

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

**CARACTERIZAÇÃO DE TRIGO SINTÉTICO À  
GIBERELA (*Gibberella zeae*) (SCHW.) PETCH,  
ÍNDICE MEIÓTICO E DIVERSIDADE GENÉTICA**

**Patrícia Frizon**

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 Proteção de Plantas.

Passo Fundo, abril de 2016

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

**CARACTERIZAÇÃO DE TRIGO SINTÉTICO À  
GIBERELA (*Gibberella zeae*) (SCHW.) PETCH,  
ÍNDICE MEIÓTICO E DIVERSIDADE GENÉTICA**

**Patrícia Frizon**

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Carolina Cardoso Deuner  
Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Sandra Patussi Brammer**

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

Passo Fundo, abril de 2016.



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação.

“Caracterização de trigo sintético à gibereia (*Gibberella zeae* (Schw.) Petch,  
índice meiótico e diversidade genética”

Elaborada por

Patrícia Frizon

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

Aprovada em: 15/04/2016  
Pela Comissão Examinadora

**Dra. Carolina Cardoso Deuner**  
Presidente da Comissão Examinadora  
Orientadora

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

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

**Dr. Hélio Carlos Rocha**  
Diretor FAMV

*Maria Imaculada Pontes Moreira Lima*  
**Dra. Maria Imaculada Pontes de Moreira Lima**  
Embrapa Trigo

---

CIP – Catalogação na Publicação

F921c Frizon, Patrícia

Caracterização de trigo sintético à Giberela (*Gibberella zaeae*) (SCHW.) Petch, índice meiótico e diversidade genética / Patrícia Frizon. – 2016.

102 f. : il. ; 25 cm.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Carolina Cardoso Deuner.

Coorientadora: Dr<sup>ª</sup>. Sandra Patussi Brammer.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, 2016.

1. Trigo – Doenças e pragas. 2. Trigo – Melhoramento genético. 3. Pragas – Controle. I. Deuner, Carolina Cardoso, orientadora. II. Brammer, Sandra Patussi, coorientadora. III. Título.

CDU: 633.11

---

Catálogo: Bibliotecária Schirlei T. da Silva Vaz – CRB 10/1364

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

**Patrícia Frizon** nasceu em 14 de dezembro de 1990, na cidade de Caiçara, RS. Em 2013 concluiu o curso de Agronomia, na Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Campus Frederico Westphalen (CESNORS). Em 2014 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo/RS-UPF, realizando trabalhos de fitopatologia, citogenética e biologia molecular com trigos sintéticos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por ter me abençoado a realizar o sonho de ser mestre. À toda minha família, a quem amo incondicionalmente, em especial meu pai, Avelino Frizon, minha mãe, Terezinha Frizon e meu irmão Roque Luiz Frizon, pelo apoio financeiro e afetivo oferecidos durante toda a caminhada acadêmica.

À minha irmã, Monica Frizon, e cunhado, José Paulo de Oliveira, por todo apoio emocional e financeiro e, ao meu irmão, Ezequiel Frizon por toda ajuda de suporte computacional.

Ao apoio financeiro concedido pela Fapergs durante o mestrado e à Capes, por ter concedido bolsa para o intercâmbio.

À orientadora, Dr.<sup>a</sup> Carolina Cardoso Deuner, e à pesquisadora e coorientadora, Dr.<sup>a</sup> Sandra Patussi Brammer, pela amizade, contribuição, tanto pessoal como profissional, empenho e dedicação a sua profissão sempre com grande entusiasmo.

Aos pesquisadores, Dr.<sup>a</sup> Maria Imaculada Pontes Moreira Lima, por todo o suporte na parte fitopatológica, paciência e confiança no meu trabalho, e ao Dr. Ricardo Lima de Castro, por toda a ajuda estatística.

À pesquisadora, Dr.<sup>a</sup> Tammy Aparecida Manabe Kihll, pela ajuda e suporte com o material do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo.

À Dr.<sup>a</sup> Eugenia Martin, pela ótima recepção e orientação durante meus três meses de intercâmbio na Facultad de Ciencias Agrárias da Universidad Nacional de Rosário, Argentina.

À equipe de Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo, pela ajuda na parte citológica, molecular e fitopatológica, em especial, às técnicas Andréa Morás e Valdirene Volpato.

Aos funcionários do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo, pelo suporte técnico.

Ao pessoal da casa-de-apoio da Embrapa Trigo, em especial ao técnico Ervino José Megier pelos ensinamentos e ajudas.

Às estagiárias, Aline Scolaro Camera, Jéssina Nardi e Monica Bossardi Coelho, que durante estes dois anos passaram pelo Laboratório de Biotecnologia e tanto contribuíram em épocas em que eu estava com experimentos em campo e disciplinas. Além do apoio técnico, contribuíram com apoio afetivo.

A todas as minhas amigas da Pós-graduação, especialmente, Andrea Ferreira Hoffmann, Fernanda Brum Martins e Claudia Dutra, pelos ótimos momentos juntas e pelo companheirismo.

Muito obrigada!

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	ix
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	9
2.1 A origem do trigo .....	9
2.2 Importância do trigo .....	12
2.3 Giberela no trigo .....	13
2.3.1 Etiologia .....	13
2.3.2 Epidemiologia .....	14
2.3.3 Sintoma e sinal .....	14
2.3.4 Controle da doença .....	16
2.4 Trigos sintéticos hexaploides .....	18
2.5 A citogenética na caracterização dos genótipos .....	20
2.6 Marcadores genéticos - microssatélites .....	22
<b>CAPÍTULO I</b> .....	26
<b>RESUMO</b> .....	26
<b>ABSTRACT</b> .....	27
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	28
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	33
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	44
<b>CAPÍTULO II</b> .....	45
<b>RESUMO</b> .....	45
<b>ABSTRACT</b> .....	46
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	47
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	49
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	51
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	58
<b>CAPÍTULO III</b> .....	59
<b>RESUMO</b> .....	59
<b>ABSTRACT</b> .....	60
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	60
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	63
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	69
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	79

<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	80
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	81

## LISTA DE TABELAS

<b>CAPITULO I</b>		<b>Resistência do tipo III à giberela em trigos sintéticos</b>	
<b>Tabela</b>			<b>Página</b>
1	Acessos de trigos sintéticos e cultivares de trigo utilizados no experimento nos anos de 2014 e 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS. 2016.....		31
2	Ciclo (dias) da semeadura ao espigamento e da semeadura a maturação dos 20 acessos de trigos sintéticos e das seis cultivares de trigo, safras 2014 e 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2016.....		35
3	Precipitação pluvial total (mm), temperatura média (°C), nos meses de setembro, outubro e novembro de 2014 e 2015, Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2016.....		38
4	Grãos giberelados (GB) e grãos normais (GN), obtidos em 25 genótipos de trigo, na safra de 2014. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS. 2016.....		40
5	Grãos giberelados (GB) e grãos normais (GN), obtidos em 26 genótipos de trigo, no ano de 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS. 2016.....		42
<b>CAPÍTULO II</b>		<b>Índice Meiótico de trigos sintéticos como apoio em programas de melhoramento genético à giberela</b>	
<b>Tabela</b>			<b>Página</b>
1	Percentual de tétrades com micronúcleo (MCN) e índice meiótico (IM) no ano de 2014. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2016.....		52

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
2	Percentual de tétrades com micronúcleo (MCN) e índice meiótico (IM) no ano de 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2016.....	53
3	Informações meteorológicas dos anos de 2014 e 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS. 2016.....	56
<b>CAPÍTULO III Diversidade genética de trigos sintéticos mediante marcadores moleculares microssatélites</b>		
<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
1	Marcadores moleculares polimórficos, usados no estudo de diversidade genética nos 26 genótipos de trigo, com suas respectivas sequências gênicas e posição no cromossomo. Embrapa, Passo Fundo/RS, 2016. São referenciados por Röder (1998), com exceção de Barc 24, que é por Cuthbert et al. (2006).....	66
2	Conteúdo de informação polimórfica nos 37 marcadores microssatélites.....	74
3	Matriz de distâncias genéticas nos acessos de trigos sintéticos e cultivares testemunhas.....	76

## LISTA DE FIGURAS

	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>Página</b>
<b>Figura</b> 1	Esquema da evolução do trigo.....	10
<b>CAPÍTULO I</b>	<b>Resistência do tipo III à giberela em trigos sintéticos</b>	
<b>Figura</b> 1	Precipitação pluvial diária (mm) nos meses de setembro, outubro e novembro de 2014. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2016.....	37
2	Precipitação pluvial diária nos meses de setembro, outubro e novembro de 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS, 2016.....	38
<b>CAPÍTULO III</b>	<b>Diversidade genética de trigos sintéticos mediante marcadores moleculares microssatélites</b>	
<b>Figura</b> 1	Foto das 26 amostras de DNAs, amplificadas pelo primer WMS44, revelada através de um gel de agarose.....	70
2	Dendrograma gerado a partir da matriz de distâncias genéticas.....	78

**CARACTERIZAÇÃO DE TRIGO SINTÉTICO À GIBERELA  
(*Gibberella zae*) (Schw.) Petch, ÍNDICE MEIÓTICO E  
DIVERSIDADE GENÉTICA**

**Patrícia Frizon<sup>1</sup>**

**RESUMO** - O presente trabalho teve por finalidade caracterizar vinte acessos de trigos sintéticos, oriundos do cruzamento de *Triticum durum* (genomas AABB) x *Aegilops tauschii* (genoma DD) quanto à reação à giberela. Estes foram comparados com seis cultivares de trigo (Genomas AABBDD), com diferentes níveis de resistência, por meio de análises fitopatológicas, citogenéticas e moleculares. O delineamento foi em blocos casualizados, com 26 tratamentos e três repetições. No espigamento, grãos com peritécios de *Gibberella zae* foram distribuídos na superfície do solo. No ponto de colheita, cinquenta espigas secas, de tamanho uniforme, foram colhidas e trilhadas. A incidência da giberela foi avaliada pelo percentual de grãos com sintomas. Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Para análise da estabilidade genética, cinco espigas por genótipo no estágio 10 da escala de Feeks & Large foram coletadas e fixadas em solução de Carnoy. As lâminas citológicas foram preparadas pelo método de maceração e a coloração das células foi feita com carmim acético 1%. As observações foram em microscópio óptico, analisando presença e ausência de micronúcleos na fase de tétrades, sendo feitas as contagens de tétrades normais e com micronúcleos, para posterior cálculo de índice meiótico. Os genótipos foram considerados

meioticamente estáveis quando o índice meiótico foi acima de 90%. Para as análises moleculares foram utilizados os DNAs extraídos dos 26 genótipos de trigo e mais 42 marcadores microssatélites para a realização do estudo de diversidade genética. Em relação à reação à giberela, os melhores resultados foram obtidos com os acessos CIGM93.298 e CIGM92.1666, em 2014 e 2015, respectivamente. Esses acessos, foram meioticamente estáveis, já que apresentaram índice meiótico superior a 90%, nos dois anos. Na dissimilaridade genética, os trigos sintéticos apresentaram elevada diversidade. Um total de 73 alelos foram detectados mediante estes marcadores, com o máximo de quatro alelos por locus. O *polymorphism information content*, mostrou que o genoma B é de maior diversidade genética entre os genomas A, B, e D dos trigos hexaploides sintéticos. Os resultados indicaram que o trigo sintético hexaploide representa excelente germoplasma para introgressão gênica em linhagens e cultivares de trigo.

**Palavras-chave:** *Triticum aestivum*, fusariose, híbridos interespecíficos, resistência genética, estabilidade genética.

**SYNTHETIC WHEAT CHARACTERIZATION THE *Gibberella*  
*zeae* (SCHW.) PETCH, MEIOTIC INDEX AND GENETIC  
DIVERSITY**

**ABSTRACT:** This study had the purpose to characterize twenty accessions of synthetic wheats, from the crossing of *Triticum durum* (AABB genomes) x *Aegilops tauschii* (genome DD) for resistance to Fusarium head blight. These were compared with six cultivars of wheat (AABBCCDD Genomes), with different levels of resistance through phytopathological, cytogenetic and molecular analysis. The design was randomized blocks, with twenty six treatments and three replications. In silking, grain perithecia of *Gibberella zeae* were distributed on the soil surface. At the harvest point, fifty dried ears of wheats, uniform in size, were harvested and threshed. The incidence of FHB was assessed by the percentage of grains with symptoms. The data were submitted to analysis of variance and means were compared by the Scott and Knott test at 5% probability. For the analysis of genetic stability, five spikes per genotype at the stadium ten Feeks & Large scale were collected and fixed in Carnoy solution. The cytological slides were prepared by soaking method and the coloration of cells was done with 1% acetic carmine. Observations were under an optical microscope, analyzing the presence and absence of micronuclei in tetrad stage being made of the normal tetrads and micronucleus counts for subsequent meiotic index calculation. Genotypes were considered meiotic stable when the meiotic index was above 90%. For the molecular analysis of the twenty six DNAs extracted from wheat genotypes and over 42 microsatellite markers for the creation of genetic diversity study were used. Regarding

the reaction to FHB, the best results were obtained with CIGM93.298 and CIGM92.1666 accessions, in 2014 and 2015, respectively. These accessions were meiotic stable, as presented meiotic index greater than 90% in two years. In genetic dissimilarity, synthetic wheats showed high diversity. A total of 73 alleles were detected by these markers, with the maximum of four alleles per locus. The polymorphism information content, showed that genome B is greater genetic diversity between the genomes B and D of synthetic hexaploid wheats. The results indicated that the synthetic hexaploid wheat is excellent germplasm for gene introgression lines and in wheat cultivars.

**Key words:** *Triticum aestivum*, Fusarium head blight, interspecific hybrids, genetic resistance and genetic stability.

## 1 INTRODUÇÃO

O trigo (*T. aestivum* L.) é uma planta muito antiga, originada de cruzamentos de gramíneas silvestres que existiam próximas ao rio Tigre e Eufrates em milhares de anos (SILVA et al., 2000). Pertence à família Poaceae, tribo Triticeae (Hordeae), subtribo Triticinae, gênero *Triticum*. A subtribo compreende quinze espécies, reunidas em três grupos, denominados em função do seu número de cromossomos, ( $n=7$ ), a série diploide constituída por 14 cromossomos, tetraploide, por 28 cromossomos, e hexaploide, por 42 cromossomos (SLEPER & POEHLMAN, 2006).

A espécie *T. aestivum* está entre as espécies vegetais de maior importância para a alimentação humana, sendo um cereal consumido no mundo inteiro, pois a partir dele são obtidos diversos produtos, pelo processo de panificação (JOSHI et al., 2007).

A produção de trigo, estimada pela Conab, em dezembro de 2015, foi de 5.534,9 mil toneladas, ante às 7.070,3 mil toneladas na primeira avaliação de agosto de 2015, ou seja, recuo de 21,8% frente à estimativa inicial. A quebra foi resultado do dano causado pelo clima na cultura de trigo nas zonas de produção da Região Sul do Brasil, principalmente no Rio Grande do Sul. Assim, entre janeiro e dezembro de 2015 foram importados 5,17 milhões de toneladas; 73,8% de origem Argentina, 10,9% do Paraguai, 8,7% dos Estados Unidos e 6,1% do Uruguai (CONAB, 2016).

Essa redução da produtividade de trigo, ocorreu principalmente devido às condições climáticas, que favorecerem o aparecimento de doenças.

A giberela do trigo, cujo agente etiológico é o fungo *Gibberella zae* (Schwein) Petch (*Fusarium graminearum* Schwabe), é considerada a principal doença de espiga do trigo no sul do Brasil. Ultimamente, vem ganhando bastante importância, não só devido aos danos qualitativos e quantitativos, mas também pelo fato do fungo sobreviver em restos culturais e ter ampla gama de hospedeiros. Além disso, seu inóculo permanece no ar durante o ano todo. Isto faz com que as estratégias de manejo, como controle químico e rotação de cultura, não sejam eficientes (REIS et al., 2011; VIANA & DEUNER, 2011).

O desenvolvimento de cultivares de trigo geneticamente resistentes é o método mais efetivo para prevenir os danos causados pela giberela. No entanto, não existem cultivares com resistência completa. Em todo o mundo, um dos objetivos dos programas de melhoramento genético é a busca de fontes de resistência a essa doença (ZHOU et al., 2002).

A base genética dos trigos cultivados pode ser restringida na condição dos cultivos modernos e, assim, a capacidade de resistir aos estresses bióticos e abióticos pode ser reduzida. *Aegilops tauschii*, (Coss) o doador do genoma D do *T. aestivum*, apresenta genes potencialmente desejáveis que podem ser usados para ampliar a diversidade genética do trigo. Esse genoma faz parte da constituição dos trigos sintéticos, que são produzidos artificialmente pelo cruzamento de uma espécie tetraploide, como é o caso de *T. durum* (Desf) com a espécie diploide, *Ae. tauschii* (SHARMA et al., 2014).

O estudo citogenético pode contribuir significativamente nas etapas anteriores aos cruzamentos de linhagens parentais nos programas de melhoramento genético (CARVALHO et al., 2009). A análise do comportamento meiótico é muito utilizada para estudos evolutivos, bem como na seleção de genótipos a serem utilizados em programas de melhoramento genético, já que permite caracterizar as plantas quanto à sua estabilidade genética e fertilidade. Isso reflete na possibilidade de uma seleção mais apurada dos genótipos analisados (GRANATO, 2010).

A meiose, quando ocorre normalmente, garante a viabilidade do gameta (PAGLIARINI, 2000). Contudo, as etapas da meiose são controladas por fatores genéticos. Esses fatores podem ser mutáveis, gerando, assim, algumas das irregularidades meióticas, tais como os micronúcleos (KAUL & MURTHY, 1985). Essas irregularidades meióticas são indesejáveis, pois alteram os genótipos, ocasionando a instabilidade meiótica. Isso dificulta trabalhos de hibridação em programas de melhoramento por representar perda de material genético (DEFANI-SCOARIZE et al., 1996).

Outra importante fonte de dados para os melhoristas é a caracterização genética dos acessos dos bancos de germoplasma, uma vez que permite um melhor gerenciamento do “pool” gênico, bem como uma seleção mais eficiente dos recursos genéticos, facilitando a detecção da variabilidade genética para fins de melhoramento genético ou biotecnológicos (BENKO-ISEPPON, 2001). A avaliação da diversidade genética em trigos sintéticos é de importância primordial para a melhoria do trigo. Marcadores moleculares do DNA são utilizados em análises de diversidade genética, uma vez que contribuem

com informações sobre todas as regiões do genoma, independentemente do nível de expressão gênica (PANDEY et al., 2006). Os marcadores microssatélites, ou *Simple Sequence Repeats* (SSR), possuem um grande número de vantagens, como o elevado nível de polimorfismo, a especificidade local, a codominância, a reprodutibilidade e a distribuição aleatória e uniforme em todo o genoma (RODER et al., 2002).

Diante disto, o objetivo deste trabalho foi avaliar acessos de trigo sintéticos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo (BAG-Trigo) em reação à giberela, estimar a variabilidade quanto à estabilidade genética por meio de análises de presença de micronúcleo e índice meiótico e identificar a diversidade genética com base em marcadores moleculares microssatélites, visando à obtenção de novas fontes de resistência genética e, desta forma, disponibilizar informações científicas para utilização nos programas de melhoramento genético do trigo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A origem do trigo

O trigo é uma planta anual, hermafrodita, autógama, e uma das culturas mais produzidas mundialmente, possuindo milhares de cultivares disponíveis em todo mundo. A domesticação ocorreu nas lavouras primitivas do Sudeste da Ásia de 7000 a 9000 A.C. e foi introduzido na Índia, na China e na Europa desde cinco mil anos A.C. (MORAES-FERNANDES et al., 2000).

As espécies que constituem o gênero pertencem a três níveis de ploidia, com um número básico de cromossomos igual a sete (7) e são classificados como espécies diploides, tetraploides e hexaploides. Os ancestrais que deram origem às principais espécies de interesse comercial são, em quase sua totalidade, pertencente ao mesmo nível diploide, e as espécies com maior número de cromossomos originaram-se de híbridos interespecíficos, seguidos de duplicação, entre duas ou mais espécies diploides (ZOHARY, 1963).

Os gêneros *Aegilops* e *Triticum* contribuíram significativamente na hibridação e na poliploidização durante a evolução da espécie. Destaca-se o trigo, *T. aestivum*, que tem um genoma complexo, o qual consiste de três genomas relacionados e derivados a partir de três espécies diploides diferentes, sendo designado como um allohexaploide (*allo*, do grego, significa "diferente") (FELDMAN & AVRAHAM, 2012).

A evolução do trigo ocorreu há milhões de anos, devido à hibridação natural entre dois trigos selvagens diploides, o *T. urartu*

(Gandilyan) (genoma AA), com o *Aegilops speltoides (tauschii)* (BB), resultando no trigo tetraploide, *T. dicoccoides* (Schrank) (MUJEEB-KAZI et al., 1996). Entretanto, a domesticação do trigo tetraploide, levou à evolução do trigo, originando, assim, o *T. durum* ( $2n = 28$ , AABB), que, por sua vez, entre oito mil a dez mil anos atrás foi hibridizado com o diploide selvagem *Ae. Tauschii*, também denominado *Aegilops squarrosa* e *Triticum tauschii*, (DD genoma) produzindo, então o trigo hexaploide, *T. aestivum* (AABBDD) (HELBAEK, 1959; MUJEEB-KAZI et al., 1996) (Figura 1).

