

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

**Caracterização molecular e genética da resistência de trigo à brusone
conferida pela translocação 2NS/2AS**

Camila Vancini

Passo Fundo

2022

Camila Vancini

Caracterização molecular e genética da resistência de trigo à brusone conferida pela translocação 2NS/2AS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de doutora em Agronomia.

Orientadora:

Carolina Cardoso Deuner

Coorientadora:

Gisele Abigail Montan Torres

Passo Fundo

2022

CIP – Catalogação na Publicação

V222c Vancini, Camila

Caracterização molecular e genética da resistência de trigo à brusone conferida pela translocação 2NS/2AS [recurso eletrônico / Camila Vancini. – 2022.

1 MB ; PDF.

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, 2022.

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Cardoso Deuner.

Coorientadora: Profa. Dra. Gisele Abigail Montan Torres.

1. Trigo - Resistência à doenças e pragas - Aspectos genéticos. 2. Brusone - Controle. 3. Fitopatologia. I. Deuner, Carolina Cardoso, orientadora. II. Torres, Gisele Abigail Montan, coorientadora. III. Título.

CDU: 633.11

ATA DE DEFESA DE TESE



A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

“Caracterização molecular e genética da resistência de trigo à brusone conferida pela translocação 2NS/2AS”

Elaborada por

Camila Vancini

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
“Doutora em Agronomia – Área de Produção e Proteção de Plantas”

Aprovada em: 25/11/2022
Pela Comissão Examinadora

Dra Carolina Cardoso Deuner
Presidente da Comissão Examinadora
Orientador

Dr. Luciano Consoli
Examinador externo
Embrapa - Trigo

Dra Gisele Abigail Montan Torres
Coorientadora
Embrapa Trigo

Dr. Alexandre Nienow
Coordenador do PPGAgro
Universidade de Passo Fundo

João Leodato Nunes Maciel
Examinador externo
Embrapa Trigo

Dr. Eraldo Lourenso Zanella
Diretor da Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus amados pais, Isair e Lourdes, por tudo que fizeram e fazem por mim, pelo amor e cuidado incondicional. O orgulho de vocês me faz querer ser uma pessoa melhor a cada dia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade de Passo Fundo pela oportunidade de realizar o Curso de Doutorado em Agronomia.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

À Embrapa Trigo por poder desenvolver meu estudo.

À minha orientadora profa. Dra. Carolina Cardoso Deuner, a qual tenho imensa admiração pelo profissionalismo. Obrigada por ter me recebido tão bem nessa jornada. Por ter tido teu apoio nos momentos que precisei.

À minha coorientadora Dra. Gisele Abigail Montan Torres, obrigada por todos os ensinamentos. Obrigada pelo esforço em me guiar no crescimento profissional. Por ser essa profissional competente que admiro muito.

Aos colaboradores do meu trabalho, Dr. Luciano Consoli, Dr. João Leodato Nunes Maciel e Dr. Ricardo Lima de Castro, grandes exemplos de profissionais. Obrigada pela valiosa e incansável contribuição. Por sempre estarem disponíveis em me auxiliar nos momentos de dúvidas. Sem vocês a realização deste trabalho não seria possível.

À toda equipe dos Laboratórios de Biotecnologia e Fitopatologia, por toda a ajuda e amizade que fiz durante este período. Vocês deram um toque de leveza nessa caminhada, os dias na companhia de vocês foram muito especiais. Em especial agradeço: aos funcionários Tatiane Baseggio Crespi e Jordalan Buffet Muniz, pela grande ajuda nas análises de DNA; a funcionária Claudia Cristina Clebsch e ao colega Marcos Kovaleski pela dedicação e ajuda nas análises de esporulação; a funcionária Ana Maria Bilibio dos

Santos pelos importantes ensinamentos passados para as análises de pontos de infecção na ráquis. E a funcionária Cinara Araújo Cardoso, do laboratório de Fitopatologia da UPF, pela grande ajuda e dedicação nas análises de esporulação que finalizei nesse laboratório.

Aos meus amados pais, Isair e Lourdes, que me ensinaram o amor e a gratidão e me apoiaram em todos os momentos, sem esse apoio não teria chegado até aqui. Ao meu filho Lucas que chegou no final dessa caminhada e me mostrou o maior amor do mundo. Ao meu esposo Pablo, por estar ao meu lado, pela compreensão nos momentos difíceis, pelo apoio e amor no nosso cotidiano. À minha irmã Deise, meu cunhado Leandro e minha sobrinha Estela pelo apoio constante e por sempre acreditarem em mim.

Aos colegas e amigos que fiz durante o curso, pelos bons momentos compartilhados em especial agradeço: à Jéssica Rosset Ferreira, de colega a grande amiga que se tornou durante esse período, seu apoio, seus conhecimentos passados fizeram diferença na minha jornada, compartilhar esses momentos com você foi muito especial; à Mônica Bossardi Coelho, sua amizade e seu apoio constante fizeram diferença na minha trajetória; à Natália Forchezato Webber, por toda ajuda e companheirismo durante o estágio e amizade construída e ao Diógenes Cecchin Silveira pela ajuda e apoio nos momentos precisos durante o caminho.

À toda minha família e amigos que estiveram me apoiando e torcendo por mim.

Por fim agradeço à Deus pelas bênçãos constantes em minha vida.

EPÍGRAFE

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.
Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

Madre Teresa de Calcutá

*A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas
em ter novos olhos”.*

Marcel Proust

RESUMO

VANCINI, Camila. Caracterização molecular e genética da resistência de trigo à brusone conferida pela translocação 2NS/2AS. 96 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2022.

O trigo é o segundo cereal mais produzido no mundo, sendo fundamental na cadeia alimentícia. Cada vez mais busca-se alternativas para o aumento do rendimento do trigo e expansão da área de cultivo. Apesar de amplamente produzido, diversos problemas ocorrem no seu cultivo e um dos principais obstáculos, em diversas regiões produtoras, é a incidência da brusone de trigo, doença fúngica causada pelo patógeno *Magnaporthe oryzae* que leva ao comprometimento da produção de grãos. Sendo a brusone de difícil controle, a resistência genética tem sido apontada como alternativa eficiente na redução dos danos causados por essa doença. A translocação 2NS/2AS tem sido amplamente estudada e associada como principal fonte de resistência à brusone de trigo. Porém, alguns genótipos portadores do fragmento 2NS tem mostrado variações, apresentando fenótipo de suscetibilidade. O presente trabalho teve como objetivos: i) estudar a herança da resistência conferida pela presença da translocação 2NS em linhagens segregantes F₂ de trigo; ii) identificar marcadores moleculares que melhor explicassem o fenótipo de resistência conferida pela translocação 2NS/2AS. Para isso, foram desenvolvidas duas abordagens de experimento. A primeira delas foi baseada no estudo da herança genética da resistência à brusone, com base na 2NS, através da fenotipagem de duas populações segregantes F₂ de trigo derivadas do cruzamento de parentais contrastantes quanto à reação à brusone. A segunda tratou da caracterização molecular de uma coleção de genótipos de trigo, além das duas populações segregantes F₂ mencionadas anteriormente. A fenotipagem das populações F₂ mostrou que a herança da resistência conferida pela 2NS pode segregar na proporção de 3R:1S, sugerindo um gene de efeito dominante controlando a característica de resistência. Esse resultado, porém, apresentou variações em função do background genético dos genótipos de trigo empregados e da característica fenotípica avaliada. Na caracterização molecular, todos os marcadores utilizados foram eficientes em diferenciar genótipos resistentes de suscetíveis à brusone de trigo, e dois marcadores destacaram-se, apresentando diferença significativa entre genótipos classificados como resistente e suscetível para todas as variáveis fenotípicas estudadas. Além disso, a análise de desequilíbrio de ligação dos marcadores empregados apontou a presença de recombinação na região da translocação 2NS/2AS. Os resultados encontrados nesse estudo evidenciaram o potencial da translocação 2NS/2AS na resistência genética à brusone de trigo e apontam que o(s) gene(s) presente(s) nessa translocação, para resistência à brusone, é (são) de caráter dominante. Ainda, os resultados obtidos reforçam a variável de ‘número de pontos de infecção na ráquis’ como uma característica de resistência à brusone de trigo, e indicam a esporulação de *M. oryzae* com potencial de uso para avaliação da resistência de trigo à brusone.

Palavras-chave: 1. *Triticum aestivum*. 2. *Magnaporthe oryzae*. 3. Resistência genética. 4. Herança genética. 5. Marcadores moleculares.

ABSTRACT

VANCINI, Camila. Molecular and genetic characterization of wheat blast resistance conferred by the 2NS/2AS translocation. 96 f. Thesis (Doctor in Agronomy) – University of Passo Fundo, Passo Fundo, 2022.

Wheat is the second most produced cereal around the world, being fundamental in the food chain supply. Increasingly, alternatives are being sought to increase wheat yield and expand its cultivated area. Despite the wide wheat production, several adversities interfere this crop. One of the main problems in several producing regions is the incidence of wheat blast. This fungal disease is caused by the pathogen *Magnaporthe oryzae* and directly impairs grain production. Blast has a difficult control and genetic resistance is an efficient alternative to reduce the damage caused by the disease. The 2NS/2AS translocation has been widely studied and associated as the main source of wheat blast resistance. However, some genotypes carrying the 2NS fragment have shown variations, presenting a susceptibility phenotype. The present work had the following objectives: i) Study the inheritance of resistance conferred by the presence of 2NS translocation in F₂ segregating wheat lines; and ii) Identify molecular markers that best explain the resistance phenotype conferred by the 2NS/2AS translocation. Therefore, two experimental approaches were developed. The first one was based on the genetic inheritance study of blast resistance, based on 2NS. It was carried out through the phenotyping of two F₂ wheat segregating populations derived from crosses of parents contrasting for reaction to blast. The second was the molecular characterization of a wheat collection genotypes and characterization of two F₂ segregating populations previously described. The F₂ populations phenotyping showed that the inheritance of resistance conferred by 2NS can segregate in the 3R:1S ratio, suggesting a dominant effect gene controlling the resistance trait. However, this result may vary depending on the genetic background of the genotypes studied and the trait evaluated. The molecular characterization showed that all the markers used were efficient in differentiating resistant genotypes from those susceptible to wheat blast. Two markers stood out, displaying a significant difference between genotypes classified as resistant and susceptible for all phenotypic traits studied. Furthermore, the linkage disequilibrium analysis of the used markers indicated the presence of recombination in the 2NS/2AS translocation region. The results found in this study showed the potential of the 2NS/2AS translocation in genetic resistance to wheat blast and indicate that the resistance gene(s) to blast present in this translocation are dominant. Additionally, the results reinforce the variable “number of infection points in the rachis” as a trait of resistance to wheat blast and also indicate that *M. oryzae* sporulation has the potential to be used to evaluate wheat blast resistance.

Key words: 1. *Triticum aestivum*. 2. *Magnaporthe oryzae*.. 3. Genetic resistance. 4. Genetic inheritance. 5. Molecular markers

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	<i>Trigo</i>	16
2.2	<i>Brusone de trigo</i>	18
2.3	<i>Magnaporthe oryzae</i>	19
2.4	<i>Medidas de controle da brusone de trigo</i>	21
2.5	<i>Resistência genética</i>	24
2.6	<i>Genes e regiões genômicas associados à resistência à brusone de trigo</i>	27
2.7	<i>Translocação cromossômica (2NS/2AS)</i>	30
3	CAPÍTULO I - Estudo da herança da resistência à brusone conferida pela presença da translocação 2NS em linhagens segregantes F₂ de trigo	33
3.1	<i>Resumo</i>	33
3.2	<i>Introdução</i>	33
3.3	<i>Material e Métodos</i>	36
3.3.1	Material Vegetal	36
3.3.2	Obtenção das plantas de trigo	37
3.3.3	Isolados de <i>Magnaporthe oryzae</i> e condições de cultivo	38
3.3.4	Inoculação	38
3.3.5	Avaliação de sintomas	39
3.3.6	Análises estatísticas	40
3.4	<i>Resultados e Discussão</i>	42
4	CAPÍTULO II - Caracterização molecular de genótipos de trigo com marcadores presentes na região da translocação 2NS/2AS	48
4.1	<i>Resumo</i>	48
4.2	<i>Introdução</i>	48
4.3	<i>Material e Métodos</i>	51
4.3.1	Material Vegetal	51
4.3.2	Obtenção das plantas e extração de DNA	52
4.3.3	Análises moleculares com marcadores de DNA	53
4.3.4	Análises estatísticas	55
4.4	<i>Resultados e Discussão</i>	57
4.4.1	Fenotipagem da ‘Coleção de genótipos de trigo Embrapa’	57

4.4.2 Genotipagem através dos marcadores moleculares	59
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
6 CONCLUSÃO GERAL	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS	87

1 INTRODUÇÃO

Doenças de plantas causam perdas significativas no rendimento das culturas levando a preocupações sobre o suprimento global de alimentos. A brusone de trigo é uma doença causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*, o qual foi classificado como fungo fitopatogênico de maior importância científica e econômica. Esse fungo pode infectar sementes, folhas, colmos e espigas. A infecção da espiga é considerada a forma mais destrutiva da doença, pois reduz a qualidade e o rendimento de grãos de trigo, resultando em perdas econômicas importantes nas regiões com condições ambientais favoráveis à sua ocorrência. O primeiro relato mundial da brusone de trigo foi no Brasil no ano de 1985, no estado do Paraná. Desde então, a brusone estava restrita aos países da América do Sul como Bolívia, Paraguai e Argentina. Foi somente em 2016 que a doença foi registrada em Bangladesh. Já no ano seguinte, notícias locais apontavam a presença da brusone de trigo na Índia a partir da fronteira com Bangladesh. E mais recentemente a brusone de trigo foi registrada em mais um continente, a África, com a ocorrência em Zâmbia.

O trigo é o segundo cereal mais cultivado no mundo, ficando atrás somente do milho em termos de produção. Este cereal é a principal fonte de alimento de muitos países em desenvolvimento. A expansão da ocorrência da brusone na cultura é uma preocupação e alerta para áreas tropicais e subtropicais do mundo, podendo comprometer a economia dos países produtores de trigo, sendo a União Europeia, a China e a Índia os maiores produtores dessa cultura.

O controle químico da brusone, através dos produtos disponíveis no mercado, não tem se mostrado uma alternativa eficiente quando as condições climáticas são favoráveis à ocorrência da doença. Além disso, a situação é agravada pela alta variabilidade genética de *M. oryzae* associada a uma elevada frequência de cultivares de trigos suscetíveis ao patógeno. Desta maneira, buscam-se alternativas por meio de genótipos resistentes à

doença. Genes de resistência à brusone e a elucidação dos mecanismos envolvidos têm sido foco nos programas de melhoramento. A resistência genética do hospedeiro é a abordagem de menor custo, eficaz e não incorre em danos ao meio ambiente para o controle de doenças nas culturas.

Com os avanços nas pesquisas de resistência genética já foram identificados, até o momento (2022), dez genes envolvidos na resistência em trigo ao fungo *M. oryzae*. Ainda, foi evidenciada uma correlação positiva entre a presença da translocação cromossômica 2NS/2AS em genótipos de trigo com a resistência à brusone, essa translocação tem sido relatada como a principal fonte de resistência à brusone de trigo. Porém, alguns genótipos de trigo portadores da 2NS tem apresentado fenótipo de suscetibilidade à doença. Esse fato pode ser atrelado ao *background* genético. Além disso, o marcador VENTRIUP/LN2, desenvolvido por Helguera et al. (2003), é o principal marcador usado para a identificação da translocação 2NS/2AS. Eventos de recombinação na região da translocação podem explicar essa variação nas respostas fenotípicas, ou seja, o marcador VENTRIUP/LN2 pode não ser o melhor para explicar a resistência à brusone em genótipos de trigo associada a 2NS.

Deste modo, este trabalho teve como objetivo geral a caracterização de genótipos de trigo através da fenotipagem e a caracterização molecular através de marcadores moleculares localizados na região da translocação 2NS/2AS.

Os objetivos específicos, que foram desenvolvidos nos dois capítulos deste trabalho, são:

- Estudar a herança da resistência conferida pela presença da translocação 2NS em linhagens segregantes F₂ de trigo;

- Identificar marcadores moleculares que melhor expliquem o fenótipo de resistência conferido pela translocação 2NS/2AS.

Para isso, foram usados diversos genótipos de trigo: 151 linhagens desenvolvidas pelo CIMMYT (Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo), que têm sido submetidas a vários procedimentos de avaliação, visando a identificação de linhagens mais resistentes à brusone; dez linhagens que fazem parte da coleção da Embrapa Trigo e 29 cultivares de diferentes países, que já vêm sendo caracterizadas quanto à reação à brusone. E ainda, duas populações segregantes derivadas de cruzamentos biparentais. Para os cruzamentos foram usados os genótipos: Linhagem 514, oriunda do CIMMYT e a cultivar Santa Fé, originária dos Estados Unidos, ambas resistentes à brusone de trigo portadoras da translocação 2NS/2AS, empregadas como genitor feminino com a cultivar BRS 404, moderadamente suscetível à brusone, usada como genitor masculino.

A genotipagem desse trabalho foi realizada por marcadores moleculares descritos na literatura e marcadores oriundos do trabalho de Ferreira et al. (2021) que identificou QTL associados à resistência em trigo à brusone.

Este documento é composto, além desta introdução, por uma breve revisão de literatura, onde são abordados aspectos relacionados à brusone do trigo e a resistência genética. Em seguida, são apresentados, em dois capítulos, as atividades de pesquisa desenvolvidas. No Capítulo I, é apresentada a caracterização fenotípica de reação à brusone de trigo de duas populações segregantes F_2 para estudo da herança genética de resistência à brusone com base na 2NS. No capítulo II, é apresentada a genotipagem de uma coleção de genótipos de trigo fenotipada por Pizolotto et al. (2017) e Kovaleski (2020) e das duas populações segregantes F_2 apresentadas no Capítulo I. E ao final, são apresentadas as Considerações Finais e a Conclusão Geral da tese.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Trigo

A espécie de trigo hexaploide (*Triticum aestivum* L.) foi originada a partir do cruzamento de uma espécie tetraploide (*Triticum turgidum*), que carrega os genomas AABB, com uma espécie diploide (*Aegilops tauschii*) (DD). A complexidade do genoma do trigo permite uma ampla adaptação, sendo cultivado em diversos ambientes. O trigo é uma das espécies mais cultivadas no mundo hoje e está presente na história da humanidade há cerca de 10 mil anos (ACEVEDO; SILVA; SILVA, 2002; DONG et al., 2012; USDA, 2021).

O trigo é o segundo cereal mais produzido no mundo, ficando atrás somente do milho (USDA, 2021). Entre os países com maior produção de trigo estão os da União Europeia, seguidos pela China, Índia, Rússia e Estados Unidos (CONAB, 2020).

O Brasil ocupa a 15ª posição no ranking de produção global do trigo (SOARES, 2020). No país, a produção desse cereal ocorre nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, em sistema de sequeiro ou irrigado. Porém, os estados da região sul como Rio Grande do Sul e o Paraná estão na liderança, sendo responsáveis por mais de 90% da produção nacional (CONAB, 2020).

O Brasil está entre os maiores consumidores de trigo no mundo, ocupando a 10ª posição no mercado consumidor, o que representa 1,6% do consumo mundial (USDA, 2020). A produção nacional de trigo representou entre os anos 2009 e 2019, uma área média de cultivo de 2,2 milhões de hectares de trigo por safra, com produção média de 5,4 milhões de toneladas do grão. Estes valores representam metade da média do consumo anual no mesmo período, o que corresponde a cerca de 11 milhões de toneladas (CONAB, 2019b).

Cada vez mais busca-se alternativas para o aumento do rendimento do trigo e expansão da área de cultivo. Regiões de zona tropical, especialmente no bioma Cerrado, tem grande potencial para expansão da cultura, pois seu clima quente e seco proporciona vantagens com relação ao alto padrão de qualidade do produto final. Além disso, a colheita nessa região coincide com a entressafra na região Sul, o que possibilita maior preço pago aos tricultores (CONDÉ et al., 2013).

O cultivo do trigo na região do Cerrado ocorre a partir da segunda metade de janeiro até final de maio (PIRES; VARGAS; CUNHA, 2011), podendo ser em propriedades com sistemas de irrigação ou não. Para o aproveitamento dos períodos de chuvas e a temperatura média alta do final do verão e outono, a semeadura deve ocorrer precocemente. Já para diminuir perdas com a ocorrência de doenças e pragas, a semeadura ocorreria mais tarde, com o desenvolvimento da cultura durante os períodos mais frios do ano. Neste último caso, apesar de expor a cultura a um intenso déficit hídrico, a incidência de doenças é menor (GOULART et al., 2007).

Condições climáticas como altas temperaturas e precipitações pluviais frequentes encontradas em quase todo o território brasileiro, favorecem o desenvolvimento de doenças, principalmente aquelas causadas por fungos (PICININI; FERNANDES, 1999). Doenças fúngicas são um grande desafio para a agricultura, comprometendo a economia, além de ser uma ameaça à segurança alimentar. Entre as principais doenças que atacam a cultura do trigo no Brasil estão: o oídio, causada por *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, sendo entre as doenças foliares a que aparece primeiro em cada safra de trigo (MACIEL et al., 2020); a ferrugem da folha causada pelo fungo *Puccinia triticina* Eriks; a mancha amarela, doença causada por *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs. (anamorfo: *Drechslera tritici-repentis* Shoem.); a giberela, causada pelo fungo *Gibberella zeae* (Schwein.) Petch. e a principal forma assexuada do patógeno é *Fusarium graminearum*; as manchas foliares mais comuns causadas pelos patógenos *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* e a brusone de trigo causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* (MACIEL et al., 2020).

A brusone de trigo é a principal limitação da produção de trigo na região do Brasil Central, causando danos de até 100% em cultivares suscetíveis (KOHLI et al., 2011). Estratégias de controle da brusone em trigo tem sido foco de pesquisas onde essa doença ocorre, como países do continente Americano, da Ásia e África (IGARASHI et al., 1986; BHATTACHARYA; PAL, 2017; TEMBO et al., 2020).

2.2 Brusone de trigo

A doença denominada brusone, palavra que tem origem italiana (*brusar, bruciare*) que em tradução literal para o português significa queimar, foi relatada pela primeira vez na cultura do arroz, no ano de 1637 na China (COUCH et al., 2002). Até os dias de hoje, é a doença que causa maiores danos à cultura do arroz, sendo considerada uma ameaça à segurança alimentar no mundo, pois ocorre em quase todos os continentes e pode comprometer até 100% da produção em condições ambientais favoráveis ao patógeno e em cultivares suscetíveis (SCHEUERMANN; EBERHARDT, 2011; SHARMA et al., 2012). Na cultura do trigo, a brusone é uma doença mais recente. Seu primeiro relato mundial foi no Brasil em 1985 no estado do Paraná, nos municípios de Engenheiro Beltrão, Londrina, Primeiro de Maio, Rancho Alegre, São Pedro do Ivaí e Sertanópolis, no Paraná, assim como no noroeste de São Paulo e Sul do Mato Grosso do Sul (IGARASHI et al., 1986). Em 1987, a doença alcançou proporções epidêmicas, quando lavouras de setenta municípios tiveram prejuízos entre 10 a 12% da produção (IGARASHI et al., 1986; IGARASHI, 1988). No ano de 1988, fatores como utilização de sementes infectadas pelo patógeno, presença de inóculo da safra anterior em restos culturais, cultivares de trigo com alta suscetibilidade à doença e condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento, fez a brusone ser detectada precocemente aos dez dias após o florescimento. Naquele ano, a brusone teve uma ocorrência elevada em lavouras de trigo no Vale do Paranapanema, em Ivaí e em Tibagi, PR, situadas no estado do Paraná, especialmente em cultivares precoces, semeadas até a primeira quinzena de abril, sendo que o período indicado para semeadura na região se estende de março a julho (IGARASHI, 1988).

