 8,0; EDTA 1 mM) 100 μ L e adicionado 0,3 μ L de RNase (10mg/mL), misturando-se e incubando-se por 1 h a 37° C. As amostras foram armazenadas a -20° C até o momento do uso.

3.2.3.1 Marcadores microssatélites

As análises moleculares, por meio dos marcadores microssatélites, foram feitas inicialmente pela análise das cultivares individualmente, para verificar sua pureza genética. Neste caso foram avaliadas 25 plantas de cada cultivar, escolhidas aleatoriamente.

Os 12 *primers* utilizados para as análises individuais, de cada cultivar, são descritos no Apêndice 1. A escolha dos *primers* foi devido ao polimorfismo gerado para cada cultivar analisada previamente, havendo diferenciação em alguns casos.

Após a análise individual, foram empregados 85 *primers* microssatélites, sendo que a estratégia empregada foi a de *bulks* de DNA, no que se refere a amostras constituídas pela combinação de várias plantas individuais de uma mesma população em uma única amostra (MICHELMORE et al., 1991), visando à otimização dos resultados.

Para a formação dos *bulks* foram escolhidas 16 plantas de cada cultivar. Foram aliquotados os DNAs individualmente e mantidos todos em um único tubo plástico, sendo que a concentração final do DNA dos *bulks* ficou com 25 $\text{ng}/\mu\text{l}^{-1}$. Os *primers* foram

anteriormente testados no laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo, e somente foram usados aqueles que tiveram polimorfismo entre os *bulks* (Apêndice 2).

As amplificações de PCR foram realizadas em 15µl de solução contendo 0,2 µM de cada *primer* (*forward* e *reverse*), 0,2 mM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl₂, 0,75 U de Taq polimerase, tampão 1X e 100 ng de DNA de cada cultivar em estudo.

As reações foram conduzidas em termociclador GeneAmpThermal Cycler 9700 (Applied Biosystems - ABI) utilizando-se a seguinte programação: um ciclo a 94° C por 3 min; 5 ciclos de 94° C por 1 min, 60° C por 1 min (decrecendo 1° C por ciclo até 55° C), 72° C por 1 min; 30 ciclos de 94° C por 1 min, 55° C por 1 min, 72° C por 1 min; e um ciclo de 72° C por 10 min. Os produtos da amplificação foram identificados em gel de agarose 2% e o marcador DNA Ladder empregado foi de 100 pb, a uma voltagem de 100V e visualizados em fotodocumentador digital GelDoc XR+ (Bio-Rad).

A distância genética entre as cultivares foi avaliada segundo Nei (1972). Os acessos foram agrupados pelo método UPGMA, sendo que as cultivares foram consideradas como unidades taxonômicas operacionais e como caracteres binários as bandas obtidas pelos marcadores. O sistema utilizado para a geração dos dados foi o NTSYS versão 2.1 “Numerical Taxonomy System of Multivariate Analysis System” (ROHLF, 1998).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização morfológica

Os resultados referentes às análises morfológicas, realizadas no ano de 2011, para as cinco cultivares de trigo, estão descritos nas Tabelas 3 a 7. As cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo apresentaram variação para as seguintes características: número de espiguetas por espiga, número de grãos por espiga, comprimento da espiga, densidade da espiga, comprimento da gluma, largura da gluma, largura do grão e comprimento do grão. O coeficiente de variação foi baixo ou médio, permitindo a diferenciação das cultivares com maior exatidão. Entretanto, no caso comprimento do dente da gluma, o coeficiente de variação foi próximo ou maior do que 20%, indicando que essa característica é menos confiável para diferenciar uma cultivar.

Tabela 3 – Características morfológicas da cultivar BRS 327. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
NE (unidades)	15,0	18,0	16,4	5,7
NG (unidades)	31,0	49,0	39,2	11,6
CE (mm)	85,0	109,0	97,9	7,1
DE (mm)	45,0	60,0	52,8	8,2
CGL (mm)	8,5	9,8	9,2	4,4
LGL (mm)	3,4	4,2	3,8	7,3
CDGL (mm)	2,1	3,6	2,8	15,9
LG (mm)	2,9	3,9	3,5	8,4
CG (mm)	5,8	7,4	6,8	6,3

NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Tabela 4 – Características morfológicas da cultivar BRS 331. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011

Caracteres	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
NE (unidades)	13,0	18,0	15,2	8,1
NG (unidades)	40,0	61,0	48,9	11,6
CE (mm)	74,0	90,0	83,6	5,4
DE (mm)	42,0	52,0	47,8	5,3
CGL (mm)	7,9	8,8	8,2	2,8
LGL (mm)	3,4	4,1	3,7	4,9
CDGL (mm)	2,7	4,4	3,4	15,0
LG (mm)	2,9	3,6	3,3	5,1
CG (mm)	5,8	6,8	6,3	4,6

NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Tabela 5 – Características morfológicas da cultivar BRS 374. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
NE (unidades)	12,0	17,0	14,8	7,5
NG (unidades)	32,0	47,0	40,0	10,3
CE (mm)	69,0	80,0	75,1	4,6
DE (mm)	38,0	46,0	41,5	4,3
CGL (mm)	7,4	8,6	7,9	4,5
LGL (mm)	3,1	4,6	3,8	8,5
CDGL (mm)	1,8	3,8	2,7	19,7
LG (mm)	3,3	3,9	3,7	4,3
CG (mm)	6,5	7,4	7,0	3,8

NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Tabela 6 – Características morfológicas da cultivar BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
NE (unidades)	13,0	18,0	15,0	9,7
NG (unidades)	34,0	63,0	41,9	16,7
CE (mm)	68,0	100,0	81,2	9,8
DE (mm)	43,0	51,0	46,8	4,3
CGL (mm)	7,9	9,4	8,6	4,5
LGL (mm)	3,1	4,3	3,7	7,9
CDGL (mm)	2,5	13,0	5,5	40,9
LG (mm)	3,3	3,9	3,6	3,9
CG (mm)	5,8	6,8	6,4	4,7

NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; GGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Tabela 7 – Características morfológica da cultivar de trigo BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
NE (unidades)	17,0	22,0	19,2	7,0
NG (unidades)	41,0	65,0	52,6	13,1
CE (mm)	94,0	108,0	99,1	3,8
DE (mm)	40,0	51,0	46,2	6,1
CGL (mm)	8,4	9,3	8,8	2,9
LGL (mm)	3,6	4,6	4,1	7,1
CDGL (mm)	1,8	4,0	2,7	20,9
LG (mm)	3,1	3,8	3,5	5,0
CG (mm)	6,4	7,7	7,1	5,3

NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Durante a condução dos experimentos, na safra de 2011, de maneira geral, as condições climáticas (temperaturas e precipitação pluviométrica) ocorridas em todas as regiões foram favoráveis ao bom desenvolvimento da cultura do trigo (Figuras 5 e 6). Os elevados rendimentos obtidos na maioria das regiões confirmaram o ano

favorável. Porém, os fenômenos climáticos foram adversos no ano de 2012, registrando temperaturas acima da média (Figura 7), geadas em setembro, além de granizo e chuva durante a colheita, com precipitação mensal variando de 28,1 mm em agosto e de 253,2 mm em outubro (Figura 8). Esses dados climáticos corroboram que, se um ano é bom para a triticultura, as características genéticas e as morfológicas, que apresenta forte influência ambiental, como, umidade relativa elevada, geada e seca no espigamento, bem como chuva na colheita, podem ser verificadas com maior exatidão, pois favorece a expressão dos genes envolvidos.

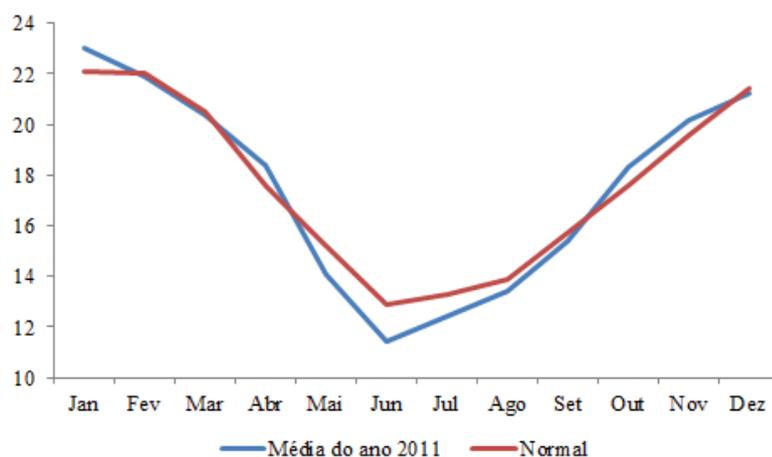


Figura 5 – Gráfico de temperatura média do ano de 2011. Fonte: Embrapa (2013c).

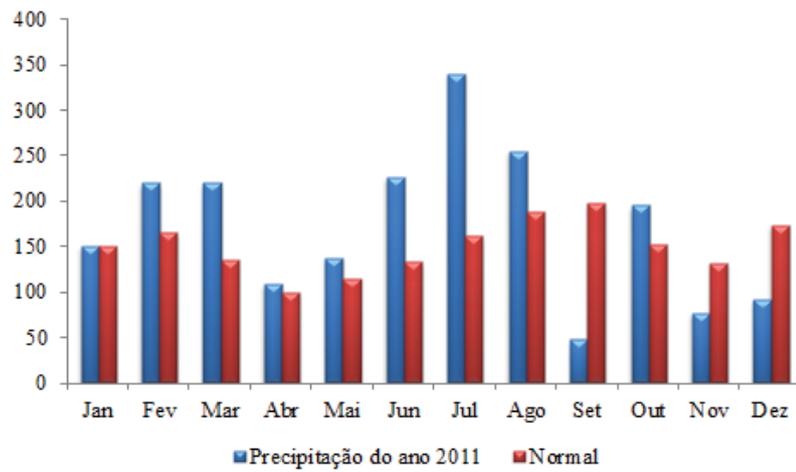


Figura 6 – Gráfico de precipitação do ano de 2011. Fonte: Embrapa (2013c).

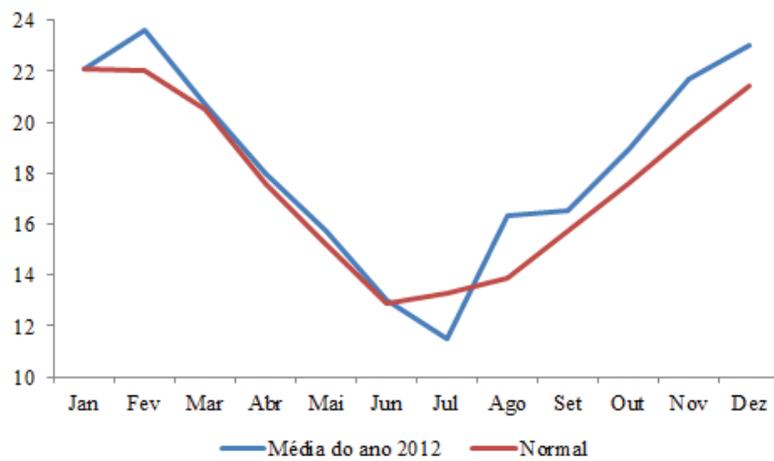


Figura 7 – Gráfico de temperatura média do ano de 2012. Fonte: Embrapa (2013c).

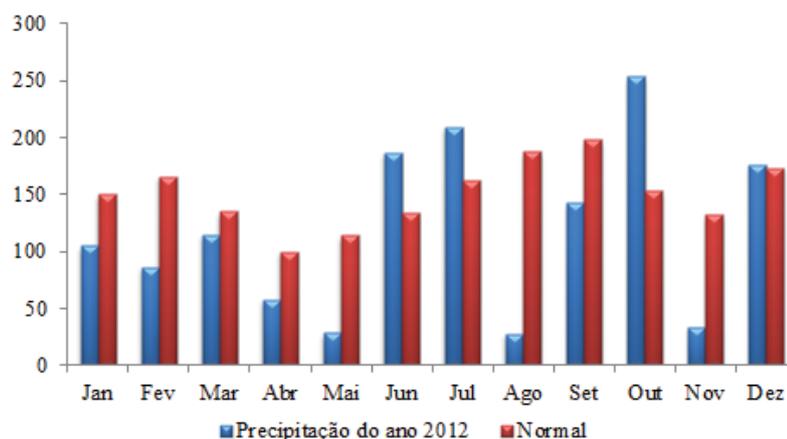


Figura 8 – Gráfico de precipitação do ano de 2012. Fonte: Embrapa (2013c).

Em relação a cultivar BRS 327, a média variou de 85,53 cm, altura de planta, para 3,35 mm, largura da gluma. Média para o maior valor foi de 109 mm, comprimento da espiga. Média para o menor valor foi de 2,9 mm, largura da gluma. Os coeficientes de variação mostraram que para, comprimento do dente da gluma e número de grãos por espiga, os valores foram, 24,36%, 26,32% respectivamente, considerado alto para ser um caractere confiável para diferenciar as cultivares. Para as demais características foi abaixo de 10% ou médio, entre 10 e 15%, o que permitiu diferenciar com maior exatidão as cultivares (Tabela 8).

Tabela 8 – Características morfológicas da cultivar de trigo BRS 327. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
AP (cm)	77,0	95,0	85,5	5,2
NE (unidades)	11,0	17,0	13,2	13,0
NG (unidades)	14,0	37,0	24,4	26,3
CE (mm)	64,0	109,0	82,7	13,3
DE (mm)	43,0	57,0	50,9	6,9
CGL (mm)	7,9	9,8	8,9	4,9
LGL (mm)	2,9	3,9	3,4	7,3
CDGL (mm)	2,9	7,7	5,0	24,4
LG (mm)	3,2	3,9	3,6	5,5
CG (mm)	6,0	7,3	6,8	5,6

AP: altura de planta; NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Com relação às características descritas para registro, a cultivar de trigo BRS 327 caracteriza-se pela resistência às doenças de manchas de folha e estabilidade de rendimento de grãos. É moderadamente resistente (MR) ao vírus do mosaico do trigo, à geadas na fase de crescimento e à toxicidade de alumínio do solo. BRS 327 tem altura de planta de médio/alto (média de 94 cm). As aurículas são predominantemente incolores. A espiga é caracteristicamente fusiforme (SILVA, 2010).

Para a cultivar BRS 331, a média variou de 80,4 mm para comprimento de espiga, a 3,1 mm na largura do grão. Média para o maior e menor valor foi de 101 mm para comprimento da espiga e 2,4 mm para largura da gluma, respectivamente. Para o CV, a média foi de, 38,7%, comprimento do dente da gluma, 41,1%, número de grãos espiga e 15,1%, número de espiguetas por espiga. CV próximo e

maior que 20%. Para as demais características o CV foi abaixo de 10% ou médio entre 10 e 15% (Tabela 9).

