

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

**PROGRESSO DA MANCHA MARROM E ESTIMATIVA DA  
HERDABILIDADE DA RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS  
DUPLO-HAPLÓIDES DE TRIGO**

**FABIANA RAQUEL MÜHL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do Título de Doutor em Agronomia - Área de concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, setembro de 2009.

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

**PROGRESSO DA MANCHA MARROM E ESTIMATIVA DA  
HERDABILIDADE DA RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS  
DUPLO-HAPLÓIDES DE TRIGO**

FABIANA RAQUEL MÜHL

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

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, para obtenção do Título de Doutor em Agronomia – Área de concentração em Fitopatologia.

Passo Fundo, setembro de 2009

## **DEDICO ESTA TESE**

À minha família, meu pai Neuri e minha mãe Maria Elena, que é sem dúvida, fonte de inspiração e base forte que sustenta a realização de minhas conquistas.

## **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação do Programa de Pós-graduação em Agronomia pela oportunidade de realização do curso de Doutorado;

À CAPES, pela concessão da bolsa;

Ao Centro Nacional de Pesquisa do Trigo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Trigo), pela disponibilidade com que tem recebido os estudantes do curso e pela disponibilização do material vegetal e infra-estrutura para a realização deste trabalho;

Aos funcionários e amigos da Embrapa Trigo, em especial Édson Maciel, Dirceu Rebechi, Elói Primaz, Juarez Fasini, Alcibaldo de Oliveira, Jorge Odorizzi, Sebastião Fachi, Joacélia Colla, Eloni Pollo e Ana Bilibio e demais estagiários da equipe de melhoramento pelo apoio dado à condução dos experimentos, pela amizade e incentivo;

Ao professor, orientador, Dr. Ariano Moraes Prestes, pelos ensinamentos, pelas orientações e sobretudo, pelo apoio, compreensão e pela sua amizade;

Ao Dr. Pedro Luíz Scheeren, pelas orientações, companheirismo e pelas palavras amigas nos momentos de sufoco.

Aos professores do curso, pela amizade companheirismo e, acima de tudo, pela contribuição de cada um na construção do conhecimento.

Ao estatístico da Embrapa Trigo, pelo auxílio na análise estatística;

Ao meu namorado Neuri Antônio Feldmann que me ajudou com palavras de carinho e amor nos momentos mais difíceis para a conclusão deste trabalho;

Ao professor Leandro Hahn, Ivanete Hahn e Rosane Luft da Faculdade de Itapiranga, pela amizade e palavras de carinho nas horas de sufoco e, principalemnte, pela compreensão no término da tese;

A todos que direta ou indiretamente estiveram presentes ou colaboraram para a efetivação deste trabalho;

E de forma muito especial à Deus, por ter me acompanhado durante essa caminhada.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iii
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
CAPÍTULO I	
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1 Importância econômica da doença .....	6
2.2 Agente causal .....	8
2.3 Sintomatologia.....	9
2.4 Infecção e expressão dos sintomas.....	11
2.5 Variabilidade do fungo.....	12
2.6 Resistência Genética à mancha marrom .....	13
2.7 Produção de plantas haplóides .....	16
2.7.1 Gimonogênese.....	18
CAPÍTULO II	
PROGRESSO DA MANCHA MARROM EM LINHAGENS DUPLO-HAPLÓIDES DE TRIGO.....	22
1. Resumo.....	22
2. Abstract.....	24

3. Introdução .....	25
4. Material e Métodos.....	27
4.1 Escolha das cultivares parentais.....	27
4.2 Realização dos cruzamentos para obtenção da geração F <sub>1</sub> .....	28
4.3 Obtenção das linhagens duplo-haplóides.....	28
4.4 Cultivo das linhagens duplo-haplóides (DHM).....	29
4.5 Inoculação do patógeno no DHM.....	29
4.6 Avaliação dos parentais e das linhagens duplo-haplóides.....	30
4.7 Análise estatística dos resultados.....	30
4.7.1 Área sob a curva do progresso da doença (ASCPD).....	31
4.7.2 Teste de médias.....	32
5. Resultados e discussão.....	32
5.1 Melhoramento especial – BR 18 (383277) x FN (383279).....	33
5.2 Melhoramento Geral – BR 18 (383159) x FN (383175).....	44

### CAPITULO III

#### HERDABILIDADE DA RESISTÊNCIA A *Bipolaris sorokiniana*

EM LINHAGENS DUPLO HAPLÓIDES DE TRIGO.....	62
1. Resumo.....	62
2. Abstract.....	64
3. Introdução.....	65
4. Material e Métodos.....	66
4.1 Escolha das cultivares parentais.....	66
4.2 Realização dos cruzamentos para obtenção da geração F <sub>1</sub> .....	67
4.3 Obtenção das linhagens duplo-haplóides.....	67
4.4 Cultivo das linhagens duplo-haplóides (DHM).....	68

4.5 Inoculação do patógeno em linhagens duplo-haplóides (DHM).....	68
4.6 Avaliação dos parentais e das linhagens duplo-haplóides (LDH)	69
4.7 Análise estatística dos resultados.....	70
4.8 Estimativas da herdabilidade.....	71
5. Resultados e discussão.....	72
CONCLUSÕES.....	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79



## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

Tabela 1 – Escala para avaliação de manchas foliares.	30
Tabela 2 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo I, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	35
Tabela 3 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo II, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	36
Tabela 4 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo III, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	37
Tabela 5 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo IV, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	38
Tabela 6 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo I, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	52
Tabela 7 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (AACPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo II, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	54

Tabela 8 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo IV, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	57
---	----

### CAPITULO III

Tabela 1 – Escala para avaliação de manchas foliares.	70
Tabela 2 – Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e estimativa da herdabilidade para a característica área foliar necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo I.	73
Tabela 3 – Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e estimativa da herdabilidade para a característica área foliar necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo II.	75
Tabela 4 – Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e estimativa da herdabilidade para a característica área foliar necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo III.	76
Tabela 5 – Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) estimativa da herdabilidade para a característica área necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo IV.	79

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO II

- Figura 1 - Reação de Frontana (suscetível) e BR 18 (moderadamente resistente) a mancha marrom, avaliados em casa-de-vegetação. 33
- Figura 2 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo I, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009. 39
- Figura 3 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo II, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009. 40
- Figura 4 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo III, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009. 41
- Figura 5 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo IV, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009. 42
- Figura 6 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, dos quatro grupos do Melhoramento Especial, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009. 43

Figura 7 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo I, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	58
Figura 8 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo II, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	59
Figura 9 – Evolução da severidade da mancha marrom em uma linhagem duplo-haplóide de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo III, avaliada nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	60
Figura 10 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo IV, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	60
Figura 11 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo V, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	61
Figura 12 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, dos cinco grupos do Melhoramento Geral, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.	61
Figura 13 - Perfil de gluteninas de acessos de diferentes origens de BR 18. Embrapa, 2009.	49
Figura 14 - Perfil de gluteninas de acessos de diferentes origens de Frontana. Embrapa, 2009.	51

**PROGRESSO DA MANCHA MARROM E ESTIMATIVA DA  
HERDABILIDADE DA RESISTÊNCIA EM GENÓTIPOS  
DUPLO HAPLÓIDE DE TRIGO**

**FABIANA R. MÜHL<sup>1</sup>, ARIANO M. PRESTES<sup>2</sup>, PEDRO L.  
SCHEEREN<sup>3</sup>**

**RESUMO** – A mancha marrom do trigo, causada por *Bipolaris sorokiniana*, pode induzir elevada redução à qualidade e à produtividade de grãos dessa cultura. No Brasil, esta doença pode provocar danos de até 60% em cultivares suscetíveis. A doença é capaz de afetar a produtividade tanto nos primeiros quanto nos últimos estádios de desenvolvimento da planta de trigo. Práticas culturais como rotação de culturas, aplicação de fungicidas e cultivares resistentes são usados para o controle da doença, sendo que o uso da resistência é a estratégia mais econômica e mais favorável. Os objetivos desse trabalho foram caracterizar a população duplo-haplóide de Trigo BR 18 X Frontana, quanto ao progresso da mancha marrom, através do cálculo da área sob a curva de progresso da doença (ASCPD) e descrever a

---

<sup>1</sup> Bióloga, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup> Orientador, Eng. Agr., PhD. Fitopatologia.

<sup>3</sup> Co-orientador, Eng. Agr., Dr., Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo.

variabilidade genética da resistência nessas linhagens, bem como estudar o controle genético da resistência. Os genótipos parentais e as linhagens duplo-haplóides foram cultivados em casa-de-vegetação e inoculados com um isolado agressivo de *B. sorokiniana*, obtido de população natural do fungo. Avaliou-se visualmente a população de genótipos com auxílio de uma escala de notas para determinar a severidade, a partir da qual calcula-se a ASCPD, as variâncias e estimou-se a herdabilidade. A linhagem que mais se destacou foi PF 013562, do programa de melhoramento geral, que apenas atingiu uma severidade de 6,8% no décimo quinto dia após a inoculação. Outras linhagens também se destacaram pelo progresso mais lento da doença. A identificação de algumas linhagens duplo-haplóides com resistência parcial na população BR 18 x Frontana indica que é possível a seleção de linhagens com essa característica para serem usadas em programas de melhoramento objetivando resistência de cultivares comerciais. A segregação transgressiva foi também observada para a severidade, na população estudada. A herdabilidade foi estimada entre 9% e 85%.

**Palavras-chave:** duplo-haplóide, resistência parcial, herdabilidade, *Bipolaris sorokiniana*.

**DISEASE PROGRESS OF BIPOLARIS BROWN ON DOUBLE-  
HAPLOID LINES OF WHEAT AND STUDY INHERITANCE  
OF RESISTANCE**

**ABSTRACT** – Bipolaris brown spot of wheat is a disease that can induce high damage or grain quality and yield of wheat. In Brazil this disease can induce yield losses up to 60% on susceptible wheat varieties. The disease can affect yield of wheat in any growth stage of the plant. Cultural practices as crop rotation, fungicide spraying and resistant cultivars are used to control disease, but resistance appears as the least expensive and desirable strategy. The objectives of this work were characterize a double-haploid population of the crops BR 18 x Frontana, regarding the disease progress and to study the genetics variability of the resistance to brpwn spot on double-haploid lines of the cross BR 18 x Frontana developed at Embrapa Trigo. The parents and the double-haploid lines were grown in Green-house and were inoculated with an isolate of *Bipolaris sorokiniana* with known pathogenicity. The genotypes were visually evaluated according to a scale to determine the severity and the AUDPC, to calculate variance and the heritability. The line PF 013562 showed the most outstanding result considering that its highest severity reached only 6,8% 15 days after inoculation. Other lines also showed progress of the disease. The

identification of wheat lines double-haploid of the cross BR 18 x Frontana with partial resistance to brown spot shows that is possible to select genotypes with such characteristic in breeding programs aiming at to develop comercial varieties resistente to this diseases. A transgressive segregation was also observed to AUDPC and to severity of brown spot, on this population studied. The herdability values were 9% to 85%. It was observed a normal distribution on most lines within the parents BR 18 and Frontana, indicating that the genetic inheritance that governs this population is determined by high number of genes that could be considered a polygenic resistance with additive effects.

**Key words:** double-haploid, resistance, herdability, *Bipolaris sorokiniana*.



## CAPÍTULO I

### 1 INTRODUÇÃO

Entre as doenças fúngicas causadoras de manchas foliares, a mancha marrom do trigo, causal é o fungo *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. In Sorok) Shoemaker (sinônimos *Drechslera sorokiniana*), Surbam & Jain; *Helminthosporium sativum* Pamm., King & Bakke; teleomorfo *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib) Drechsl, ex Dastur, é uma doença que causa elevados danos a cultura, quando as condições climáticas são favoráveis ao seu desenvolvimento (MEHTA, 1981).

O melhoramento genético de trigo com objetivo de obter novos genótipos com resistência a uma ou mais doenças teve e continua tendo um grande impacto na produção agrícola brasileira e mundial. O uso de cultivares resistentes e o próprio melhoramento fazem parte de um cenário maior que aponta para a necessidade do uso de genótipos resistentes associados a outros processos, serviços e tecnologias que garantam o desenvolvimento sustentável.