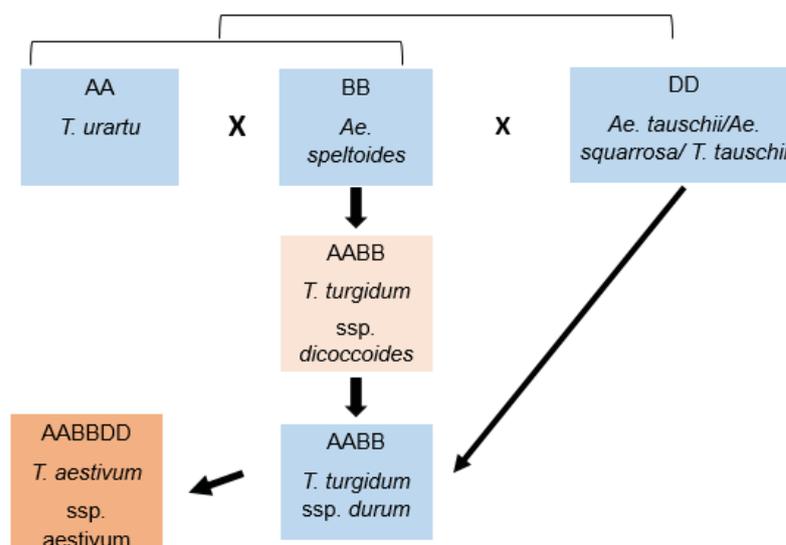


Figura 1- Esquema da evolução do trigo. Adaptado de Zhang et al., (2014).

Em comparação com o trigo tetraploide, o *T. aestivum* têm adaptabilidade mais ampla para diferentes fotoperíodos e vernalização. Ainda, apresenta maior tolerância ao sal, alumínio e geada e também maior resistência a várias pragas e doenças (DUBCOVSKY & DVORAK, 2007).

A incorporação do genoma D no trigo hexaploide foi extremamente importante, uma vez que esse genoma apresenta importantes caracteres comercialmente úteis, dentre os quais tolerância/resistência aos estresses bióticos e abióticos. Como por exemplo, oito genes que controlam a resistência de oídio, *Blumeria graminis* (Speer.), foram mapeados no genoma D, e quatro deles (*Pm2*, *PM19*, *Pm34* e *Pm35*) foram originários de *Ae. tauschii* (PLAMENOV & SPETSOV, 2011). Analisando-se linhas de trigo derivados de cruzamentos com trigos sintéticos, identificaram que o cromossomo 7D do trigo sintético transporta um gene que codifica resistência completa de dois isolados argentinos da doença fúngica, septoriose, cujo agente causal é *Septoria tritici* (Fuckel) e *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) (SIMON et al., 2001). À resistência a insetos tem sido geralmente associada com o genoma D, sendo que seis (*H13*, *H22*, *H23*, *H24*, *H26* e *H32*), dos 32 genes, de resistência foram identificados em *Ae. tauschii* (SARDESAI et al., 2005).

Tratando-se da tolerância aos estresses, das três espécies parentais diploides do trigo hexaploide, *T. monococcum*, *Ae. speltoides* e *Ae. tauschii*, os dois primeiros tem distribuição geográfica restrita, enquanto que o terceiro ocupa habitats essencialmente continental. Assim, *Ae. tauschii* tem uma tolerância aos extremos de temperatura (alta e baixa), déficit de umidade como ocorre entre os ambientes de sua ocorrência. De particular interesse são os ambientes do seu crescimento na Ásia Central, onde temperaturas médias diárias de inverno atingem gamas de -10 °C a -28 °C, enquanto no verão, as médias diárias das temperaturas máximas variam de 30 °C a 38 °C e umidades relativas de 30-50% (WERNSTEDT, 1972).

Somado as características citadas, alelos de *Ae. tauschii* não só tem permitido germinação mais rápida e mais uniforme das plantas, como também vigor e longevidade das sementes e crescimento de plântulas (BÖRNER et al., 2015).

## **2.2 Importância do trigo**

O trigo é uma das principais culturas alimentares, cultivado em diferentes ambientes e regiões geográficas. Possui grande relevância na dieta alimentar por sua qualidade e quantidade de proteínas e pela variedade de produtos derivados produzidos. Na atividade econômica, o cereal dá suporte a diversas ramificações industriais, contribuindo para a geração de valor agregado e de postos de trabalho (De MORI, 2015).

O cereal ocupa mais de 17% da terra cultivável do mundo, aproximadamente 30% da produção mundial de grãos e constitui a cultura importante na composição de sistemas de produção agrícola sustentável, como alternativa para sucessão e rotação em sistemas de produção, contribuindo para o manejo integrado de pragas, doenças e invasoras. No período de 2009-2013, os principais países produtores de trigo no mundo, responsáveis por mais de 60% da produção mundial foram: União Europeia, China, Índia, EUA e Rússia, sendo que os rendimentos dos principais produtores têm uma ampla variação, oscilando de 1.828 kg/ha a 6.265 kg/ha. No Brasil, a produção de trigo sempre esteve concentrada na região Sul, sendo que oscilações na área de semeadura e eventos climáticos marcaram o período de 2010-2013

e resultaram em 45,2% de trigo no Paraná e de 45,5 % no Rio Grande do Sul (De MORI, 2015).

Em 2015, a produção de trigo teve uma redução de 21,8 %, mostrando, assim, os reflexos dos danos causados pelo clima nas culturas de trigo nas zonas de produção da Região Sul do Brasil, principalmente no Rio Grande do Sul. Esta redução ocorreu porque houve danos por geadas em setembro, que atingiu especialmente as lavouras que tiveram o ciclo de desenvolvimento das plantas acelerado pelas temperaturas elevadas no inverno; com destaque para o mês de agosto. Todavia, os danos foram maiores em lavouras semeadas mais tarde, que acabaram sendo atingidas mais intensamente pelos excessos de chuva na primavera sendo que, em muitos casos, houve tempestades associando chuvas intensas, ventos fortes e quedas de granizo. Avultou, nessa safra, além dos prejuízos físicos à produção, a elevada incidência de doenças de espiga, que se caracterizam como de difícil controle, a exemplo da giberela, causando perdas de produtividade e também em qualidade tecnológica do produto colhido e contaminação com micotoxinas (EMBRAPA TRIGO, 2015).

## **2.3 Giberela no trigo**

### **2.3.1 Etiologia**

O principal patógeno associado à giberela no trigo é o fungo *Gibberella zae* (Schw.) Petch (anamorfo = *Fusarium graminearum* Schwabe), embora outras espécies sejam importantes em algumas regiões, como *F. culmorum* (W.G. Smith) Sacc. e *G. avenacea* Cook

[anamorfo = *F. avenaceum* (Corda ex Fries)] (BOTTALICO & PERRONE, 2002).

O fungo *G. zea* pertence ao filo Ascomycota, ordem Hypocreales, família Nectriaceae. O fungo *F. graminearum* pertence à divisão Amastigomycota, classe dos Deuteromycetes, ordem Moniliales e família Tuberculariaceae (AMORIN et al., 2011).

### **2.3.2 Epidemiologia**

Entre as estações de cultivo, *G. zea* sobrevive como saprófita, tanto em resíduos vegetais de plantas hospedeiras, como não hospedeiras, dispostas na superfície do solo. Sobre esses resíduos, o fungo produz esporos assexuais, macroconídios, que são liberados e dispersos pela ação da chuva e do vento, podendo ser elevados para o dossel da cultura. Sob condições de molhamento, peritécios são formados sobre os resíduos, liberando os ascósporos, esporos sexuais do fungo, para o ambiente. Estes ascósporos consistem no inóculo primário da doença. Os respingos de chuvas ou de irrigação e o vento podem carregar os esporos a longas distâncias. Quando entram em contato com as espigas, em condições de alta umidade e de temperaturas entre 20 °C e 30 °C, os esporos germinam e infectam as espiguetas (WEGULO, 2012).

### **2.3.3 Sintomas e sinal**

Após a infecção, o fungo pode propagar-se pela ráquis, e os primeiros sintomas são percebidos, entre três a quatro dias após a

infecção. Espiguetas afetadas exibem branqueamento prematuro na medida em que o patógeno coloniza os tecidos. Com o tempo, o branqueamento das espiguetas pode progredir para toda a extensão da espiga (SCHMALE et al., 2010). Além desse sintoma, as aristas de espiguetas afetadas desviam do seu sentido normal. Em trigos com espigas sem aristas, a giberela é caracterizada pela descoloração das espiguetas (LIMA, 2004). Os grãos com sintomas de giberela são chochos, enrugados de coloração branco-rosada a pardo-clara (PARRY et al., 1995; REIS, 2007; LIMA, 2011).

Em condições favoráveis, ou seja, ambiente quente e úmido, as estruturas (sinais) do patógeno são facilmente visualizadas a olho nu. Podem surgir agregações de esporos de coloração laranja ou salmão no ráquis e nas glumas das espiguetas, em decorrência da produção de macroconídios de *F. graminearum*. Outros sinais do patógeno podem ser observados nas espigas secas, sobre a superfície afetada das espiguetas, com formação de pontuações escuras, que são estruturas sexuais do fungo conhecidos como peritécios de *G. zae* (REIS, 1988a; PARRY et al., 1995).

As anteras de espigas são relatadas como sítios preferenciais de infecção pelo patógeno (PARRY et al., 1995; REIS et al., 1996; McMULLEN et al., 1997; BUSHNELL et al., 2003). Existem algumas evidências de que os estômatos sejam uma das vias de entrada para *Fusarium* spp. em espigas de trigo (BUSHNELL et al., 2003; PRITSCH et al., 2000). Segundo Lima (2003), em inoculações artificiais, conduzidas em casa-de-vegetação, em espigas de trigo, em ambiente favorável, os danos foram similares a partir da emergência completa da espiga, antes da extrusão das anteras.

### 2.3.4 Controle da doença

A intensidade de ocorrência de giberela é altamente dependente das condições climáticas para o seu estabelecimento e por isso, as epidemias variam de ano para ano (CASA et al., 2004). Quanto às condições mais favoráveis à infecção pelo patógeno são precipitação pluvial em dois ou três dias consecutivos e temperaturas de 24 °C a 30 °C (MCMULLEN & STACK, 1994).

Não existe medida de controle eficiente para giberela. A sobrevivência do patógeno em diversos hospedeiros, assim como a facilidade de dispersão dos ascosporos, que são transportados à longa distância pelo vento, faz com que a giberela não seja, eficientemente, controlada pela rotação de culturas (PARRY, 1995; ZAMBOLIM et al., 2000; CHAMPEIL et al., 2004).

O uso de fungicidas, pode promover controle parcial da giberela e da contaminação com micotoxinas. Fungicidas foliares são usados para o controle da giberela, os quais são aplicados em torno do período de espigamento do trigo. Já, em outras áreas devido, ao alto custo, eficácia variável e a natureza esporádica das epidemias, os fungicidas são raramente utilizados para controlar a doença (SCHMALE et al., 2010).

A resistência genética é a estratégia mais econômica e eficiente para o controle de doenças em plantas. Para giberela, foram descritos cinco tipos de resistência (MESTERHÁZI, 1995):

Tipo I: resistência à infecção inicial;

Tipo II: resistência à propagação na espiga;

Tipo III: resistência dos grãos à infecção;

Tipo IV: redução do acúmulo de micotoxinas

Tipo V: tolerância.

No entanto, as melhores fontes de resistência disponíveis não possuem resistência completa e por mais que tenham resistência no campo, não são adaptadas agronomicamente. As informações para a resistência do tipo II são mais encontradas e mais exploradas em programas de melhoramento. Os programas brasileiros de melhoramento de trigo têm concentrado os estudos nas resistências I, II e III (DALLA NORA et al., 2011).

As cultivares de trigo mais utilizadas para cruzamentos no mundo são de procedência japonesas, como Sumai 3, Nobeoka Bozu, Ning 894037, Wangshuibai, Ning 7840, Shinchu-naga, que possuem resistência Tipo II. Entretanto, a cultivar brasileira Frontana é considerada por possuir resistência Tipo I (LIMA, 2012). A cv. Ning 7840, além de apresentar a mesma resistência da Sumai 3, apresenta ainda melhor potencial de rendimento, bem como resistência à ferrugem do colmo (BAI & SHANER, 2004).

Dessa forma, tendo em vista a complexidade dos mecanismos de resistência, numeroso estudo tem mostrado que a resistência à giberela é condicionada por múltiplos genes, com efeito aditivo. Esses genes são fortemente afetados pelo ambiente, resultado de baixa herdabilidade, sendo por isso a resistência genética à giberela considerada como resistência horizontal. Buerstmayr et al. (2009) resumiram os resultados de 52 estudos de locus de *Fusarium* para caracteres quantitativos (QTL) e identificaram QTLs para resistência à giberela em cada cromossomo, exceto no 7D. O QTL mais estável e consistente identificado é o locus 3B chamado *Fhb1*. O mesmo tem sido

identificado em Sumai 3 e seus derivados. Como visto, a maioria dos programas de melhoramento genético utilizam quase que exclusivamente trigos chineses como fonte de resistência à giberela. Isso mostra que mundialmente os genótipos resistentes são escassos (BAI & SHANER, 1996). Portanto, é necessário aumentar as bases genéticas da resistência do trigo e a alternativa mais viável, atualmente, baseia-se na identificação de novas fontes de resistência, advindas de espécies afins ao trigo cultivado.

#### **2.4 Trigos sintéticos**

Os trigos sintéticos são obtidos do cruzamento entre espécies tetraploides (genomas AABB), como por exemplo– *T. diccicum* ou *T. durum*, com espécies diploides, principalmente *Ae. tauschii* (genoma DD). Os híbridos triploides produzidos (ABD) são estéreis. A duplicação dos cromossomos para produzir um anfiploide resulta na síntese artificial do trigo hexaploide, restaurando, deste modo, a fertilidade. O procedimento básico é o cultivo *in vitro* do embrião triploide imaturo, seguido da aplicação da colchicina, visando a duplicação cromossômica e a fertilidade nas plântulas regeneradas. Essas formas sintéticas representam um produto novo, onde o genoma da espécie afim torna-se disponível por ser mais facilmente cruzado com a forma cultivada (MORAES-FERNANDES et al., 2000).

Dois tipos de trigos sintéticos têm sido produzidos pelo Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT – México). O primeiro utiliza o trigo-duro (*T. turgidum* ssp. *durum*) como

o doador dos genomas AABB, e o outro usa o trigo selvagem, *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* (MUJEEB-KAZI et al., 1996).

A maior coleção de trigos sintéticos no mundo foi desenvolvida pelo CIMMYT durante os anos de 1988-2010, com 1.300 sintéticos produzidos, utilizando cinquenta genótipos melhorados de *T. durum* e novecentos acessos de *Ae. tauschii*. Destes, cerca de cem sintéticos foram desenvolvidos usando acessos silvestres de *T. dicoccoides* e *Ae. tauschii*. Coleções adicionais de sintéticos também foram desenvolvidas pelo CIMMYT e EUA usando trigo de inverno e acessos de *Ae. tauschii* para facilitar a incorporação de características desejáveis, em programas de melhoramento de trigo de inverno (HANIF et al., 2014).

A grande vantagem dos trigos sintéticos é que devido à completa homologia cromossômica é possível a partir desta nova linhagem, a transferência de características desejáveis diretamente para as cultivares hexaploides. Este método permite, em uma geração, a incorporação de características presentes em espécies ancestrais distintas e impossíveis de serem combinadas através de metodologias convencionais de melhoramento (CARDOSO, 2007).

Trigos sintéticos podem atuar como veículo para a introgressão de caracteres específicos presentes no genoma D, para o *T. aestivum*. A diversidade genética dentro do trigo sintético hexaploide traz alelos e genes de resistência/tolerância a estresses bióticos e abióticos (BIBI et al., 2012; RASHEED et al., 2012). No entanto, geralmente possuem baixo valor agrônômico, difícil de trilhar, e baixo rendimento (TRETOWAN & MUJEEB KAZI, 2008).

Exemplos de sucesso em trigos sintéticos são evidenciados em Becker et al. (2016) onde identificaram características promissoras, tais como, traços constitutivos, como raízes mais longas e traços plásticos, o que pode melhorar a condição hídrica da planta sob estresse hídrico. Além dessas características agronômicas desejáveis, os trigos sintéticos, também trazem genes de resistência a doenças. Como por exemplo, Sun (2002), encontrou, estudando 51 acessos de trigos sintéticos, resistência a mancha marron do trigo em pelo menos três acessos desses materiais.

## **2.5 A citogenética na caracterização dos genótipos de trigo**

Quando se objetiva o uso de híbridos interespecíficos ou intergenérico em programas de pré-melhoramento genético, é importante avaliar o comportamento cromossômico dos híbridos, bem como inferir sobre a estabilidade genética que pode ser acessada a partir de estudos citogenéticos. Essa área da ciência engloba todo e qualquer estudo relacionado com o cromossomo, isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação, quanto a sua variação e evolução (BRAMMER et al., 2007).

Zanotto et al. (2009) destacaram que uma análise citogenética importante que deve ser utilizada como seleção assistida ao programa de melhoramento genético e que possibilita determinar se o comportamento meiótico dos cromossomos é normal, é a análise de grãos de pólen ou micrósporos, com um ou mais micronúcleos. Por essa técnica, centenas de grãos de pólen podem ser analisados quanto à

presença ou ausência de micronúcleos, fazendo com que o exame de polens jovens se torne um método rápido para determinar as anormalidades de comportamento cromossômico durante a meiose. Em fase mais tardia, a análise de grãos de pólen permite avaliar algumas características anatômicas e fisiológicas fundamentais para o seu desenvolvimento, como número de núcleos e poros, tamanho do pólen e quantidade de amido.

Segundo Brambatti (2010), a análise citogenética é usada para analisar a estabilidade genômica da espécie, a fertilidade, e principalmente, para monitorar a transferência gênica entre espécies, possibilitando auxiliar na seleção e maximizar tempo, recursos físicos e financeiros, em programas de melhoramento genético de plantas,

A análise de micronúcleos torna-se extremamente importante, pois a partir dela, pode-se inferir sobre a estabilidade dos genótipos, uma vez que micronúcleos se originam de fragmentos cromossômicos ou, até mesmo, cromossomos inteiros, que devido a eventos clastogênicos (que quebram cromossomos) ou aneugênicos (que induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal) durante a anáfase se perdem formando “massas de cromatina”. Esses 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 metáfases e anáfases da primeira e/ou da segunda divisão da meiose (MENDES-BONATO, 2002).

As anormalidades mais comuns encontradas nas gramíneas é a migração precoce dos cromossomos para os polos e micronúcleo em tétrades (MENDES-BONATO et al., 2006). Diversos estudos são realizados sobre o comportamento meiótico de algumas espécies de trigo. No entanto, ainda há falta de informação sobre comparações do comportamento meiótico das espécies parentais do *T. aestivum* e do trigo sintético hexaploide (ARABBEIGI et al., 2010). Isso porque são diferentes genomas envolvidos no cruzamento do trigo, o que dificulta a complexidade dos estudos.

Alguns trabalhos recentes foram realizados analisando-se as instabilidades meióticas em algumas espécies de trigo. Ghorbani et al. (2015) compararam instabilidades meióticas de *Ae. cylindrica* com as estabilidades mitóticas de *T. monococcum*. Também, Omidi et al. (2014) estudaram a influência dos estresses ambientais, nas anormalidades meióticas em trigo. Arabbeigi et al. (2010) investigaram o comportamento meiótico em cultivares de trigo e em trigos sintéticos

## **2.6 Marcadores genéticos - microssatélites**

Outra técnica de estudo que é importante para o melhoramento genético, é verificar a variabilidade genética presente nos híbridos interespecíficos, por meio de marcadores moleculares. O marcador molecular pode ser definido como sendo qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso, como no caso das isoenzimas, ou de um segmento específico de DNA correspondente às regiões

expressas, ou não do genoma (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores moleculares surgiram como uma ferramenta capaz de detectar variações genéticas no DNA. Possuem características, tais como serem numerosos e distribuídos por todo o genoma e apresentar herança mendeliana (YANG et al., 2013).

A maioria das características de interesse econômico apresenta o padrão de herança poligênica, sendo determinadas por inúmeros genes de grande e/ou de pequeno efeito individuais e sob forte influência de fatores ambientais (COUTINHO & ROSÁRIO, 2010). O emprego de marcadores moleculares no processo de caracterização genética tem sido amplamente realizado devido a diversas características desejáveis. Dentre essas, os marcadores não são influenciados pelos fatores ambientais (TENEVA, 2009).

Além do estudo de caracterização genética no melhoramento genético, os marcadores podem ser usados de mais três formas. A primeira utilização, e que tem sido intensivamente aplicada, visa a escolha de genitores durante os cruzamentos. A segunda é o emprego do teste de identidade, para serem utilizados como critério no registro de cultivares e a terceira aplicação dos marcadores, é a seleção assistida (SAM) (RAMALHO & FURTINI, 2009). Marcadores, quando ligados a genes de interesse podem ser utilizados para selecionar alelos desejáveis em um programa de reprodução assistida (ZEB et al., 2009).

A técnica da reação de polimerase em cadeia (*Polymerase Chain Reaction - PCR*) surgiu há 36 anos e se baseia na duplicação quantitativa da molécula de DNA por meio de sua replicação *in vitro*.

Essa técnica possibilitou desenvolver e aplicar os marcadores moleculares em estudos específicos tais como: sequências desejadas, clonagem de genes, construção de árvores filogenéticas, genes condicionantes de características de interesse e mapeamento genômico, entre outros (OLIVEIRA, 2010).

Dentre os diferentes tipos de marcadores, os microssatélites são muito utilizados em estudos de variabilidade. Os microssatélites são sequências de um a seis pares de bases repetidas “em tandem” e adjacentes, distribuídas no genoma. Esse tipo de marcador utiliza primers (oligonucleotídeos iniciadores) específicos que amplificam regiões com DNA repetitivo por se anelarem em regiões adjacentes às mesmas (MILACH, 1998).

Os marcadores microssatélites são muito atrativos para os geneticistas, uma vez que o nível de heterozigosidade é extremamente elevado. Além disso, esses marcadores apresentam herança mendeliana e são codominantes. Facilitam, também, a detecção de polimorfismo entre indivíduos. Portanto, podem ser utilizados como marcadores genotípicos para estudo da diversidade genética, construção de mapas genéticos e caracterização de germoplasma (SANTOS et al., 2014). Dessa forma, estes marcadores provaram ser uma ferramenta eficiente para a estimativa da variação genética no trigo (LANDJEVA et al., 2006).