Tabela 9 – Características morfológicas da cultivar de trigo BRS 331. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
AP (cm)	58,0	93,0	74,4	8,8
NE (unidades)	10,0	17,0	13,0	15,1
NG (unidades)	3,0	50,0	26,0	41,1
CE (mm)	55,0	101,0	80,4	13,7
DE (mm)	43,0	68,0	51,8	8,7
CGL (mm)	7,3	9,2	8,0	5,3
LGL (mm)	2,4	3,8	3,1	12,5
CDGL (mm)	3,3	11,7	5,6	38,7
LG (mm)	2,5	3,6	3,1	9,3
CG (mm)	6,0	7,0	6,5	4,2

AP: altura de planta; NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Conforme a sua descrição (SCHEEREN et al., 2011) esta cultivar apresenta como características: ciclo superprecoce (130 dias em média no município de Passo Fundo), resistência ao acamamento e moderada resistência à geada em fase vegetativa. É moderadamente suscetível à debulha natural e ao crestamento. Com relação aos estresses bióticos, apresenta reação de moderada resistência ao Vírus do Mosaico do Trigo (VMT). Além do mencionado, por ser um trigo duplo-haploide, a cultivar BRS 331 apresentou, na sua criação, a vantagem de redução do tempo necessário para atingir a homozigose. As plantas originadas por esta técnica são totalmente uniformes em apenas um ano, ao invés de vários autocruzamentos, necessários pra atingir a homozigose na maneira tradicional. Esse método também é

benéfico para os produtores e consumidores, onde características agronômicas e de qualidade podem ser desenvolvidas mais rapidamente (BARAKAT et al., 2013).

Em relação a cultivar BRS 374, a média foi de, 70 mm para comprimento da espiga e 3,1 mm para largura da gluma. A média para o maior e menor valor foi de, 80 mm, para comprimento da espiga, e 2,21 mm, para comprimento do dente da gluma. Coeficiente de variação maior que 20% esteve presente nas características, número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma, 26,9% e 22,6% respectivamente. Para as demais características o CV foi abaixo de 10% ou médio, entre 10 e 15% (Tabela 10).

Tabela 10 – Características morfológicas da cultivar de trigo BRS 374. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
AP (cm)	46,0	78,0	67,00	10,5
NE (unidades)	10,0	16,0	13,00	11,00
NG (unidades)	6,0	38,0	25,4	26,9
CE (mm)	55,0	80,0	70,0	7,5
DE (mm)	35,0	50,0	40,6	7,7
CGL (mm)	7,3	8,5	7,8	3,6
LGL (mm)	2,6	3,9	3,1	10,9
CDGL (mm)	2,2	5,4	3,5	22,6
LG (mm)	2,6	3,8	3,4	9,2
CG (mm)	5,3	7,3	6,4	6,9

AP: altura de planta; NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Em relação à descrição da cultivar para registro no RNC, a cultivar BRS 374 caracteriza-se pela precocidade (136 dias em média no município de Passo Fundo) e moderada resistência à geada em fase

vegetativa. Com relação aos estresses bióticos, caracteriza-se por ser moderadamente suscetível ao VMT (Vírus do Mosaico do Trigo) (CAIERÃO, 2011).

A cultivar BRS Guamirim apresentou, na média, valores entre 72 mm, para comprimento da espiga e 3,0 mm, para largura da gluma. A média para maior e menor valor foi de 87,0 mm, para comprimento da espiga e 2,3 mm, para largura da gluma, respectivamente. Próximo ou maior do que 20%, o CV foi de, 38,6%, para número de grãos por espiga, 28,0%, para comprimento do dente da gluma e 16,4%, para número de espiguetas por espiga. Para as demais características o CV foi abaixo de 10% ou médio, entre 10 e 15% (Tabela 11).

Tabela 11 – Características morfológicas da cultivar de trigo BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Caractere	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
AP (cm)	62,0	76,0	68,7	5,3
NE (unidades)	9,0	16,0	12,2	16,4
NG (unidades)	4,0	37,0	20,9	38,6
CE (mm)	58,0	87,0	72,0	11,4
DE (mm)	42,0	51,0	46,9	5,5
CGL (mm)	7,4	9,2	8,4	5,7
LGL (mm)	2,3	3,4	3,0	11,3
CDGL (mm)	4,4	14,4	8,3	28,0
LG (mm)	2,5	3,8	3,3	8,3
CG (mm)	5,8	6,7	6,3	3,7

AP: altura de planta; NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

Em sua descrição (SCHEEREN et al., 2007) BRS Guamirim é descrito como sendo um trigo de primavera e que possui

estatura baixa, com média de 78 cm de comprimento nos anos de avaliação em ensaios para registro. Apresenta ciclo precoce, tanto no período da emergência ao espigamento (média de 74 dias – variação de 70 a 77, em Passo Fundo), quanto da emergência à maturação (média de 125 dias – variação de 123 a 127, em Passo Fundo). Com relação aos principais estresses abióticos do trigo, a cultivar BRS Guamirim caracteriza-se por ser moderadamente suscetível à geada na fase vegetativa e moderadamente resistente ao crestamento. Para as moléstias, a cultivar é suscetível ao vírus do mosaico do trigo, onde as plantas com sintomas apresentam coloração verde-clara a amarelo e reduzido crescimento. A doença influencia no perfilhamento, na formação de espigas e no enchimento de grãos, com consequente queda na produtividade da cultura. BRS Guamirim é descrita como uma cultivar com folha bandeira predominantemente ereta (85% das situações), e aurículas incolores (82,5% das situações).

Para a cultivar BRS Parrudo, a média variou de 87,7 mm, para comprimento da espiga, 3,1 mm, para largura da gluma. Para o maior e menor valor, a média foi de, 104,0 mm, para comprimento da espiga, 1,9 mm, para comprimento do dente da gluma, respectivamente. Para as características, comprimento do dente da gluma, número de grãos por espiga e número de espiguetas por espiga, o CV foi de 30,1%, 26,0%, e 17,4%, respectivamente, próximo ou maior do que 20%. Para as demais características, os coeficientes foram abaixo de 10% ou médio, entre 10 e 15% (Tabela 12).

Tabela 12 – Características morfológicas da cultivar de trigo BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Caracteres	Menor valor	Maior valor	Média	CV (%)
AP (cm)	60,0	90,0	75,3	8,9
NE (unidades)	10,0	20,0	15,3	17,4
NG (unidades)	14,0	49,0	35,4	26,0
CE (mm)	73,0	104,0	87,7	9,7
DE (mm)	33,0	54,0	45,4	11,0
CGL (mm)	7,6	9,1	8,5	4,6
LGL (mm)	2,4	4,3	3,4	14,4
CDGL (mm)	1,9	5,5	3,3	30,1
LG (mm)	2,0	3,7	3,1	10,5
CG (mm)	5,8	7,2	6,5	5,1

AP: altura de planta; NE: número de espiguetas por espiga; NG: número de grãos por espiga; CE: comprimento da espiga; DE: densidade da espiga; CGL: comprimento da gluma; LGL: largura da gluma; CDGL: comprimento do dente da gluma; LG: largura do grão; CG: comprimento do grão.

BRS Parrudo é uma cultivar de porte baixo a médio (com média de 85 cm) e ciclo precoce, 85 dias até o espigamento e 135 dias até a maturação. É moderadamente resistente à geada na fase vegetativa. Com relação a estresses bióticos, apresenta reação de resistência ao vírus do mosaico do trigo (VMT) (EMBRAPA, 2013b).

Os resultados indicaram que, para número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma as cinco cultivares apresentaram CV próximo ou acima de 20%. Para a característica número de espiguetas por espiga, somente as cultivares BRS Guamirim e BRS Parrudo apresentaram CV próximo ou acima de 20%.

As características que apresentaram CV próximo ou maior do que 20% indicam que essas não são confiáveis para diferenciar cultivares entre si. Tal situação pode ser respaldada pelo fato de que nos requisitos mínimos para determinação do valor de cultivo e uso do

trigo para inscrição no Registro Nacional de Cultivares – RNC, não são considerados resultados de experimentos com coeficientes de variação superiores a 20%. Quanto menor o coeficiente de variação (menor ou igual a 15%) mais homogêneo é o conjunto de dados (BRASIL, 2013d). Ressalta-se, deste modo, que o presente trabalho, foi baseado nas normas oficiais do Brasil, em que todas as observações para determinação de distinção e de estabilidade devem ser feitas em, no mínimo, 20 plantas ou partes de 20 plantas. (BRASIL, 2013b).

Semelhante, trabalho feito por Scariot & Scheeren (2010) com linhagens de trigo (LPF 01, LPF 02, LPF03, LPF 04, LPF 05, LPF 06 e LPF 07), também demonstraram que número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma apresentaram CV maior do que 15%.

Bered et al. (2002), buscando caracterizar germoplasma de trigo de origens e épocas distintas, analisaram o progresso genético e a modificação do ciclo e estatura ocorridos a partir da década de 30 até a atual, e buscando verificar a variabilidade genética disponível mediante o agrupamento dos genótipos de trigo de acordo com os caracteres adaptativos, constataram que reduções expressivas na estatura das plantas e no ciclo vegetativo do trigo, ocorridas nas últimas décadas, permitem drástica modificação nesses caracteres de importância adaptativa.

Atualmente, a caracterização de germoplasma tem sido explorada de diversas formas. No entanto, muito pouco vem sendo realizado para a classificação dos genótipos considerando os caracteres de importância agronômica, embora represente pré-

requisito para uma seleção eficiente de pais para o programa de melhoramento (ZEULI et al., 1987). Segundo Beuningen et al. (1997), apesar da ocorrência indesejável da interação genótipo x ambiente na avaliação de caracteres morfológicos quantitativos em trigo, esse tipo de estudo apresenta muitas vantagens, tais como a utilização de genótipos uniformes com caracteres altamente herdáveis e uma frequente ocorrência de heterose quando cruzados genótipos diferenciados a partir de caracteres morfológicos.

Em alguns países, os testes de DHE são realizados de forma centralizada, ou seja, são conduzidos por uma autoridade (geralmente, uma instituição oficial) em nome de terceiros, proporcionando maior controle sobre as variáveis envolvidas nos exames. Isso porque todas as cultivares são testadas sob as mesmas condições ambientais. Em alguns casos, os melhoristas participam dos testes no campo em diversos níveis de interação (SANTOS et al., 2011).

No Brasil, o sistema de proteção de cultivares permite que os melhoristas conduzam os testes de DHE e produzam um relatório final com os resultados, de acordo com os princípios contidos nas diretrizes de DHE da espécie avaliada. O Canadá, a Austrália e os Estados Unidos utilizam sistema parecido com o do Brasil, conhecido como Breeder Testing System (Sistema de Testes pelo Melhorista). Nesses países, os ensaios também são conduzidos por melhoristas, obtentores ou agentes contratados. Como ocorre no país, os respectivos escritórios de proteção de cultivares realizam a análise dos dados encaminhados pelos obtentores e, quando necessário, fazem ensaios adicionais para verificação dos resultados. Um componente

muito importante nos sistemas de proteção é a publicação prévia dos pedidos de proteção em análise, gerando oportunidade para revisões ou eventuais impugnações por terceiros (SANTOS et al., 2011).

Entretanto, algumas características, como comprimento da gluma e comprimento do grão não constam nos descritores da União Internacional para Proteção das Obtenções Vegetais (UPOV), fato, que levou o Ministério da Agricultura, juntamente com empresas de sementes e instituições de pesquisa a discutirem a validade dos alguns descritores do SNPC. Atualmente, alguns descritores de trigo estão em fase de análise para sua validação e uso como descritores de trigo. O trabalho está em fase de avaliação e, caso sejam validados os descritores, deverão ser objeto de publicação no Diário Oficial da União, informando sobre tais alterações e quais características que farão parte do registro e/ou proteção de cultivares.

Os requisitos técnicos para proteção de uma cultivar resultam na elevação do padrão da qualidade genética das cultivares disponibilizadas aos agricultores, sobretudo em termos de uniformidade e de manutenção de sua identidade. Portanto, os descritores morfológicos devem ser revisados quanto à sua eficácia, bem como, conforme o ano e o ambiente em que estão sendo avaliados.

Com relação aos resultados obtidos para caracteres quantitativos, para a safra 2011, os valores da distância euclidiana média (D), indicaram as cultivares BRS 327 e BRS 374 como as mais divergentes. A maior similaridade verificou-se nas cultivares BRS 331 e BRS Guamirim (Tabela 13).

Em relação aos valores da distância euclidiana média (D) para caracteres multicategóricos, para o ano de 2011, apontou as cultivares BRS Guamirim e BRS Parrudo como as mais divergentes. A maior similaridade foi verificada entre as cultivares BRS 331 e BRS Guamirim (Tabela 14).

Tabela 13 - Matriz de distância de Mahalanobis a partir dos caracteres quantitativos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2011

	BRS 327	BRS 331	BRS 374	BRS Guamirim	BRS Parrudo
BRS 327	0				
BRS 331	27,95	0			
BRS 374	37,66	14,91	0		
BRS Guamirim	23,73	11,22	17,94	0	
BRS Parrudo	19,96	20,18	21,46	26,83	0

Tabela 14 - Matriz de distância Euclidiana a partir dos caracteres multicategóricos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2011

	BRS 327	BRS 331	BRS 374	BRS Guamirim	BRS Parrudo
BRS 327	0				
BRS 331	1,37	0			
BRS 374	1,43	0,92	0		
BRS Guamirim	1,58	0,79	1,21	0	
BRS Parrudo	1,69	1,50	1,62	1,70	0

A contribuição relativa dos caracteres quantitativos para divergência genética no ano de 2011 variou de 1,731% (largura da gluma) a 26,03% (comprimento da espiga) (Tabela 15). O segundo caractere com maior CRDG foi o comprimento da gluma, com 17,44% de contribuição.

Tabela 15 – Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2011

Caractere	Valor (%)
Número de espiguetas por espiga	10,7955
Número de grãos por espiga	9,6723
Comprimento da espiga	26,0361
Densidade da espiga	10,5666
Comprimento da gluma	17,4473
Largura da gluma	1,7319
Comprimento do dente da gluma	10,0101
Largura do grão	4,5078
Comprimento do grão	9,2325

A contribuição relativa dos caracteres multicategóricos para divergência genética, no ano de 2011, variou de 2,325% (comprimento da gluma e largura da gluma) a 37,209% (forma do grão) (Tabela 16). O segundo caractere com maior CRDG foi a forma do ombro da gluma, com 32,6% de contribuição.

Tabela 16 - Contribuição relativa dos caracteres multicategóricos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2011

Caractere	Valor (%)
Comprimento da espiga	13,9535
Densidade da espiga	5,814
Forma do ombro da gluma	32,5581
Comprimento da gluma	2,3256
Largura da gluma	2,3256
Comprimento do dente da gluma	3,4884
Comprimento do grão	2,3256
Forma do grão	37,2093

Com base nas matrizes de distâncias genéticas geradas, foram construídos dois dendrogramas por ano de safra, um com os caracteres quantitativos e outro com os caracteres multicategóricos.

Entre os métodos de agrupamento das médias das distâncias, o UPGMA representou de forma mais adequada a matriz de distância euclidiana média.

O dendrograma dos caracteres quantitativos, da safra 2011, (Figura 9) proporcionou uma divisão das cultivares em quatro grupos, um para a cultivar BRS 331 e BRS Guamirim, evidenciando que, de uma maneira geral, apresentam uniformidade para os caracteres; um para BRS 374; um para BRS 327 e um grupo para a cultivar BRS Parrudo.

Para o dendrograma dos caracteres multicategóricos (Figura 10) também se formaram os mesmos quatro grupos, considerando-se como ponto de corte 50% de distância relativa entre as amostras.