Altas produtividades podem ser obtidas pela utilização de cultivares melhoradas e práticas culturais mais avançadas, conjuntamente. Sem o uso dessas práticas, o potencial genético de uma cultivar não é aproveitado integralmente; da mesma forma que

não são obtidos bons resultados com práticas culturais adequadas, ao utilizar uma cultivar reconhecidamente inferior ou inadequada.

A importância do melhoramento genético é inegável, especialmente pela criação de cultivares resistentes a doença. As vantagens de disponibilizar uma cultivar resistente incluem a ausência de custo extra no preço da semente, tecnologia ambientalmente correta e redução de custos de produtos e de aplicações.

Os objetivos do presente trabalho foram caracterizar a população Duplo-haplóide Trigo BR 18 x FRONTANA (FN), na região de Passo Fundo – RS, quanto ao progresso da mancha marrom, através do cálculo da área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) e estudar o controle genético da resistência à mancha marrom do trigo.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Importância Econômica da doença**

A mancha marrom tem sido considerada um problema na cultura do trigo e da cevada, em várias regiões do mundo, principalmente onde as temperaturas médias durante o inverno e as condições de umidade são mais elevadas durante o cultivo (DUVEILLER *et al.*, 2005).

Devido a crescente demanda global de produtos baseados em trigo, as lavouras desse cereal tiveram um grande crescimento mundial, reflexo dos constantes programas de melhoramento (DUBIN

& RAJARAM, 1996). Dessa forma, a mancha marrom tornou-se um sério problema no sistema de cultivo do trigo, em vários lugares do mundo, onde aproximadamente 12 milhões de hectares foram atacados pelo fungo, ocorrendo a proliferação da doença (NAGARAJAN & KUMAR, 1998; RUCKSTUHL, 1998; SINGH *et al.*, 1998). O patógeno tem grande ocorrência na América Latina (DUCZEK & JONES-FLORY, 1994), no Brasil (MEHTA *et al.*, 1992), partes da Europa (KWASMA, 1995) e em partes da China (CHANG & WU, 1998).

O agente causal da mancha marrom causa danos na cultura do trigo provocando a redução no tamanho e na qualidade dos grãos, causando a chamada ponta preta, principalmente quando a doença ocorre próximo ao estágio de espigamento (MATHRE, 1982; NUTTER *et al.*, 1985). Alguns estudos indicam que a incidência de ponta preta nos grãos tem uma relação direta com o rendimento e o peso dos grãos, entre genótipos suscetíveis e resistentes (ANDERSON & BANTTARI, 1976).

A doença é responsável por significativa perda anual na produção do trigo, embora os danos sejam muito variáveis de região para região. Em lavouras, no Brasil, danos de 20% já foram relatados em várias áreas, impedindo o crescimento comercial e a produção de trigo em uma escala ainda maior (DUVEILLER & GILCHRIST, 1994; DUVEILLER *et al.*, 2005). Em outros países, Dubin & Bimb (1994) registraram danos próximos a 30%, nos estudos experimentais. No Sul da Ásia a severidade da doença aumenta dramaticamente quando o solo é pouco drenado e em plantios muito tardios (DUBIN & RAJARAM, 1996). Danos de 24% à 27% também foram

registrados no Nepal, em variedades suscetíveis, porém em lavouras comerciais os danos chegaram a mais de 16% (BHATTA *et al.*, 1998).

## 2.2 Agente causal

O antigo gênero *Helminthosporium* foi dividido em três outros gêneros que foram, assim, definidos: *Bipolaris*, *Drechslera* e *Exserohilum*. A partir dessa divisão, *Helminthosporium sativum* passou a ser denominado de *Bipolaris sorokiniana* (ALCORN, 1982).

A mancha marrom tem como agente causal o fungo *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. In Sorok) Shoemaker (sinônimos *Drechslera sorokiniana*), Surbam & Jain; *Helminthosporium sativum* Pamm., King & Bakke; teleomorfo *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib) Drechsl, ex Dastur (MEHTA, 1981).

O fungo na forma assexuada ou imperfeita, *B. sorokiniana*, pertence aos fungos Mitospóricos, classe *Hyphomycetidae*, ordem *Moniliales* e a família *Dematiaceae*. Os conídios são marrons, oblongos, levemente curvados, medindo 15-20 x 60-130 µm, contendo de 3 a 13 septos (LUZ *et al.*, 1976).

A forma sexuada ou teleomórfica *Cochliobolus sativus* pertence a subdivisão *Ascomycotina*, classe *Loculoascomycetes*, ordem *Pelosporales* e a família *Pleosporaceae* (MENEZES & OLIVEIRA, 1993). Possuem pseudotécios que são de 300 a 400 µm de diâmetro, de cor preta, com ascas clavadas de 20-35 x 120-250 µm. Os ascósporos são hialinos, filamentosos e espiralados medindo 5-10 x 200-450 µm, possuindo de 4 a 10 septos (LUZ *et al.*, 1976).

A fase teleomórfica raramente ocorre na natureza. A única referência de pseudotécios de *C. sativus* ocorrendo na natureza foi relatado em Zâmbia (RAEMAEKERS, 1991), sendo observadas as estruturas do fungo, em que foi comparável com a forma teleomórfica produzida em laboratório.

### **2.3 Sintomatologia**

O fungo *B. sorokiniana* é um patógeno agressivo que causa mancha marrom nas folhas e espigas de trigo e de outros cereais de inverno, apodrecimento das raízes e ponta preta nos grãos (ZILLINSKY, 1983; KUMAR *et al.*, 2002).

O fungo geralmente penetra a epiderme do hospedeiro pelo apressório (KUMAR *et al.*, 2001) e raramente invade as folhas via estômatos. Pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta, sofrendo alguma variação com relação a cultivar avaliada. Quando ataca as raízes, a doença recebe o nome de podridão comum das raízes (PICININI & FERNANDES, 1995).

Os sintomas iniciais da doença manifestam-se nas primeiras folhas na forma de lesões necróticas de cor parda a negra, medindo de 1 a 2 mm de comprimento, sem margem clorótica. As lesões podem ser ovaladas a oblongas, com bordos definidos que variam em tamanho, formando grandes manchas que cobrem largas áreas do limbo foliar, quando as condições ambientais são favoráveis para o desenvolvimento da doença (DUVEILLER *et al.*, 1998; REIS *et al.*, 2001). Essas manchas aumentam de tamanho e tornam-se tipicamente elípticas com abundante esporulação, no centro, onde podem ser observados os conidióforos e os conídios do fungo. Quando

as lesões coalescem, a folha fica crestada e seca prematuramente (METHA, 1978).

As estruturas de frutificação desenvolvem-se rapidamente em condições de umidade e temperatura elevadas e são, geralmente, observadas nas lesões mais velhas. Em condições favoráveis para o desenvolvimento da doença, as espigas do trigo também são afetadas, podendo manifestar pontos escuros nas espiguetas, possivelmente, afetando o embrião e causando o enrugamento dos grãos (DUVEILLER *et al.*, 1998).

O fungo *B. sorokiniana* infecta também as plântulas, desenvolvendo lesões necróticas pretas a castanhas nas raízes, na coroa e na bainha das folhas inferiores. Na folha e na bainha, com o desenvolvimento da doença, surgem lesões ovais a alongadas, com manchas castanho-escuras. Infecções na raiz e na coroa da planta podem ser tão severas que as plantas infectadas ficam completamente secas, não realizam fotossíntese e, conseqüentemente, não produzem sementes (KUMAR *et al.*, 2002).

O ataque da doença em plantas no estágio de alongamento, pode resultar em acamamento de plantas. Os sintomas mais comuns são o descoloramento do tecido radicular que, com o tempo, torna-se acinzentado. Plantas adultas apresentam lesões pequenas, ovais e de coloração marrom nas raízes, nas bainhas das folhas inferiores ou nos internódios da coroa da planta, próximo à superfície do solo. Essa coloração acinzentada do sistema radicular é uma das características que diferenciam esta doença do mal-do-pé (REIS *et al.*, 2001).

Sob condições favoráveis, o fungo infecta nós e entrenós, provocando o estrangulamento dos mesmos deixando a planta

totalmente debilitada. Os nós apresentam lesões castanho-escuras que se projetam às vezes nos entrenós. Na fase final do ciclo da planta é possível verificar acentuada multiplicação do patógeno nessa região. Esse patógeno produz lesões em todos os órgãos da planta atacando glumas, lemas, páleas, ráquis, folhas, colmos e raízes. As espiguetas atacadas rapidamente perdem a coloração verde tornando-se de cor palha quando mortas (LUZ *et al.*, 1976). Os grãos, quando atingidos, ficam enrugados, sem peso, e com sintoma característico denominado “ponta-preta” (PICININI & FERNANDES, 1995), apresentando escurecimento da região do embrião, embora possam apresentar pequenas lesões pretas ou marrons em qualquer parte do grão. O seu enrugamento é bastante comum quando a severidade da doença ultrapassar limites de 60% (LUZ *et al.*, 1976).

A suscetibilidade ao patógeno aumenta no estágio DC 56 da escala de Zadok's (3/4 da inflorescência emergida). Nesse estágio, as condições de umidade são determinantes e com temperatura de 20 a 30°C a mancha marrom pode desenvolver lesões rapidamente (METHA, 1998). O tamanho da lesão tem sido usado para quantificar a resistência genética existente em plantas a vários patógenos, inclusive *B. sorokiniana* (BERGER *et al.*, 1997).

#### **2.4 Infecção e expressão dos sintomas**

As principais fontes de inóculo de *B. sorokiniana* são as sementes infectadas, restos culturais, plantas voluntárias, hospedeiros secundários e conídios dormentes no solo (REIS, 1991). Segundo

Shaner (1981) a semente é a principal fonte de inóculo desse patógeno. A transmissão do patógeno de sementes infectadas para os coleóptilos pode alcançar uma eficiência de 87% para o fungo *B. sorokiniana* (REIS & FORCELINI, 1993).

Os conídios produzidos nas primeiras folhas podem ser disseminados por respingos de chuva ou pelo vento e podem germinar nas folhas em até quatro horas, sendo seu apressório formado na célula epidérmica após oito horas. As hifas penetram em células adjacentes em até 24 horas (BISEN & CHANNY, 1983).

Embora a severidade da mancha marrom seja diretamente relacionada com a duração da umidade foliar e altas temperaturas no campo (REIS, 1991), pouco se sabe sobre os efeitos das condições ambientais sobre os componentes de resistência que podem permitir diferenças quantitativas de resistência entre os genótipos de trigo (DUVEILLER *et al.*, 1998). Couture & Sutton (1978) indicaram que a mancha marrom desenvolve-se quando as folhas de trigo permanecem úmidas por mais de 18 horas, com a temperatura média acima de 18 °C. Portanto, é provável que a densidade de semeadura possa afetar a severidade da doença, pela formação de um micro clima favorável para o desenvolvimento da doença.

Segundo Prates & Fernandes (2001), a temperatura exerce influência na expansão de lesões causadas por *B. sorokiniana*. Taxas de expansão de lesões mais elevadas quando a temperatura situa-se em torno de 23 a 30°C justificam o fato de que a mancha marrom é mais comumente encontrada em regiões de clima tropical e subtropical.



## **2.5 Variabilidade do fungo**

A especialização fisiológica da espécie foi descrita pela primeira vez por Christensen (1926), que relatou que os isolados do fungo variavam consideravelmente em virulência para cultivares de trigo e de cevada. Diferentes reações de progênies entre vários cruzamentos indicam que o complexo da herança genética é envolvida por vários genes (NELSON, 1961).

Estudos mais recentes, baseados em grande número de isolados, sugerem que *B. sorokiniana* varia em virulência e em agressividade com interação específica e não específica (MARAITE *et al.*, 1998; DUVEILLER & GARCIA, 2000).

O mecanismo de variabilidade não está bem compreendido. Anastomoses entre hifas podem resultar em hibridizações somáticas e o surgimento de novas variantes do fungo (KUMAR *et al.*, 2002).

## **2.6 Resistência genética à mancha marrom**

As doenças que ocorrem na cultura do trigo, muitas delas causadas por patógenos como fungos, bactérias e vírus, são grandes restrições na produção do trigo. O sucesso do melhoramento para resistência a várias doenças é influenciado por diversos fatores como a natureza do patógeno, a diversidade da virulência na população, o tipo de resistência genética, a metodologia usada e a escolha do ambiente para avaliar a resistência.