Naghavi & Mardi (2010) analisaram similaridades genéticas com base nos marcadores AFLP e SSR em acessos de *Ae. tauschii*. Sharma et al. (2014) relataram a presença de diversidade genética em trigos sintéticos, com uso de marcadores moleculares. Das et al. (2015) avaliaram a diversidade genética entre 32 acessos de trigos

sintéticos derivados do CIMMYT, usando marcadores moleculares AFLP e SSR. Chen & Li (2007) observaram que o ranking da diversidade média por locus e verificaram maiores valores por genoma em D >B >A em genótipos de trigo hexaploide sintéticos. Chao et al. (2007) relataram um ranking de diversidade genética nos genomas B >D >A entre os genótipos de trigo, e Dreisigacker et al. (2005), um ranking de B >A >D entre 68 linhas de trigo do CIMMYT.

## CAPÍTULO I

### RESISTÊNCIA DO TIPO III À GIBERELA EM TRIGOS SINTÉTICOS

**RESUMO** - A giberela (*Gibberella zeae*) é uma doença de importância econômica na cultura do trigo e que acarreta perdas quantitativas e qualitativas na produção mundial de grãos. Como não existe manejo eficiente da doença, a resistência genética é desejável. Um dos tipos de resistência à giberela é a resistência tipo III, caracterizada pela resistência à infecção nos grãos. Assim, os programas de melhoramento genético buscam fontes alternativas de resistência à giberela. Dentre elas, a busca de genes em trigos sintéticos que resultam do cruzamento entre uma espécie tetraploide (genoma AABB) e outra diploide (DD), originando um híbrido estéril ABD. Para restaurar a fertilidade é feita a síntese artificial duplicando os cromossomos com o uso de colchicina, obtendo-se um novo hexaploide. Esses trigos são genomicamente anfidiplóides e devido à combinação dos genomas dos pais, apresentam resistência, principalmente, a fungos e insetos. Este trabalho teve como objetivo avaliar vinte acessos de trigos sintéticos quanto à reação tipo III à giberela, juntamente, com seis cultivares previamente caracterizadas para essa doença. O delineamento foi em blocos casualizados com 26 tratamentos e três repetições. A parcela foi constituída de uma linha de 5 m, com sessenta sementes por metro linear. No espigamento, grãos com peritécios de *G. zeae* foram distribuídos na superfície do solo. Após, a área experimental foi submetida ao molhamento de espigas com formação de neblina, em dias

sem precipitação pluvial. No estágio de espiga seca (ponto de colheita), cinquenta espigas, de tamanho uniforme, foram colhidas e trilhadas, e a giberela foi avaliada pelo percentual de grãos com sintomas. Os acessos sintéticos de trigo com menor número de grãos giberelados, em 2014 e 2015, foram CIGM93.298 e CIGM92.1666, os valores máximos foram encontrados em CIGM92.1849 e CIGM93.225, respectivamente. Assim, os acessos com mínimo percentual de GB são indicados a fazerem parte de programas de melhoramento genético como possíveis fontes de resistência à giberela.

**Palavras-chaves:** *Gibberella zeae*, *Ae. tauschii*, híbridos interespecíficos.

### **RESISTANCE TYPE III TO FUSARIUM HEAD BLIGHT IN SYNTHETIC WHEATS**

**ABSTRACT** – The Fusarium head blight is a disease of economic importance in wheat crop and that entails quantitative and qualitative losses in world grain production. As there is no effective management of the disease, genetic resistance is desirable. One of the types FHB resistance is the resistance type III characterized by resistance to infection in the grains. Thus, the genetic improvement programs seek alternative sources of FHB resistance. Among them, the search for genes in synthetic wheats resulting from the cross between a tetraploid species (genome AABB) and other diploid (DD), resulting in a sterile hybrid ABD. To restore fertility is made artificial synthesis doubling the chromosomes by using colchicine, yielding a new hexaploid. These

wheats are genomically amphidiploid and due to the combination of parental genomes, present resistance mainly to fungi and insects. This work aimed to evaluate twenty hits of synthetic wheats as the type III reaction to FHB, along with six cultivars previously characterized for this disease. The design was a randomized block with 26 treatments and three replications. The plot consisted of a line of 5 m, with sixty seeds per meter. In silking, grain perithecia of *G. zeae* were distributed on the soil surface. After the experimental area was subjected the wetting of the ears with formation of fog, in days without rainfall. In dried ear stage (harvest point), fifty ears, uniform in size, were harvested and threshed, and FHB was assessed by the percentage of grains with symptoms. Wheat synthetic access to minore giberelados number of grains in 2014 and 2015, were CIGM93.298 and CIGM92.1666, the maximum values were found in CIGM92.1849 and CIGM93.225 respectively. Thus, access with minimum percentage of GB are indicated to be part of breeding programs as possible FHB resistance sources.

**Key words:** *Gibberella zeae*, *Ae. tauschii* and interspecific hybrids.

## 1 INTRODUÇÃO

A giberela é causada pelo fungo ascomyceto *G. zeae* (Schwein), que afeta a produção de trigo em todo o mundo. Existem mais de 17 espécies, no qual *Fusarium graminearum* (Schwabe), fase imperfeita do fungo (assexuada), é a espécie predominante. A ocorrência de epidemias tem-se intensificado nas últimas décadas, devido ao aumento da área plantada de milho, sendo a palha de milho uma excelente fonte de inóculo. Além disso, a prática de preparo

reduzido permite que resíduos culturais permaneçam na superfície do solo, favorecendo a produção da fase perfeita do fungo (ZHU et al., 2015).

A enfermidade é influenciada por condições do ambiente, sendo que precipitação pluvial de 48 h consecutivas e temperatura entre 20 e 25 °C são consideradas condições ideais para o desenvolvimento da doença (LIMA & FERNANDES, 2001).

A giberela é uma doença de difícil controle, e as estratégias baseiam-se em manejo do ambiente e uso de fungicidas, mas estes ainda não reduzem os danos causados pela doença em nível econômico (REIS, 2011). A proteção genética, pelo uso de cultivares resistentes, apresenta-se como uma das alternativas. No entanto, o nível de resistência das cultivares de trigo ainda é insuficiente. Ainda não existem cultivares de trigo resistentes, apenas moderadamente resistentes, já que a resistência a giberela é difícil de ser alcançada por ser poligenica, ou seja, governada por muitos genes. A busca mundial por cultivares resistentes tem intensificado e existem poucas fontes de resistência ao patógeno, sendo as mais conhecidas de origem asiática (GERVAIS et al., 2003). A cultivar chinesa Sumai 3 e seus derivados, que apresentam resistência do tipo II, são amplamente utilizados em programas de melhoramento de trigo em todo o mundo (BAI & SHANER, 2004; RUDD et al, 2001). A cultivar brasileira Frontana, que possui tipo de resistência I à giberela, também tem sido utilizada em programas de melhoramento de trigo (SINGH & VAN GINKEL, 1997; VAN GINKEL et al., 1996).

A obtenção de cultivares com resistência à giberela é difícil porque a resistência é governada por genes múltiplos (resistência

horizontal) e é influenciada pelo ambiente (MESTERHAZY, 1995). Desse modo, a criação de cultivares com resistência à giberela é um dos objetivos do Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (MUJEEB-KAZI et al., 2013; OGBONNAYA et al., 2013). A resistência a doenças é limitada em *Triticum aestivum*. Desta forma, busca-se introgressão de genes de parentes silvestres em cultivares de trigo. Especificamente o doador do genoma D do *T. aestivum*, *Aegilops tauschii*, tem muitos genes desejáveis para melhoria de resistência a doenças no trigo (MUJEEB-KAZI & RAJARAM, 2002).

Assim, o trigo sintético hexaploide foi desenvolvido por hibridação de trigo duro (*T. turgidum*,  $2n = 4x = 28$ , AABB) e *Ae. tauschii* ( $2n = 2x = 14$ , DD). O CIMMYT tem uma longa história de geração e utilização desse material em seus programas de melhoramento de trigo, tendo em vista as resistências a estresses bióticos e abióticos encontradas nos trigos sintéticos (OGBONNAYA et al., 2013). Este trabalho teve como objetivo avaliar vinte acessos de trigos sintéticos e seis cultivares (testemunhas), previamente caracterizadas quanto a essa doença, quanto à reação a giberela,

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no campo experimental da Embrapa Trigo, no município de Passo Fundo, RS, localizado a 687 m de altitude, latitude 28°15' S, longitude 52°24' W, nas safras de inverno 2014 e 2015. Vinte acessos de trigos sintéticos (Tabela 1) provenientes do CIMMYT e seis cultivares de trigo, com diferentes graus de resistência genética à giberela, foram testados.

Tabela 1- Acessos de trigos sintéticos e cultivares de trigo utilizados no experimento em 2014 e 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/RS. 2016

Identificação	Genótipos	Cruzamentos
01	CIGM88.1351-OB	YAVAROS 79/DACKIYE/RABI/3/SNIPE/4/ <i>Ae. squarrosa</i>
02	CIGM90.896	LCK59.61/ <i>Ae. squarrosa</i>
03	CIGM90.909	GAN/ <i>Ae. squarrosa</i>
04	CIGM92.1629	GARZA/BOYEROS// <i>Ae. squarrosa</i>
05	CIGM92.1666	RASCON// <i>Ae. squarrosa</i>
06	CIGM92.1680	ARLIN_1/ <i>Ae. squarrosa</i>
07	CIGM92.1696	DECOY 1/ <i>Ae. squarrosa</i>
08	CIGM92.1698	GARZA/BOYEROS// <i>Ae. squarrosa</i>
09	CIGM92.1706	ARLEQUIN/ <i>Ae. squarrosa</i>
10	CIGM92.1713	DECOY 1/ <i>Ae. squarrosa</i>
11	CIGM92.1849	DECOY 1/ <i>Ae. squarrosa</i>
12	CIGM93.200	SCAUP/ <i>Ae. squarrosa</i>
13	CIGM93.205	DECOY 1/ <i>Ae. squarrosa</i>
14	CIGM93.225	DECOY 1/ <i>Ae. squarrosa</i>
15	CIGM93.268	CERCETA/ <i>Ae. squarrosa</i>
16	CIGM93.294	DECOY 1/ <i>Ae. squarrosa</i>
17	CIGM93.298	RASCON / <i>Ae. squarrosa</i>
18	CIGM93.302	DECOY 1/ <i>Ae. squarrosa</i>
19	CIGM93.403	CERCETA/ <i>Ae. squarrosa</i>
20	CASW94Y00054S	CERCETA/ <i>Ae. squarrosa</i>
21	BR 18 Terena	Alondra Sib=D6301/Nainari 60/Weique/Red Mace/3/Ciano*2/Cris
22	BRS Guamirim	Embrapa 27/Buck Nandu//PF93159
23	BRS 194	CEP 14/BR 23//CEP 19
24	BRS 179	BR 35/PF 8596/3/PF 772003*2/PF 813//PF 83899
25	Frontana	Fronteira/Mentana
26	Sumai 3	Desconhecida

Fonte: Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 26 tratamentos constituídos por 20 acessos sintéticos e seis cultivares testemunhas, com três repetições. Cada genótipo foi semeado em parcela de uma linha de 5 m com sessenta sementes aptas por metro linear. O espaçamento entre duas parcelas na linha de semeadura foi de 1 m. Lateralmente, o espaçamento entre parcelas foi de 0,40 m. O espaçamento entre blocos foi de 0,80 m para possibilitar a colocação de mangueiras sobre o solo visando o molhamento de espigas. A condução do ensaio seguiu as indicações técnicas para a cultura de trigo e triticale (REUNIÃO, 2014). O controle de enfermidades foi realizado até o estágio 10 (emborrachamento) da escala de Feeks & Large (1954). Determinou-se a data em que cada acesso sintético e cultivar atingiu 50% do espigamento e a data da coleta das espigas secas. Ao início do espigamento, grãos de trigo com peritécios maduros de *G. zea*, produzidos conforme protocolo usado na Embrapa Trigo (LIMA 2007), foram distribuídos em cada linha de irrigação. Após, a área experimental foi submetida ao molhamento de espigas, com formação de neblina, em dias sem precipitação pluvial (LIMA & FERNANDES, 2002).

Para a avaliação de giberela foram coletadas cinquenta espigas no estágio 11.4 (FEEKS & LARGE, 1954) denominado de maturação de colheita, conforme metodologia descrita por Lima et al. (1999) e que foram trilhadas em trilhadora elétrica estacionária. A entrada de ar foi reduzida visando à retenção total de grãos. Após, as amostras foram passadas pelo soprador, para eliminação do excesso de palha e foram separados os grãos aparentemente saudáveis, em relação à giberela, denominados "grãos normais", dos visualmente com sintomas característicos da doença, denominados "grãos giberelados" e

determinou-se o percentual de grãos afetados na amostra (LIMA, 2002). As informações meteorológicas de 2014 e 2015 foram obtidas na Embrapa Trigo, sendo identificados os dias de cada mês a partir do espigamento (setembro, outubro, novembro de 2014 e 2015), com precipitações > 0,5 mm.

Determinou-se o ciclo em dias da semeadura ao espigamento (ciclo de espigamento) e da semeadura à colheita de espiga seca (ciclo de maturação) dos genótipos. Esses ciclos foram definidos com base nas cultivares testemunhas: BR 18 Terena, BRS Guaramirim e Frontana de ciclo precoce, BRS 194 e BRS 179 de ciclo médio, respectivamente. Os valores utilizados para definição dos ciclos do espigamento foram: super precoce: < 70 dias, precoce: de 70 a < 80 dias, médio: de 80 a < 90 dias, tardio: de 90 a < 100 dias e super tardio:  $\geq$  100 dias. Já, para o ciclo de maturação, os valores utilizados foram: super precoce: < 125 dias, precoce: 125 a < 130 dias, médio: 130 a < 140 dias, e tardio: 140 a < 150 dias.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Scott e Knott a 5% de probabilidade, pelo programa estatístico Genes (CRUZ, 2013).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Para o ano de 2014, o acesso CIGM92.1629, não espigou. Por isso, 19 acessos sintéticos foram utilizados na análise estatística. No ciclo de espigamento, dois acessos sintéticos foram classificados como super precoces, cinco acessos como precoces, um acesso como

médio, 11 acessos como tardios e um acesso como super tardio (Tabela 2). As cultivares, BR 18 Terena e Frontana apresentaram ciclos diferentes da classificação padrão, provavelmente em função do ambiente climático. Para o ciclo de maturação, quatro acessos sintéticos e a CV. BR 18 Terena foram classificados como super precoces, três acessos e a cv. BRS Guamirim como precoces. As CVS. BRS 179, BRS 194, Frontana e Sumai 3, e mais 11 acessos, classificaram-se como ciclo médio e os dois acessos restantes como tardios.

O uso de cultivares com ciclos reprodutivos diferentes é uma prática cultural que visa o escape à doença, fazendo com que a fase reprodutiva da cultura não venha coincidir com muitos períodos favoráveis à doença sendo recomendada, para minimizar os prejuízos por giberela, em pelo menos, parte da lavoura (LIMA et al., 2002). No entanto, de acordo com Osório (1992), as condições de cultivo e as variações dos fatores climáticos ou edafológicos de cada ambiente podem influenciar a duração dos ciclos da cultura.

Os ciclos, em dias, da emergência ao espigamento e da emergência à maturação das plantas, representam um dos principais caracteres de interesse em programas de melhoramento genético. Plantas com ciclo precoce ficam menos tempo expostas aos estresses bióticos e abióticos, permitindo a escolha da melhor época de semeadura, de forma a aproveitar as condições ambientais mais favoráveis ao seu desenvolvimento (CAMARGO, 1993).

Tabela 2- Ciclo (dias) da semeadura ao espigamento e da semeadura a maturação de 20 acessos de trigos sintéticos e seis cultivares de trigo nas safras 2014 e 2015. Embrapa Trigo, Passo Fundo/ RS, 2016

Genótipo	Média dias	Ciclo espigamento	Média dias	Ciclo maturação
CIGM93.225	64	Super precoce	120	Super precoce
BR 18-Terena	67	Super precoce	120	Super precoce
CIGM92.1698	69	Super precoce	124	Super precoce
CIGM92.1696	71	Precoce	121	Super precoce
CIGM92.1666	76	Precoce	121	Super precoce
CIGM93.403	78	Precoce	126	Precoce
CIGM92.1849	78	Precoce	129	Precoce
CASW94Y00054S	79	Precoce	127	Precoce
BRS Guamirim	79	Precoce	129	Precoce
Sumai 3	81	Médio	131	Médio
Frontana	86	Médio	135	Médio
BRS 194	86	Médio	131	Médio
BRS 179	86	Médio	131	Médio
CIGM93.298	89	Médio	134	Médio
CIGM88.1351-OB	90	Tardio	132	Médio
CIGM93.302	91	Tardio	134	Médio
CIGM93.200	92	Tardio	131	Médio
CIGM93.294	92	Tardio	131	Médio
CIGM92.1713	92	Tardio	134	Médio
CIGM90.909	94	Tardio	132	Médio
CIGM93.205	94	Tardio	137	Médio
CIGM92.1706	95	Tardio	135	Médio
CIGM93.268	97	Tardio	134	Médio
CIGM92.1680	98	Tardio	137	Médio
CIGM92.1629	99	Tardio	144	Tardio
CIGM90.896	104	Super tardio	148	Tardio

Em 2014, o número de dias com precipitação maior que 0,5 mm foi de 14 dias em setembro, 11 dias em outubro e 11 em novembro (Figura 1). O volume de precipitação nestes meses ficou acima da média em 32%, 15% e 9%, respectivamente (Tabela 3), indicando condição favorável ao patógeno e, portanto, à ocorrência de epidemia de giberela em Passo Fundo/RS. Além das condições naturais de precipitação pluvial favorável à ocorrência da giberela, a partir do mês de setembro, início do espigamento dos genótipos, nos dias de estiagem, a área experimental foi submetida à irrigação com formação de neblina, (LIMA, 2002). Desta forma, a área experimental, teve condições de molhamento favorável à giberela.

Além de molhamento, a temperatura também favoreceu a enfermidade. No mês de setembro a temperatura média ficou acima do normal em 1,3 °C (Tabela 3). Em outubro e novembro, novamente, as médias das temperaturas ficaram acima do normal em 2,20 °C e 1,6 °C, respectivamente.

No ano de 2015, as precipitações ficaram acima da média, sendo o número de dias com precipitação maior que 0,5 mm foi de 12 dias em setembro, 14 dias em outubro e 15 dias em novembro (Figura 2). Os volumes de precipitação pluvial nestes meses ficaram acima da média em 1,37%, 73% e 58% respectivamente, (Tabela 3), indicando novamente condições favoráveis ao patógeno e, portanto, à ocorrência de epidemia da giberela na área experimental.

No mês de setembro, a temperatura média ficou acima do normal em 0,7 °C e em outubro 0,6 °C. Já, em novembro, a temperatura média não variou muito, comparada a temperatura normal.

Além das precipitações pluviais favoráveis à giberela nos meses de setembro, outubro e novembro de 2014 e 2015, as temperaturas em geral acima da média também favoreceram a ocorrência da doença. Como a giberela pode ocorrer a partir do espigamento, e este, na região sul do Brasil, ocorre na estação da primavera, pode-se dizer que anos de primavera mais chuvosa, e com temperatura mais elevadas que o normal são anos de epidemia da doença (LIMA, 2004).

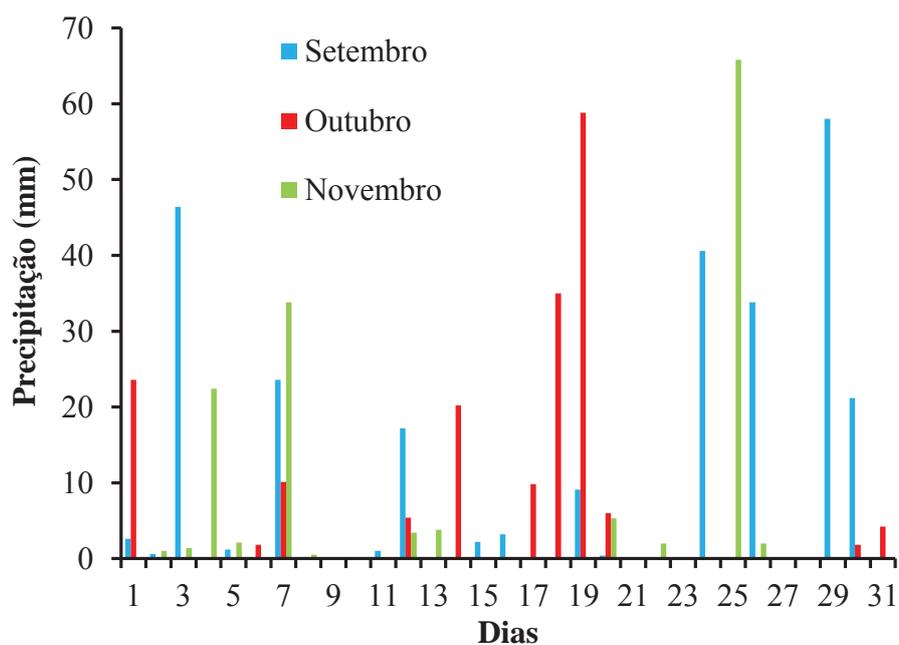


Figura 1- Precipitação pluvial (mm) nos meses de setembro, outubro e novembro de 2014, Passo Fundo/RS, 2016

Tabela 3- Precipitação pluvial total (mm), temperatura média (°C), nos meses de setembro, outubro e novembro de 2014 e 2015, Passo Fundo/RS, 2016

Ano	Precipitação (mm)			Temperatura (°C)		
	Set.	Out.	Nov.	Set.	Out.	Nov.
2014	261,2	176,8	143,6	17,0	19,8	21,2
2015	200,4	264,0	208,7	16,4	18,2	19,4
Normal	197,7	152,9	131,7	15,7	17,6	19,6

Fonte: Embrapa Trigo- informações meteorológicas.