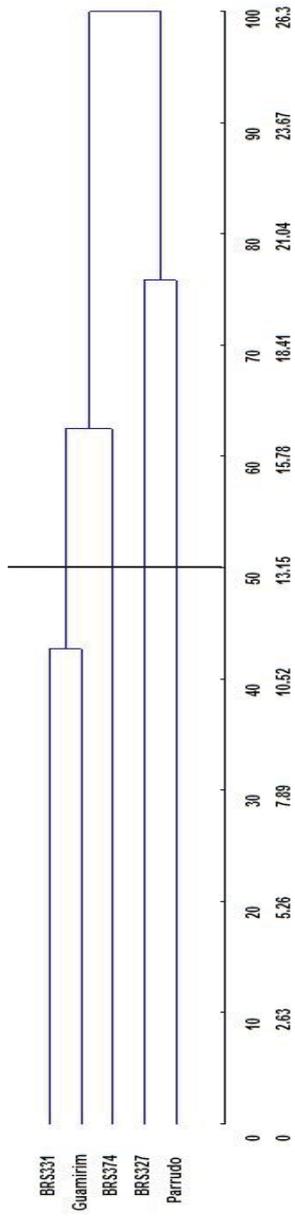


Figura 9 – Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para os caracteres quantitativos para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, ano 2011.

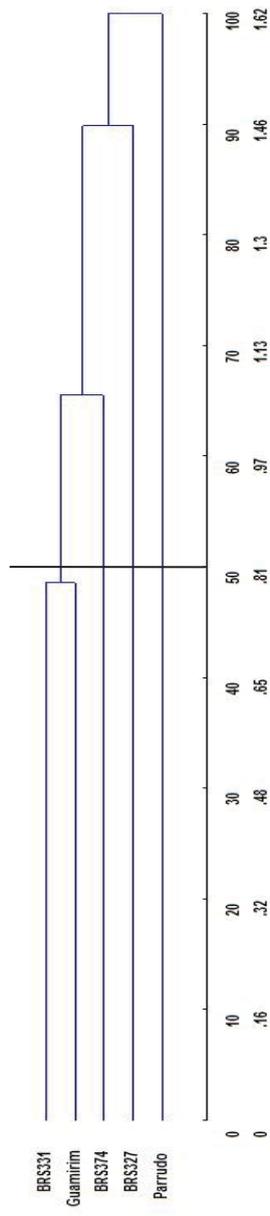


Figura 10 - Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para os caracteres multicategóricos para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, ano 2011.

Para os valores da distância euclidiana média (D) para caracteres quantitativos, no ano de 2012, indicaram as cultivares BRS 327 e BRS 374 como as mais divergentes ($D = 31,37$). A maior similaridade ($D = 8,24$) verificou-se nas cultivares BRS 331 e BRS Parrudo (Tabela 17). Para os caracteres multicategóricos, a distância euclidiana média (D) indicou as cultivares BRS 331 e BRS 374 como as mais divergentes ($D = 1,76$). A maior similaridade ($D = 0,76$) ficou entre as cultivares BRS 331 e BRS Parrudo (Tabela 18).

Tabela 17 - Matriz de distância de Mahalanobis a partir dos caracteres quantitativos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

	BRS 327	BRS 331	BRS 374	BRS Guamirim	BRS Parrudo
BRS 327	0				
BRS 331	16,49	0			
BRS 374	31,37	21,16	0		
BRS Guamirim	16,19	15,38	12,86	0	
BRS Parrudo	17,40	8,24	13,23	16,70	0

Tabela 18 - Matriz de distância Euclidiana a partir dos caracteres multicategóricos das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

	BRS 327	BRS 331	BRS 374	BRS Guamirim	BRS Parrudo
BRS 327	0				
BRS 331	1,53	0			
BRS 374	1,53	1,76	0		
BRS Guamirim	1,66	1,54	1,25	0	
BRS Parrudo	1,33	0,76	1,17	1,34	0

A contribuição relativa dos caracteres quantitativos (CRCG) para divergência genética, no ano de 2012, variou de 0,157% (comprimento do grão) a 27,378% (altura da planta) (Tabela 19). O segundo caractere com maior CRDG foi a densidade da espiga, com 15,526% de contribuição. Para a contribuição relativa dos caracteres

multicategóricos para divergência genética, no ano de 2012, variou de 3,636% (comprimento da gluma) a 50,909% (forma do ombro da gluma) (Tabela 20).

Tabela 19 – Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Caractere	Valor (%)
Altura da planta	27,3788
Número de espiguetas por espiga	0,7381
Número de grãos por espiga	5,3089
Comprimento da espiga	7,3916
Densidade da espiga	15,5269
Comprimento da gluma	15,5262
Largura da gluma	1,4696
Comprimento do dente da gluma	15,1149
Largura do grão	11,3872
Comprimento do grão	0,1577

Tabela 20 – Contribuição relativa dos caracteres multicategóricos para a divergência genética das cultivares de trigo BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS Guamirim e BRS Parrudo, pelo método de Singh (1981). Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

Caractere	Valor (%)
Altura da planta	14,5455
Comprimento da espiga	18,1818
Densidade da espiga	12,7273
Forma do ombro da gluma	50,9091
Comprimento da gluma	3,6364

O dendrograma gerado a partir dos caracteres quantitativos, do ano 2012, (Figura 11) indicou a formação de quatro grupos: um para as cultivares BRS 331 e BRS Parrudo, destacando que, de uma maneira geral, apresentam uniformidade para os caracteres; um para BRS 374; um para BRS Guamirim e um grupo para a cultivar BRS 327. O dendrograma dos caracteres

multicategóricos (Figura 12) também apresentou a formação dos mesmos quatro grupos.

A estimativa da distância genética entre cultivares pode ser útil em um programa de melhoramento para o direcionamento de hibridações e no conhecimento do germoplasma disponível. Os estudos de dissimilaridade genética têm sido de grande importância em programas de melhoramento que envolvem hibridações, pois fornecem parâmetros para a identificação de genitores que possibilitem grande efeito heterótico na progênie e maior probabilidade de recuperação de genótipos superiores (CRUZ & REGAZZI, 1997), visto que a heterose e a capacidade específica de combinação entre dois genitores dependem da existência de dominância no controle do caráter e da presença de dissimilaridade entre os genitores (FALCONER, 1987).

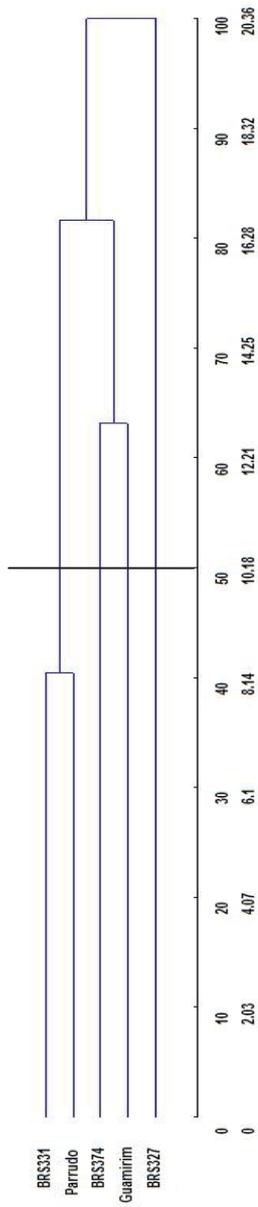


Figura 11 - Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para caracteres quantitativos, para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS 374, BRS 374, BRS 327, safra 2012.

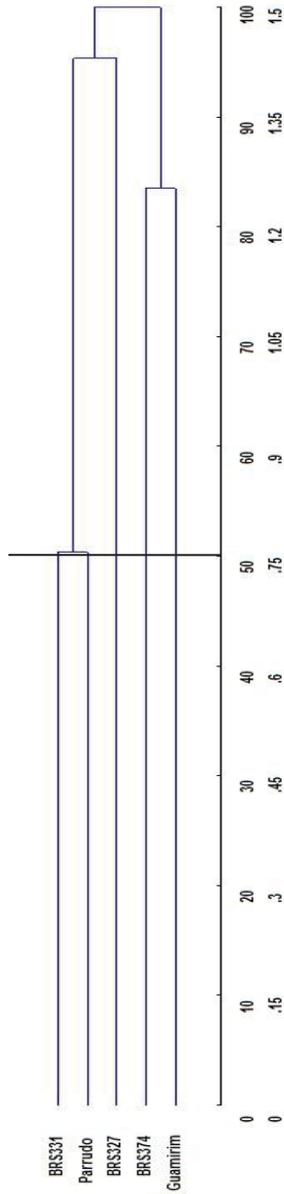


Figura 12 - Dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA para caracteres multicategóricos, para as cultivares BRS 327, BRS 331, BRS 374, BRS 374, BRS 374, BRS 327, safra 2012.

4.2 Viabilidade polínica

As análises da viabilidade polínica permitiram verificar a porcentagem de grãos de pólen viáveis/inviáveis das cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS Guamirim, BRS 327 e BRS 374, semeadas em 2011 no campo experimental da Embrapa Trigo. Para tal, foram coletadas 25 espigas, de cada uma destas cultivares, na fase de espigamento completo. A comparação das estimativas da viabilidade dos grãos de pólen para as variáveis normal/viáveis (uninucleados e bi/trinucleados, com amido e um poro) e inviáveis (vazios) é apresentada na (Tabela 21).

Tabela 21 - Porcentagem de grãos de pólen uninucleados, bi ou trinucleados e inviáveis nas cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS Guamirim, BRS 327 e BRS 374. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Cultivar	Uninucleados		Bi/Trinucleados		Inviáveis	
	%		%		%	
BRS Parrudo	1,34	ab	96,88	a	1,52	a
BRS 331	1,16	b	97,32	a	1,23	a
BRS Guamirim	1,57	a	95,84	a	1,47	a
BRS 327	1,20	ab	98,00	a	1,25	a
BRS 374	1,38	ab	96,96	a	1,20	a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

A porcentagem de grãos de pólen normal referiu-se à soma das porcentagens de grãos de pólen uninucleados, bi ou trinucleados. Cabe ressaltar que esta variação foi devida ao momento da coleta das espigas em campo e que a divisão dos núcleos de uni para bi e trinucleados acontece rapidamente e nem sempre se consegue estabelecer o momento exato de coleta, principalmente pela

variação intrínseca de cada cultivar, embora a porcentagem de grãos normal esteja todos dentro do padrão aceitável, ou seja, acima de 90%, conforme especificado por Love (1949). A Figura 13 apresenta os padrões obtidos dos grãos de pólen analisados.

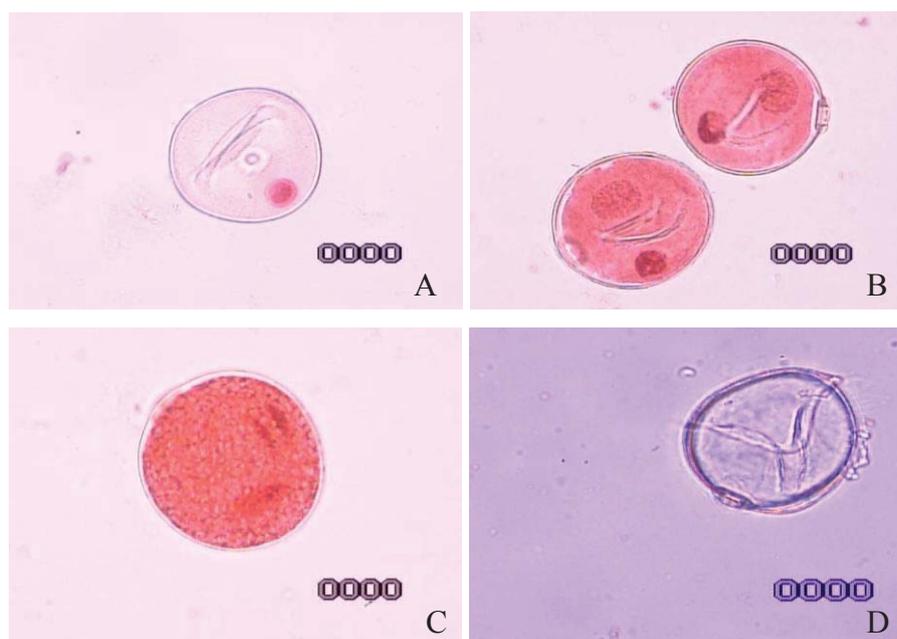


Figura 13 – Grãos de pólen de trigo: (A) uninucleado; (B) binucleados; (C) trinucleado; (D) vazio. Aumento de 400X. Fotos: SCARIOT, G. (2012).

A menor porcentagem de grãos uninucleados observada na cultivar BRS 331 (duplo-haploide) pode ser explicada pelo seu ciclo superprecoce. Por outro lado, a cultivar BRS Guamirim também tem ciclo precoce a superprecoce, embora tenha um longo período de florescimento (período de antese superior a três semanas), o que pode ser uma característica que esteja correlacionada. Para estes casos, sugerem-se novos estudos visando esta constatação.

Análise de viabilidade polínica é extremamente útil como ferramenta de apoio em um programa de melhoramento genético, pois rapidamente se pode examinar centenas de pólenes de modo eficiente (ZANOTTO et al., 2009). Além disso, a seleção assistida via análise citológica de grãos de pólen, é potencialmente útil, uma vez que cruzamentos feitos entre plantas portadoras de pólenes inviáveis resultarão em plantas estéreis e numa menor produção de grãos.

A facilidade e a disponibilidade deste tipo de análise são possíveis, pois esta grande quantidade de células é proveniente da antera, a qual é composta por quatro sacos alongados, os sacos polínicos, que são fusionados e ligados ao filete. No centro de cada saco encontra-se uma coluna de células conhecidas como células-mãe de micrósporos ou células-mãe de pólen, circundadas por um tecido denominado tapete, que nutre e contribui para o desenvolvimento e maturação dos micrósporos. Com o desenvolvimento da antera, cada célula-mãe de micrósporo sofre meiose para produzir quatro micrósporos haploides. Os micrósporos inicialmente permanecem juntos numa tétrade, envoltos por uma parede de calose. Durante o desenvolvimento do pólen uma enzima, a calase, é secretada pelo tapete. A calase digere a parede da tétrade, liberando os micrósporos, que irão formar uma parede celular especialmente resistente e elaborada, passando então a ser denominados grãos de pólen (ZANETTINI & LAUXEN, 2003).

Brambatti (2010), analisando a viabilidade polínica em triticales, menciona que dentre as técnicas da citogenética, o estudo da viabilidade polínica é considerado uma medida de fertilidade masculina, herdável, e capaz de representar o grau de estabilidade dos

genótipos. Quando empregada em programas de melhoramento, a presente técnica fornece subsídios na tomada de decisão pelo melhorista, no momento dos cruzamentos, uma vez que possibilita a escolha de genótipos estáveis.

Com relação à variável diferença de tamanho e a média do diâmetro dos grãos de pólen das cultivares em estudo (Figura 14), estas foram as que apresentaram diferenças estatísticas significantes (Tabela 22).