O primeiro cruzamento especificamente realizado para incorporar resistência à mancha marrom foi no Centro Internacional

de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT), em meados de 1980. Este cruzamento envolvia a cultivar de trigo BH 1146 do Brasil, considerada moderadamente resistente (MR). Contudo, o grau de resistência nas progênies foi baixo quando os testes foram realizados em regiões com temperatura e umidade favoráveis ao aparecimento da doença (RAJARAM *et al.*, 1995).

Entre os anos de 1980 e 1990, genótipos de trigo obtidos de linhas “Chinese Spring” apresentaram um grau variado de resistência para mancha marrom. Na mesma época, o programa de melhoramento do CIMMYT produziu linhagens com um determinado grau de resistência, que continham o *Thinopyrum curvifolium* em seu pedigree, o qual contribuiu muito para aumentar a variabilidade genética para seleção de genótipos resistentes à mancha marrom (VILLAREAL *et al.*, 1995).

Segundo Velazquez-Cruz (1994), a resistência de algumas cultivares de trigo, provindas de várias regiões do mundo, é controlada por dois ou três genes, enquanto que Sharma *et al.* (1997) relataram que as cultivares Langmai 10 e Yangma 6 podem ter resistência quantitativa, com alto grau de herdabilidade, e os trigos sintéticos, derivados de alguns acessos de *Aegilops tauschii*, também possuem resistência.

O principal desafio para os melhoristas é buscar novas fontes de resistência. Sucesso foi obtido quando foram transferidos genes de resistência de *Thinopyrum curvifolium* e *Triticum tauschii* para cultivares de trigo (MUJEEB-KAZI *et al.*, 1996). Este germoplasma foi identificado como uma valiosa fonte de genes de resistência à mancha marrom em trigo (SHARMA *et al.*, 1997).

De acordo com Sharma *et al.* (2004), existem muitas fontes de resistência em trigos sintéticos e espécies afins que podem ser exploradas em programas de melhoramento para incorporar resistência nos trigos comerciais, como materiais da China (Yangmai 6, SW 89-5193, SW 89-5422, G 162, Ning 8913), do Brasil (Ocepar 7, BH 1146, Maringá), derivados de outros cruzamentos envolvendo a espécie afim do trigo *T. curvifolium* (Chirya-3, Chirya-7) e trigos hexaplóides sintéticos envolvendo *T. tauschii* em seu pedigree. Com tudo isso, pesquisadores confirmam o progresso em programas de melhoramento quanto a resistência genética da mancha marrom em trigo e se forem identificados marcadores moleculares para essa doença, acelera o efeito para aumentar a resistência (SIDDIQUE *et al.*, 2006; DUVEILLER *et al.*, 2007).

Em cevada, a resistência à mancha marrom é governada por genes quantitativos no estágio de planta adulta, sendo que dois QTLs (loc para característica quantitativa) foram mapeados no cromossomo 15 e 5S, respectivamente (STEFFENSON *et al.*, 1996). Entretanto, a herança monogênica foi observada em cevada no estágio de plântula (VALJAVEC-GRATIAN & STEFFENSON, 1997). Kutcher *et al.* (1994) analisaram a herdabilidade da resistência para a podridão das raízes e mancha marrom em cevada. Resultados indicam que a herdabilidade para podridão das raízes entre o cruzamento FR 926-77 x Deuce foi de 56% a 85%, enquanto a herdabilidade da mancha marrom em outros cruzamentos foi de 43% a 61%.

Progênies F<sub>1</sub> e gerações segregantes (F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub>), obtidas dos cruzamentos com genótipos de trigo resistentes X suscetíveis foram estudadas no campo para determinar a genética da

resistência à mancha marrom causada por *B. sorokiniana*. Na geração F<sub>1</sub>, onde 200 a 250 plantas foram avaliadas, houve ausência de dominância. Baseados na distribuição da doença, a progênie F<sub>3</sub> foi agrupada dentro de quatro classes: homozigoto resistente, homozigoto suscetível, plantas segregantes resistentes e segregantes suscetíveis. Nesta geração a resistência parece ser controlada por três genes de aditividade. A presença de três genes também foi notada na distribuição das linhagens F<sub>4</sub> e F<sub>5</sub>. No caso das progênies F<sub>6</sub> alguns modelos quantitativos e qualitativos foram usados para estimar o número de genes. Segundo Joshi *et al.* (2004) este trabalho demonstrou que a resistência à mancha marrom é controlada por uma interação de genes de aditividade.

Alguns estudos a campo foram conduzidos por Sharma *et al.* (1997), envolvendo cruzamentos de trigo com as linhas “Chinese” com alto grau de resistência e cultivares de trigo comerciais com baixo ou intermediário grau de resistência. Foram avaliadas as gerações segregantes F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub>, utilizando 150 plantas de cada geração. A avaliação foi feita através da porcentagem de necrose e clorose de duas folhas, folha bandeira (FB) e folha FB-1. Os resultados sugerem que a seleção da resistência à mancha marrom pode ser efetiva em populações segregantes originados de trigo hexaplóides, com diferentes graus de resistência.

## **2.7 Produção de plantas haplóides**

As primeiras descrições de ocorrência natural de plantas haplóides datam do início da década de vinte do século passado em

*Datura stramonium* (BERGNER, 1922). Rapidamente foram surgindo relatos para diversas espécies como fumo e trigo. No entanto, somente entre o final da década de sessenta e início da de setenta, surgiram os primeiros protocolos para indução de haploidia *in vivo* e de duplicação cromossômica. Atualmente, os duplos-haplóides já são citados em mais de 200 espécies de plantas e o interesse pela técnica tem aumentado devido às tecnologias inovadoras e maior entendimento dos processos de indução de haplóides (BORDES *et al.*, 2006).

Em um programa de melhoramento genético de plantas autógamas cujo objetivo principal é conseguir genótipos com alto rendimento e estabilidade de produção, o sucesso depende, principalmente, da escolha dos genitores com capacidade para produzir genótipos superiores, da adoção de um programa de melhoramento capaz de proporcionar recombinações genéticas de interesse e da capacidade do melhorista em selecionar os indivíduos superiores nas gerações segregantes (ALLARD, 1971).

Em um processo convencional de melhoramento de trigo, após o cruzamento varietal, são necessárias de sete a nove gerações para a obtenção de alto grau de homozigose e conseqüentemente a estabilidade fenotípica. Visando aumentar a eficiência na obtenção de cultivares de trigo, algumas técnicas são incorporadas aos programas de melhoramento genético, entre elas a obtenção de plantas diaplóides de gerações F<sub>1</sub> ou F<sub>2</sub>, desenvolvidas a partir de embriões híbridos imaturos, resultantes da eliminação de cromossomos somáticos provocados por cruzamentos interespecíficos (CAMARGO *et al.*, 1999; MORAES-FERNANDES, 2002).

Com a obtenção de linhas homozigotas a variância aditiva é maximizada, os efeitos de dominância são neutralizados e as vantagens em caracteres quantitativos podem ser maiores, uma vez que a seleção é realizada somente com base na aditividade, não havendo interferência dos efeitos de dominância e epistasias (SNAPE *et al.*, 1986; MORAES-FERNANDES, 1999; SILVA *et al.*, 2002).

A utilização dos duplo-haplóides no melhoramento de plantas é pouco relatada na literatura e exemplos de esquemas de seleção utilizando essa técnica são raros. Entretanto, as empresas produtoras de sementes têm demonstrado grande interesse pela técnica e algumas já a introduziram em seus programas de melhoramento (BOUCHEZ *et al.*, 2000; FORSTER *et al.*, 2007).

Duplo-haplóides são especialmente úteis nas análises genéticas da resistência às doenças nas plantas cultivadas, principalmente para as características de herança complexa como foi suposto ser o caso da resistência de planta adulta durável à ferrugem da folha do trigo. Neste aspecto, as linhagens duplo-haplóides (DH), por causa da homozigose perfeita, são valiosas para análises genéticas e para pesquisas com marcadores moleculares que visam o mapeamento de genes (BRAMMER *et al.*, 1997; DARVEY, 1998).

### **2.7.1 A Gimnogênese**

A técnica de haplodiploidização via gimnogênese permite desenvolver uma planta *in vitro* a partir de embriões híbridos imaturos, resultantes de cruzamentos interespecíficos. Para a produção de plantas haplóides de trigo, é empregado o método da

gimnogênese, via polinização de trigo com milho, que resulta na eliminação do genoma do milho nas primeiras divisões mitóticas do embrião (MORAES-FERNANDES *et al.*, 1999).

Estudos realizados por Falk & Kasha (1981), demonstraram que o resultado do cruzamento entre *Hordeum bulbosum* com trigo são altamente influenciáveis por, pelo menos, três pares de alelos, *Kr1*, *Kr2* e *Kr3*, localizados nos cromossomos 5A, 5B e 5D, respectivamente. Assim, o uso do milho como genitor masculino em cruzamentos interespecíficos, visando à produção de plantas haplóides, tornou-se promissor, uma vez que esse cereal não sofre a ação dos alelos *Kr* que agem sobre a parede do pólen impedindo o desenvolvimento do tubo polínico comprometendo, assim, a realização da fecundação (O'DONOUGHUE & BENNETT, 1994).

Quando o pólen do milho é utilizado para polinizar o trigo, o genoma do milho é completamente eliminado durante as três primeiras divisões mitóticas, após a fecundação. Não há indícios de retenção de cromossomos do milho, como ocorre em outros cruzamentos, por exemplo, quando se usa o pólen de milheto, o que tornou o primeiro um forte candidato para substituir *H. bulbosum* nos cruzamentos interespecíficos (LAURIE & BENNETT, 1988; LAURIE & BENNETT, 1989).

Além da influência genética da espécie materna, vários fatores podem influenciar a formação de embriões em cruzamentos trigo x milho, entre os quais, a concentração da solução de 2,4-D aplicada após a polinização e o efeito genotípico do milho. Devido a instabilidade existente entre os genomas não há formação do endosperma, e o embrião haplóide geralmente tem um período de vida

*in situ* de cerca de 15 dias. Dessa forma, o sucesso depende do resgate e cultivo *in vitro* do embrião imaturo através de um meio de cultura quimicamente definido que substitui o endosperma, suprindo as necessidades nutricionais do embrião até sua germinação e formação da plântula (LAURIE & BENNETT, 1986; COMEAU, 1992; ZHANG *et al.*, 1996; ).

De acordo com Sager & Kitchin (1975), existem dois processos capazes de inibir a manifestação de um código genético, na presença de um homólogo ativo, nos organismos eucariontes. O primeiro deles é a eliminação ou diminuição irreversível das moléculas de DNA ou mesmo dos cromossomos enquanto o outro, é a inativação por condensação cromossômica ou *heterocromatinização* (JENSEN, 1977).

Nos vegetais, a eliminação pode ocorrer em muitos tecidos, sendo mais eficiente nas áreas de intensas divisões celulares, como as regiões meristemáticas, endosperma e embriões. Várias hipóteses têm sido levantadas para explicar o fenômeno da eliminação cromossômica nos organismos eucarióticos. Entre elas, as mais importantes são: 1) Assincronia no tempo do ciclo celular mitótico devido as diferenças genéticas entre as espécies cruzadas; 2) Anormalidades no fuso, centrômeros e centríolos e 3) Reconhecimento do DNA estranho e inativação (JENSEN, 1977).

Laurie & Bennett (1989), sugerem que a eliminação do genoma do milho, quando cruzado com trigo, seja devida à incompatibilidade de tamanho do centrômero dos cromossomos do milho com relação as fibras do fuso que são construídas pelo genoma materno, do trigo. É válido salientar que a eliminação cromossômica



completa do genitor masculino é um processo crítico nos cruzamentos interespecíficos que visam a produção de plantas haplóides já que não deve haver a retenção do material genético da espécie polinizadora, para que a identidade genética do embrião seja mantida e, conseqüentemente, se obtenha a homozigose perfeita, após a duplicação dos genomas. Esta é uma das limitações para a utilização deste método para produção de DHs em aveia, por exemplo, uma vez que essa espécie não elimina completamente os cromossomos do genitor masculino nos cruzamentos com milho, produzindo assim, embriões híbridos ao invés de haplóides (RINES *et al.*, 1997).