Danos na qualidade e no rendimento de grãos em decorrência da brusone de trigo, ocasionaram prejuízos econômicos entre os anos de 1988 e 1992 no Mato Grosso do Sul. Outros estados como São Paulo (IGARASHI, 1990), Rio Grande do Sul (PICININI; FERNANDES, 1990), Mato Grosso do Sul (GOULART et al., 1990), Goiás (PRABHU et al., 1992) e cerrado do Brasil Central (ANJOS et al., 1996) registraram a ocorrência da brusone de trigo. Além do Brasil, a brusone de trigo foi encontrada no Paraguai, Bolívia e Argentina (KOHLI et al., 2011).

Em 2016, houve a ocorrência da doença em Bangladesh, onde cerca de 15% da área de produção de trigo no país foi atingida (MALAKER et al., 2016). No ano seguinte, 2017, a doença foi relatada em campos da Índia a partir da fronteira com Bangladesh (BHATTACHARYA; PAL, 2017). O trigo é uma das principais culturas de países asiáticos. A Ásia produz anualmente 135 milhões de toneladas de trigo, sendo que a Índia é o segundo maior produtor de trigo do mundo, com 90 milhões de toneladas. O risco de expansão da brusone nesses países pode comprometer a produção de trigo, levando a consequências econômicas e sociais, visto a importância alimentar dessa cultura nesses países. E mais recentemente a brusone de trigo alcançou mais um continente, em Zâmbia na África, devido a estação chuvosa de 2017 a 2018 o que favoreceu a ocorrência da doença (TEMBO et al., 2020).

2.3 *Magnaporthe oryzae*

O agente causal da brusone é o fungo *Magnaporthe oryzae* B. C. Couch (anamorfo: *Pyricularia oryzae* Cavara), que pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Magnaporthales e família Magnaporthaceae (COUCH; KOHN, 2002; MACIEL, 2011). *M. oryzae* é classificado como um fungo hemibiotrófico (KANKANALA et al., 2007) pois para o início do seu desenvolvimento, precisa do hospedeiro vivo. Após a deposição e a adesão do esporo na superfície da planta, a infecção inicial é biotrófica. A germinação do esporo ocorre em condições de alta umidade, e após duas horas, o tubo germinativo está formado (TALBOT, 2003). Após a formação do tubo germinativo, é formado o apressório, que é uma célula especializada que permite a

penetração do fungo no tecido da planta, gerando uma pressão de turgor de aproximadamente 8 MPa (RIBOT et al., 2008). Do apressório, forma-se um “peg” de penetração que tem por função romper a superfície da folha, expandindo-se e formando a hifa primária que segue em direção aos plasmodesmas na parede celular até as células adjacentes, formando hifas secundárias. A partir de então, inicia-se a fase necrotrófica do fungo, durante a qual as hifas secundárias matam as células hospedeiras. Após a colonização dos tecidos, novos conídios serão formados, completando, assim, o ciclo de vida do patógeno.

O fungo *M. oryzae* foi classificado internacionalmente como o fungo fitopatogênico com maior importância científica e econômica (DEAN et al., 2012). Devido à sua complexidade, o fungo *M. oryzae* forma diferentes subgrupos em função dos tipos de reprodução (*mating types*), das características filogenéticas e da espécie vegetal hospedeira (TOSA; CHUMA, 2014). Esse fungo tem capacidade de infectar mais de 100 espécies de gramíneas (CHOI et al., 2013), sendo classificado em patótipos. Os especializados em infectar a cultura do arroz (*Oryza sativa*) são designados como patótipo *Oryza*, usualmente usando-se a sigla MoO (*Magnaporthe oryzae Oryza*). Para as demais espécies vegetais hospedeiras segue-se a denominação: patótipo: *Triticum* (MoT) para o trigo; patótipo *Avena* (MoA) para aveia; patótipo *Lolium* (MoL) para o azevém; patótipo *Setaria* (MoS) para o milheto; patótipo *Eleusine* (MoE) para o capim-pé-de-galinha, entre outros (TOSA; CHUMA, 2014).

Maior intensidade da doença ocorre com temperaturas acima de 20°C e molhamento foliar por mais de 10 horas (CARDOSO et al., 2008). O fungo *M. oryzae* pode infectar desde o limbo foliar formando lesões elípticas de bordos cloróticos e centros acinzentados, como também colmos, bainhas, espigas e ainda sementes que são a principal fonte primária de inóculo da doença (SILVA et al., 2009; LAU et al., 2011).

O sintoma mais característico da brusone de trigo é o branqueamento de espigas, a partir do ponto de infecção do patógeno. Na ráquis, observa-se o ponto de penetração do patógeno, caracterizado por uma lesão de coloração preta brilhante de forma irregular. Nesse ponto, ocorre o estrangulamento da ráquis, o qual impede o transporte de nutrientes

para a parte superior da espiga levando-a à descoloração e conseqüente morte (LAU et al., 2011). A infecção da espiga é a forma mais prejudicial da doença, e os danos na produção de grãos de trigo vão depender do momento da infecção e do local de penetração do fungo, que pode atingir a espiga por completo ou parcialmente (PRESTES et al., 2007; TORRES et al., 2015).

A brusone de trigo causa reduções no rendimento e na qualidade de grãos. Quando a doença ocorre precocemente, leva a má formação dos grãos, diminuindo seu tamanho e peso específico. Características que fazem com que esses grãos sejam eliminados nos processos de colheita e beneficiamento. Perdas de rendimento podem variar entre 40 e 100% da produção (GOULART; PAIVA, 2000; TORRES et al., 2009). Estudos têm mostrado que a redução da produtividade e da qualidade das sementes de trigo está associada à presença de inóculo inicial no campo (GOMES et al., 2017).

2.4 Medidas de controle da brusone de trigo

A brusone é considerada uma das principais limitações à expansão e produção da triticultura no Brasil Central. Perdas na produtividade podem alcançar 100% (GOULART et al., 2007). A busca por medidas de controle para a brusone de trigo tem sido amplamente estudada. O patógeno pode ser encontrado sobrevivendo na forma de micélio dormente no interior de sementes ou na superfície das mesmas, sendo esta uma fonte de inóculo primária, o que permite que o patógeno avance para novas áreas (FERNANDES et al., 2017).

Em estudo de Reges et al. (2016) foi observado que *M. oryzae* estava associado a gramíneas hospedeiras invasoras de áreas de trigo, como: aveia (*Avena sativa*); capim-carrapicho (*Cenchrus echinatus*); Tifton 85 (*Cynodon* spp.); capim-amargoso (*Digitaria insularis*); capim-arroz (*Echinochloa crusgalli*); capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*); capim-colonião (*Panicum maximum*); capim-favorito (*Rhynchelytrum repens*); capim-sudão (*Sorghum sudanense*) e capim-braquiária (*Urochloa brizantha*). Essas plantas são hospedeiras secundárias, servindo como importantes fontes para a sobrevivência do fungo. Através de hospedeiros secundários o patógeno pode sobreviver na entressafra

quando o hospedeiro principal está ausente. Além disso, o patógeno abriga-se nos restos culturais de plantas cultivadas permitindo a posterior infecção das plantas de trigo ou ainda outras espécies da família Poaceae (CHOI et al., 2013).

O manejo cultural pode ser uma forma de prevenir a brusone de trigo. A época de semeadura mais tardia, em Minas Gerais, reduziu significativamente a incidência da doença (COELHO et al., 2016). Espécies de gramíneas hospedeiras suscetíveis à brusone em áreas próximas as de cultivo de trigo, anulam o efeito da rotação de culturas, pois representam uma fonte contínua de inóculo (CASTROAGUDÍN et al., 2015; CERESINI et al., 2018).

O controle químico é feito através do uso de fungicidas. Segundo Agrofite (AGROFIT, 2021) são registrados 57 produtos para o controle de *M. oryzae* em trigo no Brasil. Porém, a alta agressividade do patógeno e condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento tem levado à ineficiência dos fungicidas presentes no mercado. A eficiência de controle da doença chega até 50%. Além disso, já foi relatado que esse fungo apresenta resistência a fungicidas do grupo químico das estrobilurinas (CASTROAGUDÍN et al., 2015).

Há variações da eficiência do controle de acordo com a parte vegetal atacada, em estudo de Rocha et al. (2014) o controle do patógeno nas folhas foi eficiente, enquanto nas espigas não. Fatores como a alta variabilidade genética do patógeno, a suscetibilidade dos genótipos de trigo à brusone, condições ambientais propícias para o estabelecimento da doença, e cobertura desuniforme das espigas pelo produto, levam à baixa eficiência dos fungicidas.

Visto algumas limitações dos métodos de controle e recorrentes perdas e grande destruição causada pela doença, muitos estudos foram realizados para encontrar fontes de resistência, que tem sido apontada como prioritária em programas de melhoramento de trigo destinados a gerar cultivares para o cultivo em locais com histórico de ocorrência da doença. O uso de genótipos resistentes pode ser uma medida de controle eficiente além de ser ambientalmente correta.

A busca por genótipos resistentes pode ser realizada tanto a campo, onde há ocorrência natural da doença ou artificialmente, em casa de vegetação através da inoculação do patógeno e posterior análise do comportamento e das características de resistência ou não dos materiais vegetais.

Até os anos 2000, grande parte das cultivares de trigo eram consideradas suscetíveis à brusone. A partir de então, estudos começaram a identificar genótipos de trigo com características de resistência. Em trabalho de Urashima et al. (2004), avaliou-se à reação de *M. oryzae* em 20 cultivares de trigo oficialmente recomendadas no Brasil, dentre elas identificou-se que a cultivar de trigo BR 18 Terena apresentava um amplo espectro de resistência a fungo. Posteriormente, Prestes et al. (2007), avaliaram um total de 56 cultivares, destas, 32% mostraram níveis de resistência moderada, inclusive mostraram severidade média de infecção na espiga menores que a da cultivar BR 18 Terena, anteriormente identificada como moderadamente resistente. A reação de resistência ao fungo pode também variar, além do genótipo, com o estágio de maturação da planta, Cruz et al. (2010), verificaram que os genótipos BRS 229, BRS 179, CNT 8, BRS 120 e BRS Buriti mostraram resistência em planta jovem e os genótipos CNT 8, NE 20156-B, PF 844001, PF 964009 e PF 804002 mostraram resistência em planta adulta.

Além do Brasil, países que tem ocorrência da brusone em trigo têm focado em estudos a fim de encontrar cultivares de trigos resistente ao fungo *M. oryzae*. Um estudo realizado no Paraguai verificou a resistência em 36 genótipos de trigo contra três isolados de *M. oryzae*. Dos genótipos estudados, apenas uma cultivar (Canindé) mostrou resistência aos três isolados analisados, e uma cultivar (CD 116) foi resistente a um isolado e moderadamente resistente a outro. Os demais genótipos foram suscetíveis a todos os isolados estudados, demonstrando a suscetibilidade dos genótipos utilizados no país e a necessidade de ampliar a base de resistência em programas de melhoramento (CHAVEZ et al., 2018). Na Bolívia, em estudo de Baldelomar, Cardenas e Quispe (2015), de 35 genótipos estudados para resistência à *M. oryzae*, seis foram considerados como moderadamente resistentes, com severidade entre 11 a 40% (Motacú com 40%, San Pablo com 30% Urubo, USDA 14, Sausal e AN-120 com 15%) e dois como resistentes com severidade de 1 a 10%. (USDA 8 e CMT-50 com valores de 10% de incidência na espiga).

No entanto, até hoje a maioria das cultivares de trigo são relatadas como suscetíveis ao *M. oryzae*, (CRUZ; VALENT, 2017) e aquelas que são parcialmente tolerantes estão restritas a regiões específicas (DEVANNA; SHARMA, 2018). Deste modo, buscar entender a relação de resistência da planta contra o ataque de patógenos e quais genes podem estar envolvidos nesse processo é um importante passo para se obter materiais resistentes a doenças.

2.5 Resistência genética

A resistência genética tem sido apontada como a mais eficiente abordagem para o controle de doenças como a brusone, devido ao baixo custo na produção, com a diminuição do uso de defensivos agrícolas, o que também diminui danos ao meio ambiente. Métodos de avaliação de cultivares resistentes através de marcadores moleculares que identificam genes de resistência na planta, podem auxiliar os programas de melhoramento acelerando o processo de seleção.

A planta possui seu próprio mecanismo de resistência contra doenças, que consiste na sua capacidade em evitar, atrasar ou restringir o desenvolvimento de fitopatógenos (PASCHOLATI, 2011). Um deles é o constitutivo, que compreende estruturas e substâncias que a planta possui previamente, independente do contato com o patógeno, que podem ser: cutícula/cera; tricomas; fenóis; alcaloides; entre outros. Os mecanismos indutivos, por sua vez, são mecanismos bioquímicos ativados após o contato do patógeno com a planta (PASCHOLATI, 2011).

A defesa da planta ocorre em etapas. A primeira delas é denominada de imunidade desencadeada por PAMP (PTI, *PAMP-triggered immunity*) (JONES; DANGL, 2006). PAMP são padrões moleculares associados a patógenos (do inglês, *Pathogen-Associated Molecular Patterns*). Estes padrões moleculares podem ser componentes da parede celular do patógeno como: glucanas; quitosanas; peptidoglicanos; flagelos; entre outros (POSTEL; KEMMERLING, 2009). Esses padrões moleculares são reconhecidos por receptores da planta, denominados de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, do inglês *Pattern Recognition Receptors*). A partir do reconhecimento dos PAMPs,

desencadeia-se uma série de reações transcricionais que podem envolver espécies reativas de oxigênio, síntese de compostos tóxicos como fitoalexinas e até mesmo síntese de compostos que vão desencadear mudanças estruturais na parede celular, impedindo que o patógeno se desenvolva (COOK et al., 2015).

A segunda etapa de defesa consiste no reconhecimento dos fatores de virulência do patógeno e é conhecida como imunidade induzida por efetores (ETI, *Effector-Triggered Immunity*) (JONES; DANGL, 2006). Esses efetores, denominados de fatores de avirulência (AVR), são proteínas secretadas por patógenos que irão induzir a suscetibilidade do hospedeiro, muitas vezes interferindo nos componentes da sinalização de ETI. As plantas possuem uma família gênica de receptores que codificam proteínas que interceptam os efetores dos patógenos, cujo crescimento é impedido. Essas proteínas são caracterizadas por um sítio de ligação de nucleotídeo (NBS, *Nucleotide-Binding Site*) na extremidade N-terminal e uma região de repetição rica em leucina (LRR, *Leucine-Rich Repeat*) na extremidade C terminal (ELLIS et al., 2000). O sítio NBS liga-se ao ATP e ativa a transdução de sinais, enquanto a região LRR está envolvida na interação proteína-proteína, responsável pelo reconhecimento de efetores do patógeno (WANG et al., 2014). A ETI resulta em uma resposta de resistência muito mais forte em comparação com a PTI, e geralmente conduz à morte celular programada, conhecida como resposta hipersensível (RH) (COLL et al., 2011). Os receptores vegetais, além das proteínas NBS, podem ser quinases e são codificados pelos genes R de resistência (WANG et al., 2017).

Os mecanismos de defesa desenvolvidos pelas plantas são classificados com base na herança do caráter ou da expressão fenotípica do mesmo. De acordo com o número de genes controlando o caráter, a resistência pode ser classificada em monogênica, oligogênica ou poligênica (STALETIC et al., 2009). A resistência monogênica ou oligogênica, também chamada de resistência completa é conferida por um ou poucos genes de efeito maior, conhecido como raça específico, ou gene R. Nesse caso, o patógeno é impedido de se desenvolver e não há produção de esporos. Sendo controlada por um único gene de efeito maior, a resistência completa pode ser quebrada em casos de mutação tanto no gene de resistência do hospedeiro como no gene de avirulência do patógeno. Para brusone de arroz, esse tipo de resistência é quebrado no prazo de dois a três anos (WANG;

VALENT, 2017). Não havendo mais o reconhecimento entre os genes, o patógeno torna-se capaz de infectar a planta e causar doença.

A resistência de herança poligênica, também conhecida como parcial, geralmente é controlada por um conjunto de genes de efeito menor que podem estar em diferentes locos. Essas regiões são chamadas de QTL (do inglês - *Quantitative Trait Loci*, Locos de Característica Quantitativa). Como a resistência parcial não é raça específica e é geralmente controlada por múltiplos locos de efeitos parciais, tende a apresentar maior durabilidade que a resistência completa (PARLEVLIET, 2002), tornando a resistência parcial um recurso mais interessante no controle de doenças. Na resistência parcial, ocorre o desenvolvimento do patógeno, porém, a produção de esporos é reduzida, conferindo, conseqüentemente, a redução da doença. Neste caso, é possível avaliar-se os fenótipos quantitativamente (PARLEVLIET, 1979).

O tipo de herança que controla a resistência em uma planta, pode ser estudada através de parâmetros genéticos utilizando populações segregantes (BORÉM, 2001, p. 449). As gerações segregantes fornecem estimativas sobre o número de genes controlando uma característica de interesse, indicando se é de natureza monogênica, oligogênica ou poligênica (LOBO et al., 2005). A variância genotípica é dividida em três componentes: variância do tipo aditiva (devido aos efeitos médios dos genes); dominância (atribuída à interação entre alelos de um mesmo loco) e epistática (relacionada com a interação entre alelos de locos diferentes) (REIS et al., 2002).

De modo geral, os genes de resistência têm ação gênica de dominância, em que os alelos que reconhecem os produtos dos genes de avirulência são dominantes sobre os alelos recessivos, que são incapazes de fazer esse reconhecimento. Da mesma forma, no patógeno há alelos de avirulência, que costumam ser dominantes e são incapazes de causar infecção, enquanto os alelos de virulência, em geral, são recessivos. Assim, a reação de resistência somente ocorrerá quando o hospedeiro portar algum alelo de resistência e o patógeno o respectivo alelo de avirulência (AGRIOS, 2004, p. 922).

Estudos da herança genética da resistência à brusone em arroz têm observado que a resistência segue uma herança monogênica dominante (PRASAD et al., 2009; KUMBHAR et al., 2013; ASHKANI et al., 2014). O estudo da herança genética auxilia na definição do padrão predominante da segregação, além de descobrir quantos genes estão envolvidos na resistência. Desse modo, entender o comportamento dos genes envolvidos na resistência da doença para o desenvolvimento de genótipos resistentes se torna uma abordagem importante em programas de melhoramento.

2.6 Genes e regiões genômicas associados à resistência à brusone de trigo

Até o momento, foram encontrados nove genes de resistência em trigo à brusone e um oculto: *Rmg1* (*Rwt4*) (TAKABAYASHI et al., 2002); *Rmg2* e *Rmg3* (ZHAN; MAYAMA; TOSA, 2008); *Rmg4* e *Rmg5* (NGA; HAU; TOSA, 2009); *Rmg6* (*Rwt3*) (VY et al., 2014); *Rmg7* (TAGLE; CHUMA; TOSA, 2015); *Rmg8* (ANH et al., 2015); *RmgGR119* (WANG et al., 2018) e o gene oculto *RmgTd(t)* (CUMAGUN et al., 2014).

Para os genes: *Rmg1* (HIRATA et al., 2005; TAKABAYASHI et al., 2002); *Rmg6* (VY et al., 2014); *Rmg7* (ANH et al., 2018); *Rmg8* (ANH et al., 2018) e *RmgGR119* (WANG et al., 2018) foi comprovada a interação gene-a-gene de Flor (FLOR, 1971).

O primeiro gene *Rmg1*, identificado na cultivar de trigo Norin4, está localizado no cromossomo 1D e confere resistência a isolados de *M. oryzae* de aveia (TAKABAYASHI et al., 2002). Os primeiros genes de resistência a isolados de *M. oryzae* obtidos de plantas de trigo foram identificados na cultivar Thatcher, sendo denominados de *Rmg2* e *Rmg3*, nos cromossomos 7A e 6B respectivamente. A resistência a *M. oryzae* conferida por esses genes se expressa apenas em plantas jovens de trigo (ZHAN et al., 2008).

Foram encontrados genes que conferem resistência a isolados de *M. oryzae* obtidos de outras gramíneas que muitas vezes são fonte inóculo para a ocorrência da brusone em trigo. Os genes *Rmg4* e *Rmg5*, localizados nos cromossomos 4A e 6D respectivamente, conferem resistência a isolados de *Digitaria* sp. (NGA; HAU; TOSA, 2009), enquanto

Rmg6, localizado no cromossomo 1D, confere resistência a isolados de azevém, *Lolium* sp. (NGA; HAU; TOSA, 2009).

O gene *Rmg7*, identificado nos trigos tetraploides St24, St17 e St25 (TAGLE et al., 2015) e o gene *Rmg8* proveniente do trigo hexaploide S-615 (ANH et al., 2015), localizados nos cromossomos 2A e 2B, respectivamente, são de grande importância por conferirem resistência a isolados obtidos de trigo e serem eficientes em plantas adultas. Ambos os genes de resistência (*Rmg7* e *Rmg8*) interagem com o gene de avirulência do patógeno *AVR-Rmg8* (ANH et al., 2018).

Entre os genes de resistência de trigo à *M. oryzae* encontrados, o gene *RmgTd* confere resistência a um isolado mutante de *M. oryzae*, resultante de um cruzamento entre um isolado de trigo e um isolado de aveia (CUMAGUN et al., 2014). Algumas das progênies F₁ oriundas desse cruzamento eram mutantes, por não serem virulentas quando inoculadas em trigo tetraploide. Pelo fato desses isolados mutantes não ocorrerem naturalmente em condições de campo, *RmgTd* é um gene de pouco interesse científico.

Por fim, o último gene de resistência a *M. oryzae* identificado em trigo é denominado *RmgGR119*, pois foi identificado no acesso de trigo GR119, que faz parte de uma coleção de genótipos da Albânia. Este acesso possui também o gene de resistência *Rmg8* (WANG et al., 2018). A resistência em espigas a *M. oryzae* conferida por ambos os genes presentes no acesso GR119 é maior do que aquela observada em acessos portadores somente do gene *Rmg8* (WANG et al., 2018).

Além dos genes de resistência à brusone de trigo, a identificação de regiões genômicas associadas à resistência a essa doença é outra abordagem promissora para o seu controle. Diferentes abordagens têm sido estudadas na associação da genotipagem com dados fenotípicos, como mapeamento de QTL (TANWEER et al., 2015), que são regiões do genoma com um ou mais genes que mostram uma associação estatisticamente significativa entre um marcador polimórfico e a variação de uma característica quantitativa (ST. CLAIR, 2010; SEHGAL et al., 2016) e a genotipagem em alta densidade, que permite o uso de marcadores moleculares em análises de associação

genômica ampla (GWAS, do inglês *Genome Wide Association Studies*) como o próprio nome diz, associa marcadores moleculares com fenótipos de interesse (KORTE; FARLOW, 2013).

Os primeiros QTL de resistência à brusone em trigo estão sendo identificados. No trabalho de Goddard et al. (2020) foram identificados cinco QTL nos cromossomos 2B, 4B (2 QTL), 5A e 6A associados à resistência à brusone de trigo em plântulas e quatro QTL nos cromossomos 1A, 2B, 4A e 5A associados à resistência no estágio de espigamento. He et al. (2020) identificaram sete QTL nos cromossomos 1AS, 2AS, 2BL, 3AL, 4BS, 4DL e 7BS. E no estudo de Ferreira et al. (2021) identificou-se quatro QTL envolvidos na resistência à brusone de trigo. Dois deles estão localizados no cromossomo 2AS, um relacionado a resistência à doença e outro relacionado ao rendimento. Outros dois QTL estão localizados nos cromossomos 5B e 7B e estão relacionados ao número de pontos de infecção na ráquis.

Utilizando a abordagem de GWAS, Juliana et al. (2019) avaliaram 271 linhagens de trigo do CIMMYT, em Quirusillas, na Bolívia. Foram identificadas duas regiões nos cromossomos 2AS e 3BL associadas à resistência à brusone de trigo. Em outro estudo de GWAS, utilizando 1.106 linhagens de trigo do CIMMYT, com o objetivo de identificar regiões genômicas associadas à resistência à brusone a campo na Bolívia e Bangladesh, identificou-se 36 marcadores nos cromossomos 2AS, 3BL, 4AL e 7BL que foram consistentemente associados à resistência à brusone em diferentes ambientes (JULIANA et al., 2020). Cruppe et al. (2020), usando a mesma abordagem, identificaram 25 marcadores SNPs associados à resistência à brusone, 21 deles foram mapeados no cromossomo 2A, um no cromossomo 1B e três no cromossomo 1D. E no trabalho de He et al. (2020), utilizando 184 genótipos do Sul da Ásia e do CIMMYT, identificaram associações significativas para resistência à brusone nos cromossomos 1BS, 2AS, 6BS e 7BL.