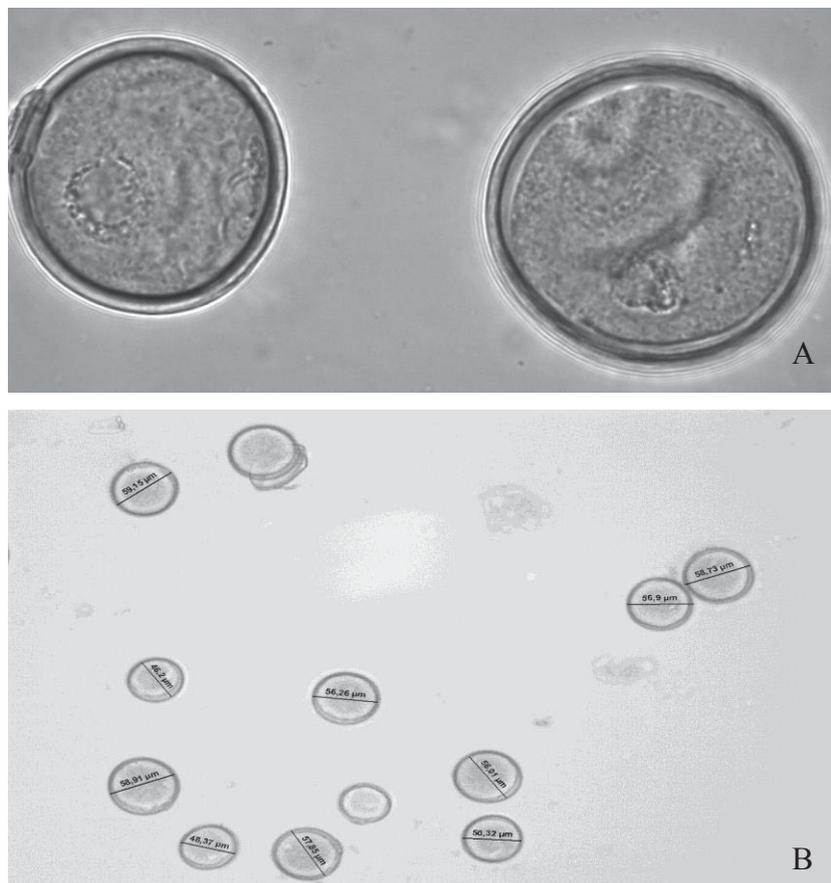


Figura 14 – Grãos de pólen de trigo: (A) Diferença de tamanhos. Aumento de 1000X; (B) Aspecto geral de vários grãos de pólen, com a medida do diâmetro em (µm). Aumento de 20X. Fotos: SCARIOT, G. (2012).

Tabela 22 - Porcentagem de grãos de pólen com tamanho discrepante e média do diâmetro dos grãos de pólen em cinco cultivares de trigo. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Cultivar	Tamanho d	Diâmetro (μm)
BRS Parrudo	1,18 b	53,80 c
BRS 331	1,56 a	57,96 b
BRS Guamirim	1,25 b	58,60 ab
BRS 327	1,31 ab	61,26 ab
BRS 374	1,42 ab	61,77 a

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Em análises citogenéticas realizadas por Cardoso (2007) em trigo e espécies relacionadas evolutivamente, foi constatado que existe uma correlação positiva entre o tamanho do grão de pólen e ploidia com a viabilidade polínica. Em um acesso de *Aegilops tauschii*, diploide ($2n = 2x = 14$) apresentou grãos de pólen com menor diâmetro (39,14 μm) comparado com cultivares de trigos brasileiros e também com sintéticos de *Triticum aestivum*, hexaploides ($2n = 6x = 42$) que apresentaram grãos de pólen bem maiores (55,82 a 59,87 μm). Nos resultados aqui apresentados ocorreu que: a cultivar BRS 374 teve o maior diâmetro com 61,77 μm , e o menor valor de polens inviáveis, 1,20%, ao contrário, a cultivar BRS Parrudo teve o menor diâmetro entre as cultivares, com 53,80 μm , e o valor de polens inviáveis, com 1,52%.

Moraes-Fernandes et al. (1991), visando compreender a problemática ligada às anormalidades observadas no sistema meiótico do trigo e a adaptação do trigo às condições brasileiras, investigaram os fatores genéticos e ambientais envolvidos na elevada incidência de

anormalidades cromossômicas. Os resultados obtidos, pelos autores citados, mostraram em trigo e em triticale, que oscilações drásticas, incluindo estresses de altas e baixas temperaturas, baixa insolação, excesso de água, além de moléstias fúngicas, uso de defensivos e a acidez do solo são fatores importantes no aumento de anormalidades cromossômicas responsáveis pela ocorrência de tipos desviantes.

Dependendo, pois, da severidade das anormalidades cromossômicas, poderá acontecer esterilidade do pólen ou da oosfera portadora da anomalia. Se a fertilidade das células reprodutoras não for afetada e ocorrer a formação do grão, poderão ocorrer problemas que afetam o desenvolvimento posterior, como má germinação, falhas na formação dos estames, anormalidades de ciclo, de porte ou de forma de espiga, até, finalmente, a esterilidade da progênie. Experimentos conduzidos, principalmente com trigo e com aveia, cujos sistemas genéticos são similares, mostraram que o aumento de tipos desviantes, quando causado por falhas no sistema reprodutivo, ocorre numa taxa constante por geração (MORAES-FERNANDES et al., 1991).

O aumento dos desviantes será, no entanto, variável. O importante é distinguir a forma como os desviantes ocorrem na população: se um desviante entrar por mistura mecânica acidental, num estoque inicial, numa porção de 1:50.000 ha⁻¹ (0,4 ha⁻¹), supondo igual adaptação em relação às plantas-padrão da cultivar, continuará ocorrendo na mesma proporção de 1:50.000 ao longo das gerações. Se, porém, o desviante ocorrer na população em função de falhas recorrentes no sistema reprodutivo, que causem anormalidades de ganho ou perda de cromossomo, a mesma proporção inicial de

1:50.000 se transformaria, em sete anos de aumento de estoque, na proporção de 1:7.140, o que já representa uma mistura visível, de acordo com a fórmula $1 - (1 - u)^n$, onde u é a entrada de desviantes por geração e n é o número de geração (JENSEN, 1965).

4.3 Marcadores moleculares

Os resultados dos microssatélites, analisados para as 25 plantas individualmente de cada cultivar, permitiram verificar quais os *primers* que foram monomórficos ou polimórficos. A estratégia de verificar apenas os monomórficos possibilitou que fossem escolhidos 16 DNAs das respectivas plantas para a formação dos *bulks*. A escolha deste número está condizente com a literatura onde podemos encontrar tamanho de *bulks* variando de cinco (GILBERT et al., 1999) até 45 indivíduos (SWEENEY et al., 1995). Da mesma forma, Mellish et al. (2002), fizeram uso de um *bulk* de 15 indivíduos em análise de AFLP para estudar a diversidade genética entre cultivares de uma espécie forrageira do gênero *Agropyron*, o que propiciou a diferenciação das 12 cultivares avaliadas.

A Figura 15 apresenta um gel exemplificativo de como foram analisadas as plantas individualmente.

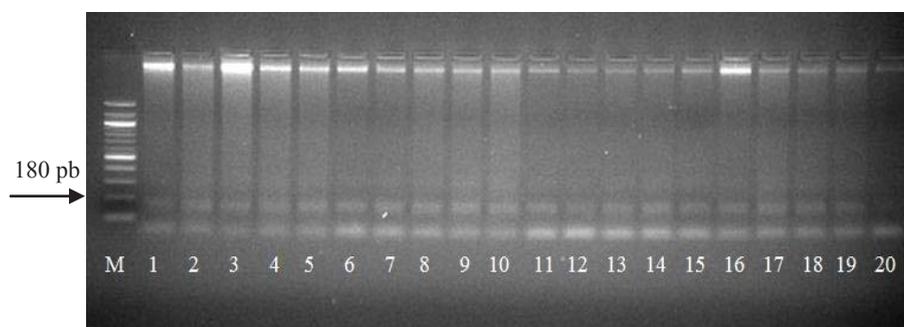


Figura 15 – Padrão molecular de 20 plantas da cultivar BRS Parrudo, evidenciando o alelo de 180 pb. Gel de agarose 2%. *Primer* microssatélite WMS 232. Marcador DNA Ladder de 100pb.

De acordo com Nass (2007), o número de marcas moleculares a ser utilizada, visando analisar a variabilidade genética, depende do tipo de marcador e das características intrínsecas da população avaliada. Dentre os diferentes tipos de marcadores, o uso de marcadores microssatélites vem sendo empregados rotineiramente em programas de melhoramento de muitas espécies, principalmente pelo elevado polimorfismo gerado. De acordo com Röder et al. (1998) e Varshney et al. (2005), marcadores microssatélites, por serem multialélicos, são altamente informativos, podendo ser usados em estudos de evolução e similaridade/diversidade genética.

Ressalta-se que para a utilização de um determinado marcador molecular também é necessário verificar previamente a sua acurácia e a proximidade do marcador com o gene de interesse. Neste contexto, a avaliação das características do marcador certamente refletirá na confiabilidade nos resultados obtidos (MAGO et al., 2011).

Destaca-se, também, que marcadores moleculares, associados ao uso de *bulks* de DNA em estudos de diversidade genética, permitem avaliar um grande número de populações em um curto espaço de tempo, isso porque reduz drasticamente o número de

amostras a serem processadas preservando os alelos mais frequentes de cada população (BRESOLIN et al., 2007).

No presente estudo, o uso de *bulks* para a avaliação da diversidade genética, foi o método de análise mais eficiente, uma vez que foram avaliados 85 *primers*, dos quais 51 (60%) apresentaram polimorfismo: WMS 18, WMC 44, WMS 46, WMS 95, WMS 99, WMS 106, WMS 111, WMS 118, WMS 120, WMS 126, WMS 136, WMS 148, WMS 153, WMS 157, WMS 160, WMS 162, WMS 169, WMS 174, WMS 181, WMS 186, WMS 215, WMS 219, WMS 234, WMS 247, WMS 249, WMS 251, WMS 264, WMS 272, WMS 291, WMS 293, WMS 295, WMS 325, WMS 340, WMS 344, WMS 349, WMS 350, WMS 397, WMS 403, WMS 408, WMS 427, WMS 437, WMS 508, WMS 518, WMS 526, WMS 533, WMS 539, WMS 613, WMS 617, WMS 637, WMS 639 e WMS 664.

A Figura 16, por sua vez, apresenta um gel exemplificativo do padrão obtido com o uso dos *bulks* para as cinco cultivares.

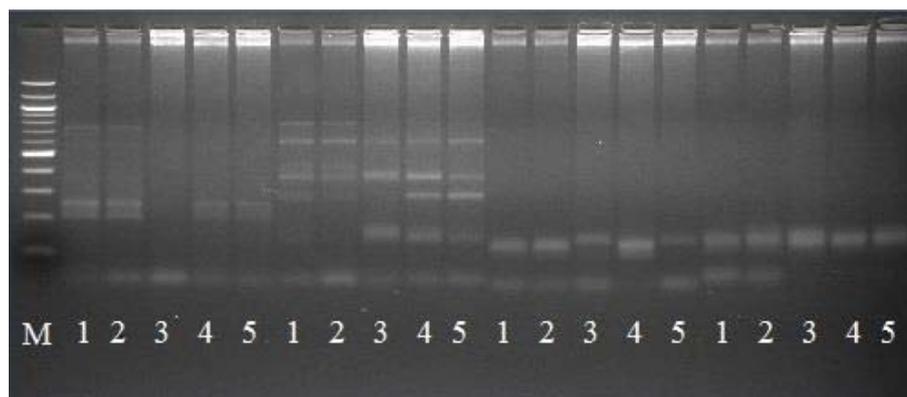


Figura 16 - Polimorfismo obtido para os DNAs das cultivares, representadas em cinco *bulks*, respectivamente: (1) BRS Parrudo; (2) BRS 331; (3) BRS Guamirim; (4) BRS 327; (5) BRS 374. Gel de agarose 2%. *Primers* WMS 162, WMS 174, WMS 181 e WMS 191. Marcador DNA Ladder 100 pb.

As análises da presença/ausência de alelos, obtidos a partir dos marcadores microssatélites, possibilitou a construção da matriz e do dendrograma quanto à distância genética entre as cultivares. A matriz mostrou que as cultivares mais distantes foram BRS Guamirim e BRS Parrudo, e as mais similares foram BRS 331 e BRS Parrudo (Tabela 23). O dendrograma gerado proporcionou uma divisão das cultivares em três grupos: um formado pelas cultivares BRS Parrudo e BRS 331, um para BRS 327 e BRS 374 e um grupo para a cultivar BRS Guamirim (Figura 17), considerando-se como ponto de corte 45% de distância relativa entre as cultivares.

Tabela 23 - Matriz da distância genética de Nei (1972) entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS 327, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, 2012

	BRS Parrudo	BRS 331	BRS Guamirim	BRS 327	BRS 374
BRS Parrudo	0				
BRS331	0,12	0			
BRS Guamirim	0,59	0,49	0		
BRS 327	0,48	0,46	0,49	0	
BRS 374	0,43	0,58	0,53	0,30	0

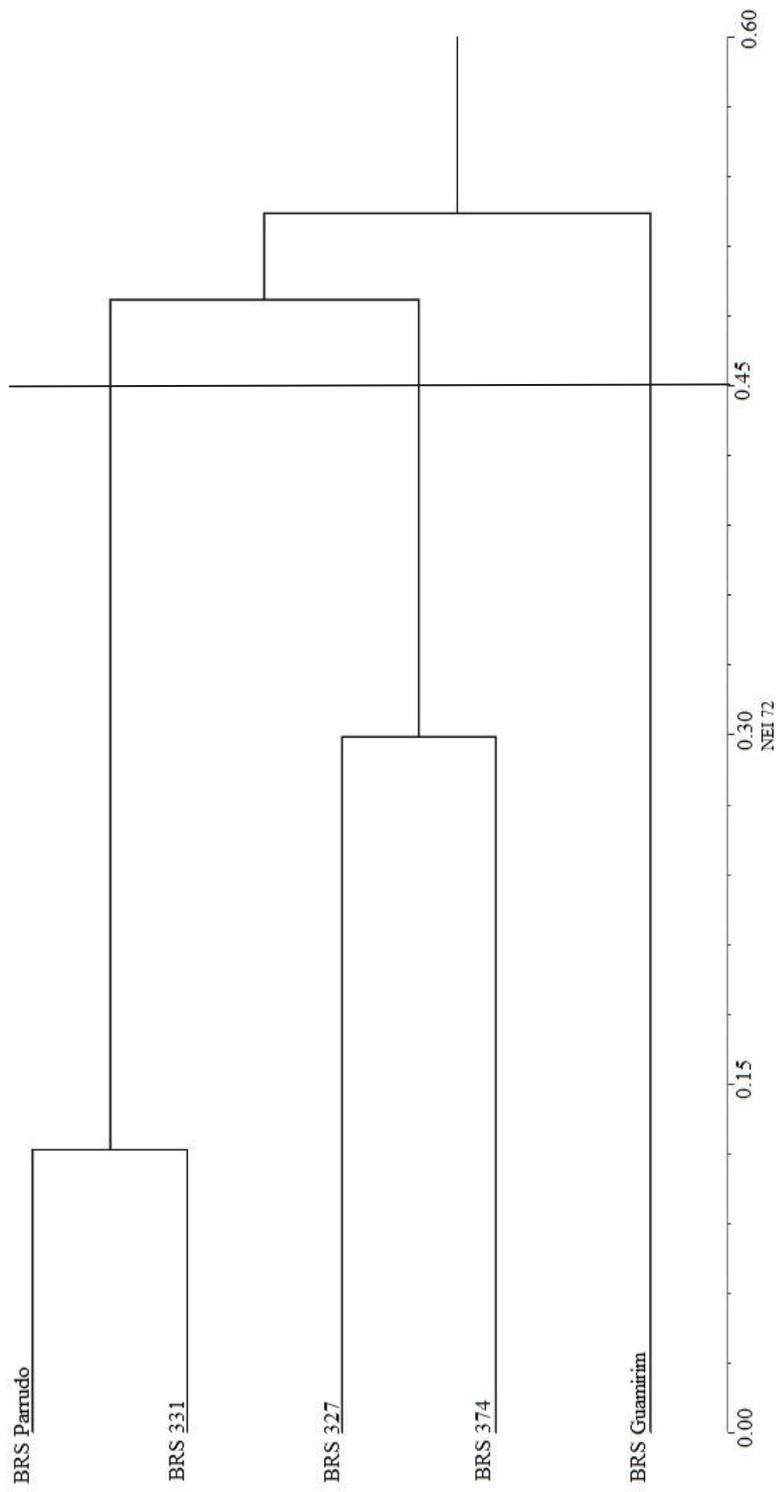


Figura 17 – Dendrograma obtido para as cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS 327, BRS 374 e BRS Guamirim a partir da distância de NEI (1972) e com base nos padrões polimórficos a partir dos marcadores microsatélites.