Além disso, o uso desta técnica nos programas de melhoramento depende do ajuste adequado de inúmeros fatores abióticos como, intensidade luminosa, temperatura, umidade relativa do ar, meios de cultura e de fatores bióticos, entre os quais, a sanidade da planta e o genótipo dos genitores utilizados nos cruzamentos (CAMPBELL *et al.*, 1998).

Atualmente, existe uma transição do cultivo de embriões imaturos e de anteras para a cultura de micrósporos. Existem várias explicações para este acontecimento. Na antera existem muitos tecidos como, por exemplo, o tecido conectivo que une a antera ao filete e, em geral, as condições de cultivo não favorecem a proliferação desses tecidos. Além disso, mesmo não se proliferando *in vitro* eles podem ter um efeito inibitório ou seletivo sobre a embriogênese dos micrósporos (HOFFMANN *et al.*, 1982; MARIATH *et al.*, 2003).

## CAPÍTULO II

### PROGRESSO DA MANCHA MARROM EM LINHAGENS DUPLO HAPLÓIDES DE TRIGO

FABIANA R. MÜHL<sup>1</sup>, ARIANO M. PRESTES<sup>2</sup>, PEDRO L.  
SCHEEREN<sup>3</sup>

**RESUMO** – A mancha marrom do trigo, causada pelo fungo *Bipolaris sorokiniana* pode induzir elevados danos à qualidade e produtividade de grãos. No Brasil, esta doença pode provocar danos anuais entre 20% a 80%

---

<sup>1</sup>Bióloga, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup>Orientador, Eng. Agr., PhD. Fitopatologia.

<sup>3</sup>Co-orientador, Eng. Agr., Dr., Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo.

em cultivares suscetíveis em condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença. Práticas culturais e a aplicação de fungicidas são usadas para controlar a doença, mas o uso da resistência genética é a estratégia mais econômica e que causa menos danos ao ambiente. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a população duplo-haplóide Trigo BR 18 X Frontana (FN), quanto ao progresso da doença, através do cálculo da área sob a curva de progresso da doença (ASCPD). O patógeno foi inoculado artificialmente nas linhagens duplo-haplóides do cruzamento BR 18 X FN, em câmara de inoculação com temperatura ajustada para 25 °C, umidade relativa superior a 90% e fotoperíodo de 12 horas, durante 24 horas. A avaliação da severidade foi realizada aos 3, 6, 9, 12 e 15 dias após a inoculação com auxílio de uma escala de notas. Os dados foram tabulados e feitos os cálculos da área sob a curva de progresso da doença. A linhagem que mais se destacou foi PF 013562, chegando à severidade máxima de 6,8% no décimo quinto dia após a inoculação. Outras linhagens também se destacaram com um progresso mais lento da doença. A identificação de algumas linhagens duplo-haplóides com resistência parcial na população BR 18 x FN indica que é possível a seleção de linhagens com essa característica para serem usadas em programas de melhoramento objetivando resistência de cultivares comerciais. Segregação transgressiva foi também observada para a Área sob a curva do progresso de doença (ASCPD) e para severidade, na população estudada.

**Palabras-chave:** *Bipolaris sorokiniana*, progresso lento da doença, duplo-haplóide.

## **DISEASE PROGRESS OF BIPOLARIS BROWN ON DOUBLE-HAPLOID LINES OF WHEAT**

**ABSTRACT** - Bipolaris Brown spot of wheat incited by the fungus *Bipolaris sorokiniana* can induce high damage to grain quality and yield in Brazil, the disease can induce yield losses from 20% to 80% on susceptible varieties grown under favorable environment for disease development. Crop rotation and fungicide spraying are used for control of the disease, however, the use of resistance appears as the most economic strategy and less harmful to the environment. The objectives of this work were the characterization of a Double-haploid population from the cross BR 18 x Frontana regarding the area under disease progress curve (AUDPC). The pathogen was artificially inoculated into the Double-haploid population of BR 18 x Frontana, in a mist chamber with temperature adjusted to 25 °C, moisture over 90% and a 12 hour photoperiod, during 24 hours. The severity of the disease was scored 3, 6, 9, 12 e 15 days after inoculation of the pathogen and the data were used for calculate the AUDPC. The most outstanding lines was PF 013562, from group III of the broad breeding program that reached a maximum disease severity of 6,8% 15 days after inoculation. Other lines from same program also showed slow progress of the disease. The identification of some Double-haploid lines from the cross BR 18 x Frontana displaying partial resistance

indicated that it is possible to select genotypes with such characteristics for using in breeding programs aiming at obtain resistant varieties. A Transgressive segregation was also observed for the área under disease progress curve and severity of the disease for the studied population.

**Key words:** *Bipolaris sorokiniana*, slow disease progress, double-haploids.

### 3 INTRODUÇÃO

A mancha marrom do trigo, causada pelo fungo *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. In Sorok) Shoemaker (sinônimos *Drechslera sorokiniana*), Surbam & Jain; *Helminthosporium sativum* Pamm., King & Bakke; teleomorfo *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib) Drechsl, ex Dastur (MEHTA, 1981), tem sido uma doença amplamente difundida no mundo, sendo encontrada em todas as regiões onde o cereal é cultivado (STEFFENSON, 1997; DUVEILLER *et al.*, 2005).

A doença é responsável por perda anual significativa na produção do trigo, porém os danos são variáveis de região para região. Em lavouras, no Brasil, danos de 20% já foram relatados em várias áreas, impedindo o crescimento comercial e a produção de trigo em escala ainda maior (DUVEILLER & GILCHRIST, 1994; DUVEILLER *et al.*, 2005). Em cultivares suscetíveis, o dano médio atribuído a esta doença varia de 16% a 33% para a mancha-marrom

(WILCOXSON *et al.*, 1990), embora estes sejam maiores quando a doença ocorre a partir do estágio de espigamento, em função da maior translocação de nutrientes para o desenvolvimento da espiga e o enchimento dos grãos (BARROS *et al.*, 1989).

A doença é o produto da interação entre o hospedeiro, o patógeno e o ambiente. Os níveis de doenças nas plantas são variáveis devido a alteração na frequência das raças do patógeno virulento, ao nível de resistência do hospedeiro, ou a modificações do ambiente. A planta não pode ser considerada resistente com base apenas no seu baixo nível de doença, mas sim no tipo de lesão ou reação, número de lesões ou área infectada pelo patógeno ou uma combinação entre esses diferentes fatores (PRABHU & MORAIS, 1993).

O progresso de uma doença pode ser explicado pelo aparecimento de novas lesões e pelo crescimento daquelas lesões já existentes (BERGAMIN FILHO & AMORIM, 1996). A expansão da lesão reflete a ação infecciosa do patógeno, enquanto novas infecções somente aparecem após um período de latência (BERGER *et al.*, 1997).

Nos estádios iniciais da mancha-marrom as lesões são pequenas e, embora numerosas, representam baixa severidade. Porém, com o passar do tempo as lesões aumentam de tamanho e podem atingir extensas áreas de tecido da planta, comprometendo a produtividade.

A avaliação dos componentes da resistência resultam no entendimento de como diversos fatores relacionados à resistência se combinam para produzir cultivares com vários níveis de resistência (LOUGHMAM *et al.*, 1996; PRESTES *et al.*, 2005). Alguns fatores contribuem para diferenças na interpretação dos resultados como, por

exemplo, a variabilidade do fungo, as condições ambientais, estágio da planta em que o patógeno foi inoculado e as técnicas de inoculação e de avaliação da severidade para estimar os danos (PIRSON, 1960; SCHAAREN & KRUPINSKY, 1970).

Um dos componentes utilizado para quantificar resistência parcial é a área sob a curva do progresso de doença (ASCPD), a qual permite identificar diferentes níveis de resistência, auxiliando na identificação e caracterização de genótipos, permitindo o acompanhamento do aumento da doença no tempo. Essas avaliações devem ser seqüenciais com intervalos não superiores a uma semana e em um mínimo de três avaliações (MILACH *et al.*, 1996; JEGER & VILJANEN-ROLLINSON, 2001).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a população Duplo-haplóide do Trigo BR 18 x Frontana (FN), quanto ao progresso da mancha marrom do trigo, através do cálculo da área sob a curva de progresso da doença (ASCPD).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Escolha das cultivares parentais

O trabalho foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS.

As cultivares parentais, **BR 18** (D6301/NAINARI 60/WEIQUE/RED MADE/3/CINO\*2/CHRIS ALD SIB) e **Frontana** (FRONTEIRA x MENTANA), foram os genitores para obtenção das linhagens duplo-haplóides. Esses genitores foram previamente

escolhidos com base nas características agronômicas e na reação à mancha marrom.

#### **4.2 Realização dos cruzamentos para obtenção da geração F1**

As sementes das cultivares parentais, BR 18 e Frontana (FN), foram semeadas em vasos com capacidade para 7 kg, contendo solo de campo nativo corrigido e adubado de acordo com a interpretação de análise de solos, segundo recomendações da Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC (2004). Cada cultivar foi semeada em três épocas, em três vasos, contendo seis plantas por vaso para evitar a competição por nutrientes.

No início do espigamento foram realizados os cruzamentos entre os genitores e aproximadamente quarenta dias após, as sementes F1 foram coletadas e secas em estufas a 35 °C, por sete dias, para a quebra da dormência. Posteriormente, as sementes foram armazenadas em câmara de conservação de sementes.

#### **4.3 Obtenção das linhagens duplo-haplóides (LDH)**

As sementes F1, obtidas dos cruzamentos realizados foram semeadas e mantidas em casa-de-vegetação. O híbrido de milho DKB 212 foi semeado em vasos e mantido em estufa a 25°C, para a obtenção de pólen viável para as polinizações.

Para efetuar os cruzamentos, as plantas da geração F1 foram emasculada após quatro dias, as espigas foram polinizadas com pólen de milho, recém coletado.



#### **4.4 Cultivo das linhagens duplo-haplóides (LDH)**

A semeadura dos genitores e das linhagens duplo-haplóides foi realizada em casa-de-vegetação, em copos com volume de 350 mL. Os tratamentos (genótipos) foram dispostos em três repetições, com seis plantas por copo. O delineamento utilizado nesse experimento foi completamente casualizado.

#### **4.5 Inoculação do patógeno nas linhagens duplo-haplóides (LDH)**

Primeiramente foi realizado o isolamento do patógeno seguindo os Postulados de Koch e obtidas colônias puras de *B. sorokiniana*. Para a inoculação foi utilizado um isolado agressivo de *B. sorokiniana*, obtido de população natural coletado nos campos experimentais da Embrapa Trigo e denominado de *Bip01*.

A suspensão de inóculo foi ajustada com auxílio de um hemocitômetro, em contagem de volume conhecido, contendo  $10^4$  conídios de *B. sorokiniana* por mL. Para cada 1000 mL de suspensão foram adicionadas duas gotas de Polioxietileno Sorbitam Monolaurato 20 (Tween 20).

A masculação foi feita no estádio de afilhamento das linhagens da casa de vegetação. A temperatura foi ajustada para 24 °C, com umidade relativa superior a 90% e fotoperíodo de 12 horas, durante 24 horas. As plantas foram pulverizadas utilizando uma pistola pressurizada (De Vilbiss, modelo SGA 570), devidamente regulada, dirigida da parte inferior a superior da folha. Após o período de

incubação as plantas permaneceram em câmara de crescimento até a avaliação.

#### **4.6 Avaliação da severidade da doença nos parentais e nas linhagens duplo-haplóides (LDH)**

A avaliação de reação á doença desse material foi realizada com base na escala para avaliação de manchas foliares elaborada para execução do presente trabalho (Tabela 1), onde foi atribuída uma nota de severidade segundo a área foliar necrosada, e a partir desse resultado determinada a reação de todas as linhagens.

Para analisar o progresso da doença, as avaliações foram realizadas 3, 6, 9, 12 e 15 dias após a inoculação.

Tabela 1 – Escala para avaliação de manchas foliares.