Todos os trabalhos citados acima encontraram associações com a resistência à brusone de trigo na região do cromossomo 2AS. Algumas cultivares de trigo carregam nesse cromossomo a translocação 2NS/2AS, esse fragmento cromossômico tem sido

amplamente associado com a resistência à brusone de trigo (CRUZ et al., 2016; CRUPPE et al., 2020; HE et al., 2020).

2.7 Translocação cromossômica (2NS/2AS)

O fragmento cromossômico 2NS é oriundo da espécie selvagem *Aegilops ventricosa* Tausch (= *Triticum ventricosum* Ces.) ($2n = 4x = 28$, DvDvNvNv). Este fragmento foi introgridido em trigos, com intuito de desenvolver materiais resistentes ao fungo *Cercospora herpotrichoides*, causador da mancha ocular em trigo. VPM1, acesso oriundo da progênie de *Ae. ventricosa*/*Triticum persicum*/*T. aestivum* /*Ae. ventricosa*, se destacou apresentando resultados de resistência não só a mancha ocular como para doenças como as ferrugens do trigo e o oídio (MAIA, 1967).

Ae. ventricosa tem sido muito utilizada em programas de melhoramento de trigo como fonte de resistência a muitas doenças de trigo, como ferrugem amarela (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) (CORITON et al., 2020), e ferrugem da folha (*Puccinia triticina*) (ALIAKBAR; DADKHODAIE; HEIDARI, 2020). Essa espécie é um alotetraploide, oriundo da hibridização de *Ae. tauschii*, doador do genoma D e *T. uniaristatum* (Vis.), doador do genoma N (KIMER; ZHAO, 1983). No cromossomo N, encontra-se o cluster gênico *Yr17-Lr37-Sr38* que confere resistência à ferrugem estriada (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*), à ferrugem da folha (*Puccinia triticina*) e à ferrugem do colmo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), respectivamente, e genes de resistência a nematoides, *Cre5* para *Heterodera avenae* (JAHIER et al., 2001) e *Rkn3* para *Meloidogyne* spp. (WILLIAMSON et al., 2013).

A translocação 2NS/2AS está presente em muitos genótipos de trigo como Thatcher, Yecora Rojo, Express, UC1041, Hyak, Madsen, entre outros, os quais têm sido usados como progenitores portadores de genes de interesse (BARIANA et al., 1993; HELGUERA et al., 2003). A cultivar Milan do CIMMYT também é portadora da translocação 2NS/2AS. Genótipos de trigo que possuem Milan em sua genealogia têm apresentado altos níveis de resistência à brusone (KOHLI et al., 2011). O trabalho de Cruz et al. (2016) foi o primeiro a reportar uma associação entre a presença da translocação

2NS/2AS com a resistência a *M. oryzae*. Neste estudo 418 cultivares de trigo foram caracterizadas quanto à reação à brusone. Observou-se que as cultivares portadoras da translocação apresentaram menores incidências da doença.

Outros trabalhos têm avaliado a relação da presença da translocação 2NS/2AS com a resistência à brusone. Pizolotto et al. (2017) avaliando uma coleção de genótipos portadores da 2NS/2AS verificou uma ampla variabilidade de reação à doença, inclusive com alguns demonstrando alta suscetibilidade. Cardozo-Téllez et al. (2019) também observaram que nem todos os genótipos portadores da translocação 2NS/2AS apresentaram níveis de resistência significativos. Ferreira et al. (2018), por sua vez, observaram que dentre 15 genótipos resistentes em condições de viveiros de brusone, somente dois deles apresentaram a translocação 2NS/2AS. No entanto, CRUPPE et al. (2020), identificaram apenas oito acessos de trigo não portadores da translocação 2NS com níveis moderados de resistência à *M. oryzae* de um total de 780 genótipos de trigo, entre trigos de primavera, de inverno, linhagens elite e espécies selvagens aparentadas ao trigo. Tanto em experimentos a campo como em condições controladas de ambiente, a incidência e a severidade da doença em genótipos com a translocação 2NS foram significativamente menores do que as dos genótipos não portadores da referida translocação.

Trabalhos como os de Cruz et al. (2016), Pizolotto et al. (2017) e Cardozo-Téllez (2019) mostraram uma variabilidade nos resultados da presença da translocação 2NS, com alguns genótipos apresentando inclusive fenótipo de suscetibilidade. Sugere-se que o *background* genético e/ou o ambiente possam influenciar a expressão da resistência conferida por essa translocação. Ainda, a resposta de resistência pode ser influenciada pela capacidade de certos patótipos de *M. oryzae* em superarem a resistência conferida por esta translocação (CRUZ et al., 2016; VALES et al., 2018).

O marcador VENTRIUP/LN2 (HELGUERA et al., 2003) é o principal marcador para a identificação da translocação 2NS/2AS. Porém, nem todos os genótipos de trigo positivos para esse marcador apresentaram redução significativa da severidade de brusone na espiga (CRUZ et al., 2016; PIZOLOTTO et al., 2017; CARDOZO-TÉLLEZ et al.,

2019). Na região da translocação 2NS/2AS é esperado que não ocorra recombinação entre os genes presentes nesse fragmento (HELGUERA et al., 2003). Porém, Ferreira et al. (2021), identificaram a ocorrência de recombinação dentro dessa região. Isso poderia explicar por que alguns genótipos de trigo com a presença da translocação 2NS/2AS identificada pelo marcador VENTRIUP/LN2 não apresentam resistência à brusone, ou seja, o marcador utilizado para identificar a presença da translocação não é o mais próximo do(s) gene(s) de resistência à brusone.

3 CAPÍTULO I

Estudo da herança da resistência à brusone conferida pela presença da translocação 2NS em linhagens segregantes F₂ de trigo

3.1 Resumo

A brusone de trigo é uma doença fúngica causada pelo patógeno *Magnaporthe oryzae* (sinônimo *Pyricularia oryzae*) patótipo *Triticum* (MoT). O principal sintoma dessa doença é o branqueamento das espigas levando à redução da qualidade e rendimento de grãos. A resistência genética em genótipos de trigo tem sido apontada como o principal método para superar os danos causados pela brusone. A presença da translocação 2NS/2AS tem sido associada a resistência de genótipos de trigo à brusone. Deste modo, este trabalho teve como objetivo estudar a herança da resistência conferida pela presença da translocação 2NS em linhagens F₂ de trigo. Para isso, duas populações segregantes foram empregadas. O genótipo Linhagem 514 e a cultivar Santa Fé, ambas consideradas resistentes à brusone, possuem a translocação 2NS, foram usadas como genitor feminino, enquanto a cultivar BRS 404, considerada moderadamente suscetível à brusone, foi usada como genitor masculino. As duas populações segregantes foram inoculadas com uma mistura de três isolados de MoT, e as variáveis avaliadas foram: severidade do branqueamento de espigas aos cinco e sete dias após a inoculação; número de pontos de infecção na ráquis e esporulação do patógeno em ráquis de trigo. O teste do qui-quadrado mostrou segregação 3R:1S nas duas populações para diferentes variáveis, indicando que a resistência à brusone, conferida pela 2NS, segrega a partir de um gene de efeito dominante podendo, porém, depender do *background* genético.

Palavras-chave: 1. *Triticum aestivum*. 2. *Magnaporthe oryzae*. 3. Resistência genética. 4. Translocação 2NS/2AS. 5. População segregante.

3.2 Introdução

A brusone de trigo é uma doença relativamente recente, observada pela primeira vez no Brasil, há pouco mais de 30 anos (IGARASHI et al., 1986). O agente casual da brusone é o fungo ascomiceto *Magnaporthe oryzae* (sinônimo *Pyricularia oryzae*) patótipo *Triticum* (MoT), sendo o branqueamento das espigas o principal sintoma da doença. Na ráquis de espigas infectadas, observa-se o ponto de penetração do patógeno. Nesse ponto, há o estrangulamento da ráquis, impedindo o transporte de nutrientes para a parte superior da espiga, o que resulta na sua descoloração e inviabiliza o enchimento

de grãos, reduzindo sua qualidade e rendimento (GOULART; SOUSA; URASHIMA, 2007).

A brusone de trigo é considerada uma doença de difícil controle, e o controle químico pode não ser o suficiente, quando as condições climáticas são favoráveis à ocorrência da doença (CASTROAGUDIN et al., 2015; CRUZ et al., 2018). Desse modo, a resistência genética de cultivares de trigo é um método promissor, de fácil aplicabilidade, econômico e reduz possíveis impactos ambientais do uso de fungicidas.

Existem diferentes classificações para a resistência genética em plantas, podendo ser categorizada como monogênica, oligogênica ou poligênica, de acordo com o número de genes controlando o caráter (STALETIC et al., 2009). A resistência monogênica ou oligogênica, muitas vezes também chamada de resistência completa, impede o patógeno de se multiplicar. Essa resistência é controlada por um ou poucos genes de efeito maior. Os genes de resistência completa são considerados raça-específicos, e geralmente seguem a teoria da interação gene-a-gene de Flor (FLOR, 1971), em que cada gene de avirulência do patógeno é reconhecido por um gene de resistência do hospedeiro, resultando em resposta de hipersensibilidade. A resistência poligênica, também conhecida como resistência parcial geralmente é controlada por um conjunto de genes de efeito menor que podem estar em diferentes locos (PARLEVLIET, 2002), sendo caracterizada pela redução do desenvolvimento do patógeno.

Dos genes de resistência identificados para a brusone de trigo até o momento, cinco deles apresentam resistência a isolados de MoT: *Rmg2*, *Rmg3* (ZHAN; MAYAMA; TOSA, 2008), *Rmg7* (TAGLE; CHUMA; TOSA, 2015), *Rmg8* (ANH et al., 2015) e *RmgGR119* (WANG et al., 2018). Para três destes genes foi comprovada a interação gene-a-gene: *Rmg7* - AVR-*Rmg8* (ANH et al., 2018); *Rmg8* - AVR-*Rmg8* (ANH et al., 2018); e *RmgGR119* - AVR-*Rmg8* e AVR-*RmgGR119* (WANG et al., 2018). Porém, estudos com a brusone de arroz, tem mostrado que esse tipo de resistência pode ser quebrada em poucos anos, devido à alta variabilidade genética e de virulência do patógeno (WANG; VALENT, 2017). Por isso, se torna importante a identificação de mais fontes de resistência à brusone.

A presença da translocação 2NS/2AS em genótipos de trigo tem sido associada com a resistência à brusone (CRUZ et al., 2016). Esse fragmento cromossômico (2NS) é oriundo da espécie selvagem *Aegilops ventricosa* Tausch (= *Triticum ventricosum* Ces.) e foi introgridido no trigo por apresentar genes de resistência a doenças como o cluster gênico *Yr17-Lr37-Sr38*, que conferem resistência à ferrugem estriada (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*), ferrugem da folha (*Puccinia triticina*) e ferrugem do colmo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) respectivamente. E os genes de resistência *Cre5* e *Rkn3* para os nematoides *Heterodera avenae* (JAHIER et al., 2001) e *Meloidogyne* spp. (WILLIAMSON et al., 2013), respectivamente.

O estudo de Cruz et al. (2016) foi o primeiro a evidenciar a associação da presença da translocação 2NS/2AS com a resistência à brusone de trigo. Neste estudo, 418 genótipos de trigo foram caracterizados quanto à reação a *M. oryzae*. Observou-se que os genótipos portadores da translocação apresentaram menores incidências de brusone. Outros estudos têm apontado a 2NS como a principal fonte de resistência à brusone de trigo, observando associação de resistência à doença em genótipos que possuem essa translocação (JULIANA et al., 2020; CRUPPE et al., 2021; HE et al., 2020).

No estudo de He et al. (2020), utilizando uma população segregante F₂ com genitores contrastantes quanto à reação à brusone de trigo, sendo o genitor resistente portador da translocação 2NS/2AS, foi identificado um QTL principal na região dessa translocação, explicando entre 22,4 e 50,1% da variação fenotípica em diferentes ambientes. Sabendo-se da importância da 2NS na resistência à brusone de trigo, é de interesse avaliar a herança genética da resistência conferida por esse fragmento, em populações segregantes. Gerações segregantes fornecem estimativas sobre o número de genes controlando a característica de interesse (LOBO et al., 2005). Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi estudar a herança da resistência à brusone conferida pela translocação 2NS em linhagens segregantes de trigo em estágio F₂.

3.3 Material e Métodos

Os experimentos foram realizados nas instalações da Embrapa Trigo, Passo Fundo – RS, o que inclui laboratório de fitopatologia, casas-de-vegetação e câmaras de incubação. O desenvolvimento do experimento iniciou-se no ano de 2019, sendo utilizadas duas populações F₂. Os genótipos testados foram considerados tratamentos.

3.3.1 Material Vegetal

Populações segregantes F₂

Nesse experimento foram utilizadas duas populações segregantes de trigo em estágio F₂, para as quais os cruzamentos foram realizados em telado, no inverno de 2015. As sementes F₁ obtidas foram cultivadas em telado no inverno de 2016 para avanço e obtenção das sementes F₂. Os genótipos de trigo Linhagem 514 e Santa Fé foram usados como genitores femininos em cruzamentos biparentais com a cultivar BRS 404 como genitor masculino. Ao longo do trabalho, as duas populações F₂ serão denominadas de: ‘Linhagem 514 x BRS 404’ e ‘Santa Fé x BRS 404’. A genealogia dos genitores e sua reação à brusone são apresentadas na Tabela 1. Como controle positivo de inoculação, foi utilizada a cultivar Anahuac 75, por ser uma cultivar sabidamente suscetível à brusone de trigo (URASHIMA; KATO, 1994).

Tabela 1. Genealogia e reação à brusone de trigo dos três parentais utilizados no estudo da herança da resistência a esta doença. Passo Fundo, RS, 2022.

Genótipo parental	Genealogia	Reação à brusone de trigo ⁽¹⁾
Linhagem 514	SRN/ <i>Aegilops squarrosa</i> (358)//Filin/Milan/3/Gondo	R
Santa Fé	Jagger/G1878	R
BRS 404	MGS Aliança/WT 99172	MS

⁽¹⁾R: resistente; MS: moderadamente suscetível.

A Linhagem 514 faz parte de uma coleção do CIMMYT, que vem sendo caracterizada quanto à reação à brusone. Esta linhagem também possui a translocação 2NS/2AS em seu genoma, proveniente do genitor Milan. Na sua genealogia há cruzamentos com um acesso de *Aegilops squarrosa* e com cultivares de *Triticum aestivum* como Filin, Milan e Gondo.

A cultivar Santa Fé é originária dos Estados Unidos, e foi lançada em 2003 pela WestBred/AGSECO (EUA). Oriunda do cruzamento entre a cultivar Jagger com a linhagem G1878, esta cultivar apresenta alta resistência à brusone (CRUZ et al., 2012) e possui a translocação 2NS/2AS proveniente do genitor feminino Jagger.

A cultivar BRS 404 vem do cruzamento entre a cultivar MGS Aliança, que possui características de tolerância à seca, calor e ao alumínio tóxico, com a linhagem WT 99172, doadora da característica de qualidade tecnológica da classe pão. É indicada para a região do Cerrado brasileiro, que compreende os estados de Goiás, Distrito Federal e Minas Gerais. Seu ciclo é de precoce a médio. Em relação às principais doenças da cultura na região tropical, essa cultivar é caracterizada como moderadamente resistente à mancha marrom, e moderadamente suscetível à brusone e à mancha amarela (SÓ e SILVA et al., 2015).

3.3.2 Obtenção das plantas de trigo

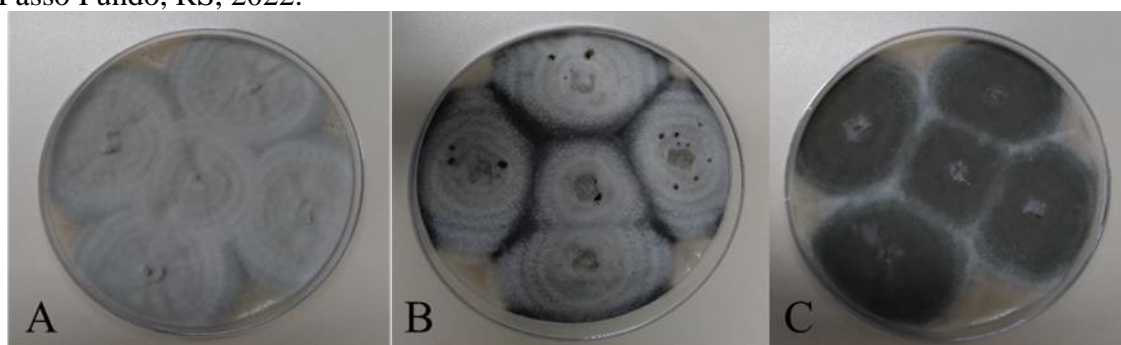
Para cada população, foram semeadas dez sementes (F_2) por balde, num total de 25 baldes, contendo uma mistura de terra, substrato e vermiculita, na proporção de 1:1:1. Quinze dias após a semeadura, foi feito o desbaste das plantas, mantendo-se cinco plantas por balde, totalizando 125 plantas. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação até a fase de espigamento quando foram transferidas para câmara com condições controladas de ambiente (Menoncin), para realização das inoculações.

3.3.3 Isolados de *Magnaporthe oryzae* e condições de cultivo

Foi utilizada uma mistura de três isolados do patógeno *Magnaporthe oryzae* *Triticum*: Py 13.1.018, Py 13.1.023 e Py 13.1.012 (Figura 1). Os isolados integram a coleção do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Trigo (SISGEN AC50A60) e foram obtidos de espigas da cultivar CD 104, na localidade de Jandaia do Sul/PR no ano de 2013.

Os isolados foram cultivados em meio de aveia (60 g aveia, 12 g ágar, q. s. p. 1 L de água) durante período de 10 a 14 dias, em $24\pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura e fotoperíodo de 12h de luz branca fluorescente. Os conídios foram suspensos em água destilada com Tween 80 (duas gotas de Tween 80 para 1L de água destilada) e a concentração de cada suspensão foi ajustada para 10^{x5} conídios/ml, sendo em seguida misturadas em proporções iguais.

Figura 1. Isolados de *Magnaporthe oryzae* usados para a suspensão em mistura de inoculação: A= isolado Py 13.1.018; B= isolado Py 13.1.023 e C= isolado Py 13.1.012. Passo Fundo, RS, 2022.



3.3.4 Inoculação

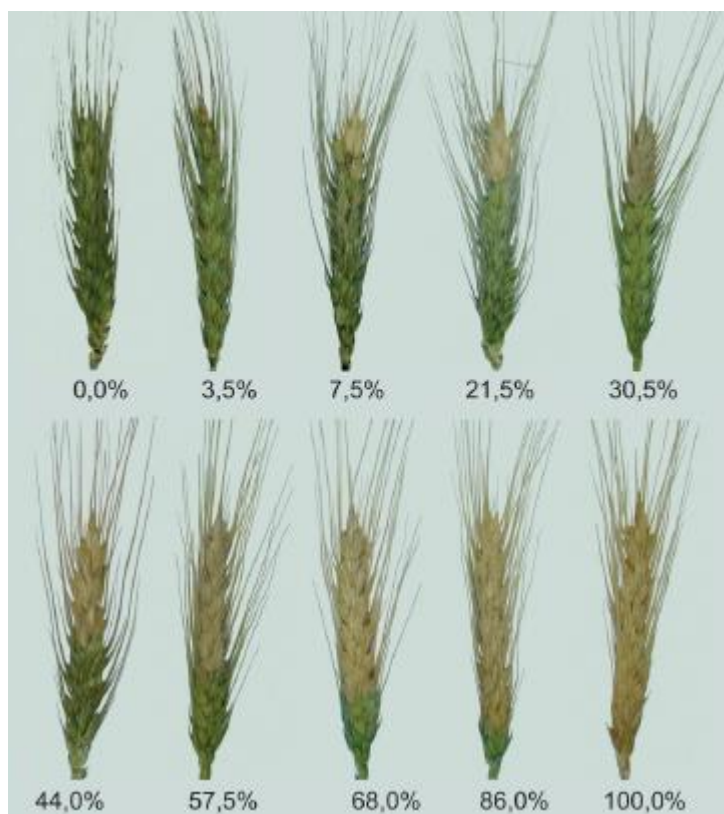
As plantas foram inoculadas na fase de espigamento, entre os estádios fenológicos 58 e 68 da escala de Zadoks (ZADOKS; CHANG; KONZAK, 1974). A suspensão de esporos, contendo a mistura dos três isolados, foi aspergida com borrifador manual, em ambos os lados das espigas. As plantas foram cobertas com sacos plásticos e mantidas no escuro durante 24h com temperatura de $26\pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar (UR) $>90\%$.

Passadas as 24h, o fotoperíodo foi ajustado para 12h de luz e foram mantidas as condições de temperatura e UR. As plantas foram mantidas nas câmaras de ambiente controlado até os 14 dias após a inoculação (dai).

3.3.5 Avaliação de sintomas

Para a população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ foram avaliadas 115 plantas e para a população ‘Santa Fé x BRS 404’, 91 plantas, sendo avaliada uma espiga por planta. A severidade de branqueamento (SB) foi estimada aos cinco e aos sete dias após a inoculação (SB_05dai e SB_07dai), com o uso da escala diagramática de Maciel et al. (2013) (Figura 2). Aos 14 dai, as espigas inoculadas foram coletadas e congeladas.

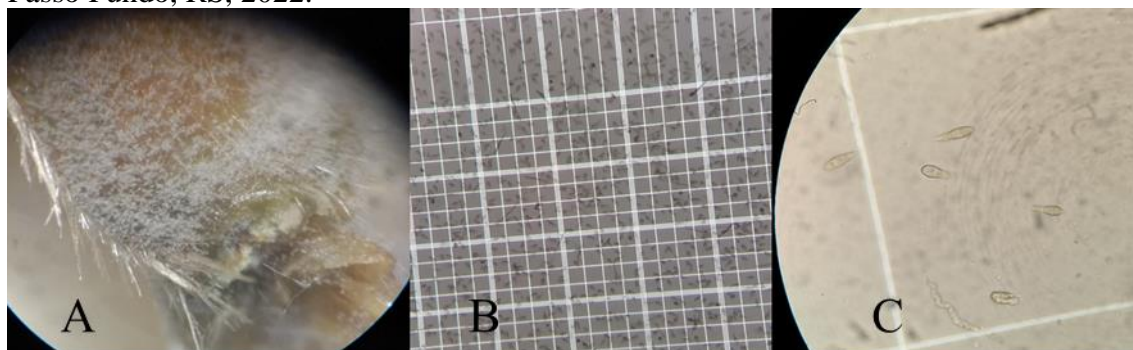
Figura 2. Escala diagramática para quantificação da severidade de brusone em espigas de trigo.



Fonte: Maciel et al. (2013).

As espiguetas foram removidas manualmente e o número de pontos de infecção na ráquis (PIR) foi contado. As ráquis de cada genótipo foram, em seguida, pesadas para a avaliação quanto à esporulação do patógeno. Após a pesagem foi realizada assepsia com solução comercial de hipoclorito de sódio (2,5%) com água na proporção de 1:1 (v/v) durante 1 minuto. Para a extração do produto desinfetante, foi feito um enxágue duplo com água destilada e esterilizada. Em seguida, cada ráquis foi incubada individualmente em placa com papel filtro umedecido com água destilada. As placas foram mantidas em sala de incubação durante quatro dias com fotoperíodo de 12h, à temperatura de 25°C. Para a avaliação da esporulação, cada ráquis foi colocada em um tubo plástico de 15 ml com 5 ml de água destilada, o tubo com a ráquis passou por vórtex durante 40 segundos para homogeneização dos esporos com a água destilada. A esporulação do patógeno foi confirmada mediante visualização em lupa e a contagem de esporos foi realizada com câmara de Neubauer. Foram feitas três contagens de esporos por ráquis inoculada e foi estimado o número de esporos ($\times 10^6$) por grama de ráquis (ESP).