Em ambas as análises, pode-se verificar que as cultivares BRS Parrudo e BRS 331 ficaram mais próximas e, portanto mais similares. As cultivares BRS 327 e BRS 374 ficaram mais distante geneticamente das anteriores, mas agrupadas entre si. Quanto a cultivar BRS Guamirim, esta apresentou a maior distância genética que as demais cultivares.

A menor distância genética obtida entre BRS Parrudo e BRS 331 é explicada pelo fato de ambas terem como ancestral comum a linhagem WT 98108. No caso de BRS 327 e BRS 374, estas são cultivares recentes e a proximidade também é explicada pelo fato de ambas terem suas sementes reunidas na geração F₆, com aproximadamente 97% de homozigose. Por fim, BRS Guamirim distancia-se das demais, principalmente pela sua genealogia, mas também porque sua suas sementes foram reunidas com aproximadamente 99% de homozigose. Os dados de genealogia podem refletir as distâncias relativas entre os parentais, bem como seus respectivos níveis de agrupamento. Por outro lado, o uso dos marcadores moleculares é uma ferramenta importante para a definição das distâncias e dos agrupamentos.

Bertan et al. (2007) estimaram a distância genética entre genótipos de trigo sul-brasileiros para estabelecer o grau de associação entre caracteres fenotípicos e de coeficiente de parentesco, e estabelecer o grau de associação entre tais técnicas. Os resultados revelaram ausência de associação entre as duas estimativas de distância genética avaliadas, pelo fato de não haver genealogia comum entre alguns dos genótipos testados, ou ainda, pela inexistência de dados genealógicos disponíveis de alguns genótipos.

O melhoramento genético vegetal, por ser um processo contínuo e que compreende a criação de variabilidade genética, a seleção e a recombinação de características desejáveis, determina o produto final com as características desejadas. O emprego de marcadores moleculares de DNA tem permitido acelerar os resultados no que diz respeito à avaliação das linhagens advindas de diversos cruzamentos, tornando possível a identificação de genes e alelos desejáveis nas primeiras gerações (PORTALUPPI, 2008).

A diversidade genética é um pré-requisito para qualquer programa de desenvolvimento de cultivares e análises moleculares via marcadores microssatélites associadas a análises de parentesco são ferramentas importantes que contribuem para avaliar a similaridade/distância genética (AHMAD, 2002; SUD et al., 2005).

Dentro deste contexto, Bered (1999) destaca que, através da variabilidade existente no germoplasma de uma espécie, o melhorista pode escolher como genitores de um cruzamento, indivíduos distantes geneticamente, o que contribui para a ampliação da variância genética em populações segregantes.

A estimativa da distância genética entre genótipos informa a respeito da organização do germoplasma, aumenta a eficiência da amostragem de genótipos, auxilia na definição de cruzamentos artificiais, na incorporação de genes exóticos (fase de pré-melhoramento) e até na recomendação de cultivares para determinadas regiões, quando o objetivo é aumentar a base genética das cultivares sob cultivo. Assim, se constitui numa ferramenta auxiliar de grande importância em programas de melhoramento e um importante elo

entre a conservação e a utilização dos recursos genéticos disponíveis (MOHAMMADI et al., 2003).

A distância genética também é utilizada para a organização do germoplasma, na incorporação de genes de germoplasma exótico e até mesmo na recomendação de cultivares, quando o objetivo é intensificar a base genética dos genótipos sob cultivo (VIEIRA et al., 2007).

Portanto, a partir dos resultados obtidos, ficou evidente a eficiência do método empregado, ou seja, a formação de *bulks*, bem como da escolha do marcador e do número de marcas avaliadas, pois os agrupamentos obtidos foram de acordo com o esperado.

5 CONCLUSÕES

Para as cultivares de trigo analisadas, BRS Parrudo, BRS 331, BRS 327, BRS 374 e BRS Guamirim, as características morfológicas forma do ombro da gluma, forma do grão, comprimento da espiga, densidade da espiga, comprimento da gluma, largura da gluma largura do grão, comprimento do grão e altura da planta, utilizadas como descritores mínimos para fins de registro e proteção de cultivares no Brasil, possibilitam distinguir as referidas cultivares de trigo. Entretanto, os descritores número de espiguetas por espiga, número de grãos por espiga e comprimento do dente da gluma devem ser analisados com cautela, quando apresentam variações acima de 20%, pois interferem na caracterização eficiente no momento dos ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) e de Distingüibilidade, Homogeneidade e Estabilidade (DHE).

As análises de viabilidade polínica permitem inferir sobre a fertilidade dos grãos de polens e estabilidade genética, nas cultivares em estudo, uma vez que é possível distinguir eficientemente grãos de polens viáveis (bi/trinucleados, tamanho normal, com presença de amido e um poro) e inviáveis (vazios) de modo simples, rápido e com baixo custo, demonstrando que este tipo de ferramenta biotecnológica deva ser usada na caracterização e seleção de genótipos de trigo durante algumas das etapas do programa de melhoramento genético da cultura.

O emprego de marcadores moleculares microssatélites é uma estratégia extremamente útil para determinar a distância genética entre as cultivares de trigo para uso em programas de melhoramento genético. O dendrograma obtido para as cultivares BRS Parrudo, BRS 331, BRS 327, BRS 374 e BRS Guamirim, a partir da distância de NEI (1972) e com base nos padrões polimórficos obtidos, permite verificar três grupos distintos: um formado pelas cultivares BRS Parrudo e BRS 331, um para BRS 327 e BRS 374 e um grupo para a cultivar BRS Guamirim, estando de acordo com as suas genealogias e métodos de seleção e por refletirem as distâncias relativas entre os parentais e seus respectivos níveis de agrupamento.

REFERÊNCIAS

ABITRIGO, 2013a. *O que é o trigo*. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br/index.php?mpg=02.00.00>>. Acessado em: 09 maio 2013.

ABITRIGO 2013b. *Panorama & Mercado: Cenário internacional, 2013*. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br/index.php?mpg=05.02.00>>. Acesso em: 13 maio 2013.

AGRO LINK, *O grão que balizou a humanidade*, 2011. Disponível em: <http://agrolink.com.br/noticias/o-gr--227-o-que-balizou-a-humanidade_139187.html>. Acesso em: 10 abr. 2013.

AHMAD, M. Assessment of genomic diversity among wheat genotypes as determined by simple sequence repeats. *Genome*, Ottawa, v. 45, n. 4, p. 646-651, 2002.

BARAKAT, M. N.; AL-DOSS, A. A.; ELSHAFEI, A. A.; GHAZY, A. I.; MOUSTAFA, K. A. Assessment of genetic diversity among wheat doubled haploid plants using TRAP markers and morpho-agronomic traits. *Australian Journal of Crop Science*, St. Lucia, v. 7, n. 1, p. 104-111, 2013.

BERED, F. Variabilidade genética: ponto de partida para o melhoramento de plantas. In: SACCHET, A. M. O. F. *Genética, para que te quero?* Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1999. p. 99-104.

BERED, F.; CARVALHO, F. I. F. de.; BARBOSA NETO, J. F. Variabilidade genética em trigo: ponto de partida para o melhoramento. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Uberlândia, v. 3, n. 14, p. 22-25, 2000.

BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F.; ROCHA, B. M. da.; PEGORARO, D. G.; VACARO, E.; CARVALHO, F. I. F. de. Caracterização de germoplasma de trigo por meio dos caracteres adaptativos ciclo e estatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37, n. 2, p. 145-150, 2002.

BERTAN, I.; VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F.; COSTA DE OLIVEIRA, A.; SCHEEREN, P. L.; OLIVO, F. Variabilidade genética em trigo aferida por meio da distância genealógica e morfológica. *Scientia Agraria*, Curitiba, v. 8, n. 1, p. 67-74, 2007.

BEUNINGEN, L. T. van; BUSCH, R. H. Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: III. Cluster analysis based on quantitative morphological traits. *Crop Science*, Madison, v. 37, n. 3, p. 981-988, 1997.

BIODIVERSITY INTERNATIONAL. Guidelines for the development of crop descriptor lists, 2007. Rome, Bioversity International. (Bioversity Technical Bulletin Series, 13), 2007. 72 p.

BORÉM, A. (Ed). *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa, MG: UFV, 1999. 817 p.

BRAMBATI, A. *Viabilidade polínica e hibridização genômica in situ aplicada ao melhoramento de triticales*. 2010. 93 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2010.

BRAMMER, S. P.; ZANOTTO, M.; CAVERZAN, A. *Citogenética vegetal: da era clássica à molecular*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 9 p. (Documentos, 85).

BRAMMER, S. P. *Marcadores moleculares: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. 7p. (Documentos, 3).

BRASIL, 2013a. *Trigo*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/trigo>>. Acesso em: 23 maio 2013.

BRASIL. 2013b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Proteção de Cultivares*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares>>. Acesso em: 23 maio 2013.

BRASIL. 2013c. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Denominação de Cultivares*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/protecao-cultivares/denominacao-cultivares>>. Acesso em: 24 abr. 2013.

BRASIL. 2013d. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Registro Nacional de Cultivares – RNC*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/registros-autorizacoes/registro/registro-nacional-cultivares>>. Acesso em: 24 abr. 2013.

BRESOLIN, A. P. S.; CASTRO, C. M.; COSTA DE OLIVEIRA, A. (Ed). *Bulks de DNA na caracterização de germoplasma vegetal*. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 26p. (Documentos, 218).

CALDEIRA, M. T. M.; LIMA, V. L. A. de.; SEKI, H. A.; RUMJANEK, F. D. Trigo: diversidade de trigos, tipificação de farinhas e genotipagem. *Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento*, Uberlândia, v. 3, n. 16, p. 44-48, 2000.

CAIERÃO, E.; SILVA, M. S.; SCHEEREN, P.L.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; EICHELBERGER, L.; PIRES, J. L. F.; MIRANDA, M. Z.; GUARIENTI, E. M.; LAU, D.; SANTANA, F. M.; MACIEL, J. L. N.; COSTAMILAN, L. M.; CHAVES, M.; PEREIRA, P. R.; DALMAGO, G.; CUNHA, G. R.; SILVA JUNIOR, J. P.; VARGAS, L.; WIETHÖLTER, S.; TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; BRAMMER, S. P.; SCAGLIUSI, S. M. M.; BONATO, A. L. V.; LAU, E. Y.; CARGNIN, A.; CASTRO, R. L. *BRS 329 – Cultivar de trigo para biscoito*. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 5., 2011, Dourados. *Ata e resumos*. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. p. 1-3.

CARDOSO, B. M. *Análises citogenéticas em linhagens sintéticas de *Triticum aestivum* (*T. durum* X *T. tauschii*) e seus cruzamentos com cultivares de trigo, visando à introgressão de resistência à ferrugem da folha*. 2007. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. *Estudos de prospecção de mercado: Safra 2012/2013*, 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_09_11_16_41_03_prospeccao_12_13.pdf>. Acesso em: 10 maio 2013.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. *Conjuntura Semanal: Trigo*, 2013. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_01_09_11_50_23_conjunturatrigo3112a04012013.pdf>. Acesso em: 10 maio 2013.

CUNHA, G. R. da.; SCHEEREN, P. L.; PIRES, J. L. F.; MALUF, J. R. T.; PASINATO, A.; CAIERÃO, E.; SÓ E SILVA, M.; DOTTO, S. R.; CAMPOS, L. A. C.; FELÍCIO, J. C.; CASTRO, R. L. de; MARCHIORO, V.; RIEDE, C. R.; ROSA FILHO, O.; TONON, V. D.; SVOBODA, L. H. *Regiões de adaptação para trigo no Brasil*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 10 p. (Circular Técnica, 20).

CUNHA, G. R. da.; PASINATO, A.; PIMENTEL, M. B. M.; HAAS, J. C.; MALUF, J. R. T.; PIRES, J. L. F.; DALMAGO, G. A.; SANTI, A. Regiões para trigo no Brasil: ensaios de VCU, zoneamento agrícola e época de semeadura. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. da. (Ed.). *Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável*. 1º. ed. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. p. 27-40.

CUNHA, G. R. da. (Ed.). *Oficina sobre trigo no Brasil: bases para a construção de uma nova triticultura brasileira*. Passo Fundo, Embrapa Trigo, 2009. 192 p.

CUNHA, G. R. da. (Org.). *Trigo no Rio Grande do Sul: produzindo com competitividade – opiniões*. Passo fundo: Embrapa trigo, 1999. 60 p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A. J. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. *Modelos biométricos a aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa, Editora UFV. 2003. 585p.

CRUZ, C. D. *Programa Genes: estatística experimental e matrizes*. Viçosa: UFV, 2006. 285p.

CRUZ, C. D. *Programa Genes: Biometria*. Viçosa, Editora UFV, 2006. 382p.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2013a. *Trigo*. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/index.html>>. Acesso em: 20 abr. 2013.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2013b. *BRS Parrudo*. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/cultivares/BRS%20Parrudo.pdf>>. Acesso em: 30 maio 2013.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2013c. Disponível em: <<http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/index.php>>. Acesso em 25 maio 2013.

FALCONER, D. S. *Introdução à genética quantitativa*. Viçosa: UFV, 1987. 279 p.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Food Outlook: Global market analysis*, 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/home/en/>>. Acesso em: 15 março 2013.

FREITAS, L. B.; BERED, F. (Org.). *Genética e Evolução Vegetal*. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2003. 463 p.

GILBERT, J. E.; LEWIS, R. V.; WILKINSON, M. J.; CALIGARI, P. D. S. Developing an appropriate strategy to assess genetic variability in plant germplasm collections. *Theoretical Applied Genetics*, Berlin, v. 98, n. 6-7, p. 1125-1131, 1999.

GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; AMARAL JÚNIOR, A. T. do.; KARASAWA, M.; SUDRÉ, C. P. Heirloom tomato gene bank: assessing genetic divergence based on morphological, agronomic and

molecular data using a Ward-modified location model. *Genetics and Molecular Research*, v. 8, n. 1, p. 364-374, 2009.

GUIMARÃES, C. T.; PADILHA, L.; SOUZA, I. R. P.; PAIVA, E. "Fingerprinting" *Molecular de Linhagens de Milho*. Sete Lagoas, MG: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. p. 1-4. (Comunicado Técnico, 92).

IAPAR. Informações Técnicas para Trigo e Triticale Safra 2013. In: Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, Londrina, 6., 2012, Londrina. *Anais...* Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), 2013. 220 p.