<b>NOTA</b>	<b>REAÇÃO</b>	<b>SEVERIDADE (%)</b>
0	IMUNE	0
1	R	1-5
2	MR	6-25
3	MS	26-50
4	S	51-75
5	AS	+75

R=Resistente, MR=Moderadamente Resistente,  
MS=Moderadamente Suscetível, S=suscetível,  
AS=Altamente Suscetível

#### **4.7 Análise estatística dos dados**

A partir dos dados obtidos na avaliação de severidade da mancha marrom foram calculadas as médias dos genótipos, variância no genótipo e cálculo da área sob a curva de progresso da doença (ASCPD). Para o cálculo das médias, utilizou-se as leituras de severidade de seis avaliações de cada planta. A partir dessas médias calculou-se a média geral de cada genótipo.

Efetuuou-se, também, a análise de agrupamento da severidade da doença das linhagens.

#### **4.7.1 Área sob a curva do progresso da doença (ASCPD)**

A determinação do progresso da doença foi feita através do cálculo da área sob a curva de progresso da doença (ASCPD) dos genótipos, através da fórmula proposta por Das et al. (1992).

$$\text{ASCPD} = \sum_{i=1}^{n-1} [(x_i + x_{i+1}) / 2] (t_{i+1} - t_i)$$

Onde: n = número de avaliações;

$x_i$  = severidade da mancha marrom na data  $t_i$ ;

$x_{i+1}$  = severidade da mancha marrom na data  $t_{i+1}$ ;

$t_i$  = data da avaliação;

$t_{i+1}$  = data de avaliação seguinte a  $t_i$ .

#### **4.7.2 Teste de médias**

Os dados da área abaixo da curva de progresso da doença, e severidade final da doença foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e a discriminação da variação entre genótipos foi feita pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No início do trabalho, em 2006, os genitores foram testados quanto a reação à mancha marrom. BR 18 foi considerada moderadamente resistente e Frontana suscetível, conforme apresentado na Figura 1. Do cruzamento desses genitores (BR 18 x FN) foram desenvolvidas 381 linhagens duplo-haplóides. Porém, os genótipos parentais apresentam sementes de diferentes origens.

Com o desenvolvimento do experimento, todas as origens dos genitores que geraram sementes F1 e todas as linhagens duplo-haplóides foram analisadas quanto a área foliar necrosada. A semente das cultivares parentais tinham duas origens: BR 18 (383277 e 383159) e Frontana (383279 e 383175). Nos testes subseqüentes uma das origens do BR 18 (383159) comportou-se como suscetível, com resultados semelhantes aos do genitor FN (383279 e 383175). A partir desse fato, a população duplo-haplóide foi dividida em dois grupos denominados conforme suas origens: Melhoramento Especial composto pelas linhagens derivadas do cruzamento entre plantas

moderadamente resistentes de BR 18 (383277) x FN (383279), e o Melhoramento Geral, BR 18 (383159) x FN (383175) em que BR 18 comportou-se como suscetível. Assim as duas populações de duplo-haplóides fora analisadas separadamente.

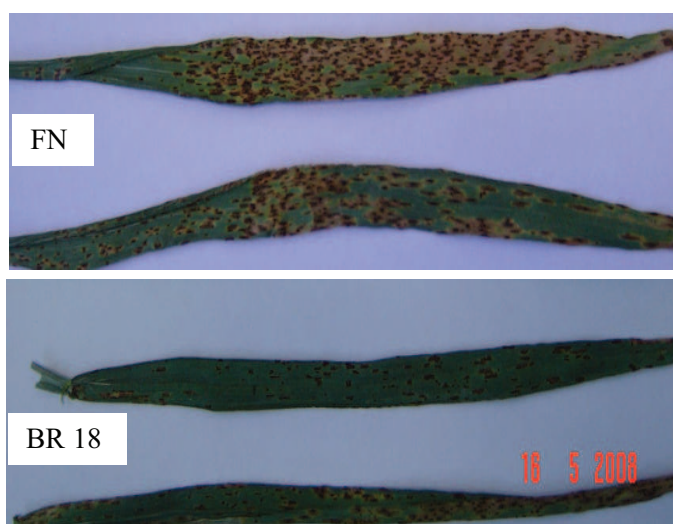


Figura 1 – Reação de Frontana (suscetível) e BR18 (moderadamente resistente) a mancha marrom, avaliados em casa de vegetação.

### **5.1 Melhoramento Especial – BR 18 (383277) x Frontana (383279)**

A resistência parcial ou quantitativa é um tipo de resistência incompleta, geralmente condicionada por genes menores, em que, embora o hospedeiro apresente reação de suscetibilidade, verifica-se uma baixa taxa de progresso da doença. Para que a resistência parcial possa ser identificada e caracterizada em um grupo de genótipos é necessário que entre estes haja variabilidade para os diversos componentes que a condicionam. A grande variabilidade encontrada entre as linhagens estudadas quanto a expressão da resistência em condições de casa-de-vegetação, indicam a possibilidade de seleção de constituições genéticas que apresentem a característica. Houve diferenças significativas entre as linhagens duplo-haplóides analisadas quanto a ASCPD e severidade final da doença no período de avaliação.

Na Tabela 2, são apresentadas 11 linhagens que fazem parte do Grupo I, em que apresentam médias de porcentagem de área foliar necrosada entre 22% e 35%. De acordo com a escala de avaliação da reação à doença apenas as linhagens PF 015317-B, PF 004979 e PF 003959-A foram consideradas moderadamente resistentes (MR), e comportaram-se semelhante à média do genitor BR 18. Os demais genótipos desse grupo enquadraram-se como moderadamente suscetíveis (MS), embora as médias de severidade tenham sido apenas ligeiramente mais elevadas.

Apesar dos valores de severidade serem próximos, houve diferença significativa entre linhagens desse grupo. PF 003959-A e PF 015317-B foram estatisticamente iguais quanto a severidade e área sob a curva do progresso da doença, pelo Teste Tukey ( $\alpha = 0,05$ ), diferindo das demais linhagens. Esses genótipos apresentaram valores

iniciais de severidade de 1,8% e 3,2%, respectivamente, e aparentemente apresentaram um progresso lento da doença uma vez que mantiveram níveis de severidade abaixo de 25%, o que é interessante para os programas de melhoramento genético (Figura 2). O coeficiente de variação (CV) foi baixo para os dados analisados, sendo 9,5% para ASCPD e 11,7% para severidade.

Tabela 2 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo I, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
BR 18	15	MR	4,5	120,9
PF 015317-B	22	MR	10,3	136,2
PF 015319-A	26	MS	5	170,4
PF 015321-A	27	MS	7,5	161,7
PF 015322-A	29	MS	17,5	152,7
PF 015323-C	27	MS	7,5	162,9
PF 004978	33	MS	7,5	174,3
PF 004979	25	MR	12,5	138,9
PF 995002-A	27	MS	7,5	132,3
PF 995006-A	35	MS	12,5	156,3
PF 999540	30	MS	12,5	179,4
PF 003959-A	22	MR	7,5	133,2

MR=Moderadamente Resistente; MS=Moderadamente Suscetível.

Na Tabela 3 foram agrupadas 15 linhagens com média de área foliar necrosada semelhante ao genitor FRONTANA, e que apresentaram média de severidade entre 35% e 56%. Para a ASCPD as linhagens PF 015326-A, PF 983236-A, PF 003911-A, PF 003909-A, PF 003958-A e PF 995008-B foram estatisticamente iguais

apresentando os valores mais baixos da ASCPD, com CV de 6,87%. Para valores de severidade, a linhagem PF 003958 destacou-se das demais apresentando severidade de 35% e um CV de 8,67% (Tabela 3). Das linhagens, componentes do grupo II apresentaram diferença significativa, PF 003958 e PF995008 com um progresso mais lento da doença (Figura 3).

Tabela 3 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo II, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
FRONTANA	51	S	5	336,3
PF 015318-A	53	S	20	257,7
PF 015326-A	41	MS	17,5	246,9
PF 003957-A	55	S	25	279,3
PF 983236-A	40	MS	12,5	261,6
PF 003907-A	48	MS	7,5	280,8
PF 003908-A	44	MS	17,5	303,6
PF 003909-A	43	MS	20	267,9
PF 003911-A	40	MS	12,5	251,4
PF 003915-A	56	S	17,5	285
PF 003917-A	50	MS	12,5	240,6
PF 003920-A	46	MS	17,5	301,8
PF 003958-A	35	MS	12,5	258,9
PF 994768-A	46	MS	17,5	255,6
PF 995008-B	37	MS	7,5	248,7
PF 995019-A	52	S	32,5	297,6

MS=Moderadamente Suscetível; S=Suscetível.

Todas as linhagens do Grupo III ficaram com uma distribuição normal entre os genitores BR 18 (Grupo I) e FN (Grupo II). De um total de 24 linhagens, PF 015324-A, PF 015325-A, PF 995007-A, PF



003910-A, PF 003913-A, PF 004849, PF 983239-A, PF 983245-A e PF 983246-A não diferiram estatisticamente quanto a ASCPD e apresentaram um CV de 8,64%. Apenas a linhagem PF 983245-A diferiu das demais, apresentando um valor mais baixo de severidade (28%), com um CV de 10,42% (Tabela 4). As linhagens que apresentaram um progresso mais lento da doença no terceiro dia após a inoculação foram apresentadas em forma de gráficos (Figura 4).

Tabela 4 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo III, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 015324-A	36	MS	17,5	195
PF 015325-A	33	MS	7,5	201,3
PF 995001-A	34	MS	7,5	224,1
PF 995003-A	45	MS	12,5	220,5
PF 995004-A	34	MS	17,5	194,4
PF 995005-A	38	MS	7,5	229,2
PF 995007-A	33	MS	7,5	196,5
PF 999995-B	35	MS	12,5	200,1
PF 999999-A	35	MS	12,5	196,5
PF 003905-A	32	MS	7,5	216
PF 003910-A	30	MS	12,5	203,4
PF 003912-A	38	MS	7,5	205,8
PF 003913-A	32	MS	7,5	183,6
PF 003916-A	35	MS	12,5	231,9
PF 003960-A	32	MS	7,5	210,6
PF 004849	35	MS	12,5	187,5
PF 004850	35	MS	25	209,7
PF 004981	37	MS	32,5	187,5
PF 983238-A	31	MS	17,5	197,1
PF 983239-A	30	MS	12,5	188,4
PF 983241-A	34	MS	17,5	208,2

PF 983244-A	37	MS	7,5	210,3
PF 983245-A	28	MS	7,5	192
PF 983246-A	30	MS	12,5	204

MS=Moderadamente Suscetível.

Na Tabela 5 são apresentadas as linhagens que comportaram-se como suscetíveis, e com médias de severidade superiores ao genitor FRONTANA. Somente a linhagem PF 003919-A destacou-se das demais, com menores valores de ASCPD e de severidade apresentando CV de 9,17% e 10,42% respectivamente. Como pode ser observado na Figura 5, as quatro linhagens apresentaram mais de 50% da área foliar necrosada e, portanto, nenhuma delas deverá ser indicado a programas de melhoramento genético. Esses genótipos foram inferiores ao genitor suscetível conforme pode ser observado na Figura 5.

O progresso da doença (Figura 6) das linhagens duplo-haplóide mostra claramente a média de comportamento de cada grupo de genótipos segregados conforme a severidade da doença.

Tabela 5 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo IV, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 015320-A	62	S	70	341,4
PF 003918-A	55	S	25	366,3
PF 003919-A	51	S	17,5	331,5
PF 983247-A	63	S	32,5	356,1

S=Suscetível.