Figura 3. Análise da esporulação de *Magnaporthe oryzae* em ráquis de trigo. A, Ráquis de trigo com esporulação abundante de *Magnaporthe oryzae*; B, Imagem da câmara de Neubauer empregada para a contagem de esporos; e, C, Conídios de *Magnaporthe oryzae*. Passo Fundo, RS, 2022.



3.3.6 Análises estatísticas

Para fins de análises estatísticas, foram consideradas as variáveis: SB_05dai e SB_07dai, expressas em porcentagem; PIR e ESP. Utilizando-se o programa Biostat, foi realizado o teste de Mann-Whitney para comparação das médias dos genitores e correlação de Spearman das variáveis consideradas para as populações segregantes F₂.

Análise de segregação

Considerando-se os dados obtidos nas análises fenotípicas das populações segregantes, duas hipóteses de razão de segregação foram testadas: a razão 3:1, onde um gene do tipo dominante de maior efeito controlaria a característica de resistência. E a razão 1:2:1, onde um gene de efeito aditivo estaria controlando a característica de resistência. Para isso, foi empregado o teste de qui-quadrado (χ^2) em que a hipótese de nulidade foi aceita quando o nível de probabilidade calculado foi igual ou superior a 5%, conforme a fórmula (Equação 1):

Equação 1:

$$\chi^2 = \sum[(\text{observado} - \text{esperado})^2 / \text{esperado}]$$

Com n-1 graus de liberdade

Em que:

Σ : somatório dos valores.

observado: corresponde a proporção de genótipos resistentes e suscetíveis de uma classe fenotípica.

esperado: corresponde a proporção de genótipos resistentes e suscetíveis de uma classe fenotípica, conforme o modelo de segregação Mendeliana.

Exceto para a variável SB_05dai, que não apresentou diferença significativa entre os valores, foram criadas classes fenotípicas para as variáveis de SB_07dai, PIR e ESP conforme as hipóteses de segregação Mendeliana. Sendo duas classes na segregação 3:1

agrupando valores para resistentes e suscetíveis. E três classes para a segregação 1:2:1 agrupando valores para resistentes, intermediários e suscetíveis. Cada classe foi definida conforme os valores observados para a cultivar Anahuac 75, usada como controle suscetível de inoculação. Para as variáveis SB_07dai e PIR foi possível criar classes para as duas hipóteses de segregação (3:1 e 1:2:1) (Quadros 1 e 2), enquanto que para a variável ESP foi possível criar apenas as classes de segregação 3:1 (Quadro 1).

Quadro 1. Classes fenotípicas para as variáveis SB_07dai, PIR e ESP para modelo de segregação 3:1.

Classe	SB_07dai ¹	PIR ²	ESP ³
Resistente	0-30	>5	0-4
Suscetível	>30	0-5	>4

¹Valores de severidade de branqueamento de espigas aos sete dias após inoculação expressa em porcentagem; ²número total de pontos de infecção na ráquis; ³número de esporos ($\times 10^6$) por grama de ráquis.

Quadro 2. Classes fenotípicas para as variáveis SB_07dai e PIR para modelo de segregação 1:2:1.

Classe	SB_07dai ¹	PIR ²
Resistente	<20	>10
Intermediário	21-30	5-10
Suscetível	>30	<5

¹Valores de severidade de branqueamento de espigas aos sete dias após inoculação expressa em porcentagem; ²número total de pontos de infecção na ráquis.

3.4 Resultados e Discussão

Considerando a média dos genitores, não foi observado diferença significativa entre a Linhagem 514 e BRS 404 para as variáveis SB_05dai e SB_07dai (Tabela 2). Além disso, observa-se que a cultivar BRS 404, considerada moderadamente suscetível à brusone, obteve as menores médias para todas as variáveis em relação aos genótipos considerados resistentes (Linhagem 514 e Santa Fé). Esses resultados podem ser explicados por erro experimental ou pela interação entre genótipo e o ambiente de inoculação e/ou concentração de inóculo

Houve diferença significativa entre os genitores Linhagem 514 e BRS 404 para as variáveis PIR e ESP (Tabela 2). Já para os genitores Santa Fé e BRS 404 houve diferença significativa para as variáveis SB_05dai e PIR (Tabela 3).

Tabela 2. Comparação de médias entre os genitores Linhagem 514 e BRS 404. Passo Fundo, RS, 2022.

Variável	SB_05dai	p. valor	SB_07dai	p. valor	PIR	p. valor	ESP	p. valor
Genitores								
Linhagem 514	2,60	0,1435	13,20	1,0000	17	0,0007	4,76	0,0081
BRS 404	1,95		14,44		2		2,49	

SB_05dai: severidade de branqueamento de espigas aos 5 dias após inoculação; SB_07dai: severidade de branqueamento de espigas aos sete dias após inoculação; PIR: número total de pontos de infecção na ráquis; ESP: número de esporos ($\times 10^6$) por grama de ráquis.

Tabela 3. Comparação de médias entre os genitores Santa Fé e BRS 404. Passo Fundo, RS, 2022.

Variável	SB_05dai	p. valor	SB_07dai	p. valor	PIR	p. valor	ESP	p. valor
Genitores								
Santa Fé	4,97	0,0018	16,72	0,4172	16,05	0,0000	2,79	0,3717
BRS 404	1,95		14,44		2		2,49	

SB_05dai: severidade de branqueamento aos 5 dias após inoculação; SB_07dai: severidade de branqueamento aos sete dias após inoculação; PIR: número total de pontos de infecção na ráquis; ESP: número de esporos ($\times 10^6$) por grama de ráquis.

Ambos os genitores resistentes (Linhagem 514 e Santa Fé) diferiram significativamente do genitor suscetível (BRS 404) para a variável PIR, apresentando maior número para essa característica. PIR é uma característica herdável (FERREIRA et al., 2021), genótipos resistentes à brusone de trigo com maior número de PIR foram relatados pela primeira vez por Ferreira et al. (2020). Essa maior quantidade de pontos de infecção em genótipos resistentes pode estar associada à resposta de hipersensibilidade, que restringe o crescimento e danos causados pelo patógeno, uma característica desencadeada pelo reconhecimento de um gene de avirulência do patógeno por gene de resistência do hospedeiro (FLOR, 1971).

Foi aplicado o teste de correlação de Spearman para as variáveis estudadas. Houve correlação positiva entre SB_05dai e SB_07dai com a variável ESP para a população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ (Tabela 4). Para a população ‘Santa Fé x BRS 404’ não houve

correlação positiva entre severidade e as demais variáveis. Porém, observa-se que há uma tendência entre as variáveis SB_05dai e SB_07dai com a variável ESP, semelhante ao observado para população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ em que ocorreu correlação positiva entre essas variáveis. Poderia-se inferir que existe uma relação entre a severidade do branqueamento da espiga com a esporulação do patógeno na ráquis, porém são necessários mais estudos sobre esta característica. Em trabalho de Maciel et al. (2021), não foi possível estabelecer uma correlação positiva entre a taxa de esporulação e a severidade causada de brusone de trigo. No entanto, 80% dos genótipos de trigo com menor taxa de esporulação também foram classificados como mais resistentes com base na severidade de branqueamento das espigas aos sete dias após a inoculação. Os autores sugerem ações que podem melhorar a eficiência no processo de avaliação da esporulação de MoT em segmentos vegetais de genótipos de trigo, como ajustes na padronização de condução de cada fase de preparação das amostras poderiam melhorar a determinação da esporulação no tecido avaliado.

Tabela 4. Correlação de Spearman entre as variáveis avaliadas nesse estudo. Passo Fundo, RS, 2022.

	SB_05dai	SB_07dai	PIR	ESP
‘Linhagem 514 x BRS 404’				
SB_05dai	1			
SB_07dai	0,89**	1		
PIR	-0,01	-0,03	1	
ESP	0,33*	0,47**	0,11	1
‘Santa Fé x BRS 404’				
SB_05dai	1			
SB_07dai	0,84**	1		
PIR	-0,03	-0,00	1	
ESP	0,29	0,27	-0,01	1

SB_05dai: severidade de branqueamento de espigas aos 5 dias após inoculação; SB_07dai: severidade de branqueamento de espigas aos sete dias após inoculação; PIR: número total de pontos de infecção na ráquis; ESP: ³número de esporos (x10⁶) por grama de ráquis.

*Correlação significativa a 5%.

**Correlação significativa a 1%.

O teste estatístico de aderência do qui-quadrado (χ^2) foi empregado a fim de avaliar a herança da resistência à brusone conferida pela 2NS, nas duas populações segregantes F₂, através do conjunto de dados das variáveis fenotípicas SB_07dai, PIR e

ESP. Na população ‘Linhagem 514 x BRS404’ a hipótese de um gene com o alelo dominante conferindo resistência foi aceita para a variável SB_07dai. A proporção esperada seria de 86R:29S, e o resultado do teste do qui-quadrado não foi significativo quando comparado com o valor tabelado. Esse resultado se ajusta à razão de segregação 3R:1S (Tabela 5). Para o modelo de segregação 1:2:1, onde a proporção esperada seria de 29:57:29, o resultado do teste qui-quadrado foi significativo para as variáveis testadas nessa população, não comprovando a hipótese do modelo de um gene de efeito aditivo na resistência à brusone de trigo conferida pela 2NS (Tabela 6).

Tabela 5. Análise de aderência do qui-quadrado (χ^2) para segregação 3:1 na população ‘Linhagem 514 x BRS 404’. Passo Fundo, RS, 2022.

Variável	Linhagens segregantes (VO)		$\chi^2(3:1)$
	Resistentes	Suscetíveis	
SB_07dai	82	33	0,84
PIR	58	57	39,68*
ESP	52	63	54,40*

*Significativo pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade ($\chi^2_{0,05(1)} = 3,84$).

VO=Valores observados em 115 linhagens segregantes F₂.

Tabela 6. Análise de aderência do qui-quadrado (χ^2) para segregação 1:2:1 na população ‘Linhagem 514 x BRS 404’. Passo Fundo, RS, 2022.

Variável	Linhagens segregantes (VO)			$\chi^2(1:2:1)$
	Resistentes	Intermediários	Suscetíveis	
SB_07dai	60	22	33	56,51*
PIR	20	38	57	37,03*

*Significativo pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade ($\chi^2_{0,05(2)} = 5,99$).

VO=Valores observados em 115 linhagens segregantes F₂.

Para a população ‘Santa Fé x BRS404’ a hipótese de segregação de um gene de efeito dominante também foi encontrada, em que a proporção esperada seria de 68R:23S. O modelo de herança monogênica dominante foi encontrado para a variável PIR nessa população (Tabela 7). Já para o modelo de segregação 1:2:1, onde a proporção esperada seria de 28:45:28, o resultado do teste qui-quadrado não comprova a hipótese de um gene de efeito aditivo para a característica de resistência nas variáveis testadas (Tabela 8).

Tabela 7. Análise de aderência do qui-quadrado (χ^2) para segregação 3:1 na população ‘Santa Fé x BRS 404’. Passo Fundo, RS, 2022.

Variável	Linhagens segregantes (VO)		$\chi^2(3:1)$
	Resistentes	Suscetíveis	
SB_07dai	37	54	57,23*
PIR	61	30	3,08
ESP	26	65	104,61*

*Significativo pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade ($\chi^2_{0,05(1)} = 3,84$).

VO=Valores observados em 91 linhagens segregantes F₂.

Tabela 8. Análise de aderência do qui-quadrado (χ^2) para segregação 1:2:1 na população ‘Santa Fé x BRS 404’. Passo Fundo, RS, 2022.

População	Linhagens segregantes (VO)			$\chi^2(1:2:1)$
	Resistentes	Intermediários	Suscetíveis	
SB_07dai	26	11	54	69,55*
PIR	34	27	30	15,39*

*Significativo pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade ($\chi^2_{0,05(2)} = 5,99$).

VO=Valores observados em 91 linhagens segregantes F₂.

Nesse estudo, a herança de resistência à brusone conferida pela 2NS indicou a existência de um gene de efeito dominante segregando. Apesar de ser observado que a resistência segue uma herança dominante, genes de resistência encontrados na translocação, podem conferir resistência a mais de uma raça do mesmo fungo em outros patossistemas. Li et al. (2016) demonstraram que o gene *Sr38*, presente na translocação, apresenta resistência para três diferentes raças de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Assim, pode-se inferir que os genes na translocação 2NS/2AS que conferem resistência à brusone de trigo, podem ser efetivos para mais de um isolado de MoT, pois nesse estudo foram empregados, em mistura, três isolados de MoT para a caracterização fenotípica das populações F₂.

Observando a segregação 3R:1S, nota-se que houve um comportamento diferente para essa proporção nas duas populações segregantes estudadas. Um alelo de efeito dominante controlando a característica de resistência, segregou em variáveis diferentes para cada população segregante. Na população ‘Linhagem 514 x BRS 404’, a taxa de segregação de 3R:1S foi observada para a variável SB_07dai, enquanto para a população Santa Fé x BRS 404’, a segregação de 3R:1S foi encontrada para a variável PIR. Essa diferença pode ser atribuída aos dois backgrounds oriundos dos genitores

femininos Linhagem 514 e Santa Fé, considerando que o genitor masculino é o mesmo nas duas populações. Cruz et al. (2016) observou que a resistência mediada por 2NS pode depender do *background* genético. Ambos os genitores resistentes possuem a translocação 2NS/2AS, porém, são dois *backgrounds* distintos. Diferentes *backgrounds* genéticos envolvem complexas interações entre alelos de diferentes locos o que pode influenciar expressão da resistência da planta (PETIT-HOUDENOT; FUDAL, 2017).

Além disso, no estudo de Ferreira et al. (2021), foram identificados QTL diferentes e específicos para as variáveis severidade de branqueamento e PIR. Enquanto PIR é uma característica de hipersensibilidade, a severidade de branqueamento está relacionada à resistência à colonização dos tecidos do hospedeiro pelo patógeno. A segregação 3R:1S nas duas variáveis, associadas à resistência, nas diferentes populações segregantes estudadas, implica que não são os mesmos genes que conferem resistência para cada uma dessas características.

Conclusão

Os resultados deste trabalho apontam que a resistência à brusone, com base na 2NS, pode ser de herança do tipo monogênica, conferida por um alelo dominante. Porém, a segregação 3R:1S foi diferente nas duas populações estudadas dependendo da variável considerada. Isso pode ter ocorrido em função do diferente *background* dos genótipos empregados. Ainda, as características de severidade do branqueamento e pontos de infecção na ráquis podem ser controladas por genes diferentes.

4 CAPÍTULO II

Caracterização molecular de genótipos de trigo com marcadores presentes na região da translocação 2NS/2AS

4.1 Resumo

A resistência genética à brusone de trigo, causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* *Triticum* (MoT), tem sido baseada principalmente na translocação 2NS/2AS. Essa translocação foi introgridida no trigo a partir da espécie selvagem *Aegilops ventricosa*. VENTRIUP/LN2 é o marcador desenvolvido para a identificação da translocação 2NS/2AS. No entanto, alguns genótipos portadores do fragmento 2NS têm mostrado variações, apresentando fenótipo de suscetibilidade à doença. Deste modo, o objetivo desse estudo foi identificar marcadores que melhor explicassem o fenótipo de resistência conferido pela translocação 2NS/2AS. Para isso, uma coleção de genótipos de trigo de diferentes origens e duas populações segregantes em estágio F₂ com parentais contrastantes à brusone de trigo, previamente fenotipadas, foram caracterizadas molecularmente por oito marcadores localizados na região da translocação 2NS/2AS e dois marcadores com base no marcador VENTRIUP/LN2. Os resultados obtidos mostraram que todos os marcadores utilizados foram eficientes em diferenciar genótipos resistentes de suscetíveis, sendo a resistência à brusone conferida por um alelo dominante. Dois marcadores destacaram-se, apresentando diferença significativa entre genótipos classificados como resistente e suscetível para todas as variáveis fenotípicas estudadas. Além disso, a análise de desequilíbrio de ligação dos marcadores empregados apontou a presença de recombinação na região da translocação 2NS/2AS.

Palavras-chave: 1. *Triticum aestivum*. 2. *Magnaporthe oryzae*. 3. resistência genética. 4. brusone de trigo. 5. marcadores moleculares.

4.2 Introdução

A brusone de trigo é uma doença causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*. Ela foi registrada na cultura do trigo pela primeira vez no Brasil em 1985 no estado do Paraná, há pouco mais de três décadas (IGARASHI et al., 1986). A brusone causa tanto reduções no rendimento quanto na qualidade de grãos. Quando a brusone ocorre precocemente nas

espigas de trigo, provoca má formação dos grãos, diminuindo seu tamanho e peso específico. Há relatos de perdas de rendimento variando entre 40 a 100% (GOULART; PAIVA, 2000; TORRES et al., 2009).

A resistência genética tem sido apontada como uma alternativa eficiente para o controle da brusone de trigo. Apesar de dez genes de resistência de trigo à brusone terem sido identificados até o momento, apenas cinco são relacionados à isolados de trigo. Apenas os genes, *Rmg2*, *Rmg3*, *Rmg7*, *Rmg8* e *RmgGR119* apresentam resistência a isolados de *M. oryzae* de trigo. Já há relatos de piramidação dos genes *Rmg8* e *RmgGR119* para introgressão em genótipos de trigo japoneses (WANG et al., 2018).

A fonte de resistência mais explorada até o momento para o desenvolvimento de novas cultivares resistentes está relacionada com genótipos portadores da translocação 2NS/2AS, inicialmente relatada por Cruz et al. (2016). O fragmento 2NS foi introgridido no trigo a partir do cruzamento com a espécie selvagem *Aegilops ventricosa* por possuir genes que conferem resistência à ferrugem estriada (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*), à ferrugem da folha (*Puccinia triticina*) e à ferrugem do colmo (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), além de genes de resistência aos nematoides *Heterodera avenae* (JAHIER et al., 2001) e *Meloidogyne* spp. (WILLIAMSON et al., 2013).

Além da 2NS, outras regiões, associadas à resistência à brusone, presentes nos cromossomos 1AS, 2AS, 2BL, 3AL, 3BL, 4AL, 4BS, 4DL, 5A, 6A, 7BS e 7BL vem sendo identificadas através de estudos de QTLs ou GWAS (GODDARD et al., 2020; CRUPPE et al., 2020; HE et al., 2020; FERREIRA et al., 2021; JULIANA et al., 2020).

Após o relato de resistência à brusone em genótipos de trigo com a translocação 2NS/2AS, outros grupos têm estudado o efeito da translocação na resposta de trigo à brusone. Observou-se que nem todos os genótipos de trigo portadores da translocação 2NS/2AS apresentam redução significativa da severidade de brusone em espigas (PIZOLOTTO et al., 2017; CARDOZO-TÉLLEZ et al., 2019). Estes resultados poderiam ser explicados pelas complexas interações entre alelos de diferentes locos influenciando a expressão da resistência da planta devido aos diferentes backgrounds genéticos (PETIT-

HOUDENOT; FUDAL, 2017). Apesar de raras, recombinações podem ocorrer nas regiões de translocação de fragmentos de espécies afins do trigo (PASQUARIELLO et al., 2019). Partindo dessa hipótese, o marcador VENTRIUP/LN2 amplamente usado na detecção da translocação pode não ser o mais adequado para a identificação da região portadora do(s) gene(s) de resistência à brusone.

O marcador VENTRIUP/LN2 (HELGUERA et al., 2003) é um dos marcadores desenvolvidos na região da translocação 2NS/2AS e um dos mais usados para a sua identificação. Porém, nota-se que há variações de fenótipo de resistência mesmo quando o genótipo é positivo para esse marcador, onde plantas com a translocação 2NS/2AS apresentam fenótipo de suscetibilidade à brusone (CRUZ et al., 2016; PIZOLOTTO et al., 2017; CARDOZO-TÉLLEZ et al., 2019). Espera-se que na região da translocação 2NS/2AS não ocorra recombinação entre os genes presentes nesse fragmento (HELGUERA et al., 2003). Porém, Ferreira et al. (2021), identificaram a ocorrência de recombinação dentro dessa região. Isso poderia explicar por que alguns genótipos de trigo com a presença da translocação 2NS/2AS identificada pelo marcador VENTRIUP/LN2 não apresentaram resistência à brusone. Nesse caso, o marcador utilizado para identificar a presença da translocação não seria o mais próximo do(s) gene(s) de resistência à brusone.

A partir do trabalho de Ferreira et al. (2021) foram identificados QTL envolvidos na resistência à brusone de trigo. Dois deles estão localizados na região da translocação 2NS no cromossomo 2AS, sendo que o marcador VENTRIUP/LN2 não estava associado com os QTL de maior efeito, responsável por 66,3 a 85,2% da variação fenotípica. A partir desse resultado buscou-se desenvolver novos marcadores moleculares mais próximos à região que confere resistência à brusone.

Neste capítulo, coleções de genótipos de trigo e duas populações segregantes, previamente fenotipadas quanto à reação à brusone, foram caracterizadas por marcadores moleculares localizados na região 2AS do trigo com o objetivo de encontrar marcadores que melhor explicassem o fenótipo de resistência conferido pela translocação 2NS/2AS.

4.3 Material e Métodos

Todos os procedimentos envolvidos na caracterização molecular dos genótipos de trigo foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Trigo.

4.3.1 Material Vegetal

Os genótipos de trigo apresentados neste trabalho constam de coleções que fazem parte do programa de melhoramento genético da Embrapa Trigo. Ao longo do trabalho essa coleção será denominada de ‘Coleção genótipos de trigo Embrapa’. São 190 genótipos de trigo, entre eles estão presentes linhagens e cultivares de diferentes países (Tabela 9), portadoras ou não da translocação 2NS/2AS, que vêm sendo estudadas quanto à reação à brusone. O nome e a genealogia de cada genótipo estão apresentados no Anexo 1 deste trabalho. Destes genótipos, há informações de fenotipagem para 72 deles para a severidade aos cinco e aos sete dias após a inoculação (SB_05dai e SB_07dai) utilizando a escala diagramática de Maciel et al. (2013) e esporulação (ESP) provenientes do trabalho de Kovaleski (2020). Para 21 genótipos foi contado o número total de pontos de infecção na ráquis (PIR) proveniente do trabalho de Pizolotto (2017). Ambos os trabalhos utilizaram para a inoculação o isolado Py 12.1.209 que pertence à coleção de isolados da Embrapa Trigo. Este isolado foi obtido de plantas de trigo com sintomas de brusone coletadas em 2012, no município de São Borja-RS (Rio Grande do Sul). A fenotipagem será apresentada nos Resultados e Discussão deste capítulo. Além desta coleção, duas populações segregantes F₂ ‘Linhagem 514 x BRS 404 e ‘Santa Fé x BRS 404’, apresentadas no Capítulo I, foram empregadas para o estudo de caracterização molecular.

Tabela 9. Relação da origem de linhagens e cultivares presentes neste trabalho. Passo Fundo, RS, 2022.

Origem	Linhagens/Cultivares
Australia	Eureka
Brasil	10 linhagens e BR 18, BRS 209, BRS 229, BRS 234, BRS 404, BRS Angico, BRS Buriti, Embrapa 27, Pampeano, Safira, TBIO Mestre, Trigo Chapéu
China	Shanghai
Estados Unidos	Fuller, Hyak, Jackpot, Jagger, Kronos, Santa Fé, Thatcher
França	Arche, Renan, VPM1
Islândia	Bet Dagan 131
México	151 linhagens (CIMMYT) e Anahuac 75
Peru	Huanca

4.3.2 Obtenção das plantas e extração de DNA

Dez sementes de cada genótipo foram semeadas em baldes de plástico contendo terra, substrato orgânico e vermiculita na proporção de 1:1:1 em casa-de-vegetação. Após desbaste, foram mantidas cinco plantas por balde, sendo que uma delas foi identificada como ‘planta padrão’, cujas espigas foram protegidas com envelopes de papel a fim de se evitar cruzamento e se obter sementes puras advindas de autofecundação. Aos 15 dias após semeadura, folhas das plantas selecionadas como padrão foram coletadas, transferidas para um microtubo de 2 ml contendo três esferas de aço inoxidável (de 2,3 mm de diâmetro) e congeladas imediatamente em nitrogênio líquido. O tecido vegetal foi macerado mecanicamente em uma plataforma Mini-Beadbeater™ (Biospec Products®) durante 2 minutos e 30 segundos. A extração de DNA foi realizada seguindo o protocolo baseado no método CTAB com modificações (SAGHAI-MAROOF et al., 1984; BONATO, 2008).