JENSEN, N. F. Population variability in small grains. *Agronomy Journal*, Madison, v. 57, n. 2, p. 153-162, 1965.

KUINCHTNER, A.; BURIAL, G. A. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação de Köppen e Thornthwaite. *Disciplinarum Scientia*. Série Ciências Exatas, Santa Maria, v. 2, n. 1, p. 171-182, 2001.

LEOI, L. C. T. *Desenvolvimento de marcadores microssatélites (SSR) em Arachis hypogaea*. 2003. 131 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Genômica e Biotecnologia) – Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2003.

LOVE, R. M. *Estudos citológicos preliminares de trigos rio-grandenses*. Porto Alegre: Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, 1949. 14 p. (Circular, 74).

LUNARDI, L.; SCHEEREN, L. P.; CAIERÃO, E.; SILVA, M. S. (Org.). *Cultivares de trigo da Embrapa indicadas para cultivo no Brasil 2011/2012*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. 80 p. (Documentos, 104).

MAGO, R.; BROWN-GUEDIRA, G.; DREISIGACKER, S.; BREEN, J.; JIN, Y.; SINGH, R.; APPELS, R.; LAGUDAH, E.S.; ELLIS, J.; SPIELMEYER, W. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 122, n. 4, p. 735-744, 2011.

MELLISH, A.; COULMAN, B.; FERDINANDEZ, Y. Genetic Relationships among selected crested wheatgrass cultivars and species determined on the basis of AFLP markers. *Crop Science*, Madison, v. 42, n. 5, p. 1662–1668, 2002.

MENDES-BONATO, A. B.; RISSO-PASQUOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Chromosome number and meiotic behaviour in *Brachiaria jubata* (Gramineae). *Journal of Genetics*, London, v. 85, n. 1, p. 83-87, 2006.

MICHELMORE, R. W.; PARAN, I.; KESSELI, R.V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 88, n. 21, p. 9828-9832, 1991.

MILACH, S. C. K. (Ed.). *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre, UFRGS, 1998. 141 p.

MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B. M. Analyses of genetic diversity in crop plants – salient statistics tools and considerations. *Crop Science*, Madison, v. 43, n. 4, p. 1235-1248, 2003.

MORAES-FERNANDES, M. I. B.; BODANEZE-ZANETTINI, M. H.; ZANATTA, A. C. A. Fatores responsáveis pela desuniformidade varietal no trigo *Triticum aestivum* (L.) Thell e o papel da instabilidade cromossômica. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 26, n. 3, p. 353-369, 1991.

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 embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. Thell). *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 1051-1062, 2000.

MUNDSTOCK, C. M. *Planejamento e manejo integrado da lavoura de trigo*. Porto Alegre, Editora do Autor, 1999. 228 p.

NASS, L. L. (Ed.). *Recursos genéticos vegetais*. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858 p.

NEI, M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, Chicago, v. 106, n. 949, p. 283–292, 1972.

NEITZKE, R. S.; BARBIERI, R. L.; RODRIGUES, W. F.; CORRÊA, I. V.; CARVALHO, F. I. F. Dissimilaridade genética entre acessos de pimenta com potencial ornamental. *Horticultura Brasileira*, v. 28, n. 1 p. 47-53, 2010.

O'KRAY, C. *Brazil grain and feed update: record corn harvest as second crop production surpasses first crop; exchange rate boosts rice exports; tight wheat supplies characterize market*. Washington. USDA - Foreign Agricultural Service, 2012. 11 p. Gain report BR0814. This report contains assessments of commodity and trade issues made by USDA staff and not necessarily statements of official U.S. government policy. Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Grain%20and%20Feed%20Update_Brasilia_Brazil_7-18-2012.pdf>. Acesso em: 24 abr. 2013.

PIANA, C. F. B. de.; CARVALHO, F. J. F. de. Trigo. A cultura que deu suporte à civilização. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. (Ed.). *Origem e evolução de plantas cultivadas*. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2008. p. 819-852.

PORTALUPPI, R. *Caracterização molecular e estudo da variabilidade genética em cereais de inverno quanto à tolerância do alumínio tóxico*. 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2008.

REVERS, L. F. Identidade posta à prova: uso prático de técnicas baseadas em DNA para identificação de cultivares de uva e proteção intelectual. *Jornal da Fruta*, Lages, v. 15, n. 183, p. 15, 2007.

ROCHA, M. C.; GONÇALVES, L. S. A.; CORRÊA, F. M., RODRIGUES, R.; SILVA, S. L.; ABOUD, A. C. S.; CARMO, M. G. F. Descritores quantitativos na determinação da divergência

genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. *Ciência Rural*, v. 39, n. 3, p. 664-670, 2009.

RÖDER, M. S.; KORZUN, V.; WENDEHAKE, K.; PLASCHKE, J.; TIXIER, M. H. L.; LEROY, P.; GANAL, M. W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, Austin, v. 149, n. 4, p. 2007–2023, 1998.

ROSA, A. C. *Recentes avanços na triticultura brasileira*. 2012. Disponível em: <http://www.agrolink.com.br/cereaisdeinverno/artigo/recentes-avancos-na-triticultura-brasileira_151179.html>. Acesso em: 09 maio 2013.

ROHLF, J. F. *NTSYS – pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*. Versão 2.0. New York: Applied Biostatistics Inc, 1998.

SABADIN, F.; CONSOLI, L.; PEREIRA, J. F.; TORRES, G. A. M.; EICHELBERGER, L.; SCHEEREN, P. L.; CAIERÃO, E.; SILVA, M. S.; BONOW, S. *Fingerprinting Varietal de Trigo – Resultados Preliminares*. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2009. p. 37-38 (Documentos, 115).

SALLES, G.; BUSO, C.; CIAMPI, A. Y.; MORETZSOHN, M. C.; AMARAL, Z. P. S. *Protocolo para desenvolvimento de marcadores microssatélites*. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 11p. (Circular Técnica, 20).

SANTOS, F. S.; PACHECO, L. G. A. *Testes de DHE*. In: AVIANI, D. M.; HIDALGO, J. A. F. (Org.). *Proteção de Cultivares no Brasil*. Brasília/DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2011, p. 161-167.

SCARIOT, G.; SCHEEREN, P. L. *Avaliação da uniformidade de características morfológicas em genótipos de trigo*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2010. 12p. Não publicado.

SCHEEREN, P. L. *Instruções para utilização de descritores de trigo (*Triticum* sp.) e triticale (*Triticosecale* sp.)*. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1984. 32p.

SCHEEREN, P. L.; CAIERÃO, E.; SILVA, M. S.; BONOW, S. Melhoria de trigo no Brasil. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. da. (Ed.). *Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável*. 1º. Ed. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. p. 427-452.

SCHEEREN, P. L.; CAETANO, V. R.; CAIERÃO, E.; SILVA, M. S.; EICHELBERGER, L.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; BRAMMER, S. P.; MIRANDA, M. Z.; PIRES, J. L. F. P.; LAU, D.; SANTANA, F. M.; MACIEL, J. L. N.; COSTAMILAN, L. M.; CHAVES, M. S.; PEREIRA, P. R. V. S.; CUNHA, G. R. da.; SILVA JUNIOR, J. P.; VARGAS, L.; GUARIENTI, E. M.; TORRES, G. A. M.; WIETHÖLTER, S. *BRS 331 - Cultivar duplo-haploide superprecoce de trigo*. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 5., 2011, Dourados. *Ata e resumos...* Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. p. 1-3.

SCHEEREN, P. L.; CAIERÃO, E.; SILVA, M. S.; DUCA, L. J. A. D.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; LINHARES, A. G.; EICHELBERGER, L. BRS Guamirim: cultivar de trigo da classe pão, precoce e de baixa estatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 42, n. 2, p. 293-296, 2007.

SCHUSTER, I.; VIEIRA, E. S. N.; PADILHA, L. Marcadores moleculares no pós-melhoramento. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Ed.). *Marcadores moleculares*. Viçosa, MG: Editora Folha de Viçosa, 2009. p. 102-128.

SILVA, M. S.; CAIERÃO, E.; SCHEEREN, P. L.; EICHELBERGER, L.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; MIRANDA, M. Z. BRS 327 – a new bread wheat cultivar. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Viçosa, v. 10, n. 4, p. 370-373, 2010.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, New Delhi, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. *Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification*. San Francisco, W. H. Freeman. 1973. 573 p.

SUD, S.; BAINS, N. S.; NANDA, G. S. Genetic relationships among wheat genotypes, as revealed by microsatellite markers and pedigree analysis. *Journal of Applied Genetics*, Warsaw, v. 46, n. 4, p. 375-379, 2005.

SUDRÉ, C. P., RODRIGUES, R., KARASAWA, M., AMARAL JÚNIOR, A. T. Divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão utilizando técnicas multivariadas. *Horticultura Brasileira*, v. 23, n.1, p. 22-27, 2005.

SUDRÉ, C. P.; CRUZ, C. D.; RODRIGUES, R.; RIVA, E. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; SILVA, D. J. H.; PEREIRA, T. N. S. Variáveis multicatóricas na determinação da divergência genética entre acessos de pimenta e pimentão. *Horticultura Brasileira*, v. 24, n. 1, p. 88-93, 2006.

SWEENEY, P. M.; DANNEBERGER, K. T. RAPD characterization of *Poa annua* L. populations in golf course greens and fairways. *Crop Science*, Madison, v. 35, n. 6, p. 1676-1680, 1995.

USDA - United States Department of Agriculture, 2013. Disponível em: <<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>>. Acesso em: 12 set. 2013.

VARSHNEY, R. K.; GRANER, A.; SORRELLS, M. E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology*, Amsterdam, v. 23, n. 1, p. 48-55, 2005.

VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F. de.; BERTAN, I.; KOOP, M. M.; ZIMMER, P. D.; BENIN, G.; SILVA, J. A. G. da.; HARTWIG, I.; MALONE, G.; OLIVEIRA, A. C. de. Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 30, n. 2, p. 392-399, 2007.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK.; C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, Oxford, v. 14, n. 6, p. 415-421, 1974.

ZANETTINI, M. H. B.; LAUXEN, M. S. Reprodução sexual nas angiospermas. In: FREITAS, L. B.; BERED, F. *Genética e evolução vegetal*. Porto Alegre: UFRGS, 2003. p. 29-41.

ZANOTTO, M.; BRAMMER, S. P.; NASCIMENTO JUNIOR, A.; SCAGLIUSI, S. M. Viabilidade polínica como seleção assistida no programa de melhoramento genético de triticales. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, p. 2078-2082, 2009.

ZEULI, P. L. S. S.; QUALSET, C. O. Geographical diversity for quantitative spike characters in a world collection of durum wheat. *Crop Science*, Madison, v. 27, p. 235-241, 1987.

APÊNDICES

Apêndice 1 – *Primers* utilizados para a realização das análises individuais de plantas das cultivares BRS Parrudo, BRS 327, BRS 331, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Primer	Locus	Forward	Reverse	Cromossomo
WMS52 ¹⁽²⁾	xgwm52	CTATGAGGCGGAGGTTGAAG	TGCGGTGCTCTTCCATT	3DL
WMS111 ¹⁽²⁾	xgwm111	TCTGTAGGCTCTCTCCGACTG	ACCTGATCAGATCCCACTCG	7DS
WMS136 ¹⁽³⁾	xgwm136	GACAGCACCTTGCCCTTTG	CATCGGCAACATGCTCATC	1AS
WMS186 ¹⁽²⁾	xgwm186	GCAGAGCCTGGTTCAAAAAG	CGCCTCTAGCGAGAGCTATG	5A
WMS232 ¹⁽²⁾	xgwm232	ATCTCAACGGCAAGCCG	CTGATGGAAAGCAATCCACC	1D,5DL
WMS291 ¹⁽⁴⁾	xgwm291	CATCCCTACGCCACTCTGC	AATGGTATCTATTCCGACCCG	5AL
WMS322 ¹⁽²⁾	xgwm322	AGCCAGCAAGTCACCAAAAC	AGTGCTGGAAAAGAGTAGTGAAGC	7AL
WMS328 ¹⁽⁵⁾	xgwm328	GCAATCCACGAGAAGAGAGG	CACAAACTCTTGACATGTGCG	2AL
WMS349 ¹⁽⁶⁾	xgwm349	GGCTTCCAGAAAACAACAGG	ATCGGTGCGTACCATCCTAC	2DL
WMS484 ¹⁽⁷⁾	xgwm484	ACATCGCTCTTCACAAACCC	AGTTCCGGTCATGGCTAGG	2D
WMS533 ¹⁽⁸⁾	xgwm533	AAGGCGAATCAAAACGGAATA	GTTGCTTTAGGGGAAAAGCC	3BS
WMS609 ¹⁽²⁾	xgwm609	GCGACATGACCAATTTTGTG	GATATTAATCTCTCTATGTGTG	4DL

Röder et al. (1998); ⁽²⁾*Primers* usados para as cinco cultivares; ⁽³⁾*Primer* usado somente na cultivar BRS Parrudo; ⁽⁴⁾*Primer* usado nas cultivares BRS 327 e BRS Guamirim; ⁽⁵⁾*Primer* usado nas cultivares BRS 331, BRS 374 e BRS Parrudo; ⁽⁶⁾*Primer* usado nas cultivares BRS331 e BRS Parrudo; ⁽⁷⁾*Primer* usado nas cultivares BRS 327, BRS 331, BRS Guamirim e BRS Parrudo; ⁽⁸⁾*Primer* usado nas cultivares BRS 374 e BRS Guamirim.