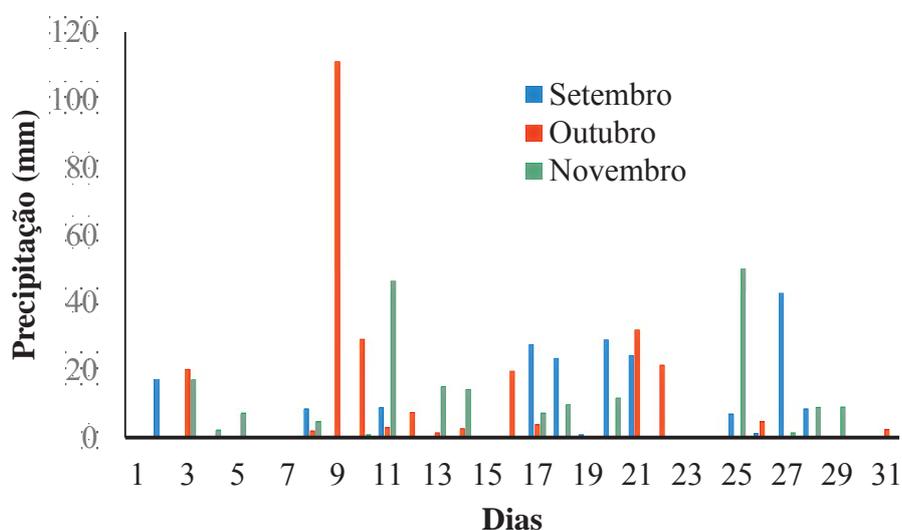


Figura 2- Precipitação pluvial nos meses de setembro, outubro e novembro de 2015. Passo Fundo/RS. 2016.

Tendo em vista que todos os genótipos espigaram nos meses de setembro, outubro e novembro, e diante das informações climáticas é inegável afirmar, que houve condições extremamente favoráveis para a ocorrência de epidemia da doença, independentemente da safra. A giberela infecta as espigas em condições de alta umidade favorecidas por períodos longos de molhamento, ou seja, superior a 30 horas (DEL PONTE, 2007). Aliado a este fator, temperaturas ótimas entre 20 e 30 °C, favorecem a infecção do fungo

(DEL PONTE et al., 2004). Vale lembrar que, segundo Zoldan (2008), o fungo, também pode se desenvolver em uma faixa mais ampla de temperatura (10-30 °C), dependendo do período de molhamento da espiga.

A análise da variância para percentual de grãos giberelados e grãos normais foi significativa nos dois anos de experimento. Em 2014, para a variável grãos giberelados (GB), ocorreu a formação de três grupos, estatisticamente distintos (Tabela 4). No primeiro grupo (a), com os maiores valores de GB foram inclusos, oito acessos sintéticos e a cultivar suscetível à doença, BR 18 Terena. O valor máximo de GB foi obtido no acesso CIGM92.1849 (69,37%) e o mínimo, no acesso CIGM92.1696 (43,30%). No segundo grupo (b), dez acessos sintéticos e três cultivares, sendo BRS 194 que é suscetível, BRS Guamirim, moderadamente resistente e a Frontana que é considerada fonte de resistência tipo I à doença o valor máximo de GB foi obtido na cultivar BRS 194 (37,63%) e o mínimo no acesso CIGM90.909 (24,74%). O terceiro grupo (c) foi composto pelas cultivares Sumai 3, fonte internacional de resistência tipo II e BRS 179, moderadamente resistente e o acesso sintético CIGM93.298. O valor mínimo de GB foi obtido na cultivar BRS 179 (12,83%). Para a variável grãos normais (GN), em 2014, ocorreu a formação de dois grupos estatisticamente distintos, sendo que no primeiro (a), ficaram inclusos 13 acessos sintéticos e as cultivares BRS 179, Sumai 3, Frontana, BRS Guamirim e BRS 179. O valor máximo de GN, foi obtido na cultivar BRS 179 (87,17%) e o mínimo no acesso CIGM88.1351-OB (55,23%). O segundo grupo (b) foi composto por seis acessos sintéticos e a

cultivar BR 18 Terena e o valor máximo de GN foi obtida na cultivar BR 18 Terena (49,87%) e o mínimo no acesso CIGM92.1849 (30,63%).

Tabela 4- Grãos giberelados (GB) e grãos normais (GN), obtidos em 25 genótipos de trigo, na safra de 2014. Passo Fundo/RS. 2016

Genótipo	GB (%)	Grupo	Genótipo	GN (%)	Grupo
CIGM92.1849	69,37	a	BRS 179	87,17	a
CIGM93.403	63,97	a	CIGM93.298	82,47	a
CIGM93.225	61,57	a	Sumai 3	78,83	a
CASW94Y00054S	58,33	a	CIGM90.909	75,26	a
CIGM93.200	55,67	a	Frontana	73,67	a
CIGM92.1698	51,87	a	CIGM93.205	73,50	a
BR 18 Terena	50,13	a	BRS Guaramirim	73,47	a
CIGM88.1351-OB	44,77	a	CIGM92.268	73,47	a
CIGM92.1696	43,30	a	CIGM92.1713	71,03	a
BRS 194	37,63	b	CIGM92.1680	70,27	a
CIGM93.294	36,93	b	CIGM93.302	69,90	a
CIGM92.1666	36,40	b	CIGM92.1706	67,90	a
CIGM90.896	33,23	b	CIGM90.896	66,77	a
CIGM92.1706	32,10	b	CIGM92.1666	63,60	a
CIGM93.302	30,10	b	CIGM93.294	63,07	a
CIGM92.1680	29,73	b	BRS 194	62,37	a
CIGM92.1713	28,97	b	CIGM92.1696	56,70	a
CIGM93.268	26,53	b	CIGM88.1351-OB	55,23	a
BRS Guaramirim	26,53	b	BR 18 Terena	49,87	b
CIGM93.205	26,50	b	CIGM92.1698	48,13	b
Frontana	26,33	b	CIGM93.200	44,33	b
CIGM90.909	24,74	b	CASW94Y00054S	41,67	b
Sumai 3	21,17	c	CIGM93.225	38,43	b
CIGM93.298	17,53	c	CIGM93.403	36,03	b
BRS 179	12,83	c	CIGM92.1849	30,63	<u>b</u>
CV=12,20%			CV=9,49%		

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott e Knott a 5 %. Dados transformados  $\sqrt{x}$ .

No ano de 2015, para a variável GB, novamente ocorreu a formação de três grupos, estatisticamente distintos, sendo que o primeiro grupo (a) foram inclusos 19 acessos sintéticos e as cultivares BR 18 Terena e BRS 194 (Tabela 5). O valor máximo de GB foi obtido no acesso CIGM93.225 (89,07%) e o mínimo no acesso CIGM92.1696 (60,43%). O segundo grupo (b) foi incluso um acesso sintético CIGM92.1666, com valor de GB de 45,07% e a cultivar Frontana com valor de GB de 45,40%. No terceiro grupo (c) ficaram inclusas as cultivares BRS Guamirim, Sumai 3 e BRS 179, com menores valores de % GB. O valor mínimo de GB foi verificado na cultivar BRS 179 (18,60%). Para a variável grãos normais (GN), no ano de 2015, ocorreu maior variabilidade com formação de quatro grupos. O primeiro grupo (a) foi constituído pelas cultivares BRS 179 (81,40%), Sumai 3 (78,43%) e BRS Guamirim (75,90%). O segundo grupo (b), apenas pela cultivar Frontana (54,60%) e o acesso CIGM92.1666 (54,93%). O terceiro grupo (c) foi composto por nove acessos sintéticos e a cultivar BRS 194. O valor máximo de GN foi verificado no acesso CIGM92.1696 (39,57%) e o mínimo no acesso CIGM90.896 (23,63%). Do quarto grupo fizeram parte dez acessos e a cultivar BR 18 Terena. O valor máximo de GN foi verificado no acesso Trigo BR 18 Terena (21,80%) e o mínimo no acesso CIGM93.225 (10,93%).

Nos dois anos de estudos, a cultivar de trigo BRS 179 apresentou valores mínimos para GB. Em estudo para a identificação de fontes de resistência à giberela, verificou-se que dentre algumas cultivares a BRS 179 apresentou a menor porcentagem de grãos giberelados (RIVADENEIRA, 2001). Isto se deve ao fato de que a

cultivar BRS 179 é classificada como moderadamente resistente à giberela para a resistência tipo III (LIMA, 2004).

Tabela 5- Grãos giberelados (GB) e grãos normais (GN), obtidos em 26 genótipos de trigo, no ano de 2015. Passo Fundo/RS, 2016.

Genótipo	GB (%)	Grupo	Genótipo	GN (%)	Grupo
CIGM93.225	89,07	a	BRS 179	81,40	a
CIGM93.205	87,23	a	Sumai 3	78,43	a
CIGM93.403	86,10	a	BRS Guamirim	75,90	a
CIGM93.302	85,13	a	CIGM92.1666	54,93	b
CIGM90.909	84,17	a	Frontana	54,60	b
CIGM93.294	82,67	a	CIGM92.1696	39,57	c
CIGM92.1849	82,63	a	CIGM88.1351-OB	37,13	c
CIGM93.200	82,10	a	CIGM93.268	35,83	c
CIGM92.1629	79,43	a	CIGM92.1713	33,60	c
CIGM92.1698	78,77	a	CIGM92.1706	29,83	c
BR 18 Terena	78,20	a	CASW94Y00054S	28,77	c
CIGM90.896	76,37	a	CIGM92.1680	26,73	c
BRS 194	74,27	a	CIGM93.298	26,00	c
CIGM93.298	74,00	a	BRS194	25,73	c
CIGM92.1680	73,27	a	CIGM90.896	23,63	c
CASW94Y00054S	71,23	a	BR 18 Terena	21,80	d
CIGM92.1706	70,17	a	CIGM92.1698	21,23	d
CIGM92.1713	66,40	a	CIGM92.1629	20,57	d
CIGM93.268	64,17	a	CIGM93.200	17,90	d
CIGM88.1351-OB	62,87	a	CIGM92.1849	17,37	d
CIGM92.1696	60,43	a	CIGM93.294	17,33	d
Frontana	45,40	b	CIGM90.909	15,83	d
CIGM92.1666	45,07	b	CIGM93.302	14,87	d
BRS Guamirim	24,10	c	CIGM93.403	13,90	d
Sumai 3	21,57	c	CIGM93.205	12,77	d
BRS 179	18,60	c	CIGM93.225	10,93	d
CV= 9,37%			CV=18,22		

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade. Dados transformados  $\sqrt{x}$ .

A CV. Sumai 3, nos dois anos de estudo, permaneceu no grupo de menor GB, sendo considerada a fonte com o maior grau de resistência à giberela e tem sido amplamente utilizada por programas de melhoramento genético em todo o mundo (BAI & SHANER, 2004; STACK & MCMULLEN, 1995). A CV. Frontana em ambos os anos ficou no segundo melhor grupo de materiais com menores GB. Esta cultivar é citada na literatura como fonte de resistência I à giberela, sendo frequentemente utilizada como um dos genitores em programas de melhoramento de trigo (BAN, 2001; MESTERHAZY, 1995). A cultivar BRS Guaramirim, no ano de 2015, também ficou inserida no grupo de menores valores de GB. Em 2014, permaneceu no segundo melhor grupo. Em trabalho realizado por Alves (2013), a avaliação de grãos giberelados mostrou que dentre algumas cultivares a BRS Guaramirim, esteve no grupo com menores valores de grãos giberelados.

Tratando-se dos acessos sintéticos, no ano de 2014, o acesso CIGM93.298, ficou inserido no grupo com menor valor para GB, sendo estatisticamente igual a Sumai 3 e BRS 179. No ano de 2015, apenas o acesso CIGM92.1666 ficou incluso no grupo de segundos melhores valores em relação aos grãos giberelados, sendo estatisticamente igual à CV. Frontana.

Em trigos sintéticos, a resistência à giberela não está associada com *Ae. tauschii*, mas com o parental tetraploide (PLAMENOV & SPETSOV, 2011). Ban & Watanabe (2001), ao desenvolverem sintéticos hexaploides por hibridização, verificaram que os sintéticos tinham mais suscetibilidade à giberela que os pais. Assim, eles sugeriram que o genoma-D contido no *Ae. tauschii* foi o fator

responsável a suscetibilidade à doença. Hartel et al. (2004) constataram que a resistência à giberela transportada pelo cromossomo 3A do *T. turgidum* ssp. *dicoccoides* foi expressa no sintético resultante.

Os acessos sintéticos utilizados neste trabalho foram derivados do cruzamento entre *T. durum* e *Ae. tauschii* (Tabela1). O acesso CIGM93.298 que ficou incluso no grupo de menores valores para GB, em 2014, foi resultado do cruzamento entre RASCON/ *Ae. squarrosa*. Em 2015, o acesso CIGM92.1666, pertencente ao segundo grupo de genótipos com menores valores de GB, também foi resultado do cruzamento entre RASCON/*Ae. squarrosa*. Já, os acessos que tiveram valores máximos de GB, CIGM92.1849 e CIGM93.225, em 2014 e 2015 respectivamente são resultados dos cruzamentos entre DECOY 1/*Ae. squarrosa*.

#### **4 CONCLUSÃO**

Os acessos de trigos sintéticos CIGM93.298 e CIGM92.1666 apresentam menor incidência de giberela, servindo como potencial fonte de genes de resistência a essa doença.

## CAPÍTULO II

### ESTABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE TRIGOS SINTÉTICOS: AVALIAÇÃO CITOGENÉTICA COMO APOIO EM PROGRAMAS DE MELHORAMENTO GENÉTICO.

**RESUMO** - Trigos sintéticos são resultados do cruzamento entre uma espécie tetraploide (*Triticum turgidum*, AABB) e uma espécie diploide (*Aegilops tauschii*, DD) originando um híbrido estéril, seguido por duplicação cromossômica por meio de colchicina para restabelecer um trigo hexaploide fértil. O presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de micronúcleos e índice meiótico na fase de tétrades em acessos de trigos sintéticos, e cultivares testemunhas (*T. aestivum*) armazenados no Banco de Germoplasma da Embrapa Trigo. Espigas na fase anterior à antese, de cinco plantas por genótipo foram coletadas e fixadas em solução de Carnoy. As lâminas citológicas foram preparadas pelo método de maceração e a coloração das células feita com carmim acético 1%. Foram observados, em microscópio ótico, a presença de micronúcleos em todos os genótipos analisados, sendo encontrada, variabilidade quanto à estabilidade genética nos dois anos de análises, em 2014, o percentual máximo de índice meiótico dos acessos de trigos sintéticos foi de 96,86% (CIGM93.403) e de no mínimo de 44,54% (CIGM92.1706). Em 2015, o percentual de índice meiótico máximo foi de 96,60% (CIGM93.294) e o mínimo de 47,96% (CIGM90.896). Alguns genótipos foram meioticamente estáveis e puderam ser

utilizados em programas de melhoramento genético de trigo, visando à incorporação de resistência à doença giberela.

**Palavras-chaves:** *Gibberella zeae*, *Aegilops tauschii*, micronúcleo.

**GENETIC STABILITY IN SYNTHETIC WHEAT ACCESS:  
CYTOGENETIC EVALUATION AS A SUPPORT IN  
BREEDING PROGRAM**

**ABSTRACT** - Synthetic wheats are the result of cross between a tetraploid species (*T. turgidum*, BBAA) and diploid species (*Ae. tauschii*, DD) resulting in a sterile hybrid, followed by chromosome duplication via colchicine to restore fertile hexaploid wheat. This study aimed to evaluate the presence of micronuclei and meiotic index in tetrads phase in access of synthetic wheats, and witnesses cultivars (*T. aestivum*) stored in the germplasm bank of Embrapa Trigo. Spikes in the previous stage before the five plants per genotype were collected and fixed in Carnoy solution. The cytological slides were made by soaking method and the coloration of cells was done with 1% acetic carmine. Observations were under an optical microscope. We observed the presence of micronuclei in all genotypes analyzed, in some larger and in others less. It was found variability for genetic stability in the two years of analysis, where in 2014 the biggest IM of synthetic wheats access was 96.86% and the lowest of 46.32%. In 2015, the largest IM was 96.60% and the lowest of 47.96%. Based on the results, some

genotypes were considered meiotic stable and can be used in wheat breeding programs.

**Keywords:** Fusarium head blight, *Aegilops tauschii*, micronuclei.

## 1 INTRODUÇÃO

O trigo (*T. aestivum* L.) é uma das mais importantes culturas alimentares e se tornará ainda mais significativa a medida que a população aumenta. Foi originado a milhões de anos atrás, da hibridação natural entre a espécie diploide *Triticum urartu* (Gandylian) e outra espécie *Aegilops speltoides* (Á. Löve), igualmente diploide. Essas duas espécies, resultaram em um trigo tetraploide, *Triticum dicoccoides* (Schrank) (MUJEEB-KAZI et al., 1996). Mais tarde, há cerca de dez mil anos, a domesticação deste cereal levou à evolução do *Triticum durum* (Desf.), que, por sua vez, foi hibridizado com a espécie selvagem *Ae. tauschii* (Coss) para produzir, assim, o trigo hexaploide, *T. aestivum* (AABBDD) (MUJEEB-KAZI et al., 1996).

Trigos sintéticos hexaploides são obtidos a partir de cruzamentos artificial entre o tetraploide *T. turgidum* (genoma AABB,  $2n = 28$ ) e o parente selvagem *Ae. tauschii* (genoma DD,  $2n = 14$ ), seguido por duplicação dos cromossomos com colchicina, para estabelecer um genoma hexaploide fértil (AABBDD) (TRETOWAN & VAN GINKEL, 2009). A diversidade genética presente no genoma DD de *Ae. tauschii*, envolvido neste cruzamento é muito mais elevada do que no trigo comum (NAGHAVI & MARDI 2010, REIF et al., 2005). O genoma DD é fonte de resistência a vários estresses bióticos

e abióticos e poderia, portanto, contribuir para a melhoria das cultivares de trigo (ASSEFA & FEHRMANN, 2000; COLMER et al., 2006).

Os estudos citogenéticos permitem comparações entre populações silvestres e cultivadas com vista no comportamento dos cromossomos durante a divisão celular. Independentemente de uma base adequada de germoplasma, o programa de melhoramento exige o conhecimento do modo de reprodução, número de cromossomos e comportamento meiótico dentro e entre espécies compatíveis, a fim de direcionar os cruzamentos (MENDES-

Plantas em estado silvestre, ou em fase de melhoramento, possuem comportamento meiótico variável entre os genótipos. Assim, podem apresentar irregularidades nas fases da meiose e pós-meiose, resultando em fertilidade limitada quando se considera gametas masculinos (DAMASCENO JUNIOR et al., 2010). Essas irregularidades são comumente relatadas na família Poaceae. Dentre as mais comuns, verifica-se a migração precoce dos cromossomos para os polos e cromossomos retardatários em metáfases e micronúcleos em tétrades (MENDES-BONATO et al., 2006).

Micronúcleos podem ser definidos como estruturas resultantes de cromossomos inteiros ou de fragmentos cromossômicos que se perdem na divisão celular e, por isso, não são incluídos nos núcleos das células-filhas, permanecem no citoplasma das células interfásicas (HEDDLE, 1973). A determinação do índice meiótico é um procedimento simples para avaliar a regularidade do processo meiótico e, por ser uma técnica citológica rápida, demonstra prontamente o grau de estabilidade meiótica (LOVE, 1951).

Quando se pretende trabalhar com híbridos interespecíficos, como no caso trigo sintético, é fundamental saber o comportamento meiótico das espécies, para poder utilizá-las em cruzamentos. O grau de fertilidade das plantas é demonstrado pelo comportamento meiótico, e a formação de gametas funcionais é controlada por genes que garantem um processo meiótico normal. Entretanto, os genes podem sofrer mutações, ocasionando irregularidades que comprometem a fertilidade dos indivíduos (PAGLIARINI, 2000.)

Assim, este trabalho teve por objetivo estimar a variabilidade, quanto à estabilidade genética, de alguns acessos de trigos sintéticos, conservados na coleção de germoplasma da Embrapa Trigo, por meio da análise de presença de micronúcleos e de índice meiótico, para posterior uso nos programas de melhoramento genético que visam incorporar resistência à giberela (*Gibberella zeae*).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados vinte acessos de trigo sintético, oriundos do Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT/México) e mantidos no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo (BAG-Trigo): CIGM88.1351-OB, CIGM90.896, CIGM90.909, CIGM92.1629, CIGM92.1666, CIGM92.1680, CIGM92.1696, CIGM92.1698, CIGM92.1706, CIGM92.1713, CIGM92.1849, CIGM93.200, CIGM93.205, CIGM93.225, CIGM93.268, CIGM93.294, CIGM93.298, CIGM93.302, CIGM93.403 e CASW94Y00054S. As testemunhas foram seis cultivares tradicionais

de trigo (BR 18 Terena, BRS Gurarmirim, BRS 194, BRS 179, Frontana e Sumai 3), também mantidas no BAG da Embrapa Trigo.

O ensaio foi conduzido no campo experimental da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, no “viveiro de giberela”. Essa denominação é designada à área experimental na Embrapa Trigo onde são simuladas condições favoráveis à ocorrência de epidemia de giberela, em campo, visando avaliar a resistência de genótipos de cereais de inverno à doença. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 26 tratamentos e três repetições. Cada genótipo foi semeado em parcela constituída de uma linha de 5,00 m com 60 sementes aptas por metro linear. A condução do ensaio seguiu as indicações técnicas para a cultura de trigo e triticales (REUNIÃO, 2014).

As análises citogenéticas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo. As lâminas citológicas foram preparadas usando três anteras da mesma flor da região mediana da espiga, de cinco espigas por genótipo. A técnica utilizada foi da maceração e coloração com carmim acético 1%. Após adição do corante, uma lamínula de 22 x 22 mm foi colocada sobre a lâmina, e aquecida rapidamente sobre bico de Bunsen por aproximadamente 3x e vedada com uma mistura de cera de abelha e breu (“LUTO”), aquecida no momento da montagem da lâmina/lamínula. As variáveis analisadas foram: tétrades normais e presença de micronúcleos. As primeiras duzentas tétrades foram contadas e analisadas quanto à presença ou ausência de micronúcleos. A visualização ocorreu pelo programa Pinnacle Studio Plus, em microscópio óptico Zeiss – Axiolab, com aumento de 400 X. O índice meiótico (IM) foi calculado segundo Love (1949):  $IM = \text{número de}$

tétrades normais/número total de tétrades analisadas x 100. As cultivares com IM superior a 90% foram consideradas meioticamente estáveis.