A concentração de DNA foi estimada utilizando o reagente Quant-iT PicoGreen® dsDNA Reagent (Invitrogen®, P7581). Para esse método, o DNA das amostras foi diluído trinta vezes (145µl de TE 10:0,2 e 5µl de DNA) e transferido para uma placa de 96 poços, a qual ficou em agitação por 10 minutos. Em seguida o DNA foi diluído quinze vezes, e acrescentou-se 5 µl da solução de PicoGreen® para cada amostra. A placa ficou em

agitação por 10 minutos e a leitura de fluorescência foi realizada no equipamento FLUOstar® Omega (BMG Labtech, Germany). Após a quantificação, a concentração do DNA foi ajustada para 25ng/μl de TE 10:0,2.

4.3.3 Análises moleculares com marcadores de DNA

Os marcadores descritos na literatura Barc212, VENTRIUP/LN2 e URIC/LN2, estão apresentados na Tabela 10. Como o marcador VENTRIUP/LN2, do tipo STS (*sequence-tagged site*), é dominante, foi usado o marcador URIC/LN2, que também é do tipo STS, porém codominante, ou seja, possibilita a identificação de indivíduos heterozigotos. O marcador do tipo SNP, Mix 144 (CIMwMAS0004), também é um marcador codominante e foi desenhado dentro da região amplificada pelo VENTRIUP/LN2. Assim, três marcadores dos marcadores empregados identificam a translocação 2NS/2AS.

Para os marcadores Barc212 e URIC/LN2, a presença e o tamanho dos alelos foram avaliados no programa GeneMapper v3.5. Foi empregado o método de três *primers*, no qual uma cauda M13 (TGT AAA ACG ACG GCC AGT) é adicionada a um dos *primers* (*forward* ou *reverse*). Na reação de amplificação, um terceiro *primer*, constituído da sequência M13 marcado com um fluoróforo (FAM, NED, PET ou VIC), é acrescentado no mix PCR (SCHUELKE, 2000). As reações de amplificação foram constituídas com concentração final de: tampão 1X, 2,5 mM MgCl₂, 0,35 mM de cada dNTP, 0,02 μM do *primer* contendo a cauda M13, 0,2 μM do *primer* sem a cauda M13, 0,2 μM do *primer* M13 marcado com um dos fluoróforos, 0,5 U de Taq DNA polimerase (Sigma-Aldrich, D4545) e 100 ng de DNA genômico em um volume final de 10 μL. A amplificação foi realizada em termociclador Veriti® 384-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems®, 4388444) com desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos, 40 ciclos de amplificação incluindo desnaturação inicial a 94°C por 30 segundos, anelamento a 62°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 45 segundos, e então, extensão final a 72°C por 15 minutos.

Uma vez finalizadas, reações de amplificação feitas com diferentes fluoróforos foram misturadas, diluídas em água, misturadas a Hi-Di formamida e ao padrão de tamanho GeneScan 500 LIZ (Applied Biosystems, 4322682). As amostras foram desnaturadas a 94°C por 5 min, incubadas em gelo por 5 minutos e submetidas à eletroforese capilar no equipamento ABI3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems®, Japan), com capilares de 36 centímetros e polímero POP7. O programa GeneMapper® v3.5 (Applied Biosystems®) foi usado para determinar o tamanho dos fragmentos.

Para os marcadores do tipo SNP (Tabela 11), foi empregado o método KASP. Neste método são usados cinco *primers*, sendo dois deles específicos ao SNP acrescidos de caudas padrão FAM (5'-GAA GGT GAC CAA GTT CAT GCT-3') ou VIC (5'-GAA GGT CGG AGT CAA CGG ATT-3') na extremidade 5'. Um terceiro *primer* localizado em uma região conservada é usado, denominado como "*primer* comum". Além desses, no kit KASP há dois *primers* marcados com os fluoróforos FAM e VIC com sequências idênticas às caudas descritas anteriormente. Os *primers* utilizados foram preparados formando um mix composto por 30 µl de *primer* comum, 12 µl do *primer* com VIC, 12 µl do *primer* com FAM e 46 µl de água MilliQ. Para cada reação é utilizado solução com 2 µl de KASP Master Mix 2X e 0,056 µl do mix preparado anteriormente. Os ensaios foram realizados em placas de 384 poços (MicroAmp Applied Biosystems®, Japan). Para cada reação foram utilizados 2 µl de DNA e 2 µl da solução de *primers* mais KASP. A PCR foi realizada em termociclador Veriti 384-well (Applied Biosystems®, 4388444), utilizando-se o seguinte protocolo: desnaturação inicial a 94°C durante 15 minutos; dez ciclos de desnaturação (94°C durante 20 segundos) e anelamento/extensão (65-57°C por 60 segundos, com redução de 0,6°C por ciclo); 26 ciclos de desnaturação (94°C durante 20 segundos) e anelamento/extensão a 57°C por 60 segundos). Após o término dos ciclos, as amostras foram resfriadas a 10°C.

Após a PCR, a leitura da fluorescência foi realizada no leitor FLUOstar® Omega, (BMG Labtech, Germany) seguindo as recomendações descritas no kit KASP e os dados foram analisados por gráficos de agrupamento escalando os valores para os eixos X e Y (<https://www.lgcgroup.com/LGCGroup/media/PDFs/Products/Genotyping/Software/An>

alysis-of-KASP-genotyping-data-using-cluster-plots.pdf?ext=.pdf) utilizando o Microsoft Excel.

4.3.4 Análises estatísticas

Foi determinado o desequilíbrio de ligação entre os marcadores empregados para identificar marcadores redundantes. Para a ‘Coleção de genótipos de trigo Embrapa’ foi usado o software TASSEL (BRADBURY et al., 2007) e para as duas populações segregantes F₂ foi usado o software ICIMapping versão 4.1 (MENG et al., 2015).

Com base no genitor resistente foi realizada uma codificação para classificar os resultados obtidos dos marcadores moleculares. Genótipos que receberam duas doses do alelo do genitor resistente pertencem à classe 2, genótipos com uma dose do alelo do genitor resistente, foram considerados heterozigotos e pertencem à classe 1 e aqueles que receberam nenhuma dose do parental resistente, ou seja, igual ao genitor suscetível formaram a classe 0. A média fenotípica de cada classe foi estimada usando o algoritmo de máxima verossimilhança restrita (REML) do pacote estatístico CropStat for Windows (INTERNATIONAL RICE RESEARCH ISTITUTE, 2007).

Tabela 10 - Marcadores moleculares descritos na literatura e empregados na caracterização de genótipos de trigo. Passo Fundo, RS, 2022.

Marcador	Primer Forward	Primer Reverse	Fluoróforo
Barc212 ¹	GGCAACTGGAGTGATATAAATACCG	CAGGAAGGGAGGAGAACAGAGG	NED
URIC/LN2 ²	GGTCGCCCTGGCTTGCACCT	TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA	PET
VENTRIUP/LN2 ²	AGGGGCTACTGACCAAGGCT	TGCAGCTACAGCAGTATGTACACAAAA	-

¹Somers, Isaac e Edwards (2004).

²Helguera et al. (2003).

Tabela 11 – Marcadores moleculares do tipo SNP empregados na caracterização de genótipos de trigo. Passo Fundo, RS, 2022.

Código	Marcador	Primer FAM	Primer VIC	Primer comum
mix144	CIMwMAS0004	CGCCGTTCCGAAYACGAGA	CGCCGTTCCGAAYACGAGG	CCCTGGCTTGCACCTTCGAC AA
mix292	cnpt_BS00022665	TGCCGATCCCAAGGGCTTC	GTTTGCCGATCCCAAGGGCTTT	TGGGGTCCTCGCACCTGTAC TT
mix334	cnpt_BS00066515	ATTCGATGTGAGCACCGTCGGT	CGATGTGAGCACCGTCGGC	ATGAAGGACCTCGACGCGG CAT
mix340	trnt_101774c0g1	GCTAGACTGATCTGTGCGAACTTG	GCTAGACTGATCTGTGCGAACTTC	CCAGAGGTGATGACAAGGG
mix345	trnt_10760_c2g1	AGTACCGGGTGCTCCTGC	AGTACCGGGTGCTCCTGT	CCAGAGGTGATGACAAGGG
mix359	trnt_10771_c0g1	TGAGCAGCACATCTCCAAGT	TGAGCAGCACATCTCCAAGC	TTTGAAGGAAACCGAGCA G
mix367	trnt_97425_c0g1	CCTGAACCAAAGGAAAAGGAGAC T	CCTGAACCAAAGGAAAAGGAGACC	CAACAGAAAGTACACCTGG AACT
mix371	trnt_10690_c8g1	CTGGTGTGGAAGCAATGGTC	CTGGTGTGGAAGCAATGGTT	TTGAAGATCTCCATGCGGTC

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Fenotipagem da ‘Coleção de genótipos de trigo Embrapa’

Dos 190 genótipos de trigos apresentados neste capítulo (Anexo 1), 72 foram fenotipados quanto as variáveis SB_05dai, SB_07dai e ESP por Kovaleski (2020) (Tabela 12). Para variável SB_05dai a média dos genótipos de trigo foi de 7,9% com uma amplitude de severidade de 0,17% a 56%, já para variável SB_07dai a média foi de 19% com a amplitude de 0,2% a 82%. A variável ESP obteve média de $14,6 \times 10^5$ com amplitude de $3,3 \times 10^5$ esporos/g de ráquis a 71×10^5 esporos/g de ráquis. E ainda dos 190 genótipos, também há dados sobre o número de pontos de infecção na ráquis para 21 deles, avaliados por Pizolotto et al. (2017) (Tabela 12), a média de PIR foi de 6,2 sendo o valor mínimo de 3,3 e o máximo de 10,3.

Tabela 12. Fenotipagem da ‘Coleção dos genótipos de trigo Embrapa’ apresentados neste capítulo. Passo Fundo, RS, 2022.

Genótipo	%_SB_05dai ¹	%_SB_07dai ¹	ESP ($\times 10^5$) ¹	PIR ²
26	1,1	1,6	21,27	-
28	16,1	35,2	9,64	-
33	12,5	29,9	27,2	-
34	56,1	80,8	71,77	-
40	5,3	11,5	40,32	-
61	12,7	23,6	22,66	4,6
79	12,7	18,1	7,22	3,5
104	16,6	45,6	18,39	-
111	4,7	15,3	3,87	-
112	2,3	3,5	9,53	-
113	5,7	5,9	21,40	-
120	1,4	8,0	2,39	-
135	42,2	73,2	33,67	3,7
143	24,6	54,9	19,62	-
151	3,6	18,1	12,95	10,3
175	7,4	9,1	2,24	9,0
184	6,7	20,2	10,37	-
189	9,5	18,4	17,56	-
190	7,1	16,0	6,90	-
208	2,1	16,6	20,72	-

(Continua)

(Continuação)

210	2,1	4,4	0,45	-
242	7,9	25,5	11,96	-
308	0,2	0,2	3,55	-
424	2,6	7,2	35,28	-
429	0,9	2,9	15,31	-
446	3,1	7,5	21,01	8,0
447	4,1	9,2	7,41	5,8
486	5,8	9,5	10,25	7,8
508	2,1	2,3	6,23	-
514	14,1	44,5	14,96	3,8
575	2,9	13,8	0,47	-
582	19,6	38,6	18,49	6,1
583	3,6	5,8	1,58	5,2
636	1,6	2,5	14,32	-
642	2,8	4,1	1,45	5,4
660	9,2	26,6	13,44	-
701	8,8	19,7	14,51	-
781	14,1	46,9	44,4	-
827	11,3	17,2	11,86	-
865	1,9	8,2	3,93	-
868	22,3	82,7	33,84	9,0
908	2,5	4,5	49,03	6,2
919	1,8	8,9	8,94	-
931	1,8	2,6	26,79	-
956	-	-	-	3,3
972	14,5	37,6	22,61	-
980	2,9	8,0	1,15	-
997	1,2	6,3	20,39	-
1049	4,9	7,3	0,19	-
1050	2,9	8,8	3,95	-
1051	4,5	15,7	3,16	-
1057	4,0	6,5	10,37	6,4
1066	3,1	4,5	14,09	8,6
1070	37,6	76,3	47,16	-
1101	1,7	3,2	27,35	-
1105	3,4	9,2	8,89	-
1138	7,2	10,5	10,19	-
1185	20,3	60,2	0,13	-
1254	1,8	3,5	1,14	-
1257	8,1	26,9	27,79	-
1285	2,6	15,8	3,54	6,5

(Conclusão)

1286	21,2	27,3	16,47	6,1
1288	-	-	-	5,8
1289	10,3	19,5	0,32	6,2
1422	0,6	1,3	1,12	-
1516	13,7	29,7	1,69	-
BRS 209	10,1	39,1	64,8	-
BRS 229	6,1	28,9	19,87	-
BRS 404	0,2	0,7	2,83	-
CB Fusarium ENT014	2,3	14,7	10,23	-
Fuller	8,3	12,4	8,62	-
Jackpot	1,3	3,3	1,05	-
Jagger	8,3	19,2	7,29	-
Santa Fé	1,4	2,1	0,71	-

¹Kovaleski (2020).

²Pizolotto et al. (2017).

4.4.2 Genotipagem através dos marcadores moleculares

No presente estudo foram avaliados dez marcadores moleculares localizados no cromossomo 2AS do trigo visando identificar um ou mais marcadores que estivessem mais próximos da região genômica associada com a resistência de trigo à brusone, do que o marcador VENTRIUP/LN2, descrito por Helguera et al. (2003). A partir dos resultados foi determinado o desequilíbrio de ligação entre os marcadores moleculares em cada conjunto de genótipos de trigo. Observou-se que alguns marcadores foram redundantes nos diferentes conjuntos de genótipos de trigo avaliados (Tabela 13). Os marcadores redundantes têm segregação idêntica na população genética e não podem contribuir para um estudo genético (MENG et al., 2015). Deste modo, serão apresentados apenas os resultados dos marcadores não redundantes.

Tabela 13. Marcadores em desequilíbrio de ligação em cada conjunto de genótipos de trigo. Passo Fundo, RS, 2022.

Código	Marcadores	Coleção	‘Linhagem 514 x BRS 404’	‘Santa Fé x BRS 404’
mix144	CIMwMAS0004	Co-segregante	Co-segregante	Co-segregante
mix292	cnpt_BS00022665			
mix334	cnpt_BS00066515	Co-segregante		
mix340	trnt_101774c0g1			
mix345	trnt_10760_c2g1			
mix359	trnt_10771_c0g1	Co-segregante		Co-segregante
mix367	trnt_97425_c0g1		Co-segregante	Co-segregante
mix371	trnt_10690_c8g1	Co-segregante		Co-segregante
	Barc212	Co-segregante		Co-segregante
	URIC/LN2	Co-segregante		

Todos os marcadores moleculares utilizados neste trabalho estão localizados no cromossomo 2AS na região da translocação 2NS/2AS. A análise para a identificação de redundância entre os marcadores moleculares nos diferentes conjuntos de trigo estudados, mostrou que nem todos os marcadores estavam em completo desequilíbrio de ligação, isso indica que houve recombinação na região da translocação 2NS/2AS, apesar de ser relatado que não há recombinação nessa região (HELGUERA et al., 2003). No trabalho de Ferreira et al. (2021), em que foram identificados QTL associados com a resistência à brusone, um único QTL foi co-localizado com o marcador VENTRIUP/LN2 (HELGUERA et al., 2003). No entanto, os demais QTL estavam na região distal do cromossomo 2AS, estando a 8,5 cM de distância do marcador 2NS. Com base na posição dos marcadores, sugere-se a presença de eventos de recombinação nessa região.

O efeito dos alelos sobre as variáveis fenotípicas foi estimado para cada marcador nos três conjuntos de genótipos de trigo deste trabalho, a saber: ‘Coleção de genótipos de trigo Embrapa’, população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ e população ‘Santa Fé x BRS 404’. No conjunto ‘Coleção de genótipos de trigo Embrapa’ não houve diferença significativa entre as classes alélicas para nenhum marcador utilizado (Tabela 14 e Figura 4). A não detecção de significância pode estar relacionada com o reduzido número de genótipos avaliados. Dos 190 genótipos caracterizados com os marcadores moleculares, apenas para 72 haviam dados das variáveis SB_05dai, SB_07dai e ESP (KOVALESKI, 2020) e, para a variável PIR, somente 21 genótipos foram avaliados (PIZOLOTTO et al., 2017). Tamanhos de amostras pequenos podem levar a resultados que não reproduzem

uma resposta definitiva e fazem com que diferenças importantes passem despercebidas (BOLFARINE; BUSSAB, 2005, p. 129). Os genótipos de trigo presentes nessa coleção provêm de diversas origens, apresentando uma alta variabilidade genética. Seria importante aumentar o número de plantas fenotipadas para esse conjunto de genótipos e a realização de experimentos com repetições, para assim melhorar a estimativa de erro experimental.

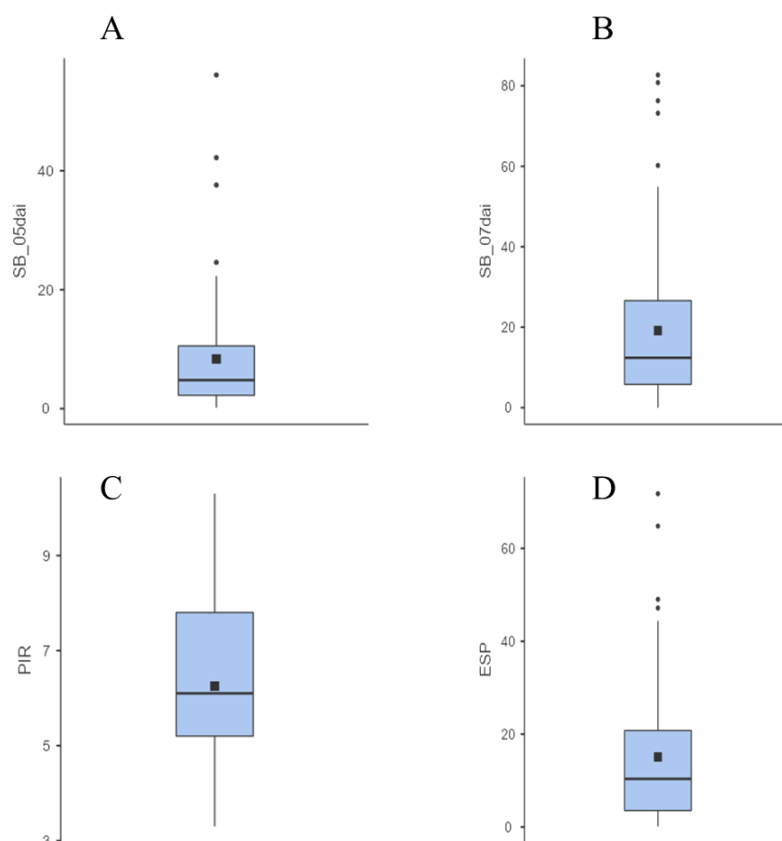
Mesmo não havendo significância entre as médias das classes 0 e 2 dos marcadores moleculares, observa-se uma tendência entre os valores apresentados. Para as variáveis SB_05dai, SB_07dai e ESP a tendência foi que genótipos da classe 0 apresentaram severidade e esporulação maiores que aqueles da classe 2. Já para a variável PIR aqueles da classe 2 apresentaram maior número de PIR do que os da classe 0 (Tabela 14). Essa tendência segue a hipótese esperada de que os genótipos agrupados na classe 2 apresentam fenótipo resistente, ao contrário daqueles da classe 0 que apresentam o fenótipo de suscetibilidade.

Tabela 14. Comparação de médias das variáveis fenotípicas entre as classes de marcadores moleculares considerados na caracterização da “Coleção de genótipos de trigo Embrapa” e estatísticas descritivas das variáveis fenotípicas. Passo Fundo, RS, 2022.

Marcador	Classe	SB_05dai		SB_07dai		PIR		ESP	
mix144	0	10,52	a	21,23	a	1,95	a	20,63	a
	2	6,70	a	15,82	a	6,79	a	12,09	a
mix292	0	11,78	a	23,73	a	1,95	a	24,15	a
	2	6,64	a	15,56	a	6,79	a	11,78	a
mix340	0	10,12	a	20,39	a	4,08	a	22,07	a
	2	6,78	a	16,03	a	6,74	a	11,42	a
mix345	0	11,42	a	20,67	a	5,48	a	18,24	a
	2	6,58	a	15,68	a	6,62	a	12,07	a
mix367	0	9,51	a	19,16	a	1,95	a	20,22	a
	2	7,13	a	16,61	a	6,72	a	12,51	a
N		72		72		21		72	
EP		1,16		2,32		0,43		1,77	
DP		9,87		19,8		1,95		15,00	

N=número total de genótipos fenotipados; EP= erro padrão da média; DP=desvio padrão.

Figura 4. Dispersão dos dados para a ‘Coleção de genótipos de trigo Embrapa’ para as variáveis: A, Severidade de branqueamento de espigas aos cinco dias após inoculação, expressa em porcentagem; B, Severidade de branqueamento de espigas aos sete dias após inoculação, expressa em porcentagem; C, Número total de pontos de infecção na ráquis e D, Número total de esporos ($\times 10^5$) por grama de ráquis. Passo Fundo, RS, 2022.



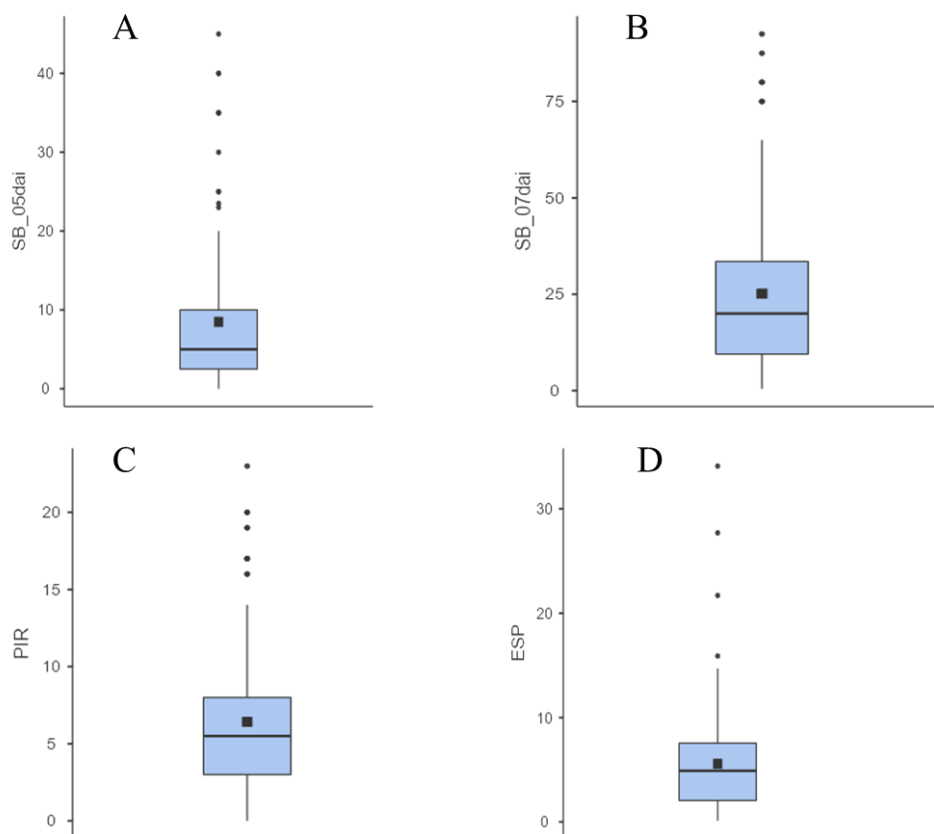
Para as populações segregantes houve diferença significativa para as classes alélicas para todos os marcadores moleculares em ao menos uma variável fenotípica (Tabelas 15 e 16 e Figuras 5 e 6). Na população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ todos os marcadores apresentaram diferença significativa para classes 0 e 2 na variável ESP. Para as variáveis SB_07dai e PIR, com exceção dos marcadores Barc212 e mix 345, todos apresentaram diferença significativa entre as classes 0 e 2. E os marcadores mix340 e mix359 apresentaram diferença entre classes para a variável SB_05dai, inclusive esses dois marcadores foram os únicos que apresentaram diferença significativa em ao menos duas classes para todas as variáveis (Tabela 15). Esse fato mostra a importância desses dois marcadores em relação as variáveis fenotípicas nessa população.