Apêndice 2 – Relação dos *primers* utilizados para a determinação da distância genética entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 327, BRS 331, BRS 374 e BRS Guapurim. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Primer	Locus	Forward	Reverse	Cromossomo
WMS 18	xgwm18	TGGCGCCATGATTGCATTATCTTC	GGTTGCTGAAGAACCTTATTAG	1BS,4BS
WMS43	xgwm43	CACCGACGGTTTCCCTAGAGT	GGTGAGTGCAAAATGTCATGTG	7BS
WMC44	wmc44	GGTCTTCTGGGCTTTGATCCTG	TGTTGCTAGGGACCCCGTAGTGG	1BL
WMS46	xgwm46	GCACGTGAATGGATTGGAC	TGACCCCAATAGTGGTGGTCA	7BS,7BL
WMS52	xgwm52	CTATGAGGCGGAGGTTGAAG	TGCGGTGCTCTTCCATTT	3DL
WMS95	xgwm95	GATCAAACACACACACCCCTCC	AATGCAAAAGTGAAAAACCCG	2AS
WMS99	xgwm99	AAGATGGACGTATGCATCACA	GCCATATTTGATGACGCATA	1AL
WMS106	xgwm106	CTGTTCTTGGCGTGGCAITAA	AATAAGGACACACAATTGGGATGG	1DS
WMS107	xgwm107	ATTAAATACCTGAGGGAGGTGC	GGTCTCAGGAGCAAGAACAC	4BS
WMS111	xgwm111	TCTGTAGGCTCTCTCCGACTG	ACCTGATCAGATCCCACCTCG	7DS
WMS112	xgwm112	CTAAACACGACAGCGGTGG	GATATGTGAGCAGCGGTGAG	3B,4B, 7B
WMS114F	xgwm114	ACAAAACAGAAAAATCAAAAACCCG	ATCCATCGCCATTGGAGTG	3D
WMS118	xgwm118	GATGTTGCCACTTGAGCATG	GATTAGTCAAATGGAACACACCCC	4AL,5BL
WMS120	xgwm120	GATCCACCTTCCCTCTCTCTC	GATTATACTGGTGCCGAAAC	2BL
WMS126	xgwm126	CACACGCTCCACCATGAC	GTTGAGTTGATGCGGGAGG	5AL

Apêndice 2 – Continuação... Relação dos *primers* utilizados para a determinação da distância genética entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 327, BRS 331, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa. Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Primer	Locus	Forward	Reverse	Cromossomo
WMS136	xgwm136	GACAGCACCTTGCCCTTGG	CATCGGCAACATGCTCATC	1AS
WMS148	xgwm148	GTGAGGCAGCAAGAGAGAAA	CAAAGCTTGACTCAGACCCAAA	2BS
WMS149	xgwm149	CATTGTTTTCTGCCTCTAGCC	CTAGCATCGAACCTGAACAAG	4BL
WMS153	xgwm153	GATCTCGTCACCCGGAAATTC	TGGTAGAGAAGGACGGGAGAG	1BL
WMS157	xgwm157	GTCGTCCGGTAAGCTTG	GAGTGAACACACGAGGCTTG	2DL
WMS160	xgwm160	TTCAATTCAAGTCTTGGCTTGG	CTGCAGGAAAAAAAAGTACACCC	4A
WMS161	xgwm161	GATCGAGTGATGGCAGATGG	TGTGAATTACTTGGACGTGG	3D
WMS162	xgwm162	AGTGGATCGACAAGGCTCTG	AGAAAGAAGCAAAAGCCTTCCC	3A, 4A
WMC167	xwmc167	AGTGGTAAATGAGGTGAAAAGAAG	TCGGTCTGATATGCATGTAAAAG	2DL
WMS169	xgwm169	ACCACTGCAGAGAACACATACG	GTGCTCTGCTCTAAGTGTGGG	6AL
WMS174	xgwm174	GGGTTCCCTATCTGGTAAATCCC	GACACACATGTTCCCTGCCAC	5D
WMS181	xgwm181	TCATTGGTAATGAGGAGAGA	GAACCATTCATGTGCATGTC	3BL
WMS186	xgwm186	GCAGAGCCCTGGTTCAAAAAG	CGCCTCTAGCGAGAGCTATG	5A
WMS191	xgwm191	AGACTGTTGTTTGC GGCC	TAGCACGACAGTTGTATGCAATG	2BL, 5B, 6B,3D
WMS192	xgwm192	GGTTTTCTTTTCAGATTGGCC	CGTTGTCTAATCTTGGCCTTGG	5D

Apêndice 2 – Continuação... Relação dos *primers* utilizados para a determinação da distância genética entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 327, BRS 331, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Primer	Locus	Forward	Reverse	Cromossomo
WMS205	xgwm205	CGACCCGGTTCACCTTCAG	AGTCGCCGTTGTATAGTGCC	5DS
WMC215	xwmc215	CATGCATGGTTGCAAGCAAAAAG	CATCCCGGTGCAACACATCTGAAA	5D, 5AL, 3A
WMS219	xgwm219	GATGAGCGACACCTAGCCTC	GGGGTCCGAGTCCACAAC	6B
WMS232	xgwm232	ATCTCAACGGCAAGCCG	CTGATGGAAGCAATCCACC	1D,5DL
WMS234	xgwm234	GAGTCTTGATGTGAAGCTGTTG	CTCATTGGGGTGTGTACGGT	5BS, 5AS
WMC 245	xwmc245	GCTCAGATCATCCACCAACTTC	AGATGCTCTGGGAGAGTCCCTTA	2DL,2B
WMS247	xgwm247	GCAATCTTTTTTCTGACCACG	ATGTGCATGTCGGACCG	3BL,3A
WMS249	xgwm249	CAAATGGATCGAGAAAAGGGA	CTGCCATTTTTCTGGATCTACC	2AS
WMS249	xgwm249	CAAATGGATCGAGAAAAGGGA	CTGCCATTTTTCTGGATCTACC	2AS, 2DS
WMS251	xgwm251	CAACTGGTTGCTACACAAGCA	GGGATGTCTGTCCATCTTAG	4BL
WMS264	xgwm264	GAGAAACATGCCGAAACAACA	GCATGCATGAGAAATAGGAACTG	1AL,1BS
WMS272	xgwm272	TGCTCTTTGGCGAATATAATGG	GTTCAAAACAATAATAAGGCC	5DL
WMS291	xgwm291	CATCCCTACGCCACTCTGC	AATGGTATCTATTCGGACCCG	5AL
WMS293	xgwm293	TACTGGTTCACATTGGTGCG	TCGCCATCACTCGTTC AAG	5AS
WMS294	xgwm294	GGATTGGAGTTAAGAGAGAACC	GCAGAGTGATCAATGCCAGA	2AL

Apêndice 2 – Continuação... Relação dos *primers* utilizados para a determinação da distância genética entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 327, BRS 331, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Primer	Locus	Forward	Reverse	Cromossomo
WMS295	xgwm295	GTGAAAGCAGACCCACAACAC	GACGGCTGCGACGTAGAG	7DS
WMS322	xgwm322	AGCCAGCAAGTCACCCAAAAC	AGTGCTGGAAAAGAGTAGTGAAGC	7AL
WMS325	xgwm325	TTTCTTCTGTGGTCTCTTCCC	TTTTTACGGGTCAACGACG	6B,6D
WMS328	xgwm328	GCAATCCACGAGAAAGAGAGG	CACAAAATCTTTGACATGTGGG	2AL
WMC331	xwmc331	CCTGTTGCATACTTGACCTTTTT	GGAGTTCAATCTTTTCATCACCCAT	4DL
WMS334	xgwm334	AATTTCAAAAAGGAGAGAGA	AACATGTGTTTTTAGCTATC	6AS
WMS335	xgwm335	CGTACTCCACTCCACACGG	CGGTCCAAGTGCTACCTTTC	5BL
WMS340	xgwm340	GCAATCTTTTTTCTGACCACG	ACGAGGCAAGAACACACATG	3BL
WMS344	xgwm344	CAAGGAAATAGGCGGTA ACT	ATTTGAGTCTGAAAGTTTGCA	7A,7BL
WMS349	xgwm349	GGCTTCCAGAAAACAACAGG	ATCGGTGCGTACCATCCTAC	2DL
WMS350	xgwm350	ACCTCATCCACATGTTCTACG	GCATGGATAGGACGCCCC	7AS,7B,7DS,4AL
WMS361	xgwm361	GTA ACTTGTGGCCAAAGGGG	ACAAAAGTGGCAAAAAGGAGACA	6B
WMS369	xgwm369	CTGCAGGCCATGATGATG	ACCGTGGGTGTTGTGAGC	3AS, 4BS
WMS375	xgwm375	ATTGGGACTCTAGCATATACG	GGGATGTCTGTTCCATCTTAGC	4BL
WMS383	xgwm383	ACGCCAGTTGATCCCGTAAAC	GACATCAATAAACCGTGATGG	3D

Apêndice 2 – Continuação... Relação dos *primers* utilizados para a determinação da distância genética entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 327, BRS 331, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Primer	Locus	Forward	Reverse	Cromossomo
WMS389	xgwm389	ATCATGTCGATCTCCTTGACG	TGCCATGCACATTAGCAGAT	3BS
WMS397	xgwm397	TGTCATGGATTATTGGTCGG	CTGCACCTCGGGTATACCAGC	4AL,4AS
WMS400	xgwm400	GTGCTGCCACCACCTTGC	TGTAGGCACCTGCTTGGGAG	7B
WMS403	xgwm403	CGACATTGGCTTCGGTG	ATAAAACAGTGCCTGCCAGG	1BL,2B,3A
WMS408	xgwm408	TCGATTTAATTTGGGCCACTG	GTATAATTTCGTTTACAGCACGC	5BL
WMS427	xgwm427	AACTTAGAACTGTAAATTCAGA	AGTGTGTTCAATTTGACAGTT	6AL
WMS437	xgwm437	GATCAAGACTTTTGTATCTCTC	GATGTCCAACAGTTAGCTTA	7D
WMS499	xgwm499	ACTTGTATGCTCCATTGATTGG	GGGGAGTGGAAACTGCATAA	5BL
WMS508	xgwm508	GTTATAGTAGCATATAATGGCC	GTGCTGCCATGATATTT	6BS
WMS518	xgwm518	AATCAACAACAAGCCGTGACA	CAGGGTGGTGCATGCAT	6BS
WMS526	xgwm526	CAATAGTTCTGTGAGAGCTGGG	CCAAACCAAAATACACATTCTCA	2B
WMS533	xgwm533	AAGGCGAATCAAACGGAATA	GTTGCTTTAGGGGAAAAGCC	3BS
WMS539	xgwm539	CTGCTCTAAGATTCAATGCAACC	GAGGCTTGTGCCCTCTGTAG	2D
WMS554	xgwm554	TGCCCCACAACGGAACTTG	GCAACCACCAAGCACAAAAGT	5B,7A
WMS608	xgwm608	ACATTGTGTGTCGGGCC	GATCCCTCTCCGCTAGAAGC	2DL

Apêndice 2 – Continuação... Relação dos *primers* utilizados para a determinação da distância genética entre as cultivares BRS Parrudo, BRS 327, BRS 331, BRS 374 e BRS Guamirim. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

Primer	Locus	Forward	Reverse	Cromossomo
WMS609	xgwm609	GCGACATGACCATTTTGTG	GATATTAATCTCTCTATGTGTG	4DL
WMS610	xgwm610	CTGCCCTTCTCCATGGTTTGT	AATGGCCAAAGGTTATGAAGG	4A
WMS613	xgwm613	CCGACCCGACCTACTTCTCT	TTGCCGTCGTAGACTGG	6BS,4AS
WMS617	xgwm617	GATCTTGGCCGCTGAGAGAGA	CTCCGATGGATTACTCGCAC	5A,6A
WMS626	xgwm626	GATCTAAAATGTTATTTTCTCTC	TGACTATCAGCTAAACGTGT	6B
WMS637	xgwm637	AAAGAGGTCTGCCGCTAACA	TATACGGTTTTGTGAGGGGG	4AL
WMS639	xgwm639	CTCTCTCCATTCGGTTTTCC	CATGCCCCCCCTTTTCTG	5AL,5BL,5D
WMS642	xgwm642	ACGGCGAGAAGGTGCTC	CATGAAAGGCAAGTTCGTCA	1DL
WMS644	xgwm644	GTGGGTCAAGGCCAAGG	AGGAGTAGCGTGAGGGGC	1BL,3BL,3BS,6BS,7B
WMS654	xgwm654	TGCTGATGTTGTAAAGAAGGC	TGCGTCAGATATGCCTACCT	5DL
WMS664	xgwm664	CAGTCAGTGCCGTTTAGCAA	AGCTTTGCTCTATTGGCCGAG	3DL,4B

Fonte: Röder et al. (1998).

Apêndice 3 – Resumo da análise de variância da porcentagem de grãos de pólen inviáveis ou vazios, de grãos de pólen uninucleados, de grãos de pólen bi ou trinucleados, de grãos de pólen normal, de grãos de pólen com tamanho discrepante e do diâmetro do grão de pólen, em μm , em cinco cultivares de trigo. Embrapa Trigo, Passo Fundo - RS, 2012

FV	GL	Quadrados Médios		
		inviáveis ¹	uninucleados ¹	bi/trinucleados
Cultivares	4	0,5619 *	0,6651 *	15,4000 ns
Resíduo	120	0,1825	0,2595	8,1367
C.V. (%)		31,99	38,30	2,94
FV	GL	Quadrados Médios		
		normal	tamanho d ¹	Diâmetro (μm)
Cultivares	4	2,5800 ns	0,5739 **	253,3608 **
Resíduo	120	3,2040	0,1582	21,4743
C.V. (%)		1,83	29,59	7,90

¹ Análise de variância dos dados transformados em $\sqrt{x+1}$; * significativo pelo teste F a 5%; ** altamente significativo pelo teste F a 1%; ns: não significativo pelo teste F a 5%.

Apêndice 4 – Descritores mínimos de trigo. BRASIL, 2013b.



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
 MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
 SECRETARIA DE APOIO RURAL E COOPERATIVISMO
 SERVIÇO NACIONAL DE PROTEÇÃO DE CULTIVARES

DESCRITORES MÍNIMOS DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.)

Nome proposto para a cultivar:

I - DESCRITORES MORFOLÓGICOS

Característica	Descrição da característica	Código para cada descrição	Código que melhor descreve a cultivar
1. Planta. Hábito vegetativo (Figura 1)	Prostrado	1	
	Semi-prostrado	3	
	Intermediário	5	
	Semi-ereto	7	
	Ereto	9	
2. Planta. Altura média da planta	Muito baixa	1	
	Baixa	3	
	Média	5	
	Alta	7	
	Muito alta	9	
3. Folha. Posição da lâmina da folha bandeira em relação ao colmo, no início do espigamento	Pendente	1	
	Intermediária	3	
	Ereta	5	
4. Folha. Cerosidade da bainha da folha bandeira	Ausente	1	
	Fraca	3	
	Forte	5	
5. Folha. Coloração das aurículas	Incolor	1	
	Pouco colorida	2	
	Colorida	3	
	Heterogênea	4	
6. Colmo. Forma do nó superior	Largo	1	
	Quadrado	3	
	Comprido	5	

7. Colmo. Cerosidade do pedúnculo	Ausente		1	
	Fraca		3	
	Forte		5	
8. Colmo. Espessura das paredes	Delgada		3	
	Média		5	
	Espessa		7	
9. Colmo. Diâmetro do colmo	Fino		3	
	Médio		5	
	Grosso		7	
10. Espiga. Forma (Figura 2)	Piramidal		1	
	Fusiforme		3	
	Oblonga		5	
	Clavada		7	
11. Espiga. Comprimento (mm)	Curta	< 75	1	
	Semi-curta	75 a 84	2	
	Semi-longa	85 a 94	3	
	Longa	≥ 95	4	
12. Espiga. Densidade (mm)	Densa	< 40	1	
	Semi-densa	40 - 44	2	
	Semi-laxa	45 - 49	3	
	Laxa	≥ 50	4	
13. Espiga. Arista	Mútica		1	
	Apical		3	
	Aristada		5	
14. Espiga. Coloração	Clara		1	
	Escura		2	
15. Gluma. Pilosidade	Glabra (Ausente)		1	
	Pilosa (Presente)		2	

16. Gluma. Comprimento (mm)	Curta	< 7	1	
	Média	7 - 8	2	
	Longa	≥ 9	3	
17. Gluma. Largura (mm)	Estreita	< 3	1	
	Média	≥ 3	2	
	Larga	≥ 4	3	
18. Gluma. Forma do ombro (Figura 3)	Inclinado		1	
	Reto		3	
	Elevado		5	
19. Gluma. Comprimento do dente (mm)	Curto	< 3	1	
	Médio	3 - 6	2	
	Longo	≥ 7	3	
20. Grão. Forma	Ovalado		1	
	Alongado		3	
	Truncado		5	
21. Grão. Comprimento	Curto	< 6 m	1	
	Médio	6 a < 7 mm	2	
	Longo	≥ 7 mm	3	
22. Grão. Coloração	Branco		1	
	Vermelho claro		2	
	Vermelho		3	
	Outra		4	
23. Grão. Textura	Mole		1	
	Semi-duro		3	
	Duro		5	

II. DESCRITORES BIOLÓGICOS

Característica	Descrição da característica	Código para cada descrição	Código que melhor descreve a cultivar
24. Grupo bioclimático	Trigo de primavera	1	
	Trigo de inverno	2	
	Trigo alternativo	3	
25. Subperíodo emergência / espigamento	Superprecoce	1	
	Precoce	3	
	Médio	5	
	Tardio	7	
	Supertardio	9	
26. Ciclo emergência / maturação	Superprecoce	1	
	Precoce	3	
	Médio	5	
	Tardio	7	
	Supertardio	9	
27. Crestamento	Suscetível	1	
	Moderadamente suscetível	2	
	Moderadamente resistente	3	
	Resistente	4	

III - OBSERVAÇÕES

Informações para o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares - SNPC:

Além da caracterização morfológica e biológica detalhada na forma de descritores, outras qualificações podem ser identificadas, adicionando assim, outros elementos que caracterizam uma determinada cultivar, tais como, informações relativas a:

- a) Reação às principais doenças
- b) Características industriais

IV. ORIENTAÇÕES GERAIS PARA A CONDUÇÃO DE TESTES DE DISTINGUIBILIDADE, HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE (DHE)

A - Material requerido para a descrição das cultivares

1. Para atender o disposto no Artigo 22 e seu parágrafo único da Lei 9.456 de 25 de abril de 1997, o requerente do pedido de proteção se obrigará a apresentar duas amostras de sementes da cultivar objeto de proteção, sendo:

amostra de manipulação: 1 kg

amostra para banco de germoplasma: 1 kg

2. As amostras de sementes deverão cumprir com os requisitos mínimos estabelecidos de germinação, pureza e conteúdo de umidade para sementes comerciais, assim como, não deverão ter sido objeto de nenhum tipo de tratamento que possa afetar o subsequente crescimento das plantas, ao menos que a autoridade oficial permita ou solicite um determinado tratamento. Se tiverem sido tratadas, deverão ser dadas informações detalhadas sobre o mesmo.