Em 2014, o acesso CIGM92.1629 não foi utilizado na análise estatística pois não foi encontrada a fase de tétrades. Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias, posteriormente, foram comparadas pelo teste de Scott e Knott a 5 % de probabilidade.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Em 2014, para a variável grãos com micronúcleos (MCN), ocorreu a formação de três grupos estatisticamente distintos (Tabela 1). Dois acessos apresentaram MCN entre 50 e 55% (grupo a) e outros dois acessos exibiram entre 30 e 40% (grupo b). Entretanto, 21 genótipos de trigo apresentaram percentual de tétrades com micronúcleo (MCN) abaixo de 20% (grupo c). Para o (IM), 21 genótipos incluindo cultivares testemunhas e os acessos de trigos sintéticos, apresentaram IM superior a 80% (grupo a). Em contraste, apenas dois acessos apresentaram IM abaixo de 70% (grupo b) e dois abaixo de 50% (grupo c).

No ano de 2015, a variabilidade quanto ao percentual de tétrades com micronúcleos e o índice meiótico foi maior. Para o MCN, ocorreu a formação de quatro grupos, sendo que acessos acima de 40%, ficaram em um primeiro grupo (grupo a), genótipos com MCN de 25 a 31%, ficaram em um segundo grupo (grupo b) e MCN de 10 a 25%, em um terceiro grupo (grupo c) (Tabela 2). Abaixo destes valores (grupo d), foram encontrados os genótipos com menores anormalidades. Considerando o IM, 15 acessos apresentaram IM superior a 90%,

incluindo as seis cultivares (grupo a), sete acessos apresentaram IM de 89 a 75% (grupo b), dois acessos IM entre 75 e 70% (grupo c) e dois acessos (grupo d) IM abaixo de 60%

Tabela 1- Percentual de tetrades com micronúcleos (MCN) e índice meiótico (IM) no ano de 2014. Passo Fundo/RS, 2016

Genótipo	MCN	Grupo	Genótipo	IM	Grupo
CIGM92.1706	55,46	a	BRS 179	98,98	a
CIGM93.268	53,68	a	BRS Guamirim	97,96	a
CIGM93.205	38,10	b	Sumai 3	97,58	a
CIGM92.1680	30,20	b	CIGM93.403	96,86	a
CIGM90.896	19,20	c	CIGM92.1666	96,68	a
			Trigo BR 18		
CIGM93.294	18,96	c	Terena	96,56	a
CIGM93.302	13,44	c	CIGM93.298	96,34	a
CIGM90.909	12,96	c	CASW94Y00054S	96,12	a
CIGM93.200	11,56	c	BRS 194	94,70	a
CIGM93.225	10,50	c	CIGM92.1696	94,08	a
Frontana	10,28	c	CIGM88.1351-OB	92,82	a
CIGM92.1849	09,36	c	CIGM92.1698	91,80	a
CIGM92.1713	09,28	c	CIGM92.1713	90,72	a
CIGM92.1698	08,20	c	CIGM92.1849	90,64	a
CIGM88.1351-OB	07,18	c	Frontana	89,72	a
CIGM92.1696	05,92	c	CIGM93.225	89,50	a
BRS 194	05,30	c	CIGM93.200	88,44	a
CASW94Y00054S	03,88	c	CIGM90.909	87,04	a
CIGM93.298	03,66	c	CIGM93.302	86,56	a
Trigo BR 18					
Terena	03,44	c	CIGM93.294	81,04	a
CIGM92.1666	03,32	c	CIGM90.896	80,80	a
CIGM93.403	03,14	c	CIGM92.1680	69,82	b
Sumai 3	02,42	c	CIGM93.205	61,90	b
BRS Guamirim	02,04	c	CIGM93.268	46,32	c
BRS 179	01,02	c	CIGM92.1706	44,54	c
CV=12,69%			CV=10,63%		

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott e knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2- Percentual de tétrades com micronúcleos (MCN) e índice meiótico (IM) no ano de 2015. Passo Fundo/RS, 2016

Genótipo	MCN		Genótipo	IM	
CIGM90.896	52,04	a	BRS 179	99,54	a
CIGM92.1629	43,62	a	Trigo BR 18	97,06	a
CIGM93.268	30,38	b	CIGM93.294	96,60	a
CIGM93.205	26,94	b	Frontana	96,20	a
CIGM92.1696	22,50	c	BRS Guamirim	96,08	a
CIGM92.1680	16,66	c	CIGM93.302	95,84	a
CIGM88.1351-OB	15,42	c	CIGM92.1713	95,30	a
CIGM92.1698	14,58	c	CASW94Y00054S	92,50	a
CIGM90.909	14,08	c	CIGM92.1849	92,50	a
CIGM92.1706	12,74	c	BRS 194	92,04	a
CIGM93.298	11,58	c	CIGM92.1666	91,56	a
Sumai 3	09,36	d	CIGM93.200	91,14	a
CIGM93.225	09,02	d	CIGM93.403	91,12	a
CIGM93.403	08,88	d	CIGM93.225	90,98	a
CIGM93.200	08,86	d	Sumai 3	90,64	a
CIGM92.1666	08,44	d	CIGM93.298	88,42	b
BRS 194	07,96	d	CIGM92.1706	87,26	b
CIGM92.1849	07,50	d	CIGM90.909	85,92	b
CASW94Y00054S	07,50	d	CIGM92.1698	85,42	b
CIGM92.1713	4,70	d	CIGM88.1351-OB	84,58	b
CIGM93.302	4,16	d	CIGM92.1680	83,34	b
BRS Guamirim	3,92	d	CIGM92.1696	77,50	b
Frontana	3,80	d	CIGM93.205	73,06	c
CIGM93.294	3,40	d	CIGM93.268	69,62	c
BR 18 Terena	2,94	d	CIGM92.1629	56,38	d
BRS 179	0,46	d	CIGM90.896	47,96	d
CV=30%			CV=7,8%		

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott e knott a 5% de probabilidade.

Em 2014 e 2015, as seis cultivares utilizadas como testemunhas permaneceram no grupo de melhor índice meiótico. No entanto, os acessos de trigos sintéticos, com máximos IM diferiram

entre os anos, sendo que em 2014, o acesso CIGM93.403 obteve IM=96.86% e em 2015 o acesso CIGM93.294, apresentou IM=96,60%.

No presente estudo observou-se, que ocorreu presença de MCN em todos os genótipos estudados. Comparativamente, em trabalho realizado com trigos sintéticos por Rezaei et al. (2010) foi verificado que a incidência de micronúcleos em díade e tétrades representaram asirregularidades mais comuns.

Durante a telófase, o envoltório nuclear é formado ao redor do cromossomo inteiro ou do fragmento cromossômico perdido, que se descondensa e, gradualmente, vai assumindo a morfologia de um núcleo interfásico, com exceção do tamanho, pois este é bem menor que o núcleo principal, razão pela qual é chamado de micronúcleo (FENECH, 2000). Estas irregularidades presentes em trigos sintéticos hexaploides são altamente afetadas pela interação genótipo x ambiente (REZAEI et al., 2010).

Ressalta-se que outras possíveis causas para a formação de micronúcleos pode ser devido à citomixia, principalmente quando ela está associada com a prófase (BOLDRINI et al., 2006). A citomixia consiste na migração de material genético, produtos gênicos e organelas entre meiócitos por meio de conexões citoplasmáticas ou canais citomíticos (FALISTOCCO et al., 1995).

No entanto, a provável explicação para elevados índices de micronúcleos presentes nos trigos sintéticos é que este germoplasma é o resultado de hibridizações artificiais resultantes de cruzamentos realizados artificialmente. Além disso, e devido ao genoma de trigo sintético ter uma combinação de *T. turgidum* × *Ae. tauschii*. (REZAEI

et al., 2010), faz com que a duração do ciclo meiótico varie nos diferentes genomas, o que pode ser a causa para a instabilidade meiótica (OETTLER, 2005). Também os genomas de *T. turgidum* (AABB) desempenham um papel mais importante do que o genoma de *Ae. tauschii* (DD) na produção de gametas 2N. Assim, a presença de micronúcleos pode também ser explicada pela distância do genoma D do *Ae. tauschii* (ZHANG et al., 2009).

Além das causas genéticas apresentadas, fatores abióticos, também podem levar à fragmentação do material genético gerando células com micronúcleos (DIEGUES et al., 2015). Embora os mecanismos de reparo celular sejam eficientes, a formação de micronúcleos se deve a alterações cromossômicas, muitas vezes ligadas a fatores ambientais (MAJER et al., 2001).

Em 2014, por exemplo o acesso de trigo sintético que apresentou percentual máximo de MCN, CIGM92.1706 (55,46%) foi coletado para análises de tétrades na segunda quinzena de outubro, onde as temperaturas mínimas, máximas e umidade relativa estavam acima do normal (Tabela 3). Em 2015, novamente os trigos sintéticos que apresentaram percentual de micronúcleos mais elevados (grupo a) foram os que entraram na fase de tétrades no final de outubro, em que as médias de temperatura máxima, mínima e umidade foram novamente acima do normal. A umidade relativa estava 9,6% acima do normal para o mês.

Variações de umidade podem afetar a formação de micronúcleos na fase de tétrades (SPÓSITO et al., 2015). Em trabalho realizado com trigo, Omid et al. (2014) notaram que as variedades tiveram a menor quantidade de anomalia em condições ambientais

normais. Com aumento da temperatura, houve um aumento significativo de alterações meióticas em diversas variedades.

Tabela 3- Informações meteorológicas dos anos de 2014 e 2015. Passo Fundo/RS, 2016

Ano	Fatores climáticos	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
2014	Tem.Min.(°C)	9,9	13,2	14,8	16,0
	Tem.Max.(°C)	21,5	22,4	26,4	27,7
	UR %	71,7	78,5	70,5	65,0
2015	Tem.Min.(°C)	13,3	11,8	13,9	15,3
	Tem.Max.(°C)	24,0	22,6	24,1	25,0
	UR %	70,8	74,5	78,6	78,7
Normal	Tem.Min.(°C)	9,9	11,0	12,9	14,8
	Tem.Max.(°C)	19,9	21,2	23,8	26,0
	UR %	73,0	72,0	69,0	67,0

Fonte: Embrapa Trigo.

<http://www.cnpt.embrapa.br/pesquisa/agromet/app/principal/agromet.php?ano=2015>

Os acessos que apresentaram alta incidência de micronúcleo não são os mais recomendados para serem utilizados em cruzamentos no melhoramento genético, uma vez que o material contido nesses micronúcleos pode vir a influenciar a expressão gênica no DNA nuclear, mitocondrial e cloroplastídico. Esse fato pode ainda gerar implicações evolutivas muito importantes, podendo alterar a variabilidade dos meiosporos produzidos, influenciando na viabilidade e no nível de ploidia dos grãos de pólen (DIEGUES et al., 2015).

No presente estudo, o grupo que apresentou menor percentual de MCN, em 2014, teve média de 7,86% (grupo c), e em 2015, a média foi de 6,06% (grupo d) (Tabela 1). Em trabalho realizado no Irã, também com trigos sintéticos, foi observada uma média de 1,04% de tétrades com micronúcleos (ARABBEIGI et al., 2010). Esses

valores estão bem abaixo dos evidenciados neste trabalho, em Passo Fundo/RS, mostrando mais uma vez a interferência das condições climáticas, e dos locais totalmente distintos. Quanto ao IM, no ano de 2014, dos 19 acessos de trigos sintéticos utilizados, 15 ficaram no primeiro grupo (a), sendo este, o de melhor índice meiótico. A média dos acessos sintéticos analisados neste grupo foi 90,63%. Quatro genótipos permaneceram em segundo e terceiro grupo (b e c), sendo que a média de IM destes foi inferior a 70%.

Em 2015, nove acessos sintéticos permaneceram no primeiro grupo (a), com média de IM de 93,13% (Tabela 2). Os sete acessos do segundo grupo (b) tiveram média de 84,63%. Os últimos quatro acessos sintéticos dos dois últimos grupos tiveram médias abaixo de 72,5% de IM. Genótipos que apresentam índice meiótico abaixo de 90%, podem resultar problemas reprodutivos quando envolvidos em cruzamentos, pois são considerados instáveis citogeneticamente, e isto pode vir a gerar dificuldades no pareamento cromossômico (LOVE, 1951).

A CV. BRS 179, tanto no ano de 2014 quanto no ano de 2015, apresentou o máximo IM (98,98% e 99,54%, respectivamente) e mínimo percentual de MCN (1,02% e 0,46%, respectivamente). Isso porque é uma cultivar recomendada e adaptada para os estados do Rio Grande do Sul, resultante de uma alta estabilidade genética. A média de IM das cultivares variaram de 95,91% e 95,26% nos anos de 2014 e 2015 respectivamente, e todas ficaram no mesmo grupo (a). Comparativamente, trabalhos com espécies da família Caricaceae foi constatado maior índice meiótico para a espécie cultivada em relação à espécie silvestre (DAMASCENO JUNIOR et al., 2010).

Os índices meióticos dos 19 genótipos de trigos sintéticos aqui estudados, em 2014, variaram de 44,54% (CIGM92.1706) a 96,86% (CIGM93.403). Já, em 2015, o valor máximo de IM para material sintético foi de 96,60% (GIGM93.294) e o mínimo de 47,96% (CIGM90.896). Em ambos os anos, observou-se, variabilidade quanto à estabilidade genética dentro dos materiais. Em trabalho realizado com trigos sintético, no Irã, revificou-se, que o menor índice meiótico foi de 99% (ARABBEIGI et al., 2010).

A identificação de alterações genéticas entre as populações, dentro de uma espécie em estudo, é um aspecto básico nos programas de melhoramento vegetal (NASCIMENTO JÚNIOR et al., 1990). A identificação de genótipos mais estáveis mediante análise citológica permite, portanto, o planejamento de programas de produção de sementes das cultivares em vias de lançamento, como, também, auxilia na eventual utilização deste, para a produção de novas populações (POZZOBON et al., 2011).

#### **4 CONCLUSÕES**

Existe variabilidade quanto à estabilidade genética em acessos de trigos sintéticos. Essa variabilidade ocorre devido a fatores genéticos e ambientais. No entanto, recomenda-se que somente os genótipos meioticamente estáveis, CIGM93.298, CIGM92.1666 sejam incorporados em trabalhos de melhoramento genético para resistência à giberela.

### CAPÍTULO III

#### DIVERSIDADE GENÉTICA DE TRIGOS SINTÉTICOS MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES MICROSSATÉLITES

**RESUMO** - Vinte acessos de trigos sintéticos hexaploides ( $2n = 6x = 42$ , AABBDD) e seis cultivares tradicionais foram analisados utilizando 42 marcadores microssatélites, a fim de investigar a diversidade genética para uso em seleção assistida em programas de melhoramento de *Triticum aestivum*. Um total de 73 alelos foram detectados mediante estes marcadores, com o máximo de quatro alelos por locus. O conteúdo de informação polimórfica (PIC) mostrou que o genoma B é de maior diversidade genética entre os genomas A, B, e D dos trigos hexaploides sintéticos. Os resultados indicaram que o trigo sintético hexaploide é uma eficiente forma de enriquecer fundos genéticos de trigo, especialmente por utilizar as variações genéticas do genoma D de *Aegilops tauschii* para melhoria de trigo. O dendograma UPGMA, baseado em uma matriz de distância genética de Dice, permitiu distinguir seis grandes grupos. Os resultados demonstraram a utilidade destes marcadores microssatélites na detecção do polimorfismo de DNA e estimativa da diversidade genética da espécie.

**Palavra-chave:** *Aegilops tauschii*, SSR, variabilidade.

## GENETIC DIVERSITY OF SYNTHETIC WHEATS BY FUSARIUM HEAD BLIGHT

**ABSTRACT** - Twenty wheat synthetic hexaploid accessions ( $6x = 2n = 42$ , AABBDD) and six traditional cultivars were analyzed using 42 microsatellite markers in order to investigate the genetic diversity for use in assisted selection in *T. aestivum* breeding programs. The total of 73 alleles were detected by these markers, with the maximum of four alleles per locus. The polymorphic information content (PIC), showed that the genome B is greater genetic diversity between the genomes A, B, and D of synthetic hexaploid wheats. The results also indicate that the synthetic hexaploid wheat is an effective way to enrich genetic backgrounds of wheat, especially by using the genetic variations of the D genome of *Ae. tauschii* for improvement of wheat. The dendrogram UPGMA, based on a matrix of genetic distance Dice allowed to distinguish six major groups. The results demonstrate the usefulness of these markers in the detection of microsatellite DNA polymorphisms and estimating the genetic diversity of the species.

**Keyword:** *Aegilops tauschii*, SSR, variability.

### 1 INTRODUÇÃO

O trigo comum é umas das mais importantes culturas alimentares e se tornará ainda mais significativo a medida que a população aumenta. Foi originado, a partir da hibridização espontânea

de *Triticum turgidum* tetraploide ( $2n = 4x = 28$ , AABB) e o trigo diploide *Ae. tauschii* (Coss) ( $2n = 2x = 14$ , DD) (YANG et al., 2009). Contudo, acredita-se que a evolução do trigo comum envolveu poucos membros das duas espécies progenitoras. Desta forma, a genética do trigo hexaploide é muito estreita se comparada aos seus progenitores. Isto já foi confirmado através de análises genéticas e moleculares do trigo comum e seus descendentes (NAZEM & ARZANI, 2013).

Uma das maneiras mais importantes de aumentar a diversidade genética em trigo comum é o desenvolvimento de trigo sintético hexaploide. Estes híbridos, são produtos do cruzamento artificial entre *T. turgidum* x *Ae. tauschii*, os progenitores evolutivos do trigo comum (MUJEEB-KAZI et al., 1996). *Ae. squarrosa* (syn. *Ae. tauschii* e *T. tauschii*  $2n = 2x = 14$ , DD), o doador do genoma D do trigo comum (*T. aestivum*), tem muitos genes agronomicamente importantes e desejáveis para a melhoria de trigo (SHARMA et al., 2014).

A estimativa de diversidade genética é uma ferramenta fundamental que fornece meios para o desenvolvimento e melhoria das variedades vegetais. Alta diversidade genética significa que existem mais chances de seleção e melhores evoluções de variedade. A existência de variabilidade genética é uma forma de manter a capacidade natural das espécies de responder a mudanças climáticas e a todos os tipos de estresses bióticos e abióticos e assegurar a base para ganhos genéticos (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011). Pode ser estimada utilizando-se diferentes métodos, dentre estes o uso de marcadores moleculares (HABASH et al., 2009).

Os marcadores moleculares proporcionam uma alternativa satisfatória, porque eles podem detectar níveis elevados de polimorfismo entre cultivares e ajudam a melhorar a eficiência e precisão da estimativa da similaridade genética e não são influenciadas pelo ambiente (DAVILA et al., 1998). O estudo de diversidade genética entre populações, através do uso de microssatélites, tem sido aplicado com êxito em várias espécies vegetais, tais como em trigo e arroz (REDDY et al., 2002).

Marcadores microssatélites ou *Simple Sequence Repeats* (SSR) possuem uma vasta utilidade na investigação do genoma do trigo, pois oferecem desde a reprodutibilidade, natureza multialélica, herança co-dominantes, a especificidade do genoma, abundância relativa e uma boa cobertura do genoma (VARSHNEY et al., 2005; GANAL & RÖDER, 2007).

As sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, ou até mesmo entre espécies relacionadas. A região genômica que corresponde às sequências repetitivas são amplificadas, via PCR (KARAOGLU et al., 2005). A amplificação é feita utilizando iniciadores específicos de 20-30 bases, complementares às sequências que flanqueiam uma determinada sequência repetitiva. Os segmentos amplificados, a partir destes sítios de anelamento de iniciadores, apresentam um elevado polimorfismo, produto da presença de diferenças no número de elementos repetidos. Dessa forma, cada sequência repetitiva, independentemente do elemento repetitivo, constitui-se num locus gênico altamente variável, multialélico e de grande conteúdo informativo em relação a uma espécie. Cada segmento

amplificado de tamanho diferente representa um alelo diferente do mesmo *locus* dentro da população (DUTECH et al., 2007).

Estes alelos, são codificados e analisados para ser realizado então, uma análise agrupamento. A análise de agrupamento é uma técnica que tem por objetivo identificar grupos de indivíduos com características similares em relação às variáveis observadas. A técnica é realizada após a estimação de uma matriz de distância ou dissimilaridade, e com base nessa matriz identificam-se os grupos pela similaridade dos indivíduos, de forma a obter homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os grupos formados (CRUZ, 2008).

Entre os métodos de agrupamento mais empregados pelos melhoristas de plantas destacam-se os hierárquicos, onde os indivíduos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, até que seja estabelecido um dendrograma, não havendo preocupação com o número ótimo de grupos. Entre os mais utilizados estão o método de ligação média entre grupos (“Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean – UPGMA”) (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2011).

Diante disto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a diversidade genética entre vinte acessos sintéticos e seis cultivares tradicionais com base em marcadores moleculares microsatélites.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Material vegetal**

Vinte acessos de trigos sintéticos hexaploides, derivados de hibridação entre acessos de *T. durum* e *Ae. tauschii* foram utilizados neste trabalho, oriundos do Centro Internacional de Mejoramiento de

Maíz y Trigo (CIMMYT – México) e armazenados no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo (BAG-Trigo): CIGM88,1351-OB, CIGM90.896, CIGM90.909, CIGM92.1629, CIGM92.1666, CIGM92.1680, CIGM92.1696, CIGM92.1698, CIGM92.1706, CIGM92.1713, CIGM92.1849, CIGM93.200, CIGM93.205, CIGM93.225, CIGM93.268, CIGM93.294, CIGM93.298, CIGM93.302, CIGM93.403 e CASW94Y00054S e seis cultivares tradicionais de trigo, utilizadas como testemunhas, também armazenadas no BAG da Embrapa Trigo (BR 18 Terena, BRS Guaramirim, BRS 194, BRS 179, Frontana e Sumai 3).

A extração de DNA foi realizada no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo, Passo Fundo e as PCRS no Laboratório de Biotecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias na Universidade Nacional de Rosário, Zavalla, Santa Fe, Argentina.