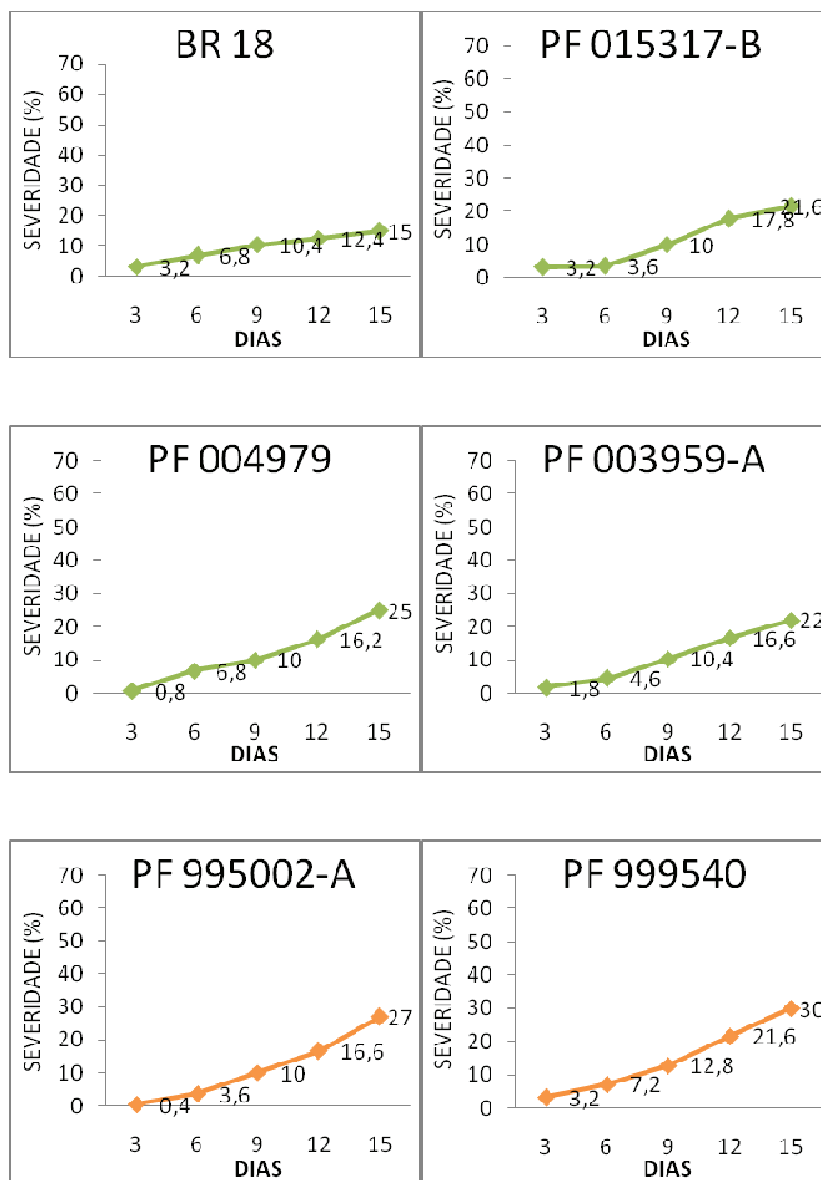


Figura 2 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo I, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

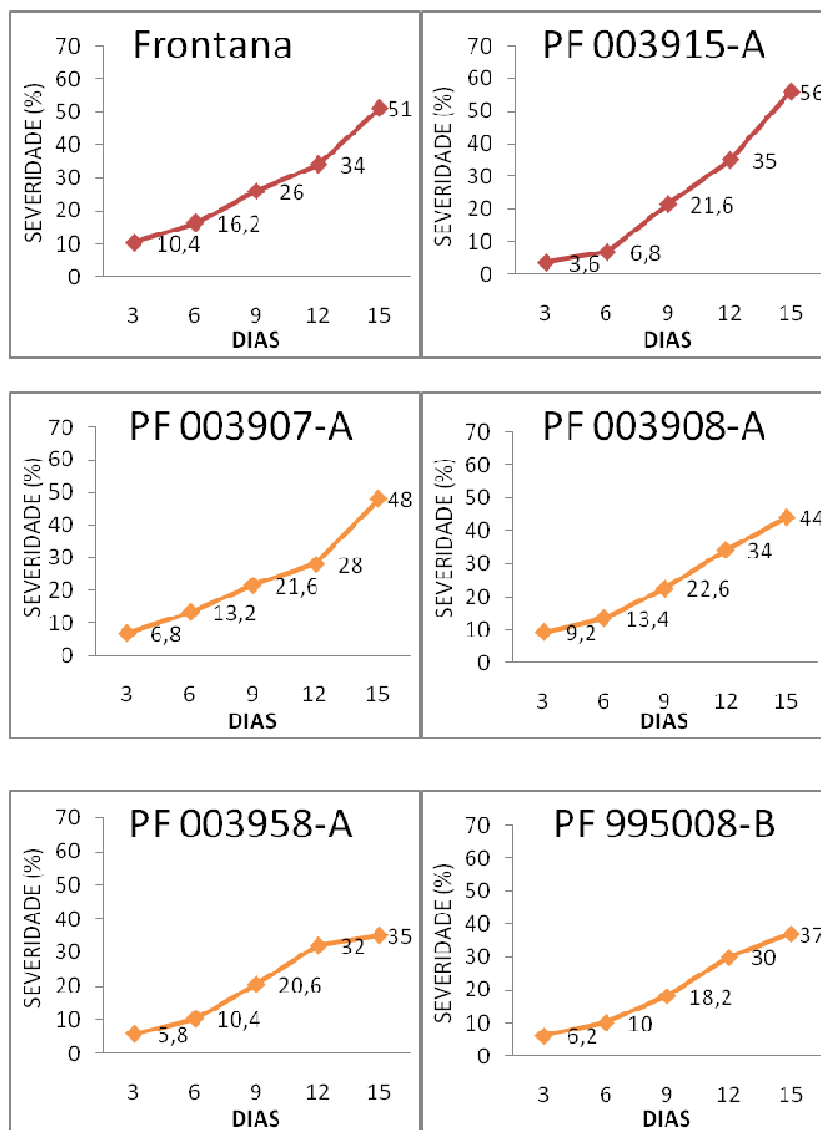


Figura 3 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo II, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

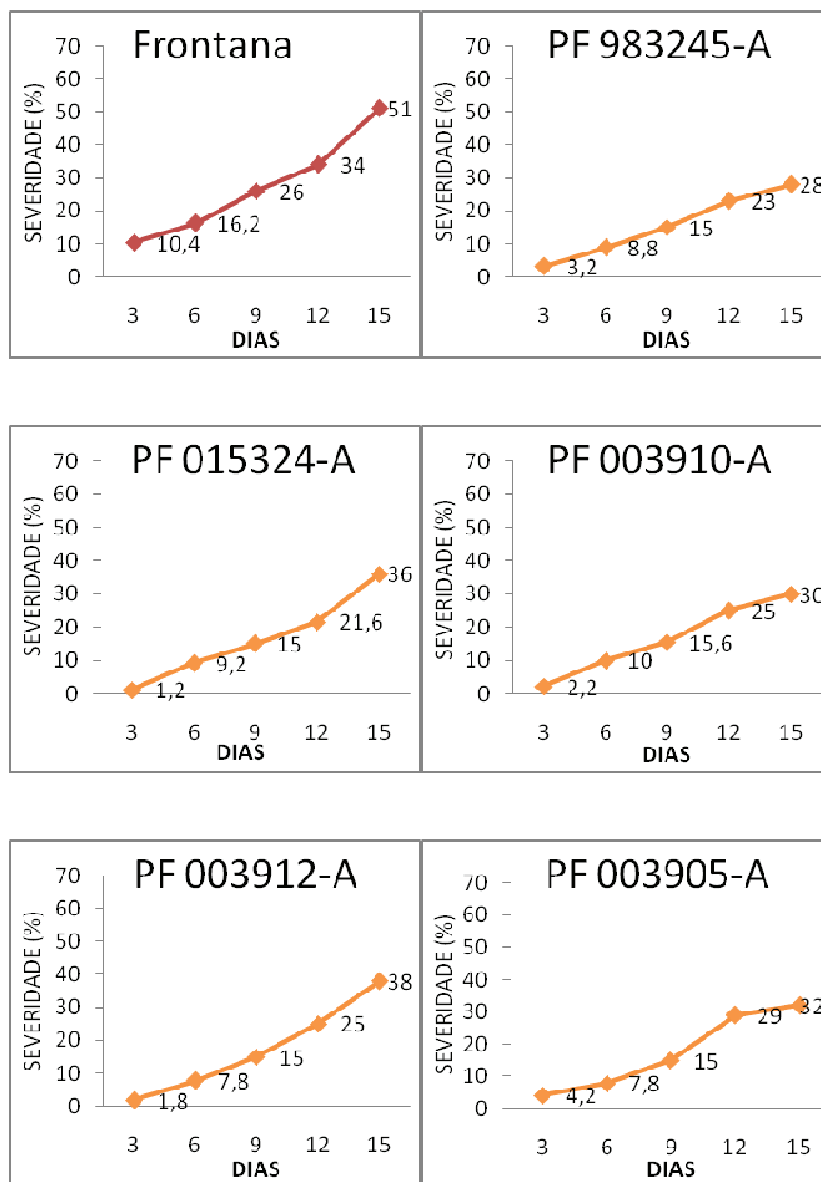


Figura 4 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo III, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

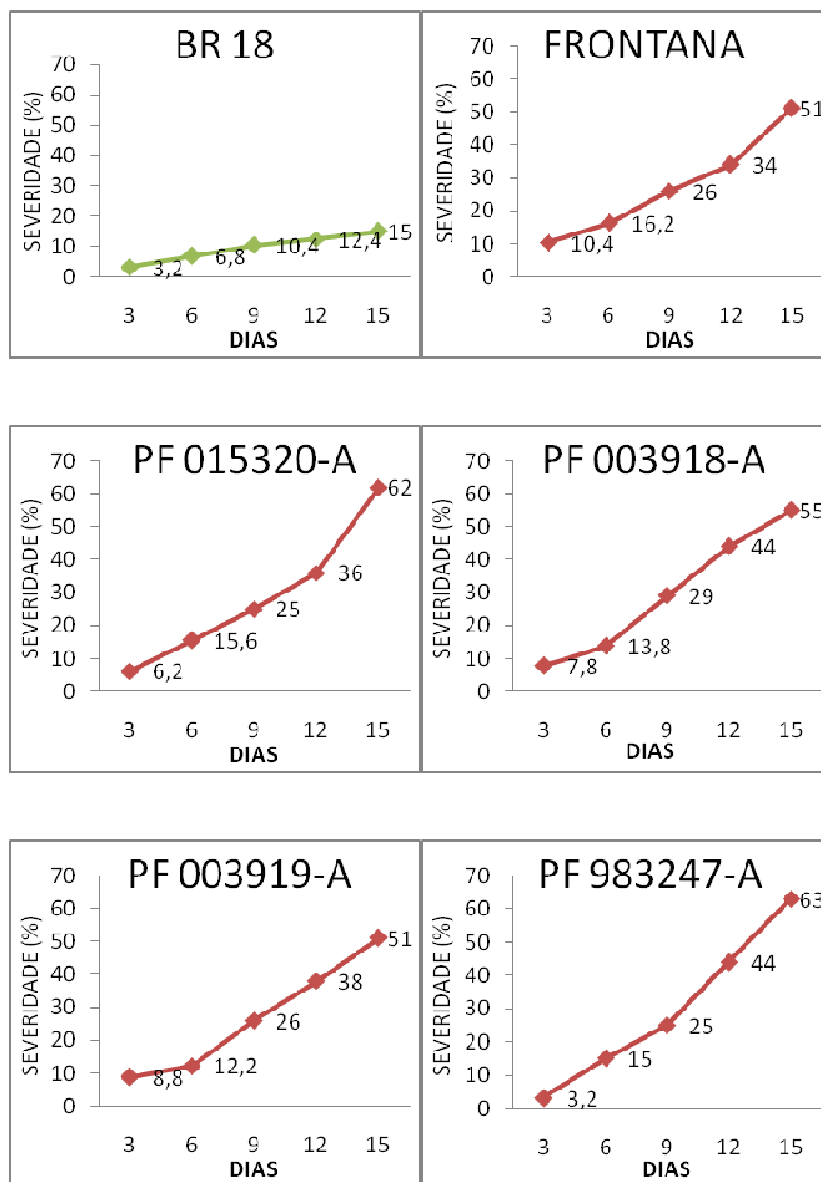


Figura 5 – Progresso da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Especial, do Grupo IV, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