3. O SNPC também poderá solicitar, se necessário, a entrega de 100 espigas da cultivar. As espigas deverão ser bem desenvolvidas e não estarem afetadas por praga ou doença.

B - Condições para a condução dos testes de descrição das cultivares

1. A duração mínima das avaliações deverá corresponder a dois períodos de crescimento.

2. As avaliações deverão ser conduzidas em um local. Se alguma característica importante da cultivar não puder ser observada em determinado local, a cultivar poderá ser avaliada em locais alternativos.

3. As avaliações de campo deverão ser conduzidas em condições que assegurem o desenvolvimento normal das plantas. O tamanho das parcelas deverá ser tal que as plantas, ou partes de plantas, possam ser retiradas para medições e contagens, sem prejuízo das observações que deverão ser feitas no final do período de crescimento. Cada avaliação deverá incluir cerca de 2000 plantas, em densidade normal de semeadura recomendada para a região, as quais deverão ser divididas em duas ou mais repetições. Se forem conduzidas avaliações de espiga por fileira, pelo menos 100 fileiras de espigas deverão ser observadas. Parcelas separadas, para observações e medições, somente poderão ser usadas se tiverem sido submetidas a condições ambientais similares.

4. Avaliações adicionais para fins especiais poderão ser estabelecidas.

C. Métodos e observações

1. Todas as observações para determinação de distinção e de estabilidade deverão ser feitas em, no mínimo, 20 plantas ou partes de 20 plantas.

2. Na determinação, por avaliação visual, da uniformidade de características em parcelas em densidade normal de semeadura, o número de plantas, ou partes de plantas, que apresentem aberrações não deverá exceder 10 em 2000.

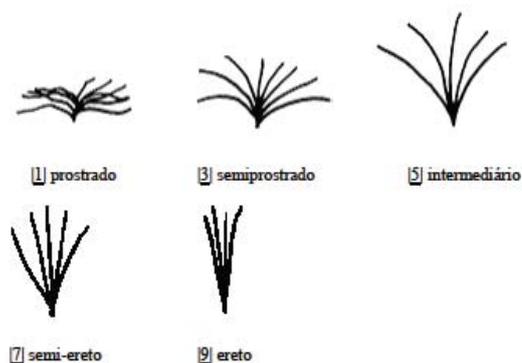
3. Na determinação, por avaliação visual, da uniformidade de características em espigas por fileira, o número de fileiras, de plantas ou de partes de plantas que apresentem aberrações não deverá exceder 5 em 100.

V - ESCLARECIMENTOS PARA A AVALIAÇÃO DE ALGUMAS CARACTERÍSTICAS

A. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

PLANTA

Item 1 - Hábito Vegetativo (Figura 1) - Preencher com o resultado da determinação feita durante o afilhamento:



Item 2 - Altura Média da Planta - A observação deve ser tomada após as plantas alcançarem a altura máxima, ou seja, aproximadamente 30 dias depois do espigamento. A avaliação será feita em comparação com os padrões relacionados a seguir:

Altura	Cultivar Padrão por Região		
	Sul	Centro-Sul	Central (cultivo irrigado)
1) muito baixa	< Sonora 64	< IAC 24-Tucuruí	< IAC 24-Tucuruí
2) baixa	Sonora 64	IAC 24-Tucuruí	IAC 234-Tucuruí
3) média	BR 23	BR 23	BR 33-Guará
4) alta	IAC 5-Maringá	IAC 5-Maringá	IAC 5-Maringá
5) muito alta	> IAC 5-Maringá	> IAC 5-Maringá	> IAC 5-Maringá

FOLHA

As observações deverão ser feitas no início do espigamento em uma amostra de, pelo menos, 100 plantas.

Item 5 - Coloração das Aurículas - Observar a presença de antocianina e preencher o campo com a alternativa que melhor descreve a cultivar para essa característica:

- 1) ausência de antocianina
- 2) pouco colorida
- 3) colorida
- 4) heterogênea

COLMO

As observações deverão ser feitas em plantas no estágio de maturação.

Item 6 - Forma do Nó Superior - Na época da colheita, medir, com paquímetro, o nó superior do colmo principal de, pelo menos, 20 plantas, nos dois sentidos, isto é, altura e largura:

- 1] largo - diferença menor do que 0,5 mm;
 2] quadrado - diferença igual a ou maior do que 0,5 mm para altura em relação à largura;
 3] comprido - diferença igual a ou maior do que 0,5 mm para largura em relação à altura.

Item 8 - Espessura das Paredes - Com base na observação visual de, pelo menos, 20 colmos principais, seccionados 3 cm abaixo do nó superior, preencher o campo com a alternativa que melhor descreve a espessura das paredes do colmo da cultivar:

- 3] delgada
 5] média
 7] espessa

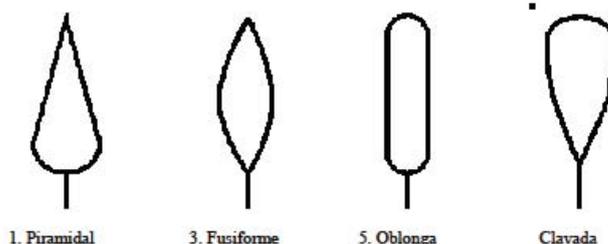
Item 9 - Diâmetro do Colmo - Na época da colheita, medir o diâmetro de, pelo menos, 20 colmos principais, 3 cm abaixo do nó superior. Preencher o campo com a alternativa que melhor descreve o diâmetro do colmo da cultivar:

- 3] fino
 5] médio
 7] lados da espiga.

ESPIGA

As observações de espiga deverão ser feitas em planta madura, com uma amostra de, pelo menos, 20 espigas.

Item 10 - Forma da Espiga (Figura 2) A variação da forma da espiga é determinada, em parte, pelas diferenças de comprimento, densidade e estreitamento em direção ao ápice da espiga. Existem cultivares que apresentam formas intermediárias e, também, aquelas que apresentam mais de uma forma de espiga. Preencher o campo com a alternativa que melhor descreve essa característica para a cultivar:



Item 11 - Comprimento - Preencher o campo com a alternativa que melhor descreve a cultivar em relação ao comprimento da espiga, em função da média. Medir o comprimento do ráquis, em milímetros:

- 1] curta - < 75 mm
- 2] semicurta - 75 a < 85 mm
- 3] semilonga - 85 a < 95 mm
- 4] longa - \geq 95 mm

Item 12 - Densidade - Preencher o campo com a classe que melhor descreve a densidade das espigas da cultivar, em função da média. Medir, em milímetros, o comprimento de 10 internódios centrais do ráquis de cada espiga e calcular a média:

- 1] densa - < 40 mm
- 2] semidensa - \geq 40 a < 45 mm
- 3] semilaxa - 45 a < 50 mm
- 4] laxa - \geq 50 mm

GLUMA

As observações de gluma deverão ser feitas em, no mínimo, 20 espigas, sempre na gluma superior da sétima espiguetas, contando-se somente as espiguetas férteis a partir da base, considerando os dois lados da espiga.

Item 16 - Comprimento - Preencher o campo com a classe que melhor descreve a cultivar em relação ao comprimento da gluma, após calcular a média dos valores obtidos:

- 1] curta - < 7 mm
- 2] média - 7 a < 8 mm
- 3] longa - \geq 9 mm

Item 17 - Largura - Preencher o campo com a classe que melhor descreve a cultivar em relação à largura da gluma, após calcular a média dos valores obtidos:

- 1] estreita - < 3 mm
- 2] média - 3 a < 4 mm
- 3] larga - \geq 4 mm

Item 18 - Forma do Ombro - preencher o campo com a classe observada para forma do ombro (Figura 3):



1] inclinado

3] reto

5] elevado

Item 19 - Comprimento do Dente - Preencher o campo com a classe observada para comprimento médio do dente:

- 1] curto - < 3 mm
 2] médio - 3 a < 7 mm
 3] longo - ≥ 7 mm

GRÃO

As observações e medições deverão ser efetuadas em uma amostra de, no mínimo, 100 grãos primários, maduros, do terço médio das espigas (obs.: não utilizar grãos "chuvados").

Item 20 - Forma - Preencher o campo com a classe que melhor descreve a forma do grão da cultivar:

- 1] ovalado - (Ex.: IAC 5-Maringá)
 2] alongado (elíptico) - (Ex.: EMBRAPA 16)
 3] truncado - (Ex.: EMBRAPA 22)

Item 21 - Comprimento - Preencher o campo com a alternativa que melhor descreve o comprimento médio do grão:

- 1] curto - < 6 mm
 2] médio - 6 a < 7 mm
 3] longo - ≥ 7 mm

Item 23 - Textura - Preencher o campo com a alternativa que melhor descreve a textura dos grãos da cultivar, obtida por determinação visual:

- 1] mole
 2] semiduro
 3] duro

B. CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA

Item 25 - Subperíodo Emergência/Espigamento - Preencher a alternativa da classe que melhor descreve a duração do subperíodo desde a emergência até 50 % das plantas da cultivar estarem espigadas. A avaliação será feita empregando-se os padrões relacionados a seguir:

Subperíodo	Cultivar Padrão por Região Triticola		
	Sul	Centro-Sul	Central
<input type="checkbox"/> 1] superprecoce	< IAC 5-Maringá	< BH 1146 (SP e MS) < IAC 5-Maringá (PR)	< BH 1146
<input type="checkbox"/> 2] precoce	IAC 5-Maringá	BH 1146 (SP e MS) IAC 5-Maringá (PR)	BH 1146
<input type="checkbox"/> 3] médio	BR 23	IAC 5-Maringá (SP) BR 23 (PR e MS)	IAC 5-Maringá
<input type="checkbox"/> 4] tardio	Toropi	IAPAR 42-Ibiara (SP) > BR 23 (PR e MS)	> IAC 5-Maringá
<input type="checkbox"/> 5] supertardio	> Toropi	-	-

Item 26 - Ciclo Emergência/Maturação - Preencher a alternativa da classe que melhor descreve a duração do ciclo da cultivar desde a emergência até a maturação. A avaliação será feita empregando-se os mesmos padrões empregados no Item 25.

Item 27 - Crestamento - Preencher o campo com a alternativa que melhor descreve o comportamento da cultivar em relação à presença de alumínio e/ou de manganês em níveis tóxicos no solo:

- 1) suscetível
 2) moderadamente suscetível
 3) moderadamente resistente
 4) resistente

C. VARIAÇÃO MORFOLÓGICA E/OU BIOLÓGICA

Detalhar em folha anexa, as explicações sobre as variações que a cultivar possa vir apresentar para qualquer característica morfológica e/ou biológica considerada neste registro, incluindo as frequências dos tipos observados.

V - COMPARAÇÃO ENTRE DESCRITORES DE UMA CULTIVAR APRESENTADA PARA PROTEÇÃO, COM OS DESCRITORES DE UMA OUTRA CULTIVAR JÁ DESCRITA, MAIS PARECIDA

CARACTERÍSTICA	CULTIVAR APRESENTADA	CULTIVAR MAIS PARECIDA
Hábito vegetativo		
Altura média da planta		
Posição da folha bandeira		
Coloração das aurículas		
Forma do nó superior		
Forma da espiga		
Comprimento da espiga		
Densidade da espiga		
Arista da espiga		
Coloração da espiga		
Forma do ombro da gluma		
Comprimento do dente da gluma		
Forma do grão		
Coloração do grão		
Dureza do grão		
Subperíodo emergência/espigamento		
Ciclo emergência/maturação		

Este campo poderá conter quantos exemplos de cultivares parecidas aprovadas ao obtentor, bastando para isso escreve-los dentro dos espaços próprios e separá-los com linhas criadas com a tecla ENTER.

Nome da cultivar mais parecida:

VI - INSTRUÇÕES DE PREENCHIMENTO

1. Para facilitar a avaliação das diversas características, foi elaborado um esquema de código com valores que podem variar de 1 a 9, posicionado junto à descrição de cada parâmetro. A interpretação dessa codificação é a seguinte:

a) Quando as alternativas de código forem seqüenciais, isto é, não existirem espaços entre os diferentes valores, a escolha para descrever a característica deve ser somente um dos valores listados. Exemplo: "Coloração da espiga" tem na codificação o valor 1 para "clara" e valor 2 para "escura". Somente estas duas alternativas são aceitas no preenchimento.

b) Quando as alternativas de código não forem seqüenciais, isto é, existirem espaços, um ou mais, entre os valores propostos, a escolha para descrever a característica pode ser, além das previstas, variações intermediárias consideradas pelo avaliador. Exemplo: "Grão - Textura", tem codificado o valor 1 para "mole"; 3 para "semi-duro" e o valor 5 para "duro". Neste caso, pode ser escolhido o valor 2 para uma cultivar com grãos entre "mole" e "semi-duros", ou o valor 4 para grãos entre "semi-duros" e "duros". O intervalo neste caso é de 1 a 5, não sendo possível utilizar valores como 6, 7, 8 ou 9 (quando a escala começa com o valor 1, indica que os valores de início e término, são os extremos). Quando as alternativas propostas são 3 - 5 - 7, pode-se usar qualquer valor de 1 a 9, já que ambos os extremos da escala mostram que podem existir valores aquém e além dos indicados.

2. Quando uma determinada característica não for avaliada, por qualquer razão técnica pertinente, deverá levar valor 0 (zero).

3. O correto preenchimento deste questionário, deverá acompanhar o formulário específico do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, para requisição de proteção da cultivar em questão.