## **2.2 Extração de DNA e marcadores microssatélites**

Extraiu-se o DNA, a partir de cerca de 2 g de folhas de trigo. O DNA foi extraído das folhas oriundas de sementes germinadas em papel Germitest, coletadas com aproximadamente 10 cm de comprimento. O tecido foliar coletado foi pesado (300 mg) e macerado com nitrogênio líquido. A extração foi realizada utilizando tampão CTAB (700 µL) pré-aquecido a 65 °C. As amostras foram mantidas em banho-maria por 60 min. A separação da fração contendo o DNA foi realizada com 700 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), 2 vezes, seguidas de centrifugação a 10.000 rpm. Para precipitar o DNA, utilizou-se isopropanol (500 µL). Após um período de incubação de, no

mínimo, 30 min, o sobrenadante foi retirado e o pellet lavado com 600  $\mu$ L de etanol 70% e, em seguida, com 600  $\mu$ L de etanol 96%. Posteriormente o DNA foi ressuscitado em 100  $\mu$ L de Tris-HCl 10mM, contendo RNase (10mg/mL), incubado a 37 °C por uma hora. (DOYLE & DOYLE,1987). A quantificação foi feita em gel de agarose a 1 %, com coloração de brometo de etídio. O DNA utilizado na quantificação tinha peso de 100 e 200 ng. Depois os DNAs foram liofilizados até o momento do uso, onde foram então ressuscitados.

Quarenta e dois iniciadores microsatélite (Tabela 1), utilizados neste estudo, foram selecionados com base na cobertura ampla dos três genomas A, B e D do trigo.

**Tabela 1** – Marcadores moleculares polimórficos, usados no estudo de diversidade genética nos 26 genótipos de trigo, com suas respectivas seqüências gênicas e posição no cromossomo. Embrapa, Passo Fundo – RS, 2016. São referenciados por Röder\_ 1998, com exceção de Barc 24, que é por Cuthbert et al. (2006)

<b>Primer</b>	<b>Locus</b>	<b>Forward</b>	<b>Reverse</b>	<b>Cromossomo</b>
WMS30	xgwm30	ATCTTAGCATAGAAGGGAGTGGG	TTCTGCACCCCTGGGTGAT	2DL,3AL,4A
WMC44	xgwm44	GGTCTTCTGGGCTTTGATCCTG	TGTTGCTAGGGACCCCGTAGTGG	1BL
WMS99	xgwm99	AAGATGGACGTATGCATCACA	GCCATAATTTGATGACGCATA	1AL
WMS106	xgwm106	CTGTTCTTGGCGTGGCATTAA	AATAAGGACACACAATTGGGATGG	1DS
WMS107	xgwm107	ATTAATACCTGAGGGAGGTGC	GGTCTCAGGAGCAAGAACAC	4BS
WMS111	xgwm111	TCTGTAGGCTCTCTCCGACTG	ACCTGATCAGATCCCACCTCG	7DS
WMS118	xgwm118	GATGTTGCCACTTGAGCATG	GATTAGTCAAATGGAACACCCC	4AL,5BL
WMS136	xgwm136	GACAGCACCTTGCCCTTTG	CATCGGCAACATGCTCATC	1AS
WMS148	xgwm148	GTGAGGCAGCAAGAGAGAAA	CAAAGCTTGACTCAGACCCAAA	2BS
WMS157	xgwm157	GTCGTCGGGTAAGCTTG	GAGTGAACACACGAGGCTTG	2DL
WMS169	xgwm169	ACCACTGCAGAGAACACATACG	GTGCTCTGCTCTAAGTGTGGG	6AL
WMS181	xgwm181	TCATTGGTAAATGAGGAGAGA	GAACCATTCATGTGCATGTC	3BL
WMS183	xgwm183	GTCCTCCCATCTCGCAAGAG	CTCGACTCCCATGTGGATG	3DS

Continua

<b>Primer</b>	<b>Locus</b>	<b>Forward</b>	<b>Reverse</b>	<b>Cromossomo</b>
WMS234	xgwm234	GAGTCCTGATGTGAAGCTGTTG	CTCATTGGGGTGTGTACGTG	5BS, 5AS
WMS249	xgwm249	CAAAATGGATCGAGAAAAGGGA	CTGCCATTTTTCTGGATCTACC	2AS, 2DS
WMS272	xgwm272	TGCTCTTTGGCGAATATATGG	GTTCAAAAACAATAAAGGCC	5DL
WMS375	xgwm375	ATTGGCGACTCTAGCATAATACG	GGGATGTCTGTCCATCTTAGC	4BL
WMS293	xgwm293	TACTGGTTCACATTGGTGG	TCGCCATCACTCGTTCAAG	5AS
WMS334	xgwm334	AATTTCAAAAAGGAGAGAGA	AACATGTGTTTTTAGCTATC	6AS
WMS369	xgwm369	CTGCAGGCCCATGATGATG	ACCGTGGGTGTTGTGAGC	3AS, 4BS
WMS389	xgwm389	ATCATGTCGATCTCCTTGACG	TGCCATGCACATTAGCAGAT	3BS
WMS397	xgwm397	TGTCATGGATTATTTGGTCCG	CTGCACTCTCGGTATACCAGC	4AL, 4AS
WMS428	Xgwm428	TGTAAAACGACGGCCAGTCGAGG CAGCGAGGATTT	TTCTCCACTAGCCCCCGC	7DL
WMS617	xgwm617	GATCTTGGCGCTGAGAGAGA	CTCCGATGGATTACTCGCAC	5A, 6A
WMS664	xgwm664	CAGTCAGTGCCGTTTAGCAA	AGCTTTGCTCTATTGGCGAG	3DL, 4B
BARC24	xbarc24	CGCCTCTTATGGACCAGCCTAT	GCGGTGAGCCATCGGGTTACAAAG	6BL

### **2.3 Reação em cadeia da polimerase**

As ampliações da PCR foram realizadas em 15 $\mu$ l (volume final) de solução contendo 0,2  $\mu$ M de cada primer (forward e reverse), 0,2 mM de cada dNTP, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 1 U de Taq polimerase (Invitrogen), solução tampão Buffer PCR 10 X e 40 ng de DNA de cada cultivar em estudo. As reações foram conduzidas em termociclador TM Bio-Rad utilizando-se a seguinte programação: um ciclo a 94° C por 7 min; 6 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; 20 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 separados mediante eletroforese em gel de agarose 2% em TBE (Tris – Acido Bórico – EDTA) a uma voltagem de 100V durante aproximadamente 1 hora e 40 minutos. A visualização foi realizada por coloração com SYBR®Safe (Invitrogen), utilizando-se o marcador Low Molecular Weight DNA Ladder (New England BioLabs), a fim de identificar o tamanho dos fragmentos amplificados. Após a eletroforese, os géis foram analisados em um transiluminador de luz ultravioleta e sua imagem digitalizada utilizando sistema de camera fotográfica de alta resolução.

### **2.4 Análise estatística**

Fragmentos amplificados foram codificados (scoring) para presença ou ausência como 1 e 0, respectivamente. Esses dados foram utilizados para calcular a matriz de distância de dados por marcadores moleculares do tipo codominante, em conformidade com as disposições do programa Infogen (BALZARINI & DI RIENZO, 2004). A partir da

matriz de distância de Dice se realizou uma análise de conglomerados através de método de *average linkage* UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages), desenvolvido por Sokal & Michener (1958) e se calculou o índice de correlação cofenética. O polymorphic information content (PIC) foi determinado utilizando-se a seguinte fórmula:

$$PIC = 1 - \sum P_{ij}^2$$

onde  $P_{ij}^2$  é a frequência do alelo  $j$ th por locos  $i$ th, abrangendo todos os alelos por locos (NEI, 1973). Todas as análises dos dados moleculares foram realizadas através do o programa Infogen (BALZARINI & DI RIENZO, 2004).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 42 SSR originalmente proposto, foram usados 37 por apresentar a amplificação e um padrão de bandas nítido que permitiu a leitura do mesmo. Para os cinco microsatélites restantes, as amplificações não foram satisfatórias. Os 37 microsatélites que apresentaram amplificação permitiram determinar que das 26 amostras de trigo nenhuma se encontrou duplicada. Foi gerado um total de 73 bandas/alelos, que apresentaram 80,82% de polimorfismo e uma média de dois alelos por *locus*.

O primer de microsatélite que mais alelos amplificou foi o WMS 44 com um total de 4 bandas/alelos, tendo em vista as 26

amostras (Figura1).

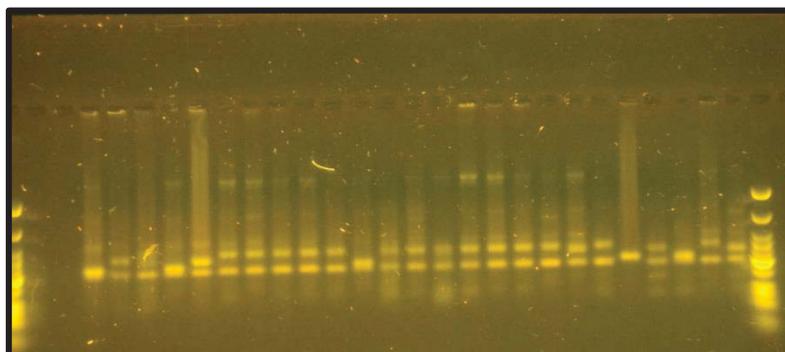


Figura 1- Padrão molecular de 26 amostras de DNA, amplificadas pelo primer WMS44, em gel de agarose 2% e marcador DNA Ladder de 100pb.

Os microssatélites WMS 99, WMS 106, WMS 136, WMS WMS 148, WMS 181, WMS 183, WMS 375 e WMS 428 amplificaram 3 bandas/alelos cada um deles, enquanto os restantes amplificaram um ou dois alelos cada microssatélite (Tabela 2). Em estudo realizado, também, com trigos sintéticos, a técnica SSR demonstrou alto nível de polimorfismo e de variação genética entre os sintéticos. Foram detectados um total de 326 alelos em 49 locus utilizando 45 marcadores microssatélites com uma média de 6,65 alelos por loco (CHEN GUO-YUE et al., 2007). Sharma et al. (2014), ao trabalharem com 24 linhas sintéticas e 15 marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*), detectaram 75 alelos (cinco bandas/primer), dos quais 36 foram polimórficos e a percentagem de polimorfismo foi de 80%.

Em outros estudos, onde foram analisados trigos sintéticos, foram utilizados 77 marcadores microssatélites, a fim de investigar a diversidade genética, sendo que os mesmos amplificaram 452 alelos, dos quais 431 (95,35%) foram polimórficos. O número de alelos

reveladas para cada marcador SSR variaram de 2 a 16, com uma média de 5,95 alelos por *locus* (KAZI et al.,2012). Em contraste, estudos realizados apenas com o *T. aestivum* ou trigo de panificação têm observado menor diversidade alélica. Por exemplo, Chen et al. (2003) rastrearam diversidade genética no trigo de inverno chinês e encontraram uma média de 3,5 alelos por loco. Zhan et al. (2006), utilizaram 79 pares de primers SSR para analisar 129 acessos de trigo cultivados e detectaram o total de 335 alelos, com uma média de 4,24 alelos por loco. Ma e Zhang (2008) rastrearam 57 genótipos de trigo chinês e detectaram uma média de 3,09 alelos por loco.

Tendo em vista esses resultados de alguns trabalhos, nota-se que a predominância dos dados publicados indica que a diversidade de alelo depende do tamanho e da origem do grupo de amostra (LEONOVA et al., 2014). Neste estudo, o número médio de alelos detectados por *locus* era inferior aos apresentados nos trabalhos anteriormente com trigos sintéticos, destacando-se o entanto elevado (80,82%) polimorfismo foi obtido.

O *polymorphic information content* é uma estimativa utilizada para a avaliação do poder discriminatório do loco. A maior informatividade de uma classe de marcadores define sua maior eficiência em detectar polimorfismo entre dois indivíduos (RAFALSKI et al., 1996).

O PIC representa a probabilidade de se encontrar o marcador nos estados de presença ou ausência. O valor do índice de conteúdo polimórfico foi descrito por Botstein et al (1980) é um indicador da capacidade informativa de um marcador em estudos genéticos. Seu cálculo depende do número de alelos, das suas

frequências e do tamanho da amostra. Segundo a classificação de Botstein et al. (1980), marcadores com valores de PIC superiores a 0.5 são considerados muito informativos, com valores entre 0.25 e 0.50 mediantemente informativo e com valores inferiores a 0.25 pouco informativos.

Neste trabalho, a média do PIC foi de 0.50, variando de 0.13 a 0.67. Os maiores valores foram obtidos com os primers WMS 181(0.67), WMS 375 (0.66) e WMS 183 (0.64) (Tabela 2). Estes marcadores são muito informativos e, portanto, com grande utilidade em estudos posteriores de caracterização. Os resultados, mostraram que mais oito primers apresentaram valores acima de 0.50, ou seja, muito informativos. No entanto, 17 marcadores apresentaram valores de 0,25 a 0,50, sendo mediantemente informativos. Um marcador apresentou valor de 0,13, sendo considerado pouco informativo e assim, menor capacidade para reconhecer a distinção entre cultivares. Os outros 11 *primers* apresentaram PIC=0.

Trabalhos semelhantes com diversidade genética em trigos sintéticos foram realizados, sendo verificado que o conteúdo de informação polimórfica variou entre 0,31 para o marcador Xgwm558 e para 0,86 para WMC167 com uma média de 0,66 PIC (DAS et al., 2015). Valores semelhantes a esses foram observados, em outro trabalho com trigos sintéticos, no qual o valor do PIC para marcadores ISSR foi calculada na faixa de 0,39-0,88 e com uma média de 0,65 (SHARMA et al., 2014).

No presente estudo, as bandas/alelos por genoma foram no A, 26, no genoma B 24 e no D 23, sendo que o primer

WMS44apresentou maior número de alelo estando localizado no *locus* 1BL (Tabela 2).

A diferenciação genética entre os três genomas, considerando os primers testados e os valores de PIC, também foram apresentados (Tabela 2). Entre os genomas A, B, e D, os valores médios de PIC foram 0.46, 0.54, 0.53, respectivamente. Os maiores valores de 0.67 e 0.66 foram obtidos pela amplificação de WMS 181 e WMS 375, que estão localizados nos cromossomos 3BL e 4BL, respectivamente.

CHEN et al. (2007), analisando a diversidade genética em trigos sintéticos, verificaram que entre os genomas A, B, e D, os valores médios de PIC foram 0,66, 0,70, e 0,78, respectivamente. Os maiores valores de 0,88 e 0,86 foram registrados nos cromossomas 2D e 5B. Analisando a diversidade genética em 58 trigos sintéticos hexaploides, Hanif et al. (2014) observaram que o valor máximo de PIC (0,69) foi para o cromossomo 6D, seguido do 3D (0,64).

Em estudo semelhante com trigos sintéticos, nos quais os três genomas foram comparados, os valores máximos de PIC foram observados para o genoma B, (0,61), seguido pelo genoma D (0,55) e o genoma A (0,51) (KAZI et al., 2012). Lelley et al. (2000), relataram uma média PIC de 0,68 para *Ae. tauschii* e de 0,40 para *T. aestivum*. Esses resultados, em sua maioria, sugerem uma maior diversidade genética no genoma de D do *Ae. tauschii* do que na cultivada de trigo. As variações dos valores de PIC podem ser, em primeiro lugar, devido à diferença do número de germoplasma e também, da origem dos materiais que foram utilizados em diferentes estudos (QADIR et al., 2015).

Tabela 2– Conteúdo de informação polimórfica nos 37 marcadores microssatélites

Genoma	Primer	Locus	Número de alelos total	PIC
Genoma A	WMS136	1AS	3	0,52
Genoma A	WMS95	2AS	1	0,00
Genoma A	WMS369	3AS	2	0,13
Genoma A	WMS397	4AS	2	0,38
Genoma A	WMS293	5AS	2	0,50
Genoma A	WMS334	6AS	2	0,48
Genoma A	WMS350	7AS	1	0,00
Genoma A	WMS99	1AL	3	0,61
Genoma A	WMS328	2AL	1	0,00
Genoma A	WMS30	3AL	2	0,50
Genoma A	WMS118	4AL	2	0,50
Genoma A	WMS617	5AL	2	0,46
Genoma A	WMS169	6AL	2	0,48
Genoma A	WMS322	7AL	1	0,00
Genoma B	WMS18	1BS	1	0,00
Genoma B	WMS148	2BS	3	0,50
Genoma B	WMS389	3BS	2	0,43
Genoma B	WMS107	4BS	2	0,50
Genoma B	WMS234	5BS	2	0,50
Genoma B	WMS43	7BS	1	0,00
Genoma B	WMS44	1BL	4	0,62
Genoma B	WMS181	3BL	3	0,67
Genoma B	WMS375	4BL	3	0,66
Genoma B	BARC24	6BL	2	0,43
Genoma B	WMS644	7BL	1	0,00
Genoma D	WMS106	1DS	3	0,57
Genoma D	WMS249	2DS	2	0,50
Genoma D	WMS183	3DS	3	0,64
Genoma D	WMS55	6DS	1	0,00
Genoma D	WMS111	7DS	2	0,47
Genoma D	WMS642	1DL	1	0,00
Genoma D	WMS157	2DL	2	0,50
Genoma D	WMS664	3DL	2	0,50
Genoma D	WMS331	4DL	1	0,00
Genoma D	WMS272	5DL	2	0,50
Genoma D	BARC21	6DL	1	0,00
Genoma D	WMS428	7DL	3	0,57

A média da distância genética, obtida pelo índice de Dice, entre os 26 genótipos variaram de 0,14 (CIGM92.1698 e

CIGM92.1706) e os mais distantes a 0,62 (CIGM92.1706 e CIGM92.1713 com o Sumai 3), com uma média de 0,42, mostrando variabilidade entre os genótipos (Tabela 3).

Entretanto, geralmente quando se trabalha com híbridos interespecíficos espera-se maior variabilidade genética. Qadir et al. (2015), investigaram índices de similaridade com base nos produtos amplificados de 10 acessos sintéticos e sete marcadores. A distância genética dos valores variaram de 0,44-0,80, com uma média de 0,62. Mahmood et al. (2011) encontraram valores semelhantes de distância genética de 0,36-0,93, com média de 0,64 entre 15 cultivares de trigo paquistaneses.

A análise de agrupamento tem como objetivo dividir um grupo original de observações em vários grupos homogêneos, segundo algum critério de similaridade ou dissimilaridade (RAFALSKI, 1996). Desta forma, o dendrograma gerado a partir da matriz de dissimilaridade, apresentou a formação de seis grupos a uma distância aproximada de 0,44 (Figura 2). O primeiro grupo foi formado por quatro acessos; o segundo por um; o terceiro por três cultivares, o quarto e quinto grupo por um e um acesso respectivamente. O sexto grupo foi formado por 16 genótipos. Considerando apenas as cultivares testemunhas, estas ficaram nos grupos III e VI. Destaca-se que os acessos que apresentam a maior distância genética foram entre 4 e 24 (CIGM92.1629 e BRS 179), (0,61), os mais similares foram 7 e 8 (CIGM92.1696 e CIGM92.1698), com uma distância inferior a 0,14.

Tabela 3- Matriz de distâncias genéticas nos acessos de trigos sintéticos e cultivares testemunhas

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
01	0																										
02	0,46	0																									
03	0,40	0,49	0																								
04	0,53	0,49	0,54	0																							
05	0,43	0,51	0,52	0,58	0																						
06	0,47	0,43	0,46	0,39	0,53	0																					
07	0,40	0,51	0,47	0,55	0,31	0,50	0																				
08	0,40	0,48	0,47	0,55	0,34	0,48	0,14	0																			
09	0,45	0,46	0,44	0,51	0,48	0,41	0,39	0,37	0																		
10	0,46	0,46	0,49	0,55	0,49	0,46	0,42	0,39	0,21	0																	
11	0,42	0,53	0,53	0,55	0,42	0,52	0,35	0,32	0,35	0,34	0																
12	0,44	0,45	0,50	0,43	0,50	0,37	0,52	0,50	0,45	0,49	0,43	0															
13	0,44	0,51	0,54	0,58	0,52	0,53	0,49	0,49	0,42	0,44	0,42	0,46	0														
14	0,33	0,52	0,47	0,54	0,42	0,51	0,38	0,35	0,37	0,41	0,34	0,45	0,44	0													
15	0,50	0,49	0,56	0,50	0,60	0,44	0,56	0,54	0,51	0,56	0,52	0,35	0,48	0,51	0												
16	0,45	0,47	0,50	0,58	0,48	0,51	0,43	0,40	0,37	0,31	0,32	0,46	0,37	0,40	0,54	0											
17	0,37	0,53	0,47	0,59	0,34	0,52	0,24	0,24	0,39	0,42	0,32	0,48	0,45	0,35	0,56	0,35	0										
18	0,42	0,49	0,46	0,58	0,41	0,47	0,36	0,33	0,35	0,35	0,33	0,44	0,46	0,37	0,52	0,30	0,26	0									
19	0,48	0,46	0,49	0,49	0,53	0,41	0,47	0,45	0,44	0,44	0,45	0,39	0,49	0,47	0,47	0,38	0,42	0,39	0								
20	0,48	0,50	0,51	0,56	0,53	0,43	0,46	0,44	0,41	0,38	0,36	0,40	0,48	0,46	0,49	0,39	0,44	0,35	0,36	0							
21	0,48	0,55	0,47	0,55	0,47	0,44	0,42	0,42	0,44	0,49	0,47	0,43	0,51	0,49	0,49	0,47	0,40	0,41	0,42	0,41	0						
22	0,36	0,48	0,47	0,57	0,47	0,54	0,47	0,47	0,55	0,58	0,53	0,47	0,53	0,46	0,56	0,53	0,44	0,49	0,49	0,50	0,42	0					
23	0,40	0,50	0,46	0,57	0,45	0,50	0,39	0,39	0,50	0,50	0,42	0,42	0,44	0,42	0,46	0,42	0,33	0,37	0,36	0,34	0,36	0,35	0				
24	0,41	0,50	0,44	0,61	0,49	0,50	0,47	0,47	0,56	0,58	0,53	0,52	0,59	0,52	0,6	0,55	0,44	0,45	0,53	0,46	0,42	0,36	0,41	0			
25	0,45	0,50	0,51	0,60	0,54	0,50	0,46	0,46	0,52	0,53	0,49	0,49	0,52	0,51	0,45	0,49	0,44	0,47	0,41	0,45	0,41	0,49	0,34	0,46	0		
26	0,52	0,56	0,57	0,59	0,51	0,56	0,48	0,50	0,62	0,62	0,54	0,53	0,57	0,58	0,59	0,55	0,48	0,53	0,48	0,52	0,43	0,43	0,42	0,45	0,47	0	

O índice de correlação de cofenética foi de 0,76, o que indica que os dados da matriz de distância representam 76% no dendrograma. Este valor é considerado adequado, já que coeficientes de correlação cofenética maiores que 0,56 são considerados ideais e demonstram boa concordância com os valores de distância genética (VAZ PATTO et al., 2004). O coeficiente de correlação cofenética é a correlação linear de Pearson entre os elementos da matriz de dissimilaridade e os elementos da matriz (CARGNELUTTI FILHO et al., 2010). Portanto, os resultados obtidos mediante a análise do agrupamento sugerem, que há um elevado grau de diversidade entre os 26 acessos de trigos.