Tabela 15. Comparação de médias das variáveis fenotípicas entre as classes de marcadores moleculares considerados na caracterização da população de linhagens segregantes de trigo F₂ ‘Linhagem 514 x BRS 404’ e estatísticas descritivas das variáveis fenotípicas. Passo Fundo, RS, 2022.

Marcador	Classe	SB_05dai		SB_07dai		PIR		ESP	
Barc212	0	8,39	a	26,54	a	5,93	a	56,32	a
	2	7,67	a	20,32	a	7,68	a	38,99	b
mix144	0	11,67	a	41,34	a	2,94	a	75,17	a
	1	7,44	a	20,51	bc	7,52	bc	47,17	bc
	2	6,28	a	17,10	c	7,67	c	37,48	c
mix292	0	11,67	a	41,34	a	2,94	a	75,17	a
	1	7,44	a	20,51	bc	7,52	bc	47,17	bc
	2	6,28	a	17,10	c	7,67	c	37,48	c
mix334	0	9,59	a	36,80	a	2,98	a	65,63	a
	1	7,93	a	22,87	bc	7,27	bc	53,47	ab
	2	7,58	a	18,98	c	7,45	c	35,83	b
mix340	0	11,67	a	41,34	a	2,94	a	65,63	a
	2	7,02	b	19,27	b	7,58	b	43,63	b
mix345	0	8,42	a	27,02	a	5,90	a	56,98	a
	2	7,58	a	18,98	a	7,45	a	35,83	b
mix359	0	11,67	a	41,34	a	2,94	a	75,17	a
	1	6,73	b	19,41	bc	7,64	bc	47,61	bc
	2	7,58	ab	18,98	c	7,45	c	35,83	c
mix371	0	11,67	a	41,34	a	2,94	a	75,17	a
	1	7,34	a	20,02	bc	7,60	bc	46,90	bc
	2	6,38	a	17,78	c	7,53	c	37,23	c
URIC/LN2	0	10,23	a	36,37	a	3,95	a	69,47	a
	1	7,08	a	19,51	bc	7,35	bc	46,93	bc
	2	7,66	a	20,32	c	7,67	c	38,99	c
N		115		115		115		115	
EP		0,872		1,96		0,477		0,486	
DP		9,35		21,0		5,11		5,21	

N=número total de genótipos fenotipados; EP= erro padrão da média; DP=desvio padrão.

Figura 5. Dispersão dos dados para a população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ para as variáveis: A, Severidade de branqueamento de espigas aos cinco dias após inoculação, expressa em porcentagem; B, Severidade de branqueamento de espigas aos sete dias após inoculação, expressa em porcentagem; C, Número total de pontos de infecção na ráquis; e, D, Número total de esporos ($\times 10^6$) por grama de ráquis. Passo Fundo, RS, 2022.



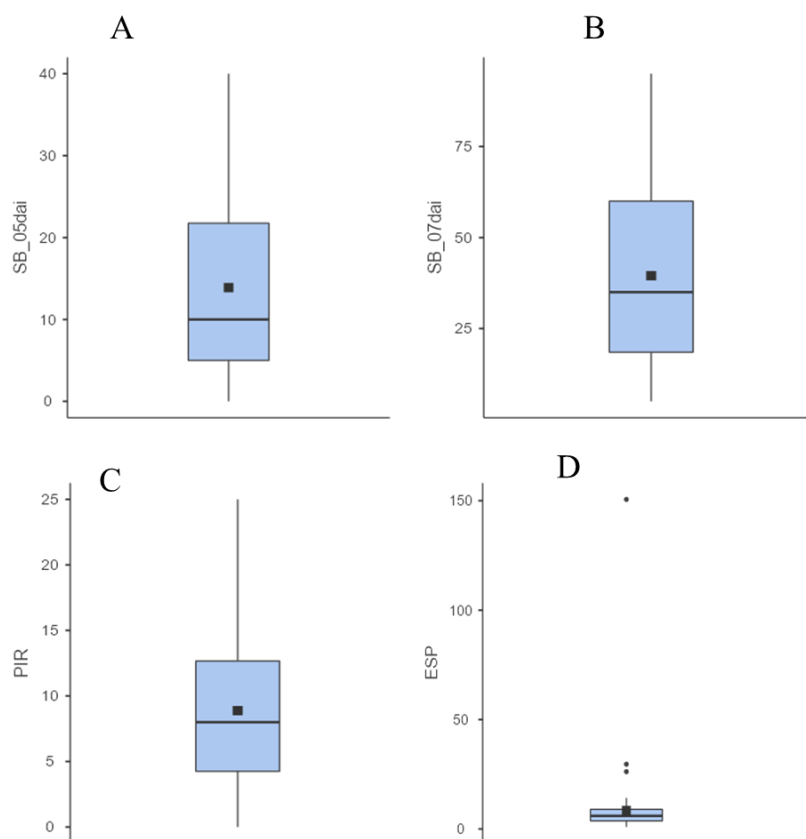
Na população ‘Santa Fé x BRS 404’ todos os marcadores empregados apresentaram diferenças entre as classes 0 e 2 nas variáveis PIR e, com exceção do marcador mix292, todos os marcadores mostraram diferenças entre essas classes para a variável ESP (Tabela 16). Quatro marcadores (mix144, mix334, mix340 e URIC/LN2) mostraram diferença significativa entre as classes 0 e 2 para a variável SB_05dai e apenas dois marcadores (mix144 e mix334) mostraram essa diferença para variável SB_07dai. Observa-se que os marcadores mix144 e mix334 apresentaram diferença significativa para as classes 0 e 2 para todas as variáveis, destacando esses dois marcadores em relação as variáveis fenotípicas.

Tabela 16. Comparação de médias das variáveis fenotípicas entre as classes de marcadores moleculares considerados na caracterização da população de linhagens segregantes de trigo F₂ ‘Santa Fé x BRS 404’ e estatísticas descritivas das variáveis fenotípicas. Passo Fundo, RS, 2022.

Marcador	Classe	SB_05dai		SB_07dai		PIR		ESP	
mix144	0	17,16	a	46,54	a	4,48	a	99,08	a
	1	13,39	ab	38,25	ab	9,84	bc	60,86	bc
	2	10,02	b	32,10	b	11,44	c	49,99	c
mix292	0	12,25	a	36,50	a	3,17	a	84,38	a
	1	13,70	a	38,82	a	11,09	bc	63,48	a
	2	13,76	a	39,38	a	8,83	c	68,07	a
mix334	0	17,16	a	46,54	a	4,48	a	99,08	a
	1	13,39	ab	38,25	ab	9,84	bc	60,86	bc
	2	10,02	b	32,10	b	11,44	c	49,99	c
mix340	0	17,16	a	46,54	a	4,48	a	99,08	a
	1	15,00	ab	60,00	a	9,00	ab	85,35	ab
	2	12,26	b	35,89	a	10,38	b	56,91	b
mix345	0	14,76	a	41,25	a	7,90	a	74,35	a
	2	10,02	a	32,10	a	11,44	b	49,99	b
URIC/LN2	0	16,02	a	43,72	a	4,56	a	93,07	a
	1	13,88	ab	39,31	a	10,19	bc	62,68	bc
	2	9,92	b	31,45	a	11,27	c	48,38	c
N		91		91		91		91	
EP		1,20		2,62		0,60		1,66	
DP		11,50		25,00		5,67		15,80	

N: número total de genótipos fenotipados; EP: erro padrão da média; DP: desvio padrão.

Figura 6. Dispersão dos dados para a população ‘Santa Fé x BRS 404’ para as variáveis: A, Severidade de branqueamento de espigas aos cinco dias após inoculação, expressa em porcentagem; B, Severidade de branqueamento de espigas aos sete dias após inoculação, expressa em porcentagem; C, Número total de pontos de infecção na ráquis; e, D, Número total de esporos ($\times 10^6$) por grama de ráquis. Passo Fundo, RS, 2022.



Na população ‘Santa Fé x BRS 404’ a variável SB_05dai foi mais bem discriminada entre os marcadores moleculares do que a variável SB_07dai. Do resultado dos seis marcadores nessa população, quatro (66%) mostraram diferença significativa entre as médias das classes 0 e 2 para a variável SB_05dai, e apenas dois (40%) mostraram diferença na média das classes 0 e 2 para a variável SB_07dai (Tabela 15). Nesse caso, pode-se inferir que a severidade de branqueamento em genótipos com o parental Santa Fé já mostra diferença, no desenvolvimento da doença, entre aqueles resistentes e suscetíveis, nos primeiros dias após a infecção. Já na população ‘Linhagem 514 x BRS 404, do resultado dos nove marcadores, apenas dois (22%) apresentaram diferença para SB_05dai, enquanto sete marcadores (78%) mostraram diferença entre as classes 0 e 2

para SB_07dai (Tabela 16). Nesse caso, nos genótipos derivados do genitor Linhagem 514, o desenvolvimento da doença ocorre mais lentamente.

Em ambas as populações, observa-se que para todos os marcadores, a classe 2, que agrupa genótipos com os fenótipos de resistência, apresentou maior média de PIR em relação a classe 0. Essa variável só foi associada com a resistência à brusone de trigo recentemente no trabalho de Ferreira et al. (2020). Esse resultado reforça a informação de que genótipos de trigo resistentes à brusone apresentam maior número de PIR do que genótipos suscetíveis à doença.

Para a variável ESP, nas duas populações houve diferença significativa entre as classes resistente e suscetível em todos os marcadores, com exceção do marcador mix292. Essa característica tem sido alvo de estudos de viabilidade de esporos de *M. oryzae* em restos culturais e no potencial de cada conídio em gerar uma nova lesão de brusone (KOVALESKI et al., 2020; PIZOLOTTO et al., 2019). Em relação a resistência genética à brusone associada à característica de esporulação, estudos são incipientes. Maciel et al. (2021) avaliaram a ESP e a resistência à brusone, porém, não foi possível estabelecer uma relação entre a esporulação e a severidade causada pela doença. Contudo, no presente trabalho, pode-se observar que houve diferença significativa para essa variável. Genótipos classificados como resistentes apresentaram menor esporulação do patógeno do que os agrupados na classe 0, como suscetíveis. Em diferentes patossistemas, essa relação é esperada. Em trabalho de Ye et al. (2021), foi avaliada a esporulação das doenças ferrugem da folha (*Puccinia triticina*) e ferrugem estriada (*Puccinia striiformis*. sp. *tritici*), e foram considerados resistentes aqueles genótipos que tiveram menor esporulação ou nenhuma esporulação. Essa característica tem sido avaliada em diferentes doenças, em que genótipos resistentes apresentam menor esporulação do que aqueles considerados suscetíveis (JULIATTI et al., 2019; MENDONÇA et al., 2019; SAIFERT et al., 2018).

O marcador Barc212 descrito por Somers, Isaac e Edwards (2004), é um importante marcador presente no cromossomo 2AS do trigo, e tem sido utilizado em diferentes estudos associado a genes de resistência para doenças do trigo como oídio e

ferrugem estriada (CHEN et al., 2009; HE et al., 2017). No trabalho de Ferreira et al. (2021) o marcador Barc212, foi localizado na posição distal do cromossomo 2AS, sendo o primeiro marcador desse cromossomo. Além disso, sete marcadores não redundantes foram alocados entre ele e o marcador da 2NS (VENTRIUP/LN2). Barc212 esteve associado com a maioria dos QTL de resistência à brusone de trigo identificados. No entanto, no presente trabalho, Barc212 só mostrou diferença significativa entre genótipos resistentes e suscetíveis para a variável ESP na população ‘Linhagem 514 x BRS 404’.

Foi possível observar que para alguns marcadores houve diferença nas classes 0 e 1. Na população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ essa diferença foi encontrada para o mix359 com a variável SB_05dai, e para os marcadores mix144, mix292, mix334, mix359, mix371 e URIC/LN2 com as variáveis SB_07dai e PIR. Com a variável ESP, houve diferença para os marcadores mix144, mix292, mix359, mix371 e URIC/LN2. Na população ‘Santa Fé x BRS 404’, os marcadores mix144, mix334 e URIC/LN2 mostraram diferença entre as classes 0 e 1 com as variáveis PIR e ESP. Em ambas as populações, não foi observada diferença significativa entre as classes 1 e 2.

Esses resultados foram possíveis pelo emprego de marcadores do tipo codominante. Marcadores codominantes tem vantagens sobre marcadores dominantes, pois possibilitam diferenciar indivíduos homozigotos e heterozigotos (BUSO et al., 2003; KUMAR et al., 2009; ARTI et al., 2018). O desenvolvimento de marcadores codominantes para genes de resistência é uma vantagem no melhoramento genético de plantas (DRACATOS et al., 2020). Esses marcadores são mais informativos, principalmente quando se utiliza uma população segregante onde há genótipos heterozigotos. No caso, a característica de resistência à brusone é conferida por um alelo dominante (R). Genótipos classificados na classe 1 receberam um alelo dominante para a resistência (R₋), enquanto que aqueles da classe 2 receberam dois alelos dominantes para resistência (RR). As médias dos fenótipos de ambas as classes genóticas não puderam ser diferenciados estatisticamente.

Esse trabalho teve como objetivo a identificação de um marcador mais próximo do(s) gene(s) presente(s) na 2NS que melhor explicasse o fenótipo da resistência à

brusone. Quatro marcadores: mix 340 e mix 359 na população ‘Linhagem 514 x BRS 404’ e mix 144 e mix 334 na população ‘Santa Fé x BRS 404’ apresentarem diferença significativa para todas as variáveis estudadas. Como o marcador mix 340 teve um comportamento dominante, sendo menos informativo que um marcador codominante e o marcador mix 144 é baseado no marcador VENTRIUP/LN2, destacaram-se os marcadores mix 359 e mix 334 nas populações ‘Linhagem 514 x BRS 404’ e ‘Santa Fé x BRS 404’, respectivamente. Esses dois marcadores podem ser empregados em trabalhos futuros. Ainda, como alternativas, poderia ser avaliado um número maior de marcadores nesta região, assim como serem consideradas populações maiores de genótipos de trigo.

Conclusão

Os resultados da análise de desequilíbrio de ligação dos marcadores moleculares empregados neste estudo apontam a presença de recombinação na região da translocação 2NS/2AS. Com o emprego marcadores codominantes, foi possível observar que a resistência à brusone, com base na translocação 2NS/2AS, é conferida por um alelo dominante. Dois marcadores (mix 359 e mix 334) destacaram-se por apresentarem diferença significativa entre genótipos classificados como resistentes e suscetíveis para todas as variáveis fenotípicas estudadas. Uma alternativa para trabalhos futuros seria utilizar esses dois marcadores localizados na região da translocação 2NS em populações segregantes maiores e também em coleções de genótipos de trigo com maior número de dados fenotípicos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Capítulo I, a herança da resistência genética conferida pela 2NS foi estudada em duas populações segregantes derivadas de genitores contrastantes quanto à reação à brusone, onde os genitores resistentes possuem a translocação 2NS. Houve variação na resposta de resistência entre as duas populações. Para a população com o genitor Linhagem 514, a segregação de um alelo dominante, conferindo resistência à brusone, foi observada para a variável de severidade de branqueamento, enquanto que para a população com o genitor Santa Fé essa mesma segregação foi observada para a variável de número de pontos de infecção na ráquis. Considerando que o parental suscetível é o mesmo para as duas populações, esse resultado é provavelmente devido à influência do genótipo empregado como genitor resistente. Tem se observado que a resistência baseada na translocação 2NS/2AS pode depender do *background* genético. Os parentais resistentes são oriundos de cruzamentos diferentes, sendo assim, dois *backgrounds* distintos. Outra possibilidade a se considerar é a de que a segregação 3R:1S observada para diferentes variáveis fenotípicas associadas à resistência à brusone nas duas populações estudadas seja devido ao fato de que o(s) gene(s) que controla(m) as características de severidade do branqueamento e de número de pontos de infecção na ráquis não são os mesmos.

A identificação de plantas com fenótipo de suscetibilidade à brusone e apresentando o marcador VENTRIUP/LN2, desenvolvido para a identificação da translocação 2NS/2AS, conduziu ao objetivo do Capítulo II de identificar marcadores que melhor explicassem o fenótipo de resistência conferido pela referida translocação. Uma coleção de genótipos de trigo de diferentes origens e as duas populações segregantes F₂ foram caracterizadas com dez marcadores moleculares localizados na região da translocação, sendo dois deles baseados no marcador VENTRIUP/LN2. Os resultados encontrados nesse estudo mostraram que houve recombinação na região estudada, o que explica as variações de reação de resistência em alguns genótipos portadores do fragmento 2NS.

Para a ‘Coleção de genótipos de trigo Embrapa’ não houve diferença significativa entre os genótipos classificados pelos marcadores como resistentes daqueles suscetíveis. Isso se deve provavelmente ao baixo número de genótipos fenotipados nessa coleção. Já para as populações segregantes, todos os marcadores foram eficientes na discriminação entre as classes resistente e suscetível. Esse trabalho reforça a importância da variável PIR como característica de resistência à brusone, sendo que todos os genótipos agrupados como resistente tiveram médias maiores para essa variável. Destaca-se também o fato de que para a variável ESP, exceto um marcador, todos os marcadores moleculares, em ambas as populações segregantes, mostraram diferença significativa entre as classes resistente e suscetível, com os resistentes apresentando menores médias. Esse resultado indica que a esporulação de *Magnaporthe oryzae* em trigo pode estar associada como uma característica de resistência à brusone.

Dois marcadores moleculares se destacaram por apresentarem diferença significativa para todas as variáveis fenotípicas estudadas, explicando melhor os fenótipos resistente e suscetível. Com o uso de marcadores codominantes, foi possível observar que a resistência à brusone é conferida por um alelo dominante. Esses marcadores avaliados poderão ser empregados em novos estudos com maior número de genótipos de trigo, visto a importância desta região da translocação 2NS/2AS na resposta de resistência à brusone de trigo.

A análise de segregação desenvolvida no Capítulo I mostrou, em ao menos duas variáveis associadas à resistência à brusone de trigo, que essa característica pode ser conferida por um alelo dominante. O uso de marcadores codominantes no Capítulo II permitiu observar que não houve diferença estatística entre os genótipos que receberam um ou dois alelos de resistência. Esses resultados apontam que o(s) gene(s) presente(s) na translocação 2NS/2AS para resistência à brusone são de caráter dominante.

6 CONCLUSÃO GERAL

No Capítulo I, foi observado que a herança da resistência à brusone conferida pela 2NS pode apresentar uma segregação de 3R:1S, sugerindo que um gene de efeito maior confere a resistência. Porém, houve diferença entre as duas populações estudadas quanto à variável fenotípica apresentando essa segregação. Assim, a herança da resistência à brusone conferida pela 2NS mostrou-se depender do *background* genético. Além disso, os resultados mostraram que as variáveis severidade de branqueamento e número de pontos de infecção na ráquis podem ser características de resistência conferidas por genes diferentes.

No Capítulo II, os resultados com base no desequilíbrio de ligação dos marcadores moleculares, localizados na região da translocação 2NS/2AS, apontaram a existência de recombinação nessa região. Todos os marcadores moleculares utilizados foram eficientes na detecção de genótipos resistentes à brusone de trigo, destacando-se dois deles (mix 334 e mix 359) como melhores em explicar os fenótipos resistente e suscetível. A utilização de marcadores codominantes permitiu observar que a resistência à brusone baseada na translocação 2NS/2AS é conferida por um alelo dominante.

Os resultados obtidos nos dois capítulos deste trabalho apontam que o(s) gene(s) presente(s) na translocação 2NS/2AS para resistência à brusone são de caráter dominante, apresentando uma segregação 3:1. Os resultados obtidos reforçam a associação da variável número de pontos de infecção na ráquis como uma característica de resistência à brusone de trigo, e indicam o potencial de uso da variável esporulação do patógeno também como uma característica de resistência a essa doença.

REFERÊNCIAS

ACEVEDO, E.; SILVA, P.; SILVA, H. Growth and wheat physiology, development. In: CURTIS, B. C.; RAJARAM, S.; GÓMEZ-MACPHERSON, H. (ed.). Bread wheat: improvement and production. FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). **Plant Production and Protection**, p. 1-47, 2002.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. Oxford: Elsevier Academic Press, 2004.

AGROFIT. 2021. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso: 17 março 2021.

ALIAKBARI, S.; DADKHODAIE, A.; HEIDARI, B. Phenotypic and genetic diversity of leaf rust resistance in wheat wild relatives. **Journal of Phytopathology**, v. 168, n. 7-8, p. 428-438, 2020.

ANH, V. L.; ANH, N. T.; TAGLE, A. G.; VY, T. T. P.; INOUE, Y., TAKUMI, S.; CHUMA, I.; TOSA, Y. Rmg8, a New Gene for Resistance to *Triticum* Isolates of *Pyricularia oryzae* in Hexaploid Wheat. **Phytopathology**, v. 105, n. 12, p. 1568-1572, 2015.

ANH, V. L.; INOUE, Y.; ASUKE, S.; VY, T. T. P.; ANH, N. T.; WANG, S.; CHUMA, I.; TOSA, Y. Rmg8 and Rmg7, wheat genes for resistance to the wheat blast fungus, recognize the same avirulence gene AVR-Rmg8. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, n. 5, p. 1252–1256, 2018.

ARTI, D.; SHARMA, K.; KHAR, S. Molecular markers: Role in plant sciences. **IJCS**, v. 6, n. 6, p. 1328-1336, 2018.

ASHKANI, S.; YUSOP, M. R.; SHABANIMOFRAD, M.; HARUN, A. R.; SAHEBI, M.; LATIF, M. A. Genetic analysis of resistance to rice blast: a study on the inheritance of resistance to the blast disease pathogen in an F₃ population of rice. **Journal of Phytopathology**, v. 163, n. 4, p. 300-309, 2015.

BALDELOMAR, D.; CARDENAS, S.; QUISPE, K. Caracterización de genotipos de trigo (*Triticum aestivum*) con resistencia a *Pyricularia* durante el Verano 2014/2015 en Quirusillas, Santa Cruz, Bolivia. **Revista Científica de Investigación INFO-INIAF**, v. 1, p. 17, 2015.

BARIANA, H. S.; MCINTOSH, R. A. Cytogenetic studies in wheat. XV. Location of rust resistance genes in VPM1 and their genetic linkage with other disease resistance genes in chromosome 2A. **Genome**, v. 36, n. 3, p. 476-482, 1993.

BHATTACHARYA, R.; PAL, S. **Deadly wheat blast symptoms enters India through the Bangladesh border, Bengal govt burning crops on war footing**, 2017. Kolkata: Hindustan Times. Disponível em: <<https://bit.ly/2HtIVcs>>.

BOLFARINE, H.; OLIVEIRA BUSSAB, W. de. **Elementos de amostragem**. Editora Blucher, 2005.

BONATO, A. L. V. **Extração de DNA genômico de cereais de inverno na Embrapa Trigo**. Passo Fundo, Brazil: Embrapa Trigo. Comunicado Técnico online, 235. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPT-2010/40600/1/p-co235.pdf>> Acesso em: 24 out. 2020.

BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa: UFV, 2001.