### Evolução Média por Grupo

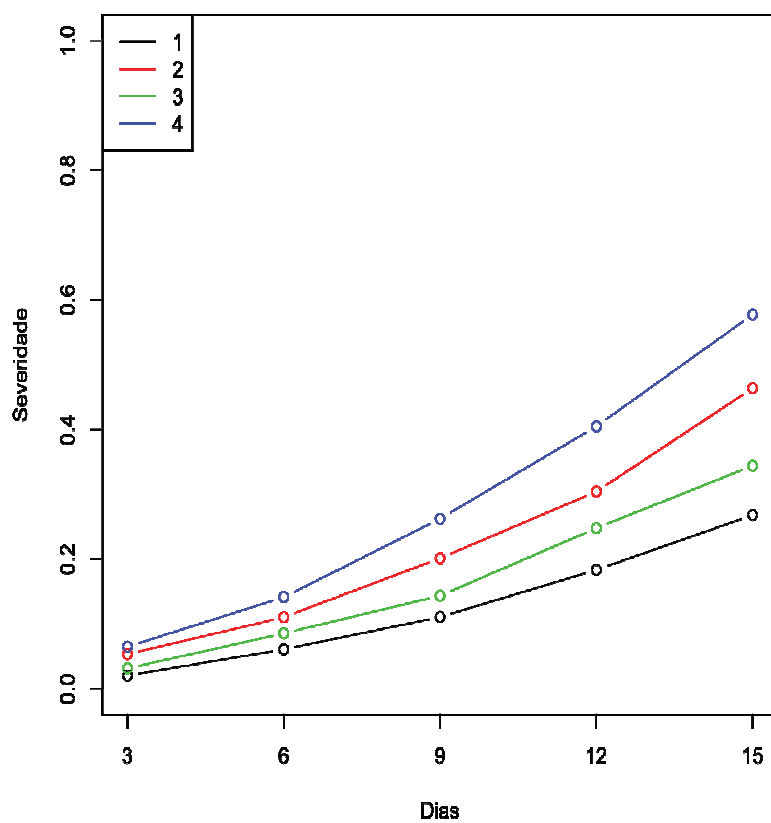


Figura 6 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, dos quatro grupos do Melhoramento Especial, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

## **5.2 Melhoramento Geral – BR 18 (383159) x FN (383175)**

Esse componente do programa geral de melhoramento foi composto de 79 genótipos.

Na Tabela 6, são apresentados os genótipos e as linhagens que apresentaram reação de suscetibilidade moderada (MS) e suscetíveis (S), obtendo uma área foliar necrosada de 36% a 71%. Os genitores usados nos cruzamentos para gerar as linhagens que compreendem este grupo, BR 18 e FN, apresentaram médias de severidade semelhantes entre si, 47% e 57% respectivamente, e foram enquadrados pela análise de agrupamento no Grupo I, como pode ser observado na Figura 7.

De um total de 79 linhagens duplo-haplóides, 32 linhagens (39,5%) foram moderadamente suscetíveis. Porém, 49 linhagens (60,5%) apresentaram suscetibilidade à mancha marrom. As linhagens que destacaram-se quanto a ASCPD e severidade da doença, pelo teste de médias de Tukey, foram PF 014872, PF 013932 e PF 013946. Quanto a severidade apresentaram valores de 37%, 36% e 40% e ASCPD 270,9, 267,0 e 281,4, respectivamente (Tabela 6). Esses resultados foram considerados consistentes uma vez que o CV.% foi de 8,73% para dados de severidade e de 6,52% para os dados de ASCPD.

Nenhuma linhagem deste grupo apresentou progresso lento da doença, sendo o genitor BR 18, já no terceiro dia após a inoculação, apresentava severidade de 13,8%, comportando-se como suscetível. Esse resultado difere dos dados obtidos no programa de melhoramento especial em que essa cultivar comportou-se como moderadamente



resistente e com um progresso mais lento da doença. Deve-se salientar, entretanto, que as sementes dessa cultivar eram de origens diferentes nos dois programas e que, provavelmente, a semente perdeu sua verdadeira identidade. É possível que BR 18 do programa geral tenha sido selecionado de plantas segregantes oriundas de cruzamento natural de BR 18 com uma cultivar desconhecida. Provavelmente, houve seleção de plantas com o fenótipo de BR 18, mas com suscetibilidade a mancha marrom.

Na Tabela 7 foram agrupadas as linhagens com média de área foliar necrosada inferior aos genitores parentais e as linhagens do Grupo II. Essas linhagens, apresentam reação de materiais suscetíveis, moderadamente suscetíveis e moderadamente resistentes, com uma média de severidade entre 11,2% a 56%. De um total de 178 linhagens, 124 (70%) comportaram-se como moderadamente suscetíveis, mas uma linhagem foi considerada suscetível. E 53 linhagens (29%) comportaram-se como moderadamente resistentes à mancha marrom, o que é muito importante para os programas de melhoramento genético de trigo.

Algumas das linhagens moderadamente resistentes foram estudadas quanto ao progresso da doença (Figura 8). Todas apresentaram valor médio de severidade não superior a 3% no terceiro dia após a inoculação e valor máximo de 19,2% no décimo quinto dia, apresentando um progresso lento da doença. As linhagens que não diferiram estatisticamente entre si e que apresentaram valores de ASCPD e severidade menores foram PF 014632-A, PF 013793 e PF 014602 (Tabela 7). Os valores de CV. foram considerados baixos para severidade, sendo 10,9% e ASCPD com 8,3%.

Apenas uma linhagem esta presente no Grupo III (Figura 9). A linhagem PF 013562 foi a que atingiu o valor mais baixo de severidade, a qual, no terceiro dia após a inoculação apresentou 0,4% de severidade, atingindo um máximo de 6,8% da área foliar necrosada quinze dias após a inoculação.

No grupo IV, são apresentadas as linhagens com valores de severidade superiores aos genótipos parentais (Tabela 8). De um total de 17 linhagens, 13 (76,5%) foram suscetíveis à mancha marrom e 4 (23,5%) comportaram-se como altamente suscetíveis. Neste grupo IV, destacam-se as linhagens PF 014302 e PF 014670 com valores de severidade de 55% e 61% e ASCPD de 420,9 e 418,5, respectivamente. O CV foi de 8% e 5,6%, respectivamente. Nenhuma linhagem apresentou um progresso lento da doença (Figura 10).

Valores de severidade superiores ao Grupo IV, só foram percebidos em duas linhagens, do Grupo V, sendo as duas linhagens (PF 014141-A e PF 014614) componentes do grupo V, apresentaram valores de severidade de 90% e 89%, respectivamente após 15 dias da inoculação do patógeno (Figura 11).

Os resultados da análise de variância e do teste de Tukey não foram apresentados nas tabelas pelo elevado número de linhagens que foram testadas nesse experimento. Da mesma forma, nem todas as linhagens dos grupos foram apresentadas em forma de gráficos.

Como pode ser analisado nas tabelas e gráficos, algumas linhagens comportaram-se como moderadamente resistentes, sendo que no caso do melhoramento geral, os genitores utilizados nos cruzamentos serem suscetíveis à mancha marrom. Este grau moderado de resistência encontrado nas linhagens, comparadas com seus

progenitores pode ser atribuída pela recombinação de fatores genéticos dos pais, como, por exemplo, a segregação transgressiva (McFADDEN, 1930).

A linhagem que mais se destacou foi PF 013562, do Grupo III do melhoramento geral, que atingiu severidade de 6,8% somente no décimo quinto dia após a inoculação. Outras linhagens também destacaram-se por um progresso mais lento da doença. A identificação de algumas linhagens duplo-haplóides com resistência moderada na população BR 18 x FN, indica que é possível a seleção de linhagens com tais características para serem usadas em programas de melhoramento objetivando resistência a mancha marrom em cultivares comerciais.

Allard, (1960) sugeriu, também, que o número de genes, a dominância e o efeito do ambiente podem constituir os fatores que afetam a distribuição da segregação na população.

Segregação transgressiva foi também observada para a Área abaixo da curva do progresso da doença (ASCPD) e a severidade, em cruzamentos envolvendo genitores com resistência moderada e considerados suscetíveis. Nas Figuras 6 e 12 pode-se observar segregação transgressiva entre os grupos, onde existem linhagens que comportaram-se como mais resistentes que os genitores. Isso pode ser atribuído a recombinação de diversos genes de resistência presentes nos genitores.

Segundo Tanksley (1993), a causa para este tipo de segregação pode ser, muitas vezes, devido ao acúmulo de alelos complementares herdados dos dois parentais.

A baixa severidade à mancha marrom e a positiva correlação com a resistência e a ASCPD, sugerem que a resistência contribui positivamente para reduzir a severidade em algumas linhagens, analisadas nesse experimento.

Vários autores sugerem que genes de resistência com efeito de aditividade à mancha marrom devem ter uma relação com a baixa ASCPD para o controle dessa doença em trigo. Os resultados aqui relatados indicam diferentes níveis de resistência à mancha marrom presentes nos genótipos parentais, como pode ser observado no genótipo parental BR 18. Através da análise de diferentes origens deste genótipo pôde ser observado uma diferença visível; uma origem comportou-se como moderadamente resistente e a outra suscetível.

Nesse experimento, como pode ser observado nos gráficos e tabelas apresentados, BR 18 do bloco geral comportou-se como suscetível diferindo do experimento anterior. Para verificar esse resultado foi realizada a análise do perfil de gluteninas de acessos de diferentes origens de BR 18 (9130, 383159, 383277, 383278) e FN (3095, 383175, 383279, 383280) como pode ser observado na figura 13.

Considerando-se o estudo das gluteninas os grãos isolados, não foram observadas diferenças quanto à composição de gluteninas (nem de HMW-GS nem de LMW-GS) entre as origens do BR 18 (perfil HMW-GS: 1, 17+18, 5+10). Porém observou-se, diferença quanto à presença de bandas por volta de 70 kDa (1 banda) e 55 kDa (2 bandas) entre os diferentes acessos, bem como 2 bandas de aproximadamente 50 kDa, de intensidades diferentes e presentes em todos os acessos.

Todas as amostras das origens 9130 e 383277 não apresentaram esta banda de 70 kDa. Esses materiais foram utilizados nos cruzamentos para a produção das linhagens duplo-haplóides e comportaram-se como moderadamente resistentes. Entretanto o acesso 383159, apresentou esta banda em todas as amostras analisadas, enquanto que, o acesso 383278 apresentou essa banda no grão 1 e no grão 3, mas no grão 2 e na amostra da mistura de grãos não teve a banda de 70 kDa. Essas origens comportaram-se como suscetíveis à mancha marrom, indicando que, neste último acesso poderia haver a presença de mais de um genótipo (Figura 13).

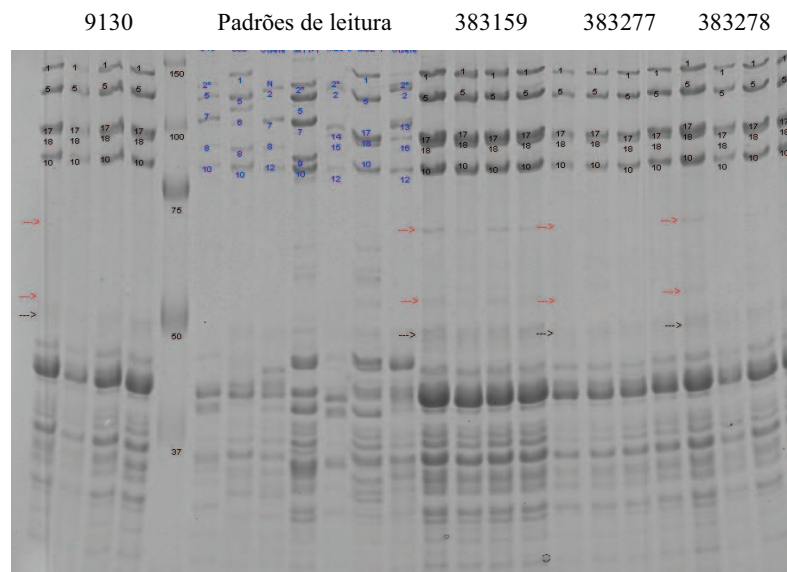


Figura 13 - Perfil de gluteninas de acessos de diferentes origens de BR 18. Embrapa, 2009.

As diferentes origens de Frontana não diferiram quanto ao perfil de gluteninas de alto peso molecular (perfil HMW-GS: N, 7+8, 2+12) como pode ser observado na figura 14. No entanto, são observadas diferenças quanto ao perfil de gluteninas de baixo peso molecular, onde foram identificados dois perfis distintos.