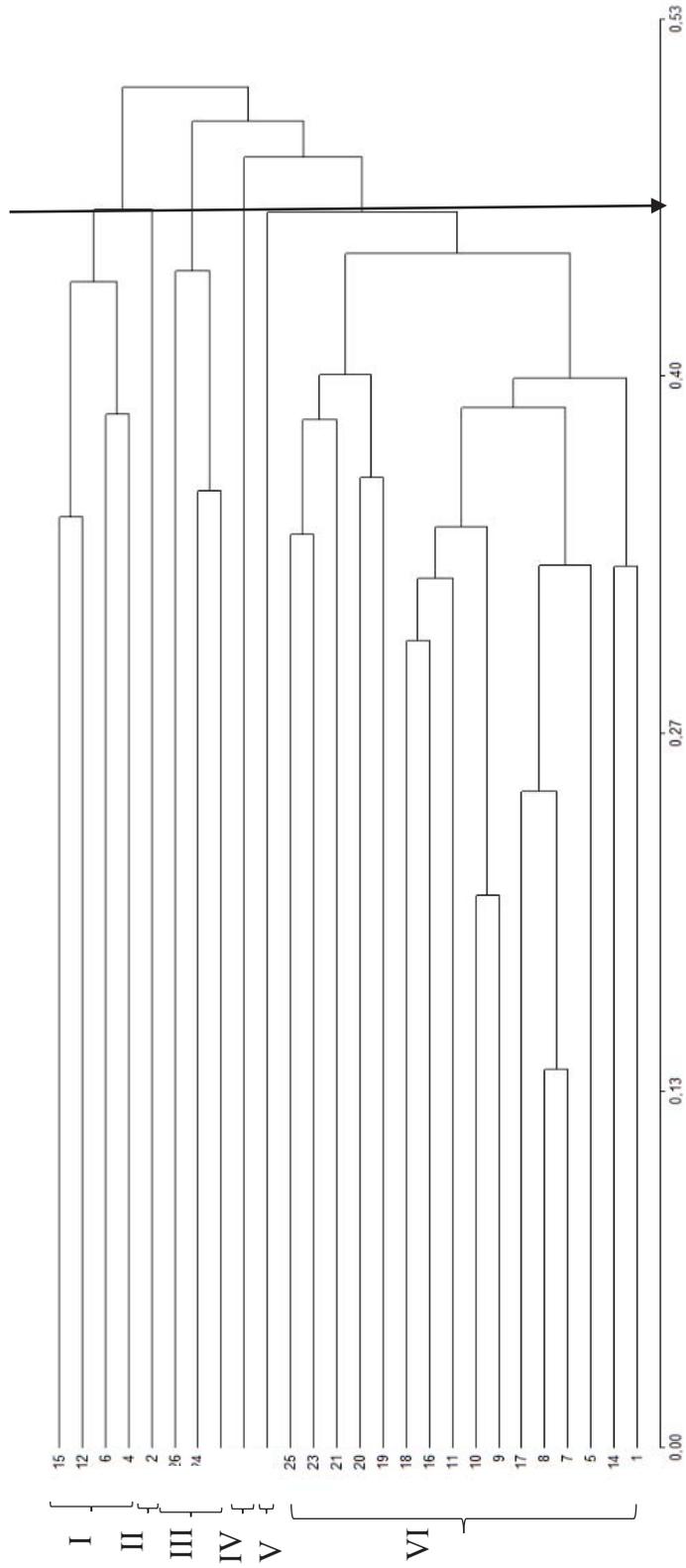


Figura 2 - Dendrograma gerado a partir da matriz (informar qual matriz) de distâncias genéticas.

#### **4 CONCLUSÃO**

Existe variabilidade genética dentro dos acessos de trigo sintéticos e cultivares testemunhas, quanto a diversidade genética, sendo os marcadores microssatélites eficientes quanto à detecção do polimorfismo e da diversidade genética.

Os trigos sintéticos hexaploides são uma forma eficiente de aumentar a variabilidade genética do trigo comum.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos três capítulos descritos, verificou-se que os acessos sintéticos CIGM93.298 e CIGM92.1666, que apresentaram as menores médias para percentual de GB nos anos de 2014 e 2015, respectivamente, também apresentam índice meiótico acima de 90 % nos determinados anos. Desta forma, recomenda-se que estes acessos sejam utilizados em cruzamentos em programas de melhoramento, pois além de serem potenciais fontes de resistência à giberela, encontram-se meioticamente estáveis. Estes dois acessos, são resultados do cruzamento entre Rascon/*Ae. squarrosa*, o que pode indicar que cruzamentos entre estas linhagens sejam mais eficientes na resistência a doença.

Os acessos que apresentaram percentual máximo de GB CIGM92.1849 em 2014 e CIGM93.225 em 2015 são resultados do cruzamento entre Decoy/*Ae. squarrosa*. Isso pode indicar que estes cruzamentos não sejam os melhores, quando se pretende a busca de genes de resistência à giberela. No dendrograma gerado, os acessos CIGM93.298 e CIGM92.1666, ficaram inseridos no mesmo grupo (VI), evidenciando que possuem características em comum.

Com base nos três capítulos abordados verificou-se que os trigos sintéticos apresentam expressiva variabilidade genética, representando germoplasma potencial para exploração de outros estresses bióticos como abióticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, K. RAPD and SSR basead genetic diversity of elite-2 set of synthetic hexaploid wheats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, Ile-Ife, v. 11, n. 4, p. 9-13, 2014.

ALVES, R. H.; DALLA NORA, T.; FRANCO, F. A.; ANTONIO CARLOS TORRES DA COSTA, A. C. T.; STANGARLIN, J. R. Reação de resistência tipo I à Giberela em cultivares de trigo. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v. 39, n. 2, p. 97-101, 2013.

AMORIN, L; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A. Manual de fitopatologia. 4 ed.. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011, 704 p.

ARABBEIGI, M.; ARZANI, A.; SAEIDI, G.; Meiotic Behavior of Wild, Synthetic and Cultivated Wheats. *Cytologia*, Tokyo, v. 75, n. 2, p. 169–175, 2010.

ASSEFA, S. H., FEHRMANN. Resistance to wheat leaf rust in *Aegilops tauschii* Coss. and inheritance of resistance in hexaploid wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 47, n. 2, p. 135–140, 2000.

BAI, G. H; SHANER, G. Variation in *Fusarium graminearum* and cultivar resistance to wheat scab. *Plant Disease*, St. Paul, v. 80, p. 975-979, 1996.

BAI, G. H; SHANER, G.; OHM, H. Inheritance of resistance to *Fusarium graminearum* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 100, n. 1, p. 1-8, 2000.

BAI, G.; SHANER, G. Management and Resistance in Wheat and Barley to fusarium head blight. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 42, p. 135-161, 2004.

BAI, G.; SHANER, G. Scab of wheat: Prospects for control. *Plant Disease*, St. Paul, v. 78, n. 8, p. 760-765, 1994.

BALZARINI, M.; DI RIENZO, J. 2004. Info-Gen: Software para análisis estadístico de datos genéticos. Facultad de Ciencia Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.

BAN, T.; WATANABE, N. The effects of chromosomes 3A and 3B on resistance to Fusarium head blight in tetraploid wheat. *Hereditas*, Lund, v. 135, p. 95-99, 2001.

BECKER, S. R.; BYRNE, P. F.; REID, S. D.; BAUERLE, W. L.; MCKAY, J. K.; HALEY, S. D. Root traits contributing to drought tolerance of synthetic hexaploid wheat in a greenhouse study. *Euphytica*, Wageningen, v. 207, n. 1, p. 213–224, 2016.

BENKO-ISEPPON, A. M. *Estudos moleculares e citogenéticos no Caupi e em espécies relacionadas: Avanços e perspectivas*. EMBRAPA, 2001. (Documentos, 56).

BIBI, A. S.; AJMAL, A.; RASHEED, A.; GUL-KAZI A.; A. MUJEEB-KAZI. 2012. High molecular weight (HMW) glutenin subunit compositions of the Elite-II synthetic hexaploid wheat sub-set (*Triticum turgidum* × *Aegilops tauschii*; 2n=6x=42; AABBDD). *Plant Genetic Resources*, Netherlands, v. 10, n. 3, p. 1-4, 2012.

BIONE, N. C. P.; PAGLIARINI, M. S.; TOLEDO, J. F. F. Meiotic behavior of several Brazilian soybean varieties. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 23, n. 3, p. 623-631, 2000.

BODANESE-ZANETTINI, M. H.; MORAES-FERNANDES, M. I. B.; SALZANO, F. M. Genetic and environmental effects on the frequency of meiotic disturbances in wheat. *Genetic Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 6, p. 43–57, 1983.

BOLDRINI, K. R.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Cell fusion and cytomixis during microsporogenesis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae). *South African Journal of Botany*, Scottsville, v. 72, n. 3, p. 478-481, 2006.

BÖRNER, A.; OGBONNAYA, F. C.; RÖDER, M. S.; RASHEED, A.; PERIYANNAN, S.; LAGUDAH, E. S. *Aegilops tauschii* Introgressions

in Wheat. In: MARTA, M.; CARLA, C.; DOLEŽEL, J. *Alien Introgression in Wheat*. Switzerland, 2015. p. 245-271.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Journal Human Genetic*, Kanazawa-ku, v. 32, n. 3, p. 314-333, 1980.

BOTTALICO, A.; PERRONE, G. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Journal of Plant Pathology*, Ottawa, v. 108, n. 7, p. 611-624, 2002.

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

BRAMMER, S. P. *Mapeamento de genes de resistência parcial à ferrugem da folha em cultivares brasileiras de trigo (Triticum aestivum L. em Thell)*. 2000. 105 p. Tese (Doutorado em Genética) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

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

BUERSTMAYR, H.; BAN, T.; ANDERSON, J. A. QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breeding*, v. 128, n. 1, p.1-26, 2009.

BUSHNELL, W. R.; HAZEN, B. E.; PRITSCH. Histology and physiology of *Fusarium* Head Blight. In: LEORNARD, K. J.; BUSHNELL, W. R. (Ed.). *Fusarium head blight of wheat and barley*. St. Paul: APS Press, 2003. p. 44-83.

CAMARGO, C. E.; CAMARGO, C. R.; FELÍCIO, J. C.; FERREIRA FILHO, A. W. P.; SANTOS, R. R.; DECOT, G. Avaliação das características agronômicas e tecnológicas de genótipos de trigo duro,

trigo comum e triticales. Campinas: Instituto Agronômico, 1993 (Boletim Científico), 29p.

CARDOSO, M. B. *Análises citogenéticas em linhagens sintéticas de *Triticum aestivum* L. em *Thell.* (*T. durum* L. X *Aegilops tauschii* Coss) e seus cruzamentos com cultivares de trigo, visando a introgressão de resistência à ferrugem da folha.* 2007. 100 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

CARGNELUTTI FILHO, A. C.; RIBEIRO, N. D.; BURIN, C. Consistência do padrão de agrupamento de cultivares de feijão conforme medidas de dissimilaridade e métodos de agrupamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 45, n. 3, p. 236-243, 2010.

CARVALHO, R.; SILVA, K. V. P.; OLIVEIRA, I. F.; ALVES, A. A. C. *Citogenética como ferramenta para o melhoramento genético vegetal: análise mitótica e meiótica em espécies de manihot*, 2009 Disponível em: <http://energia.fca.unesp.br/index.php/rat/article/view/1414/733>. Acesso em 18 de fevereiro de 2016.

CASA, R. T.; BOGO, A.; MOREIRA, E. N.; KUHNEM JUNIOR, P. R. Época de aplicação e desempenho de fungicidas no controle da giberela em trigo. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 6, p. 1558-1563, 2007.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; BLUM, M. M. C.; BOGO, A.; SCHEER, O.; ZANATA, T. Danos causados pela infecção de *Gibberella zeae* em trigo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, p. 289-293, 2004.

CHAMPEIL, A.; DORÉ, T.; FOURBET, J. F. Fusarium head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by Fusarium in wheat grains. *Plant Science*, Limerick, v. 166, n. 6, p. 1389-1415, 2004.

CHAO, S. M.; ZHANG, W. J.; DUBCOVSKY, J.; SORRELLS, M. Evaluation of genetic diversity and genome-wide linkage disequilibrium among U.S. wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm

representing different market classes. *Crop Science*, Madison, v.47, n.3, p.1018–1030, 2007.

CHEN, G. Y.; LI, L. H. Detection of genetic diversity in synthetic hexaploid wheats using microsatellite markers. *Agricultural Sciences*, China, v. 6, n. 12, p. 1403–1410, 2007.

CHEN, X. M.; HE, Z. H.; SHI, J. R.; XIA, L.Q.; WARD, R.; ZHOU, Y.; JIANG, G.L. Genetic diversity of high quality winter wheat varieties (lines) based on SSR markers. *Acta Agronomica Sinica*, Beijing, v. 29, n.1, p. 13–19, 2003.

COLMER, T. D., FLOWERS, T. J., MUNNS, R. Use of wild relatives to improve salt tolerance in wheat. *Journal of Experimental Botany*, London, v. 57, n. 5, p. 1059–1078, 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. *Acompanhamento da safra brasileira de Grãos*, v. 5- Safra 2015/16 - Quinto levantamento, Brasília, p. 1-182, fevereiro 2016. Disponível em:

[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16\\_02\\_04\\_11\\_21\\_34\\_boletim\\_graos\\_fevereiro\\_2016\\_ok.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_02_04_11_21_34_boletim_graos_fevereiro_2016_ok.pdf). Acesso em: 14 de fevereiro de 2016.

COUTINHO, L. L.; ROSÁRIO, M. F. *Biotecnologia animal. Estudos Avançados*, São Paulo, v. 24, n. 70, p. 123-147, 2010.

CRUZ, C. D. *Aplicativo de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas*.1990. 188f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.1990.

CRUZ, C. D. *Programa Genes: diversidade genética*. Editora UFV. Viçosa, 2008. 278 p.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética*. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2011. 620 p.

CRUZ, C. D. Genes- a software packag for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 35, n.3, p. 271-276, 2013.

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

CUTHBERT, P.A.; SOMERS, D.J.; THOMAS, J.; CLOUTIER, S.; BRULÉ-BABEL, A. Fine mapping *Fhb1*, a major gene controlling fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 112, n. 8, p. 1465-1472, 2006.

DALLA NORA, T.; FRANCO, F. A.; CANTERI, M. G. Progresso no melhoramento genético de trigo visando a resistência a giberela. In: REIS, E. M. *Coletânea de Trabalhos*. Passo Fundo: Berthier, 2011. p.185-198.

DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; FREITAS-NETO, M.; PEREIRA, M. G. Meiotic behavior of *Carica papaya* and *Vasconcellea monoica*. *Caryologia*, Firenze, v. 63, n. 1, p. 229-236, 2010.

DAS, M. K.; BAI, G.; MUJEEB-KAZI, A.; RAJARAM, S. Genetic diversity among synthetic hexaploid wheat accessions (*Triticum aestivum*) with resistance to several fungal diseases. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 18, n. 3, p. 1-12, 2015.

De MORI, C. Aspectos Econômicos Da Produção e Utilização In: BÓREM, A.; SCHEEREN, P. L. *TRIGO: do plantio à colheita*. 22 eds. Viçosa: UFV, 2015. 260 p.

DEFANI-SOARIZE, M. A.; PAGLIARINI, M. S.; AGUIAR, C. G. Meiotic behavior of inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Nucleus*, Ituverava, v. 39, n. 4 p. 10 - 18, 1996.

DEL PONTE, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PIEROBOM, C. R.; BERGSTROM, G. C. Giberela do trigo-aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29, n. 6, p. 587-605, 2004.

DFIVILA, J. A.; SANCHEZ DE LA HOZ, M. P.; LOARCE, Y.; FERRER, E. The use of random amplified microsatellite polymorphic DNA and coefficients of parentage to determine genetic relationships in barley. *Genome*, Ottawa, v. 41, n. 4, p. 477-486, 1998.

DIEGUES, P.I.; DAMASCENO JUNIOR, P. C.; RIBEIRO, N.V.S.; REIS, M. V. M.; ABOUD, A.C.S., Comportamento meiótico e viabilidade polínica na espécie *Jatropha curcas* L. *Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 1, p. 141-150, 2015.

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

DREISIGACKER, S.; ZHANG, P.; WARBURTON, M. L.; SKOVMAND, B.; HOISINGTON, D.; MELCHINGER, A.E. Genetic Diversity among and within CIMMYT wheat landrace accessions investigated with SSRs and implications for plant genetic resources management. *Crop Science*, Madison, v. 45, n. 2, p. 653-661, 2005.

DUBCOVSKY, J.; DVORAK, J. Genome Plasticity a Key Factor in the Success of Polyploid Wheat Under Domestication. *Science*, New York, v. 316, n. 58, p. 1862-1866, 2007.

DUTECH, C.; ENJALBERT, J.; FOURNIER, E.; FRANÇOIS, D.; BARRES, B.; CARLIER, J.; THARREAU, D.; GIRAUD, T. Challenges of microsatellite isolation in fungi. *Fungal Genetics and Biology*, v. 44, p. 933-949, 2007.

EMBRAPA TRIGO, *Impactos da variabilidade climática extrema na safra de trigo de 2015 no Sul do Brasil*. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355291/1729833/NTTrigo+e+anomalias+climaticas-safra+2015.pdf/158b138c-0917-4169-90ce-3e834858ed24>. Acesso em 03 de fevereiro de 2016.

FALISTOCCO, E.; TOSTI, N.; FALCINELLI, M. Cytomixis in pollen mother cells of diploid *Dactylis*, one of origins of 2n gametes. *Journal of Heredity*, Washington, v. 86, n. 6, p. 448-453, 1995.

FELDMAN, M.; AVRAHAM A. L. Genome Evolution Due to Allopolyploidization in Wheat. *Genetics*, Orlando, v. 192, n. 3, p.763–774, 2012.

FENECH, M. The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 455, n. 2, p. 81–95, 2000.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3 ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p.

GANAL, M. W; RÖDER, M. S. Microsatellite and SNP markers in wheat breeding. In: VARSHNEY, R. K.; TUBEROSA, R. *Genomic assisted crop improvement: genomics applications in crop*. 2 ed. The Netherlands: Springer. 2007. p. 1-24.

GERVAIS, L.; DEDRYVER, F.; MORLAIS, J. Y.; BODUSSEAU V.; NEGRE, S.; BILOUS, M.; GROOS, C.; TROTTET, M. Mapping of quantitative trait loci field resistance to Fusarium Head Blight in a European winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 106, n. 6, p. 961-70, 2003.

GRANATO, L. M. *Comportamento meiótico em híbridos de café arabusta (c. arabica cv bourbon vermelho x c. canephora cv robusta)*. 2010. 91 f. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas. 2010.

GUO-YUE, C.; LI-HUI, L. Detection of genetic diversity in synthetic hexaploid wheats using microsatellite markers. *Agricultural Sciences*, Newcastle, v. 6, n.12, p. 1403-1410, 2007.

HABASH, D. Z.; KEHEL, Z.; NACHIT, M. Genomic approaches for designing durum wheat ready for climate change with a focus on drought. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 60, n.10 p. 2805–2815, 2009.

HANIF, U.; RASHEED, A.; KAZI, A.G.; AFZAL, F.; KHALID, M., MUNIR, M.; MUJEEB-KAZI, A. Analysis of genetic diversity in synthetic wheat assemblage (*T. turgidum* x *Aegilops tauschii*;

$2n=6x=42$ ; aabbdd) for winter wheat breeding. *Cytologia*, Tokyo, v.79, n. 4, p. 485–500, 2014.

HARTEL, K. D.; BERZONSKY, W. A.; KIANIAN, S. F.; ALI, S. 2004. Expression of a *Triticum turgidum* var. *dicoccoides* source of *Fusarium* head blight resistance transferred to synthetic hexaploid wheat. *Plant Breeding*, Berlin, v. 123, n. 4, p. 516-519, 2004.

HEDDLE, J. A. A rapid in vitro test for chromosomal damage. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 187-190, 1973.

HELBAEK, H. Domestication of food plants in the old world. *Science*, New Work, v.130, n. 3372, p. 365–372, 1959.

*Informações técnicas para trigo e triticale – safra 2015 / VIII Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale*: Gilberto Rocca da Cunha e Eduardo Caierão, editores técnicos. – Brasília, D F: Embrapa, 2014. 229 p.

JOSHI, A. K.; KUMARI, M.; SINGH, V. P.; REDDY, C. M.; KUMAR, S.; RANE, J.; CHAND, R. Stay green trait: variation, inheritance and its association with spot blotch resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) *Euphytica*, Dordrecht, v. 153, n. 1, p. 59-71, 2007.

KARAOGLU, H.; LEE, M.Y.; MEYER, W.; Survey of simple sequence repeats in completed fungal genomes. *Molecular Biology and Evolution*, Chicago, v. 22, n. 3, p. 639- 649, 2005.