BRADBURY, P. J.; ZHANG, Z.; KROON, D. E.; CASSTEVENS, T. M.; RAMDOSS, Y.; BUCKLER, E. S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics**, v. 23, n. 19, p. 2633-2635, 2007.

BUSO, G. S. C.; CIAMPI, A. Y.; MORETZSOHN, M. D. C.; AMARAL, Z. D. S.; BRONDANI, R. V. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Biotecnol. Cienc. Desenvolv**, v. 6, p. 46-50, 2003.

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

CARDOZO-TÉLLEZ, L.; CHAVEZ, A.; BOBADILLA, N.; PÉREZ-ESTIGARRIBIA, P.; KOHLI, M. Variable resistance of bread wheat (*Triticum aestivum*) lines carrying 2NS/2AS translocation to wheat blast. **Plant Breeding**, v. 138, n. 1, p. 62-68, 2019.

CASTROAGUDÍN, V. L.; CERESINI, P. C.; OLIVEIRA, S. C.; REGES, J. T.; MACIEL, J. L. N.; BONATO, A. L. V.; DORIGAN, A. F.; McDONALD, B. A. Resistance to QoI fungicides is widespread in Brazilian populations of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 3, p. 284-294, 2015.

CERESINI, P. C.; CASTROAGUDÍN, V. L.; RODRIGUES, F. Á.; RIOS, J. A.; AUCIQUE-PÉREZ, E. C.; MOREIRA, S. I.; ALVES, E.; CROLL, D.; MACIEL, J. L. N. Wheat Blast: Past, Present, and Future. **Annual Review of Phytopathology**, v. 56, n. 1, p. 427-456, 2018.

CHÁVEZ, A. R.; MOHAN-KOHLI, M. Patogenicidad de *Magnaporthe oryzae* en variedades y líneas de trigo cultivadas en Paraguay. **Revista mexicana de fitopatología**, v. 36, n. 2, p. 276-286, 2018.

CHEN, H.; YANG, W.; WANG, M.; JING, J. Inheritance analysis and molecular mapping of stripe rust resistance gene in wheat differential host Heines peko from Europe. **Acta Phytopathologica Sinica**, v. 39, n. 3, p. 278-284, 2009.

CHOI, J.; PARK, S. Y.; KIM, B. R.; ROH, J. H.; OH, I. S.; HAN, S. S.; LEE, Y. H. Comparative analysis of pathogenicity and phylogenetic relationship in *Magnaporthe grisea* species complex. **PloS one**, v. 8, n. 2, p. e57196, 2013.

COLL, N. S.; EPPLE P.; DANGL, J. L. Programmed cell death in the plant immune system. **Cell Death and Differentiation** v.18, ed. 8, p. 1247-1256, 2011.

CONAB. **Portal de informações agropecuárias**. 2019b. Disponível em: <<https://bit.ly/3lb7uOS>>. Acesso em: 21 dez. 2019.

_____. Companhia Nacional de Abastecimento. **Portal de informações agropecuárias**. 2019b. Disponível em: <<https://bit.ly/3lb7uOS>>. Acesso em: 13 dez. 2020.

_____. **Portal de Informações Agropecuárias**. Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/>. Acesso em: 20 out 2020.

_____. **Série Histórica das Safras**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/infoagro/safras/serie-historica-das-safras>. Acesso em: 20 out. 2020.

CONDÉ, A. B. T.; ANDRADE, A. T.; MARTINS, F. A. D.; SOARES SOBRINHO, J.; MORESCO, E. R.; CAIXETA, C. G. Trigo de sequeiro: potencialidades. **Informe Agropecuário**, v. 34, p. 24-29, 2013.

COELHO, M. A. de O.; TORRES, G. A. M.; CECON, P. R.; SANTANA, F. M. Sowing date reduces the incidence of wheat blast disease. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 631–637, 2016.

COOK, D. E.; MESARICH, C. H.; THOMMA, B. P. H. J. Understanding plant immunity as a surveillance system to detect invasion. **Annu. Rev. Phytopathol**, v. 53, p. 541-563, 2015.

CORITON, O.; JAHIER, J.; LCONTE, M.; HUTEAU, V.; TROTOUX, G.; DEDRYVER, F.; DE-VALLAVIEILLE-POPE, C. Double dose efficiency of the yellow

rust resistance gene Yr17 in bread wheat lines. **Plant Breeding**, v. 139, n. 2, p. 263-271, 2020.

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

CROPSTAT for windows: Tutorial manual 2007. Crop Research Informatics Laboratory. **International Rice Research Institute**, 2007.

CRUPPE, G.; SILVA, P.; LEMES DA SILVA, C.; PETERSON, G.; PEDLEY, K. F.; CRUZ, C. D.; VALENT, B. Genome-wide association reveals limited benefits of pyramiding the 1B and 1D loci with the 2NvS translocation for wheat blast control. **Crop Science**, v. 61, n. 2, p. 1089-1103, 2021.

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L.; SCHEEREN, P. L. Resistência parcial à brusone de genótipos de trigo comum e sintético nos estádios de planta jovem e de planta adulta. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, p. 024-031, 2010.

CRUZ, C. D.; BOCKUS, W. W.; STACK, J. P.; TANG, X.; VALENT, B.; PEDLEY, K. F.; PETERSON, G. L. Preliminary assessment of resistance among US wheat cultivars to the *Triticum pathotype* of *Magnaporthe oryzae*. **Plant disease**, v. 96, n. 10, p. 1501-1505, 2012.

CRUZ, C. D.; PETERSON, G. L.; BOCKUS, W. W.; KANKANALA, P.; DUBCOVSKY, J.; JORDAN, K. W.; AKHUNOV, E.; CHUMLEY, F.; BALDELOMAR, F. D.; VALENT, B. The 2NS Translocation from *Aegilops ventricosa* Confers Resistance to the *Triticum Pathotype* of *Magnaporthe oryzae*. **Crop science**, v. 56, n. 3, p. 990–1000, 2016a.

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

CRUZ, C. D.; SANTANA, F. M.; TODD, T. C.; MACIEL, J. L. N.; KIYUNA, J.; BALDELOMAR, D. F.; CRUZ, A. P.; LAU, D.; SEIXAS, C. S.; GOULART, A. C.; SUSSEL, A. A.; SCHIPANSKI, C. A.; CHAGAS, D. F.; COELHO, M.; MONTECELLI, T. D. N.; UTIAMADA, C.; CUSTODIO, A. P.; RIVANADEIRA, M. G.; BOCKUS, W. W.; VALENT, B. Multi-environment assessment of fungicide performance for managing wheat head blast (WHB) in Brazil and Bolivia. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, p. 183-191. 2018.

CUMAGUN, C. J. R.; ANH, V. L.; VY, T. T. P.; INOUE, Y.; ASANO, H.; HYON, G. S.; TOSA, Y. Identification of a hidden resistance gene in tetraploid wheat using

laboratory strains of *Pyricularia oryzae* produced by backcrossing. **Phytopathology**, v. 104, n. 6, p. 634-640, 2014.

DEAN, R.; VAN KAN, J. A. L.; PRETORIUS, Z. A.; HAMMOND-KOSACK, K. E.; DI PIETRO, A.; SPANU, P. D.; RUDD, J. J.; DICKMAN, M.; KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G. D. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular plant pathology**, v. 13, n. 4, p. 414-430, 2012.

DEVANNA, B. N.; SHARMA, T. R. Wheat blast disease management: cues from the advancements in molecular biology of rice-*Magnaporthe* pathosystem. **Journal of plant biochemistry and biotechnology**, p. 1-11, 2018.

DONG, L.; HUO, N.; WANG, Y.; DEAL, K.; LUO, M. C.; WANG, D.; ANDERSON, O. D.; GU, Y. Q. Exploring the diploid wheat ancestral A genome through sequence comparison at the high-molecular-weight glutenin locus region. **Molecular Genetics Genomics**, v. 287, p. 855-866, 2012.

DOS ANJOS, J. R. N.; DA SILVA, D. B.; CHARCHAR, M. J. D. A.; RODRIGUES, G. C. Ocorrência de brusone (*Pyricularia grisea*) em trigo e centeio na região dos cerrados do Brasil Central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 79-82, 1996.

DRACATOS, P. M.; PARK, R. F.; SINGH, D. Validating molecular markers for barley leaf rust resistance genes *Rph20* and *Rph24*. **Plant Disease**, v. 105, n. 4, p. 743-747, 2021.

ELLIS, J.; DODDS, P.; PRYOR, T. Structure, function and evolution of plant disease resistance genes. **Current opinion in plant biology**, v. 3, n. 4, p. 278-284, 2000.

FERNANDES, J. M. F.; NICOLAU, M.; PAVAN, W. M.; AMARAL, C.; KARREL, M. DE VARGAS, F.; TSUKAHARA, R. Y. A weather-based model for predicting early season inoculum build-up and spike infection by the wheat blast pathogen. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, p. 230-237, 2017.

FERREIRA, J. R.; DEUNER, C. C.; TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; CASASSOLA, A.; FERNANDES, J. M. C.; SEIXAS, C. D. S. Influência do estágio fenológico na intensidade da brusone e mecanismos de resistência em trigo. In: Reunião da comissão brasileira de pesquisa de trigo e triticale, 10, 2016, Londrina. **Anais...** Londrina: Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale, 2016a.

FERREIRA, J. R.; TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; BINNECK, E.; CAMILOTTI, G. A.; SCAGLIUSI, S. M. M.; de OLIVEIRA COELHO, M. A. (2020) **Genetic and molecular basis of wheat–*Magnaporthe oryzae* *Triticum* interaction**. In: KUMAR, S., KASHYAP, P.L. AND SINGH, G.P. (Eds.) *Wheat Blast*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp. 69–104.

FERREIRA, J. R.; TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; CAMILOTTI, G. A.; SCAGLIUSI, S. M. M.; NHANI JR, A.; NICHOLSON, P. Quantitative trait loci conferring blast resistance in hexaploid wheat at adult plant stage. **Plant Pathology**, v. 70, n. 1, p. 100-109, 2021.

FLOR, H. H. Current Status of the Gene-For-Gene Concept. **Annual Review of Phytopathology**, v. 9, n. 1, p. 275–296, 1971.

GODDARD, R.; STEED, A.; CHINOY, C.; FERREIRA, J. R.; SCHEEREN, P. L.; MACIEL, J. L. N.; NICHOLSON, P. Dissecting the genetic basis of wheat blast resistance in the Brazilian wheat cultivar BR 18-Terena. **BMC Plant Biology**, v. 20, n. 1, p. 1-15, 2020.

GOMES, D. P.; ROCHA, V. S.; PEREIRA, O. L.; DE SOUZA, M. A. Danos da brusone do trigo na produtividade e na qualidade das sementes em função do inóculo inicial no campo. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 1, 2017.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. De A.; MESQUITA, A. N. de. Ocorrência da brusone (*Pyricularia oryzae*) do trigo (*Triticum aestivum*) em Mato Grosso do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 112-114, 1990.

GOULART, A. C. P.; PAIVA, F. A. Perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. **Summa Phytopathologica**, v. 26, n.2, p. 279-282, 2000.

GOULART, A. C. P.; SOUSA, P. G.; URASHIMA, A. S. Danos em trigo causados pela infecção de *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 4, p. 358-363, 2007.

HE, F.; BAO, Y.; QI, X.; MA, Y.; LI, X.; WANG, H. Molecular cytogenetic identification of a wheat–*Thinopyrum ponticum* translocation line resistant to powdery mildew. **J. Genet**, v. 96, p. 165-169, 2017.

HE, X.; KABIR, M. R.; ROY, K. K.; ANWAR, M. B.; XU, K., MARZA, F.; SINGH, P. K. QTL mapping for field resistance to wheat blast in the Caninde# 1/Alondra population. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, p. 2673-2683, 2020.

HELGUERA, M.; KHAN, I. A.; KOLMER, J.; LIJAVETZKY, D.; ZHONG-QI, L.; DUBCOVSKY, J. PCR Assays for the Cluster of Rust Resistance Genes and Their Use to Develop Isogenic Hard Red Spring Wheat Lines. **Crop Science**, v. 43, n. 5, p. 1839, 2003.

HIRATA, K.; TOSA, Y.; NAKAYASHIKI, H.; MAYAMA, S. Significance of *PWT4–Rwt4* interaction in the species specificity of *Avena* isolates of *Magnaporthe oryzae* on wheat. **Journal of General Plant Pathology**, v. 71, n. 5, p. 340–344, 2005.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C. M.; IGARASHI, L. C.; KAZUMA, A. H.; LOPES, R. S. *Pyricularia* em trigo. 1. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 351-352, 1986.

IGARASHI, S. Análise da ocorrência de brusone de trigo no Paraná. **XV RENAPET – Reunião Nacional de Pesquisa de Trigo**, CNTP/EMBRAPA, Passo Fundo, RS, 1988.

IGARASHI, S. Update on wheat blast (*Pyricularia oryzae*) in Brazil. In: **INTERNATIONAL CONFERENCE ON WHEAT FOR THE NONTRADITIONAL WARM AREAS**, 3., 1990, Foz do Iguaçu, Brazil. Proceedings... México: CIMMYT, 1990. p. 480-483.

JAHIER, J.; ABELARD, P.; TANGUY, M.; DEDRYVER, F.; RIVOAL, R.; KHATKAR, S.; KOEBNER, R. The *Aegilops ventricosa* segment on chromosome 2AS of the wheat cultivar “VPM1” carries the cereal cyst nematode resistance gene *Cre5*. **Plant Breeding**, v. 120, n. 2, p. 125–128, 2001.

JONES, J. D. G; DANGL, Je. L. The plant immune system. **Nature**, v. 444, n. 7117, p. 323-329, 2006.

JULIANA, P.; POLAND, J.; HUERTA-ESPINO, J.; SHRESTHA, S.; CROSSA, J.; CRESPO-HERRERA, L.; SINGH, R. P. Improving grain yield, stress resilience and quality of bread wheat using large-scale genomics. **Nat. Genet**, v. 51, p. 1530–1539, 2019.

JULIANA, P.; HE, X.; KABIR M. R.; ROY, K. K.; ANWAR, M. B.; MARZA, F.; SINGH, P. K. Genome-wide association mapping for wheat blast resistance in CIMMYT’s international screening nurseries evaluated in Bolivia and Bangladesh. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2020.

JULIATTI, F. C.; MESQUITA, A. C. O.; TEIXEIRA, F. G.; BELOTI, I. F.; MOTA, L. C. B. M.; FONSECA, L. J.; MORAIS, T. P. D. Caracterização de genótipos de soja com resistência parcial à ferrugem da soja. **Summa Phytopathologica**, v. 45, p. 313-319, 2019.

KANKANALA, P.; CZYMMEK, K.; VALENT, B. Roles for rice membrane dynamics and plasmodesmata during biotrophic invasion by the blast fungus. **The Plant Cell**, v. 19, n. 2, p. 706-724, 2007.

KIMER, G.; ZHAO, Y. H. The D genome of *Triticeae*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 5, p. 581-589, 1983.

KOHLI, M. M.; MEHTA, Y. R.; GUZMAN, E.; VIEDMA, L. D.; CUBILLA, L. E. *Pyricularia* blast-a threat to wheat cultivation. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, v. 47, p. S130-134, 2011.

KORTE, A.; FARLOW, A. The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. **Plant methods**, v. 9, n. 1, p. 1-9, 2013.

KOVALESKI, M. **Resistência à brusone de genótipos de trigo com ampla variabilidade genética e capacidade esporulativa de *Pyricularia oryzae***. 2020. 108 f. (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, 2020.

KOVALESKI, M.; MACIEL, J. L. N.; SANTOS, G. B. D.; SILVA, A. N. D.; DEUNER, C. C. Conidia sporulation of *Pyricularia oryzae* in segments of wheat plants under six different temperatures. **Ciência Rural**, v. 50, 2020.

KUMAR, P.; GUPTA, V. K.; MISRA, A. K.; MODI, D. R.; PANDEY, B. K. Potential of molecular markers in plant biotechnology. **Plant omics**, v. 2, n. 4, p. 141-162, 2009.

KUMBHAR, S.; KULWAL, P.; PATIL, J.; GAIKWAD, A.; JADHAV, A. Inheritance of blast resistance and identification of SSR marker associated with it in rice cultivar RDN 98-2. **J Genet**, v. 92, p. 317, 2013.

LAU, D.; SANTANA, F. M.; MACIEL, J. L. N.; FERNADES, J. M. C.; COSTAMILAN, L. M.; CHAVES, M. S.; LIMA, M. I. P. M. Doenças de trigo no Brasil. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. (Eds.). **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. p. 283-323.

LI, T. Y.; CAO, Y. Y.; WU, X. X.; XU, X. F.; WANG, W. L. Seedling resistance to stem rust and molecular marker analysis of resistance genes in wheat cultivars of Yunnan, China. **PLoS one**, v. 11, n. 10, p. e0165640, 2016.

LOBO, V. L. S.; GIORDANO, L. B.; LOPES, C. A. Herança da resistência à mancha bacteriana em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30 p. 343-349, 2005.

MAIA, N. Obtention des bles tendres résistants au piétin-verse par croisements interspécifiques bles x *Aegilops*. **Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France**, v. 53, p. 149–154, 1967.

MACIEL, J. L. N. *Magnaporthe oryzae*, the blast pathogen: current status and options for its control. **Plant Science Reviews**, v. 264 p. 233–240, 2011.

MACIEL, J. L. N.; DANELLI, A. L. D.; BOARETTO, C.; FORCELINI, C. Escala diagramática para avaliação de brusone na espiga de trigo. **Summa Phytopathologica**, v. 39, n. 3, p. 162-166, 2013.

MACIEL, J.; SBALCHEIRO, C.; LAU, D.; SANTANA, F.; COSTAMILAN, L.; LIMA, M. **Doenças da cultura do trigo no Brasil. Embrapa Trigo**-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2020.

MACIEL, J.; SCHEEREN, P.; BASSOI, M.; ZANELLA, D.; SBALCHEIRO, C. Resistência à brusone e taxa de esporulação de *Pyricularia oryzae* em linhagens de trigo. **Embrapa Trigo-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2021.

MACIEL, J. L. N.; SANTOS, G. B. D.; PIZOLOTTO, C. A.; KOVALESKI, M.; SILVA, A. N. D.; DEUNER, C. C.; COSTA, I. F. D. D. Resistance of Brazilian wheat cultivars to blast under controlled condition. **Ciência Rural**, v. 52, 2021.

MALAKER, P. K.; BARMA, N. C.; TIWARI, T. P.; COLLIS, W. J.; DUVEILLER, E.; SINGH, P. K.; PEDLEY, K. F. First report of wheat blast caused by *Magnaporthe oryzae* pathotype *triticum* in Bangladesh. **Plant Disease**, v. 100, n. 11, p. 2330-2330, 2016.

MENDONÇA, R. F. D.; JESUS, W. C. D.; FERRÃO, M. A. G.; MORAES, W. B.; BUSATO, L. M.; FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A. D. Genótipos de café conilon e sua reação à ferrugem alaranjada. **Summa Phytopathologica**, v. 45, p. 279-284, 2019.

MENG, L.; LI, H.; ZHANG, L.; WANG, J. QTL IciMapping: integrated software for genetic linkage map construction and quantitative trait locus mapping in biparental populations. **The Crop Journal**, v. 3, n. 3, p. 269-283, 2015.

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

PARLEVLIET, J. E. Components of Resistance that Reduce the Rate of Epidemic Development. **Annual Review of Phytopathology**, v. 17, n. 1, p. 203–222, 1979.

PARLEVLIET, J. E. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation. **Euphytica**, v. 124, n. 2, p. 147-156, 2002.

PASCHOLATI, S. F. **Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos**. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia. 4. ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. p. 704.

PASQUARIELLO, M.; BERRY, S.; BURT, C.; UAUY, C.; NICHOLSON, P. Yield reduction historically associated with the *Aegilops ventricosa* 7D^V introgression is genetically and physically distinct from the eyespot resistance gene *Pch1*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, n. 3, p. 707-717, 2020.

PETIT-HOUDENOT, Y.; FUDAL, I. Complex interactions between fungal avirulence genes and their corresponding plant resistance genes and consequences for disease resistance management. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1072, 2017.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Ocorrência da brusone (*Pyricularia oryzae*) em lavouras comerciais de trigo (*Triticum aestivum*) no estado do Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 83-84, 1990.

PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. da. **Trigo no Brasil: Bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo, RS: Embrapa Trigo, 2011. p. 253-262.

PIZOLOTTO, C. A.; MACIEL, J.; FERNANDES, J.; FERREIRA, J.; TORRES, G. A. M.; CONSOLI, L.; BOLLER, W. Reação à brusone de genótipos de trigo portadores da translocação 2NS/AS de *Aegilops ventricosa*. In: **Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 11.; FÓRUM NACIONAL DE TRIGO, 2017, Cascavel. Resumos expandidos... Cascavel: Coodetec, 2017.

PIZOLOTTO, C. A.; MACIEL, J. L. N.; FERNANDES, J. M. C.; BOLLER, W. Saprotrophic survival of *Magnaporthe oryzae* in infested wheat residues. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, n. 2, p. 327–339, 2019.

POSTEL, S.; BIRGIT, K. Plant systems for recognition of pathogen-associated molecular patterns. *Seminars in cell & developmental biology*, v. 20. n. 9, p. 1025-1031, **Academic Press**, 2009.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolates of *Pyricularia oryzae* affecting rice, wheat, and grasses in Brazil. **International Journal of Pest Management**, v. 38, n. 4, p. 367-371, 1992.

PRASAD, M. S.; KANTHI, B. A.; BALACHANDRAN, S.; SESHUMADHAV, M.; MOHAN, K. M.; VIRAKTAMATH, B. Molecular mapping of rice blast resistance gene Pi-1 (t) in the elite indica variety Samba Mahsuri. **World J Microbiol Biotechnol**, v. 25, p. 1765–1769, 2009.

PRESTES, A. M.; ARENDT, P. F.; FERNANDES, J. M. C.; SCHEEREN, P. L. Resistance to *Magnaporthe grisea* among Brazilian wheat genotypes. In: **Wheat production in stressed environments**. Springer, Dordrecht, 2007. p. 119-123.

REGES, J. T. A. de. **Biologia e estrutura genética de populações do patógeno da brusone do trigo no centro-sul do Brasil**. 2016. 76f. Tese (Doutorado em Agronomia) Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Ilha Solteira, 2016.

REIS, E. F. D.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, T.; CRUZ, C. D. Estimativas de variâncias e herdabilidades de algumas características primárias e secundárias da produção de grãos em soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Ciências Agrotecnológica, Lavras**, v. 26, p. 749-761, 2002.

RIBOT, C.; HIRSCH, J.; BALZERGUE, S.; THARREAU, D.; NOTTÉGHEM, J. L.; LEBRUN, M. H.; MOREL, J. B. Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. **Journal of plant physiology**, v. 165, n. 1, p. 114-124, 2008.

ROCHA, J. R. A. S. C.; PIMENTEL, A. J. B.; RIBEIRO, G.; SOUZA, M. A. Eficiência de fungicidas no controle da brusone em trigo. **Summa Phytopathologica**, v. 40, n. 4, p. 347-352, 2014.

SAIFERT, L.; SÁNCHEZ-MORA, F. D.; ASSUMPÇÃO, W. T.; ZANGHELINI, J. A.; GIACOMETTI, R.; NOVAK, E. I.; WELTER, L. J. Marker-assisted pyramiding of resistance loci to grape downy mildew. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, p. 602-610, 2018.

SAGHAI-MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. M.; JORGENSEN, R. A.; ALLARD, R. W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 81, n. 24, p. 8014–8018, 1984.

SEHGAL, D.; SINGH, R.; RAJPAL, V. R. **Quantitative Trait Loci Mapping in Plants: Concepts and Approaches**. In: Molecular Breeding for Sustainable Crop Improvement. Springer International Publishing, 2016. p. 31-59.

SCHEUERMANN, K. K.; EBERHARDT, D. S. Avaliação de fungicidas para o controle da brusone de panícula na cultura do arroz irrigado. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 10, n. 1, p. 23-38, 2011.