KAUL, M. L. H.; MURTHY, T. G. K. Mutant genes affecting higher plants meiosis. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin. v.70, p. 449-466, 1985.

KAZI, A. G.; RASHEED, A.; MAHMOOD, T.; MUJEEB-KAZI, A. Molecular and morphological diversity with biotic stress resistances of high 1000-grain weight synthetic hexaploid wheats. *Pakistan Journal of Botany*, Karachi, v. 44, n. 3, p. 1021-1028, 2012.

LANDJEVA, S.; KORZUN, V.; GANEVA, G. Evaluation of genetic diversity among Bulgarian winter wheat (*Triticum aestivum* L.)

varieties during the period 1925–2003 using microsatellites. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v. 53, n. 8, p.1605–1614, 2006.

LARGE, E. C. Growth stage in cereals: illustration of the Feekes scale. *Plant Pathology*, San Diego, v. 3, n.4, p. 128-129, 1954.

LELLEY, T.; STACHEL, M.; GRAUSGRUBER, H.; VOLLMANN, J. Analysis of relationships between *Aegilops tauschii* and the D genome of wheat utilizing microsatellites. *Genome*, Kingdom, v. 43, n. 4, p.661–668, 2000.

LEONOVA, N.; ORLOVSKAYA, O. A; RÖDER, M. A.; NESTEROV, E. B.; BUDASHKINA, 2014. Molecular Diversity of Common Wheat Introgression Lines (*T. aestivum/T. timopheevii*) *Russian Journal of Genetics*, New York, v.18, n. 4, p. 681–690, 2014.

LIMA, M. I. P. M. Determinação da resistência de cultivares de trigo à giberela. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 29. p. 1-19, 2004.

LIMA, M. I. P. M. *Protocolo usado na Embrapa Trigo para produção de peritécios de Gibberella zeae em grãos de trigo*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 16 p. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 218). Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p\\_co218.pdf](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co218.pdf). Acesso: 15 de fevereiro de 2016.

LIMA, M. I. P. M. *Métodos de amostragem e avaliação de giberela usados na Embrapa Trigo*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 17 p. (Embrapa Trigo. Documentos online, 27). Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p\\_do27.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do27.htm). Acesso em: 14 de junho de 2014.

LIMA, M. I. P. M.; FERNANDES, J. M. C.; PICININI, E. C. *Escalonamento da época de semeadura de trigo e uso de cultivares de ciclos reprodutivos diferentes como medida de controle de giberela*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 5 p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado técnico online, 92). Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p\\_co92.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co92.htm). Acesso: 10 de fevereiro de 2016.

LIMA, M. I. P. M. *Giberela ou brusone? orientações para a identificação correta dessas enfermidades em trigo e em cevada*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2004. 56 p. (Embrapa Trigo. Documentos online, 40). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do40.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do40.htm)>. Acesso: 12 de janeiro de 2016.

LIMA, V. L. A.; SEKI, H. A.; RUMJANEK, F. D. Microsatellite polymorphism in wheat from Brazilian cultivars; inter- and intravarietal studies. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 26, n. 3, p.349- 353, 2003.

LIMA, M. I. P. M.; FERNANDES, J. M. C.; SOUSA, C. N. A. de. Metodologia de amostragem e avaliação da resistência à giberela em espigas de trigo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 28, 1999. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. p. 511-513.

LOVE, R. M. 1949. *Estudos Citológicos Preliminares de Trigos Rio-Grandenses. Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio*. Porto Alegre, 1949. (Circular, 74).

LOVE, R. M. Varietal differences in meiotic chromosomes behavior of Brazilian wheats. *Agronomy Journal*, Madison, v. 43, n. 2, p. 72-76, 1951.

MA, S. Q.; ZHANG, H. Q. Genetic diversity analysis on wheat and its related species using microsatellite fluorescence markers. *Journal of Agricultural Science*, Toronto, v. 3, n. 8, p. 28–32, 2008.

MAHMOOD, T.; SIDDIQUA, A.; RASHEED, A.; NAZAR, N. Evaluation of genetic diversity in different Pakistani wheat land races. *Pakistan Journal of Botany*, Karachi, v.43, n. 2, p. 1233-1239, 2011.

MAJER, B. J.; LAKY, B.; KNASMÜLLER, S.; KASSIE, F. Use of the Micronucleus Assay with Exfoliated Epithelial Cells as a Biomarker for Monitoring Individuals at Elevated Risk of Genetic Damage and in Chemoprevention Trials. *Mutation Research*, Amsterdam, v. 489, n. 2-3, p. 147-172, 2001.

McMULLEN, M.; JONES, R.; GALLENBERG, D. Scab of wheat and barley: a re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease*, St. Paul, v. 81. p. 1340-1348. 1997.

McMULLEN, M.; STACK, R. W. *Head blight (scab) of small grains*. [Fargo]: North Dakota State University, 1994. 4 p.

MENDES-BONATO, A. B., PASCOTTO, C. R., PAGLIARINI, M. S. AND VALLE, C. B. Chromosome number and meiotic behavior in *Brachiaria jubata* (Gramineae). *Journal of Genetics*, Bengaluru, v. 85, n. 1, p. 83–87, 2006.

MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; FORLI, F.; VALLE, C. B.; PENTEADO, M. I. O. 2002. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). *Euphytica*, Wageningen, v. 125, n. 3, p.419–425, 2002.

MESTERHÁZY, A. Types and components of resistance to Fusarium head blight of wheat. *Plant Breeding*, Berlin, v. 114, n.5 p. 377-386, 1995.

MILACH, S. C. K. *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998a. 141 p.

MORAES-FERNANDES, M. I. B.; ZANATTA, A. C. A.; PRESTES, A. M; CAETANO, V. R.; BARCELLOS, A. L.; ANGRA, D. C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature culture embryo at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 23, n.4, p.1051- 1062, 2000.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. Citogenética. In: OSÓRIO, E. A. *Trigo no Brasil*. Campinas: Editora, 1982. p. 95-144.

MUJEEB-KAZI, A.; KAZI, A. G.; DUNDAS, I.; RASHEED, A.; OGBONNAYA, F.; CHEN, P.; KISHI, M.; BONNETT, D.; WANG, R. C.; XU, S.; BUX, H.; MAHMOOD, T.; FARRAKH, S. Genetic diversity for wheat improvement as a conduit for food security. *Advances in Agronomy*, San Diego, v.122, p.179–259, 2013.

MUJEEB-KAZI, A.; GUL, A.; FAROOQ, M.; RIZWAN, S.; AHMAD, I. Rebirth of synthetic hexaploids with global implications for wheat improvement. *Australian Journal of Agricultural Research*, Melbourne, v. 59, n. 5, p. 391-398, 2008.

MUJEEB-KAZI, A.; RAJARAM, S. Transferring alien genes from related species and genera for wheat improvement. In: CURTIS, B. C.; RAJARAM, S.; MACPHERSON, G. H. *Bread wheat: improvement and production*. FAO: Rome, 2002. p. 199–215.

MUJEEB-KAZI, A.; ROSAS, V.; ROLDAN, S. Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* in synthetic hexaploid wheats and its potential utilization for wheat improvement. *Genetic Resources and Crop Evolution*, Dordrecht, v.43, n. 2, p. 129–134, 1996.

NAGHAVI, M. R.; MARDI, M. Characterization of genetic variation among accessions of *Aegilops tauschii*. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, Switzerland, v. 18, n. 1, p. 93–96, 2010.

NASCIMENTO JÚNIOR, A. Agentes mutagênicos e a intensidade de variabilidade genética em caracteres adaptativos na cultura de aveia (*Avena sativa* L.) *Agronomia Sul-Rio Grandense*. Porto Alegre, v. 26, n. 2, p. 199-216, 1990.

NAZEM, V.; ARZANI, A. Evaluation of morphological traits diversity in synthetic hexaploid wheat. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, Moorebank, v. 3, n. 7, p. 20-28, 2013.

NEI, M., Analysis of gene diversity in subdivided populations, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, v. 70, n. 12, p. 3321–3323, 1973.

OETTLER G. The fortune of a botanical curiosity triticale: past present and future. *The Journal of Agricultural Science*, Toronto, v.143, n. 5, p. 329–346, 2005.

OGBONNAYA, F. C.; ABDALLA, O.; MUJEEB-KAZI, A.; KAZI, A.G.; XU, S. S.; GOSMAN, N.; LAGUDAH, E. S.; BONNETT, D.; SORRELLS, M. E.; TSUJIMOTO, H. Synthetic hexaploids: harnessing species of the primary gene pool for wheat improvement. *Plant Breeding Reviews*, Westport, v. 37, p. 35–122, 2013.

OLIVEIRA, T. M. S. *PCR em tempo real: métodos e aplicações*. 2010. 111 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade de Aveiro, Aveiro, 2010.

OMIDI, M.; SIAHPOOSH, M. R.; MAMGHANI, R.; MODARRESI, M. The Influence of terminal heat stress on meiosis abnormalities in pollen mother cells of wheat. *Cytologia*, Tokyo, v. 79, n.1, p. 49–58, 2014.

OSÓRIO, E. A. *A cultura do trigo*. São Paulo: Editora Globo. 1992. 218 p.

PANDEY, A. K.; SHARMA, R.; SINGH, Y.; PRAKASH, B. B.; AHLAWAT, S. P. Genetic diversity studies of kherigarh cattle based on microsatellite markers. *Journal of Genetic*, Bengaluru, v. 85, n. 2, p. 117-122, 2006.

PAGLIARINI, M. Q. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 997–1002, 2000.

PANISSON, E.; REIS, E. M.; BOLLER, W. Quantificação de propágulos de *Gibberella zeae* no ar e infecção de anteras em trigo. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 27, n. 5, p. 484-488, 2002.

PARRY, D. W.; JENKINSON, P.; McLEOD, L. Fusarium ear blight (SCAB) in small grain cereals – a review. *Plant Pathology*, San Diego, v. 44, n. 2, p. 207- 238, 1995.

POZZOBON, M. T.; SOUZA, K. R. R.; CARVALHO, S. I. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Meiose e viabilidade polínica em linhagens avançadas de pimenta. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 29, p. 212-216, 2011.

PLAMENOV, D.; SPETSOV, P. Synthetic hexaploid lines are valuable resources for biotic stress resistance in wheat improvement. *Journal of Plant Pathology*, Dordrecht, v. 93, n. 2, p. 251-262, 2011.

PRIOLLI, R. H. G.; MENDES-JUNIOR, C. T.; ARANTES, C. E.; CONTEL, E. P. B. Characterization of Brazilian soybean cultivars using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 25, p.185-193, 2002

PRITSCH, C.; MUEHLBAUER, G. J.; BUSHNELL, W. R.; SOMERS, D. A.; VANCE, C. P. Fungal development and induction of defense response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, Seattle, v. 13, v. 2, p. 159-169, 2000.

QADIR, A.; ILYAS, M.; AKHTAR, W.; AZIZ, E.; RASHEED, A.; MAHMOOD, T. Study of genetic diversity in synthetic hexaploid wheats using Random Amplified Polymorphic DNA. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, Lahore, v. 25, n. 6, p. 1660-1666, 2015.

RAFALSKI, D. J. A.; VOGEL, J. M.; MORGANTE, M.; POWELL, W.; ANDRE, S.; TINGEY, S. V. Generating and using DNA markers in plant. In: BIRREN, B.; LAI, E. *Non-mammalian genomic analysis: a practical guide*. New York: Academic, 1996. p.75-134.

RAMALHO, M. A. P.; FURTINI, I. V. Técnicas biotecnológicas aplicadas ao melhoramento vegetal: alcance e limites. *Revista Ceres*, Lavras, v. 56, n. 4, p. 473- 479. 2009.

RANSOM, J.; McKEE, G.; McMULLEN, M. Impact of information sources on FHB control strategies adopted by spring wheat growers. In: NATIONAL FUSARIUM HEAD BLIGHT FORUM, 2011, St. Louis. Proceedings St. Louis, 2011. p. 143.

RASHEED, A.; T. MAHMOOD, A.; GUL-KAZI, A.; GHAFUOR, A.; MUJEEB-KAZI, A. Allelic variation and composition of HMW-GS in advanced derivatives from D- genome synthetic hexaploid × Bread wheat cross combinations. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, Seoul, v. 15, n.1, p. 1-7, 2012.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*, v. 18, p. 9-17, 2002.

REIF, J. C.; ZHANG, P.; DREISIGACKER, S.; WARBURTON, M. L.; GINKEL, M.; HOISINGTON, D.; BOHN, M.; MELCHINGER, A. E. Wheat genetic diversity trends during domestication and breeding. *Journal Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 110, n. 5, p. 859–864, 2005.

REIS, E. M. *Doenças do trigo III: giberela*. 2. ed. São Paulo: 1988a. 13 p.

REIS, E. M. Controle químico de *Gibberella zeae* em trigo, um problema de deposição de fungicidas em anteras. *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 39-42, 1996.

REIS, E. M. Quantificação de propágulos de *Gibberella zeae* no ar através de armadilhas de esporos. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 13, n. 4, p. 324-327, 1988.

REIS, E. M. Seminário sobre giberela em cereais de inverno. coletânea de trabalhos. Passo Fundo: Berthier, 2011. p. 43-54.

REIS, E. M.; BARUFFI, D.; REMOR, L.; ZANATTA, M. Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source. *Summa phytopathologica*, Jaboticabal, v. 1. 37, n. 1, p. 65-67. 2011.

REIS, E. M.; CASAR, T. *Doenças dos Cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle*. 2. ed. Lages:Graphel,2007. 176 p.

REZAEI, M.; ARZANI, A.; SAYED-TABATABAEI, B. E. 2010 Meiotic behaviour of tetraploid wheats (*Triticum turgidum* L.) and their

synthetic hexaploid wheat derivatives influenced by meiotic restitution and heat stress. *Journal of Genetics*, Bengaluru, v. 89, n. 4, p. 401–407, 2010.

RIVADENEIRA, M. *Variabilidade de Fusarium spp. agente etiológico de giberela em trigo e identificação de fontes de resistência à fusariose da espiga em trigos sintéticos*. 2001. 71f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

ROCHA, E. A. *Caracterização molecular de cultivares de batata (Solanum tuberosum L.) utilizando marcadores moleculares RAPD e SSR*. 2008. 87 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

RÖDER, M. S.; HUANG, X. Q.; M.; GANAL, M. W. 2004. Wheat microsatellites in plant breeding: potential and implications. In: LOERZ, H.; WENZEL, G. *Molecular markers in plant breeding*. New York: Springer, 2004. p. 255-266.

RODER, M. S.; WENDEHAKE, K.; KORZUN, V.; BREDEMEIJER, G.; LABORIE, D.; BERTRAND, L.; ISAAC, P.; RENDELL, S.; JACKSON, J.; COOKE, R. J.; VOSMANN, B.; GANAL, M. W.; Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.106, n.1, p. 67–73, 2002.

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.

RUDD, J. C.; HORSLEY, R. D.; MCKENDRY, A. L.; ELIAS, E. M. Host plant resistance genes for Fusarium head blight: sources, mechanisms, and utility in conventional breeding systems. *Crop Science*, Madison, v. 41, n. 3, p. 620-627, 2001.

SLEPER, D. A.; POEHLMAN, J. M. *Breeding field crops*. 1 ed. Iowa: Ames, 2006. 424 p.

SARDESAI N.; NEMACHECK J. A.; SUBRAMANYAM S.; WILLIAMS C. E. Identification and mapping of *H32*, a new wheat

gene conferring resistance to Hessian fly. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 111, p.1167-1173, 2005.

SCHNEIDER, A., MOLNAR, L. AND LANG, M. Utilisation of *Aegilops* (goat grass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica*, Wageningen, v. 163, n. 1, p.1–19, 2008.

SHARMA, P.; SINDHU, S.; SAINI, M.; VERMA, A.; TYAGI, B.S.; SHARMAM I. Assessing genetic variation for heat tolerance in synthetic wheat lines using phenotypic data and molecular markers. *Australian Journal of Crop Science*, v. 8, n. 4, p. 515–522, 2014.

SILVA, S. A.; CARVALHO, F. I. F.; CAETANO, V. R.; OLIVEIRA, A. C.; COIMBRA, J. L. M.; VASCONCELLOS, N. J. S.; LORENCETTI, C. Genetic basis of stay-green trait in bread wheat. *Journal of New Seeds*, Binghamton, v. 2, n. 1, p. 55-68, 2000.

SCHMALE, A. G.; POLYTECHNIC, V. *Giberela ou fusariose da espiga do trigo*. Disponível em: <<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/FusariumPort.aspx>> Acesso em 01 de março de 2016.

SIMÓN, M. R.; WORLAND, A. J.; CORDO, C. A.; STRUIK, P. C. Chromosomal location of resistance to *Septoria tritici* in seedlings of a synthetic hexaploid wheat, *Triticum spelta* and two cultivars of *Triticum aestivum*, *Euphytica*, Wageningen, v. 109, n. 1, p.151–155, 2001.

SINGH, R. P.; VAN GINKEL, M. Breeding strategies for introgressing diverse scab resistance into adapted wheat. In: DUBIN, H. J.; GILCHRIS, T. L.; REEVES, J.; MCNAB, A. Fusarium head scab: global status and future prospects. CIMMYT, Mexico: 1997. p. 86–92.

SPÓSITO, J. C. V.; CRISPIM, B. A.; MUSSURY, R. M.; A. B.; Genetic instability in plants associated with vehicular traffic and climatic variables. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Malden, v. 120, p. 445–448, 2015.

TENEVA, A. Molecular markers in animal genome analysis. *Biotechnology in Animal Husbandry*, Lund, v. 25, n. 5-6, p. 1267-1284, 2009.

TRETHOWAN, R.; MUJEEB-KAZI, A. Novel germplasm resources for improving environmental stress tolerance of hexaploid wheat. *Crop Science*, Madison, v. 48, n. 4, p.1255–1265, 2008.

TRETHOWAN R. M.; VAN GINKEL M., 2009. Synthetic wheat – an emerging genetic resource. In: CARVER, B. *Wheat - Science and Trade*, USA: Ames, 2000. p. 369-386.

VAN GINKEL, M.; OGBONNAYA, F. Novel genetic diversity from synthetic wheats in breeding cultivars for changing production conditions. *Field Crops Reserch*, Perth, v. 104, n. 3, p. 86–94, 2007.

VAN GINKEL, M.; VAN DER, S.; ZHUPING, M.; RAJARAM, S. Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. *Plant Disease*, St. Paul, v. 80, n. 8, p. 863–967, 1996.

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

VAZ PATTO, M. C.; SATOVIC, Z.; PÊGO, S.; FEVEREIRO, P. Assessing the genetic diversity of portuguese maize germplasm using microsatélite marks. *Euphytica*, Wageningen, v. 137, n. 8, p. 63-72, 2004.

VIANA, E.; DEUNER, C. C. Sobrevivência. In: REIS, E. M. *Seminário sobre giberela em cereais de inverno*. Coletânea de Trabalhos. Passo Fundo: Berthier, 2011. p. 43-54.

WEGULO, S. N. Factors influencing Deoxynivalenol accumulation in small grain cereals. *Toxins*, London, v. 12, n. 11, p.1157-1180, 2012.

WERNSTEDT, F. L. 'World Climatic Data' Climatic Data Press: Lemont, PA. 1972.

YANG, W.; LIU, D.; LI, J.; ZHANG, L. WEI, H.; HU, X.; ZHENG, Y.; HE, Z.; ZOU, Y. Synthetic hexaploid wheat and its utilization for wheat genetic improvement in China. *Journal of Genetics and Genomics*, Chaoyang, v. 36, n. 9, p. 539–546, 2009.

ZAMBOLIM, L.; CASA, R. T.; REIS, E.M. Sistema plantio direto e doenças em plantas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, n.4, p. 585-595. 2000.

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

ZEB, B.; KHAN, I. A.; ALI, S; BACHA, S; MUMTAZ, S.; SWATI, Z. A. 2009. Study on genetic diversity in Pakistani wheat varieties using simple sequence repeat (SSR) markers. *African Journal Biotechnology*, v. 8, n. 17, p. 4016-4019, 2009.

ZHAN, K. H.; WANG, L. H.; CHENG, X. Y.; XU, H. X.; DONG, Z. D. Genetic difference of some germplasm resources of wheat based on SSR markers in Huang-Huai area. *Journal of Agricultural Biotechnology*, Cambridge, v. 14, n. 4, p.578–584, 2006.

ZHANG, Z.; LIN, Z.; XIN, Z. Research progress in BYDV resistance genes derived from wheat and its wild relatives. *Journal of Genetics and Genomics*, Chaoyang, v. 36, n. 9 p. 567-573, 2009.

ZHANG, H.; ZHU, B.; QI, B.; GOU, X.; DONG, Y.; XU, C.; ZHANG, B.; HUANG, W.; LIU, C.; WANG, X.; YANG, C.; ZHOU, H.; KASHKUSH, K.; FELDMAN, M.; JONATHAN F. WENDEL, J. F.; LIU, B. Evolution of the BBAA component of bread wheat during its history at the allohexaploid level. *The Plant Cell*, Waterbury, v. 26, n.7 p. 2761–2776, 2014.

ZHOU, W-C.; KOLB, F. L.; BAI, G. H.; SHANER, G.; DOMIER, L. L. Genetic analysis of scab resistance QTL in wheat with microsatellite and AFLP markers. *Genome*, Kingdom, v. 45, n. 4, p.719–727, 2002.

ZHU, Z.; BONNETT, D.; ELLIS, M.; HE, X.; HESLOT, N.; DREISIGACKER, S.; GAO, C.; SINGH, P. Characterization of Fusarium head blight resistance in a CIMMYT synthetic-derived bread wheat line. *Euphytica*, Wageningen, v. 208, n. 2, p. 367-375, 2015.

ZOHARY, D. The evolution of genomes in *Aegilopsis* and *Triticum*. *Hereditas Supplement*, Ford, v. 2, p. 207-217, 1963.

ZOLDAN, S. M. *Regiões de risco, caracterização da antese em cereais de inverno e Sistema de alerta para a giberela, em trigo*. 152 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade de passo Fundo, Passo Fundo, 2008.