SHARMA, T. R.; RAI, A. K.; GUPTA, S. K.; VIJAYAN, J.; DEVANNA, B. N.; RAY, S. Rice blast management through host-plant resistance: retrospect and prospects. **Agricultural Research**, v. 1, n. 1, p. 37-52, 2012.

SILVA, C. P.; NOMURA, E.; FREITAS, E. G.; BRUGNARO, C.; URASHIMA, A. S. Eficiência de tratamentos alternativos no controle de *Pyricularia grisea* em sementes de trigo. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 2, p. 127-131, 2009.

SÓ e SILVA, M.; SOARES SOBRINHO, J.; ALBRECHT, J.; CHAGAS, J.; CAIERÃO, E.; MORESCO, E.; SCHEEREN, P. **BRS 404-nova cultivar de trigo de sequeiro para o cerrado brasileiro**. In: Embrapa Trigo-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 8.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 9., 2014, Canela; REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 9.; SEMINÁRIO TÉCNICO DO TRIGO, 10., 2015, Passo Fundo. Anais... Passo Fundo: Biotrigo Genética: Embrapa Trigo, 2015.

SOARES, F. M. S. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Análise mensal-Trigo. 2020. Brasília. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safrade-graos>. Acesso em: 21 dez. 2021.

SOMERS, D. J.; ISAAC, P.; EDWARDS, K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, n. 6, p. 1105–1114, 2004.

ST. CLAIR, D. A. Quantitative disease resistance and quantitative resistance loci in breeding. **Annual review of phytopathology**, v. 48, p. 247-268, 2010.

STALETIC, M. D.; MILOVANOVIĆ, M. S.; MARKOVIĆ, A. I.; ĐELIĆ, G. Inheritance of spring oat resistance to *Puccinia coronata avenae*. **Kragujevac Journal Science, Aerodrom**, v. 31, n. 29, p. 75-83, 2009.

TAGLE, A. G.; CHUMA, I.; TOSA, Y. *Rmg7*, a New Gene for Resistance to *Triticum* Isolates of *Pyricularia oryzae* Identified in Tetraploid Wheat. **Phytopathology**, v. 105, n. 4, p. 495–499, 2015.

TAKABAYASHI, N.; TOSA, Y.; OH, H. S.; MAYAMA, S. A gene-for-gene relationship underlying the species-specific parasitism of *Avena/Triticum* isolates of *Magnaporthe grisea* on wheat cultivars. **Phytopathology**, v. 92, n. 11, p. 1182-1188, 2002.

TALBOT, N. J. On the trail of a cereal killer: exploring the biology of *Magnaporthe grisea*. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 177-202, 2003.

TANWEER, F. A.; RAFII, M. Y.; SIJAM, K.; RAHIM, H. A.; AHMED, F.; LATIF, M. A. Current advance methods for the identification of blast resistance genes in rice. **Comptes Rendus Biologies**, v. 338, n. 5, p. 321–334, 2015.

TEMBO, B.; MULENGA, R. M.; SICHILIMA, S.; M'SISKA, K. K.; MWALE, M.; CHIKOTI, P. C.; BRAUN, H. J. Detection and characterization of fungus (*Magnaporthe oryzae* pathotype *Triticum*) causing wheat blast disease on rain-fed grown wheat (*Triticum aestivum* L.) in Zambia. **PLoS One**, v. 15, n. 9, p. e0238724, 2020.

TORRES, G. A. M.; SANTANA, F. M.; FERNANDES, J. M. C.; SILVA, M. **Doenças da espiga causam perda de rendimento em trigo nos estados do Paraná, São Paulo e Mato Grosso do Sul, em 2009**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. 10 p. (Embrapa Trigo. Comunicado técnico online, 255.) Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co255.htm> Acesso em: 24 jan. 2019.

TORRES, G. A. M.; GONZÁLES, H. H. S.; WEBBER, N. F.; SCHERER, H. M. **Tipos de lesão de brusone em trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2015. (Comunicado Técnico online). Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/133610/1/ID-43389-2015-CTO346.pdf>>.

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

USDA. United States Department Of Agriculture. **Production, Supply and Distribution**. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/home>. Acesso em: 17 mai. 2020.

_____. United States Department Of Agriculture. **Grain: World Markets and Trade**, Junho, 2021. Disponível em: 13 <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/downloads>>. Acesso em: 07 dez. 2021.

URASHIMA, A. S.; KATO, H. Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. **Summa Phytopathologica**, v. 20, n. 2, p. 107–112, 1994.

URASHIMA, A. S.; LAVORENT, N. A.; GOULART, A. C. P.; MEHTA, Y. R. Resistance spectra of wheat cultivars and virulence diversity of *Magnaporthe grisea* isolates in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 5, p. 511–518, 2004.

VALES, M.; ANZOÁTEGUI, T.; HUALLPA, B.; CAZON, M. I. Review on resistance to wheat blast disease (*Magnaporthe oryzae Triticum*) from the breeder point-of-view: use of the experience on resistance to rice blast disease. **Euphytica**, v. 214, n. 1, 1-19, 2018.

VY, T. T. P.; HYON, G.-S.; NGA, N. T. T.; INOUE, Y.; CHUMA, I.; TOSA, Y. Genetic analysis of host–pathogen incompatibility between *Lolium* isolates of *Pyricularia oryzae* and wheat. **Journal of general plant pathology**, v. 80, n. 1, p. 59–65, 2014.

YE, B.; SINGH, R. P.; YUAN, C.; LIU, D.; RANDHAWA, M. S.; HUERTA-ESPINO, J.; LAN, C. Three co-located resistance genes confer resistance to leaf rust and stripe rust in wheat variety Borlaug 100. **The Crop Journal**, 2021.

WANG, X.; LEE, S.; WANG, J.; MA, J.; BIANCO, T.; JIA, Y. Current advances on genetic resistance to rice blast disease. In: YAN, W.; BAO, J. (Eds). Rice germplasm, genetics and improvement. **Rijeka: InTech**, p. 195-217, 2014.

WANG, G. L.; VALENT, B. Durable resistance to rice blast. **Science**, v. 355, n. 6328, p. 906–907, 2017.

WANG, S.; ASUKE, S.; VY, T. T. P.; INOUE, Y.; CHUMA, I.; WIN, J.; TOSA, Y. A New Resistance Gene in Combination with *Rmg8* Confers Strong Resistance Against *Triticum* Isolates of *Pyricularia oryzae* in a Common Wheat Landrace. **Phytopathology**, v. 108, n. 11, p. 1299-1306, 2018.

WILLIAMSON, V. M.; THOMAS, V.; FERRIS, H.; DUBCOVSKY, J. An Translocation Confers Resistance Against Root-knot Nematodes to Common Wheat. **Crop Science**, v. 53, n. 4, p. 1412, 2013.

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

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

ANEXOS

Anexo 1 – Genealogia dos genótipos de trigo deste estudo. Passo Fundo, RS, 2022.

(Continua)

Genótipo	Genealogia
8	KLCQ/ER2000//WBLL1
9	KLCQ/ER2000//WBLL1
14	MILAN//PRL/2*PASTOR/4/CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/3/BAV92
24	TX71A1039-V1*3/AMI//OK81306/3/FINSI/6/CHIBIA/5/CNDO/R143//ENTE/MEXI_2/3/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS) /4/WEAVER
25	TX81V6614//TNMU/ATTILA/3/BABAX/PASTOR//AMAD
26	CROC_1/AE. SQUARROSA (205)//KAUTZ/10/ATTILA*2/9/KT/BAGE//FN/U/3/BZA/4/TRM/5/ALDAN/6/SERI/7/VEE#10/8/OPATA/11/ATTILA*2//CHILL/BUC
28	PANDION//FILIN/2*PASTOR/3/BERKUT
29	PRINIA/SUNCO//SUNCO/2*PASTOR
33	TNMU//PSN/BOW/3/HEILO/4/PGO/SERI//BAU/3/DUCULA
34	QUAIU
39	SERI.1B*2//KAUZ*3/BOW/3/PBW343*2/KUKUNA/4/WHEAR
40	WHEAR/KRONSTAD F2004/ROLF 07
61	BABAX/KS93U76//BABAX/4/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92
79	BABAX/LR43//BABAX/5/MOR/VE#5//2*DUCULA/3/MILAN/4/BAU/MILAN/SKAUZ/BAV92
90	CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/3/CMH81.38/2*KAUZ/4/BERKUT
93	FILIN/2*PASTOR//PRL/2*PASTOR
104	SUNCO/2*PASTOR//EXCALIBUR
111	MRC/KAUZ//SKAUZ/3/SUNSTATE/5/VEE/LIRA//BOW/3/BCN/4/KAUZ
112	MRC/KAUZ//SKAUZ/3/SUNSTATE/5/VEE/LIRA/BOW/3/BCN/4/SKAUZ
113	W97.234//SW89.5181/KAUZ/5/VEE/LIRA//BOW/3/BCN/4/KAUZ
120	SLVS/PASTOR/3/PASTOR/MUNIA/ALTAR 84

(Continuação)

135 POTCH 93/4/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92/5/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92
 136 ACHTAR*3//KANZ/KS85-8-5/4/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92/5/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92
 143 ONIX/ROLF07
 151 MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92/4/ATILLA/BAV92//PASTOR/5/CNO79//PF70354/MUS/3/PASTOR/4/BAV92
 152 SOKOLL*2/TROST
 159 SW89-5124*2/FASAN/3/ALTAR 84/AE.SQ//2*OPATA
 175 BOW/VEE/5/ND/VG9144//KAL/BB/3/YACO/4/CHIL/6/CASKOR/3/CROC_1/AE. SQUARROSA
 (224)//OPATA/7/PASTOR//MILAN/KAUZ/3/BAV92
 176 BOW/VEE/5/ND/VG9144//KAL/BB/3/YACO/4/CHIL/6/CASKOR/3/CROC_1/AE.SQUARROSA
 (224)//OPATA/7/PASTOR//MILAN/KAUZ/3/BAV92
 184 ATILLA*2/PBW65*2//KACHU
 189 PBW343*2/KUKUNA*2//FRTL/PIFED
 190 PBW343*2/KUKUNA*2//FRTL/PIFED
 208 WAXWING*2/HEILO
 210 KFA/2*KACHU
 223 WBLL1//UP2338*2/VIVITSI
 225 FRET2*2/3/SNI/TRAP#1//KAUZ*3/TRAP/4/PFAU/WEAVER//BRAMBLING
 242 TRCH/SRTU//KACHU
 282 ATILA/3*BCN//BAV92/3/TILHI/4/SHA7/VEE#5//ARIV92
 289 WAXWING/KIRITATI//DIAMONDBIRD
 298 PFAU/WEAVER*2//BRAMBLING/8/RABE*3/6/WRM/4/FN/3*TH//K58/2*N/3/AUS-6869/5/PELOTAS-ARTHUR/7/IRENA
 308 ROLF07/YANAC//TACUPETO F2001/BRAMBLING
 344 HUW234+LR34/PRINIA*2//SNLG
 347 HUW234+LR34/PRINIA*2//YANAC

(Continuação)

348 HUW234+LR34/PRINIA*2//WHEAR
 356 PBW343*2/KUKUNA*2//KITE
 361 PBW343*2/KUKUNA*2//YANAC
 402 FOW 1
 412 FILIN/2*PASTOR//BERKUT/3/PASTOR/2*SITTA
 424 TX71A1039-V1*3/AMI//OK81306/3/FINSI/6/CHIBIA/5/CNDO/R143///ENTE/MEXI/_2/3/AEGILOPS SQUARROSA
 (TAUS)/4/WEAVER
 429 PRINIA/SUNCO//SUNCO/2*PASTOR
 432 ASTREB*2/NING MAI 9558
 440 SERI.1B*2//KAUZ*3/BOW/3/PBW343*2/KUKUNA/4/WHEAR
 446 VEE/MJI//2*TUI/3/2*PASTOR/4/BERKUT/5/PFAU/MILAN
 447 VEE/MJI//2*TUI/3/2*PASTOR/4/BERKUT/5/PFAU/MILAN
 477 VEE/MJI//2*TUI/3/2*PASTOR/4/BERKUT/5/PFAU/MILAN
 486 AZAR/2/4/CROC_1/AE.SQUARROSA (205)//BORL95/3/2*MILAN/5/BERKUT
 505 PBW343/TONI/5/SABUF/4/ALTAR 84/AE.SQUARROSA (224)//CUPE/3/CROC_1/AE.SQUARROSA (205)//F27202
 506 PBW343/TONI/5/SABUF/4/ALTAR 84/AE.SQUARROSA (224)//CUPE/3/CROC_1/AE.SQUARROSA (205)//F27202
 508 SNB//CMH79A.955/3*CNO79/3/ATTILA/4/WUH1/VEE#5//CBRD
 514 SRN/AE. SQUARROSA (358)//FILIN/MILAN/3/GONDO
 547 PASTOR//HXL7573/2*BAU/3/SOKOLL/WBLL1
 550 MILAN//PRL/2*PASTOR/4/CROC_1/AE.SQUARROSA (213)//PGO/3/BAV92
 562 KLDR/PEWIT1//MILAN/DUCULA
 563 WBLL1//ATTILA*2/M10 (MUTATED C-306)/3/QT9042
 568 CROC_1/AE.SQUARROSA (205)//KAUZ/3/LANG
 569 ALTAR 84/AE.SQUARROSA (219)//2*SERI/4/PFAU/BOW//VEE#9/3/DUCULA

(Continuação)

575 MRC/KAUZ//SKAUZ/3/SUNSTATE/5/VEE/LIRA//BOW/3/BCN/4/KAUZ
576 MRC/KAUZ//SKAUZ/3/SUNSTATE/5/VEE/LIRA//BOW/3/BCN/4/KAUZ
582 PSN/BOW//MILAN/3/2*BERKUT
583 PSN/BOW//MILAN/3/2*BERKUT
605 FILIN/IRENA/5/CNDO/R143//ENTE/MEXI_2/3/AEGILOPS SQUARROSA (TAUS)/4/WEAVER/6/BERKUT
636 TX71A1039-V1*3/AMI//OK81306/3/FINSI/6/CHIBIA/5/CNDO/R143//ENTE/MEXI_2/3/AEGILOPS SQUARROSA
(TAUS)/4/WEAVER
642 KLDR/PEWIT1//MILAN/DUCULA
644 KLDR/PEWIT1//MILAN/DUCULA
660 ALTAR 84/AE. SQUARROSA//2*OPATA/3/SLVS/PASTOR
692 ATTILA/BERKUT//BERKUT
701 SLVS/PASTOR/3/PASTOR//MUNIA/ALTAR 84
754 PAURAQUE
767 PFAU/SERI.1B//AMAD/3/INQALAB 91*2/KUKUNA/4/WBLL1*2/KURUKU
781 WAXWING*2/KRONSTAD F2004
783 WAXWING*2/CIRCUS
827 PRL/2*PASTOR//SUNSTATE
865 SHA7/VEE#5/5/VEE#8//JUP/BJY/3/F3.71/TRM/4/2*WEAVER/6/SKAUZ/PARUS//PARUS
868 LERKE/5/KAUZ/3/MYNA/VUL//BUC/FLK/4/MILAN/6/PROGRESO F2007
908 CHIBIA//PRLII/CM65531/7/VEE#8//JUP/BJY/3/F3.71/TRM/4/BCN/5/KAUZ/6/MILAN/KAUZ
918 PFAU/MILAN//TROST/3/PBW65/2*SERI.1B
919 EJIC//ATTILA/2*PASTOR/4/VEE/PJN//2*TUI/WH576
931 YUNMAI 48/ROLF07
954 MELON//FILIN/MILAN/3/FILIN

(Continuação)

955 RE714/SAAR//SAAR
956 KRICHAUFF/3/MILAN/OTUS//ATTILA/3*BCN
972 WAXWING/6/PVN//CAR422/ANA/5/BOW/CROW//BUC/PVN/3/YR/4/TRAP#1
976 WBLL1//UP2338*2/VIVITSI
980 KACHU/SAUAL
997 TRCH*2/7/TNMU/6/CEP80111/CEP81165/5/IAC5/4/YKT406/3/AG/ASN//ATR
1010 ATTILA*2/PBW65/6/PVN//CAR422/ANA/5/BOW/CROW//BUC/PVN/3/YR/4/TRAP#1/7/ATTILA/2*PASTOR
1023 YUNMAI 48//2*WBLL1*2/KURUKU
1025 YUNMAI 48//2*WBLL1*2/KURUKU
1041 ATTILA*2/PBW65/6/PVN//CAR422/ANA/5/BOW/CROW//BUC/PVN/3/YR/4/TRAP#1
1049 ATILLA/3*BCN//BAV32/3/TILHI/4/SHA7/VE#5//ARIV92
1050 SHA7/VEE#5/5/VEE#8//JUP/BYJ/3/F3.71/TRM/4/2*WEAVER/6/PBW343*2/TURUKU
1051 PGO/SERI//BAU/3/DUCULA/4/FRET2/KUKUNA//FRET2
1057 ALTAR 84/AE. SQUARROSA//OPATA/3/2*WH
542/7/VEE#8//JUP/BJY/3/F3.71/TRM/4/BCN/5/KAUZ/6/MILAN/KAUZ/8/ATILLA*2/PBW65
1058 WAXWING*2/4/CROC_1/AE.SQUARROSA (205)//BORL95/3/2*MILAN
1059 BABAX/LR43//BABAX/5/MOR/VEE#5//2*DUCULA/3/MILAN/4/BAU/MILAN/6/SKAUZ/BAV92
1065 C80.1/3*BATAVIA//2*WBLL1/3/ATTILA/3*BCN*2//BAV92/4/WBLL1*2/KURUKU
1066 WHEAR/4/BL 1496/MILAN/3/CROC_1/AE.SQUARROSA (205)//KAUZ/5/ROLF07
1068 ATTILA*2/HUITES//FINSI/3/ATTILA*2/PBW65
1070 ATTILA*2//CHIL/BUC*2/3/KUKUNA
1072 ATTILA*2/PBW65//KACHU
1074 WBLL1*2/3/SNI/TRAP#1//KAUZ*3/TRAP/4/KACHU
1079 WBLL1*2/CHAPIO//MESIA

(Continuação)

1101 FRET2*2/3/SNI/TRAP#1//KAUZ*3/TRAP/4/KACHU
 1105 ROLF07/SAUAL
 1108 WBLL1*2/3/SNI/TRAP#1//KAUZ*3/TRAP/4/KACHU #1
 1138 C80.1/3*BATAVIA//2*WBLL1/5/REH/HARE//2*BCN/3/CROC_1/AE. SQUARROSA (213)//PGO/4/HUITES
 1167 FRET2*2/KUKUNA//PVN/4/FRET2*2/3/SNI/TRAP#1//KAUZ*3/TRAP
 1185 TRCH/SRTU/KACHU
 1241 ATTILA*2/PBW65*2//TNMU
 1254 PBW343*2/KUKUNA*2//WHEAR
 1257 ATILLA/3*BCN//BAV92/3/TILHI/4/SHA7/VEE#5//ARIV92/5/BAV92//IRENA/KAUZ/3/HUITES
 1266 POTCH 93/4/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92/5/MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92
 1285 GK ARON/AG SECO 7846//2180/4/2*MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92
 1286 GK ARONI/AG SECO 7846//2180/4/2*MILAN/KAUZ//PRINIA/3/BAV92
 1288 BOW/VEE/5/ND/VG9144//KAL/BB/3/YACO/4/CHIL/6/CASKOR/3/CROC_1/AE.SQUARROSA
 (224)//OPATA/7/PASTOR//MILAN/KAUZ/3/BAV92
 1289 BOW/VEE/5/ND/VG9144//KAL/BB/3/YACO/4/CHIL/6/CASKOR/3/CROC_1/AE. SQUARROSA
 (224)//OPATA/7/PASTOR//MILAN/KAUZ/3/BAV92
 1422 MOHAWK/6/RASCON_37/2*TARRO_2/4/ROK/FGO//STILL/3/BISU_1/5/MALMUK_1/SERRATOR_1
 1516 SOMAT_4/INTER_8/4/GODRIN/GUTROS//DUKEN/3/THKNEE_11/5/1A.1D 5+1-06/2*WB881//1A.1D 5+1-
 06/3*MOJO/3/BISU_1/PATKA_3/4/GODRIN/GUTROS//DUKEN/3/THKNEE_11
 1517 YAV79//SOMAT_4/INTER_8/7/YAV79/6/CHEN_1/TEZ/3/GUIL//CIT71/CII/4/SORA/PLATA_12/5/STOT//ALTAR 84/ALD
 1518 MOHAWK/6/LOTUS_5/F3LOCAL(SEL.ETHIO.135.85)/5/CHEN/ALTAR 84/3/HUI/POC//BUB/RUFO/4/FNFOOT
 Anahuac II-12300//LERMA-ROJO-64/II-8156/3/NORTENO-67
 75
 Arche TRIBUTE,FRA/VS-73644-9-4-1

(Continuação)

BET
DAGAN PITIC-62(SIB)/FLORENCE-AUORE
131
BR 18 D-6301/NAINARI-60//WEIQUE/RED-MACE/3/CIANO-67*2/CHRIS
BRS 209 JUPATECO 73/EMBRAPA 16
BRS 229 EMBRAPA 27*3//BR 35/BUCK PONCHO
BRS 234 BR-35//EMBRAPA-27/BUCK-OMBU/3/PF-87511
BRS 404 MGS ALIANÇA/WT 99172
BRS
Angico PF-87107/2*IAC-13
BRS Buriti EMBRAPA-27/KLEIN-ORION
CB
Fusarium sem informação
ENT014
Cevada
PFB 2010 sem informação
2013
CPAC
07340 CPAC 96306/CPAC 9985
CPAC
07434 Taurum/BRS 254
Embrapa
27 NUBAY/3*LONDRINA//LONDRINA*4/AGENT,USA/3/AGATA/5*LAGOA-VERMELHA//4*CNT-10
EP 123005 sem informação
EP 123009 sem informação
EP 123014 sem informação

(Continuação)

EP 123024	sem informação
EP 123057	sem informação
EP 123063	sem informação
EP 123069	sem informação
EP 123099	sem informação
EP 123101	sem informação
EP 123102	sem informação
EP 124403	sem informação
EP 124407	sem informação
EP 124415	sem informação
EP 124429	sem informação
EP 124437	sem informação
EP 124441	sem informação
EP 124442	sem informação
EP 124476	sem informação
EP 124503	sem informação
EP 124522	sem informação
Eureka	KENYA-C-6040/FLORENCE//DUNDEE
Eureka 2	KENYA-C-6040/FLORENCE//DUNDEE
Fuller	DER (Jagger)
Huanca	FROCOR/3/MCMURACHY/KENTANA//YAQUI-50/4/MARIA-ESCOBAR/MN-2698/5/MARIA-ESCOBAR
Hyak	VPM-1/MOISSON-421//2*TYEE
Jackpot	W-98-232/KS-96-WGRC-38
Jagger	KS84W85/Stephens

(Conclusão)

Kronos (S)Male_Sterile_Facilitated_Recurrent_Selection_Population-APB-MSFRS-Pop
 Pampeano ORL-91274/ORL-93807//(SIB)ORL-95711
 PF 130115 BRS 331/Abalone
 PF 140015 sem informação
 PF 140016 sem informação
 PF 140017 sem informação
 PF 909 PF 83743/PF 82252//PF 84433/BR 35
 PF_020450 FL 72185A-A2-C1/Embrapa 40//CEP 24
 Renan MIRONOVSKAYA-808/MARIS-HUNTSMAN//VPM-1/MOISSON/3/COURTOT
 Safira PF-9099/OR-1//GRANITO
 Santa Fé JAGGER/G1878
 Shanghai (M)Yangmai-1
 TBIO IBI-O0810/CRONOX//ORL-00255
 Mestre
 Thatcher MARQUIS/(TR.DR)IUMILLO//(HN-3001)MARQUIS/KANRED
 Trigo sem informação
 Chapéu
 VPM1 sem arista AE.VE/TR.CA//3*MARNE
 VPM-1-1-1-2-R-4 AE.VE/TR.CA//3*MARNE



PPGAgro
Programa de Pós-Graduação
em Agronomia