O acesso 3095 apresenta o grão 1, o grão 3, e a mistura de grãos com o perfil do tipo 1 (flecha azul). Já o grão 2 tem o perfil do tipo 2 (indicado pela flecha vermelha). O acesso 383175 só apresenta grãos com o perfil do tipo 2 (flecha vermelha). Esses materiais foram utilizados como genitores no melhoramento geral para a origem das linhagens duplo-haplóides.

Os acessos 383280 e 383279 apresentam amostras com perfil uniforme (do tipo 1, indicado pela flecha azul) e são idênticos entre si; esses foram utilizados no melhoramento especial (Figura 14).

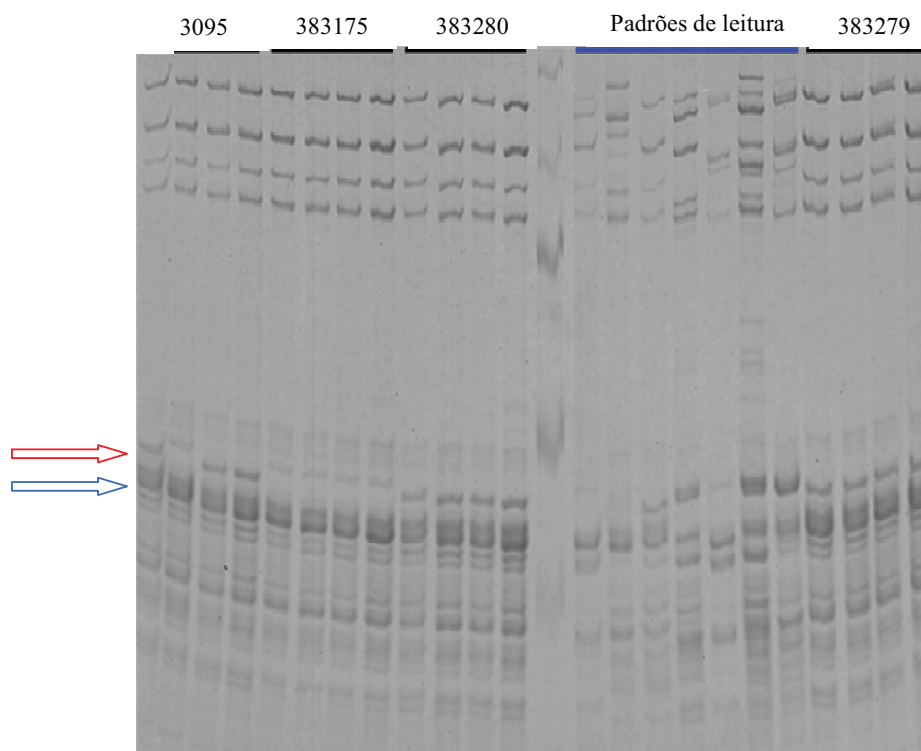


Figura 14 - Perfil de gluteninas de acessos de diferentes origens de Frontana. Embrapa, 2009.

Tabela 6 – Severidade médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo I (melhoramento geral), avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
BR 18	47	MS	20	340,5
FRONTANA	57	S	45	333,3
PF 013231-A	54	S	17,5	325,2
PF 013234	57	S	20	344,1
PF 013236	70	S	37,5	399,0
PF 013239	51	S	17,5	301,5
PF 013241-A	46	MS	17,5	304,8
PF 013245	46	MS	17,5	280,8
PF 013246-B	58	S	7,5	349,8
PF 013249-A	50	MS	12,5	338,4
PF 013251-B	45	MS	25	296,1
PF 013257	51	S	17,5	261,9
PF 013259	48	MS	7,5	285,6
PF 013579	55	S	25	300,3
PF 013261	41	MS	17,5	305,7
PF 013262	56	S	17,5	325,2
PF 013518	53	S	20	307,5
PF 013530	46	MS	17,5	282,0
PF 013542	40	MS	25	285,6
PF 013584	51	S	17,5	326,7
PF 013788	56	S	17,5	313,2
PF 013928	51	S	30	336,9
PF 013932	36	MS	17,5	267,0
PF 013934	53	S	20	289,5
PF 013946	40	MS	12,5	281,4
PF 013948	51	S	5	320,1
PF 013956	57	S	20	315,3
PF 014073	63	S	20	350,7
PF 014079	53	S	20	312,9
PF 014142	54	S	17,5	337,8
PF 014151	57	S	20	383,7
PF 014152	62	S	32,5	358,2
PF 014173	50	MS	12,5	312,0
PF 014183	46	MS	17,5	303,6
PF 014228-A	61	S	55	383,1
PF 014299-A	54	S	17,5	298,8
PF 014329	53	S	20	336,9
PF 014601	54	S	17,5	315,6
PF 014612-A	54	S	30	363,0
PF 014626	52	S	32,5	391,2
PF 014629-B	45	MS	25	270,9
PF 014641-A	55	S	25	313,5
PF 014645	42	MS	32,5	268,2
PF 014648-A	49	MS	30	335,1
PF 013796-A	48	MS	7,5	313,8
PF 014840	53	S	20	303,3
PF 014852	51	S	17,5	314,1
PF 014861	50	MS	12,5	302,4
PF 014872-A	37	MS	7,5	270,9
PF 015036-A	45	MS	25	272,1



Continuação tabela 6

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 015045	52	S	32,5	283,2
PF 015046-A	57	S	20	347,7
PF 014307-A	57	S	20	391,5
PF 014330-A	53	S	20	295,5
PF 013938-A	55	S	25	296,7
PF 014375-A	53	S	20	306,3
PF 014387-A	55	S	17,5	299,1
PF 014393-A	46	MS	17,5	273,6
PF 013939-A	41	MS	42,5	282,3
PF 014638-A	50	MS	12,5	301,2
PF 014642-A	53	S	20	328,5
PF 014673-A	50	MS	12,5	324,6
PF 014864-A	41	MS	17,5	269,1
PF 013940	46	MS	17,5	279,0
PF 015179-A	55	S	25	310,5
PF 015181-A	50	MS	12,5	294,0

MS=Moderadamente Suscetível; S=Suscetível.

Tabela 7 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (AACPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo II, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 013524	48	MS	7,5	213,0
PF 013553	56	S	17,5	244,8
PF 013228	45	MS	12,5	257,1
PF 013229-A	29	MS	17,5	183,3
PF 013230-A	41	MS	17,5	222,3
PF 013232-B	49	MS	17,5	237,9
PF 013233	23	MR	7,5	130,5
PF 013235	49	MS	17,5	255,9
PF 013237	37	MS	7,5	243,3
PF 013564	29	MS	17,5	150,3
PF 013238-A	36	MS	5	230,4
PF 013240	37	MS	7,5	238,5
PF 013242-A	35	MS	12,5	226,5
PF 013243	40	MS	12,5	250,8
PF 013244	33	MS	7,5	215,7
PF 013247	44	MS	17,5	240,0
PF 013571-A	41	MS	17,5	221,7
PF 013248	45	MS	25	246,3
PF 013250	49	MS	17,5	231,9
PF 013253	37	MS	32,5	219,9
PF 013254	23	MR	7,5	157,5
PF 013258	22,6	MR	11,3	131,7
PF 013260	42	MS	20	237,0
PF 013263-A	46	MS	17,5	220,2
PF 003102-B	19,6	MR	0,8	119,4
PF 003103	23	MR	7,5	147,3
PF 013517	32	MS	7,5	211,2
PF 013519-A	35	MS	12,5	207,9
PF 013522	35	MS	12,5	206,1
PF 013527	35	MS	12,5	207,9
PF 013580-A	33	MS	7,5	207,9
PF 013534	25	MR	12,5	183,9
PF 013538	35	MS	12,5	224,1
PF 013539-A	38	MS	20	253,2
PF 013555	15	MR	4,5	111,9
PF 013557	17,8	MR	3,2	137,1
PF 013561	25	MR	12,5	178,5
PF 013588	38	MS	7,5	225,6
PF 013566	19,6	MR	13,3	116,4
PF 013570	34	MS	17,5	250,2
PF 013573	17,8	MR	3,2	122,1
PF 013575	35	MS	12,5	240,9
PF 013576	27	MS	7,5	206,1
PF 013577	31	MS	17,5	182,1
PF 013583	25	MR	12,5	185,1
PF 013536	20,6	MR	6,8	128,7
PF 013783	33	MS	7,5	239,1
PF 013591	35	MS	12,5	207,9
PF 013787	28	MS	7,5	191,4
PF 013789	23	MR	7,5	157,5
PF 013791	25	MR	12,5	185,7

Continuação Tabela 7

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 013793	13,8	MR	2,7	94,5
PF 013797	32	MS	7,5	223,2
PF 013936	21,6	MR	10,3	115,8
PF 013592	44	MS	17,5	252,6
PF 013937	44	MS	17,5	246,6
PF 013950	38	MS	7,5	210,0
PF 014074	34	MS	17,5	213,6
PF 014080	44	MS	17,5	260,4
PF 013794-A	47	MS	20	249,3
PF 014149	44	MS	17,5	254,4
PF 014153	34	MR	5	234,6
PF 014158	25	MR	12,5	175,5
PF 014163	49	MS	17,5	254,1
PF 013785	44	MS	17,5	232,8
PF 014172	36	MS	17,5	233,4
PF 014179	28	MS	7,5	174,6
PF 014230	42	MS	7,5	253,8
PF 013252	26	MS	5	186,6
PF 014308	37	MS	7,5	245,7
PF 013526	36	MS	17,5	227,4
PF 014632-A	11,2	MR	1,2	85,2
PF 014633-A	34	MS	17,5	213,0
PF 014639	36	MS	17,5	252,6
PF 014649-A	29	MS	17,5	170,1
PF 014654-A	25	MR	12,5	167,1
PF 014657-A	37	MS	20	218,7
PF 014658	25	MR	12,5	175,5
PF 014661-A	27	MS	7,5	158,1
PF 014667	31	MS	17,5	219,9
PF 016320	18	MR	7,5	134,4
PF 014866	24	MR	5	141,0
PF 014871	24	MR	17,5	159,0
PF 015044	30	MS	12,5	181,2
PF 015037-A	25	MR	25	158,1
PF 015038	31	MS	17,5	184,5
PF 015041-A	27	MS	7,5	182,7
PF 015043-A	24	MR	17,5	135,0
PF 013935-A	35	MS	12,5	198,9
PF 014303-A	15	MR	4,5	108,9
PF 014304-A	17,2	MR	4,7	121,8
PF 014311-A	29	MS	17,5	164,1
PF 014319-A	30	MS	12,5	163,2
PF 014320-A	33	MS	7,5	204,9
PF 014332-A	34	MS	17,5	227,4
PF 014376-A	38	MS	7,5	259,8
PF 014378-A	33	MS	7,5	168,3
PF 014381-A	37	MS	7,5	251,1
PF 014628-A	40	MS	12,5	252,6
PF 014634-A	23	MR	7,5	170,7
PF 014659-A	35	MS	12,5	254,1
PF 014845-A	36	MS	17,5	225,6
PF 015171-A	31	MS	17,5	194,7
PF 015182-A	50	MS	12,5	263,4
PF 015183-A	20,6	MR	6,8	133,5
PF 015185-A	31	MS	17,5	222,9

Continuação tabela 7

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 015186-A	37	MS	20	231,9
PF 014619-A	23	MR	7,5	155,1
PF 014620-A	39	MS	17,5	248,1
PF 013944	33	MS	33	220,5
PF 015177-A	36	MS	17,5	220,2
PF 004850	20,6	MR	6,8	141,3
PF 013952-A	39	MS	17,5	255,9
PF 013955-A	43	MS	7,5	237,9
PF 014071-A	37	MS	7,5	212,1
PF 013529	39	MS	17,5	230,1
PF 014077-A	33	MS	7,5	219,9
PF 014139-C	35	MS	12,5	225,3
PF 014140-A	35	MS	12,5	200,7
PF 014144-A	21,6	MR	10,3	155,4
PF 014145	24	MR	17,5	142,8
PF 014148	35	MS	12,5	195,9
PF 014154	37	MS	7,5	215,1
PF 014160-A	25	MR	12,5	139,5
PF 014161-A	25	MR	12,5	161,1
PF 014171-A	32	MS	7,5	241,2
PF 014180	50	MS	12,5	252,6
PF 014185	42	MS	32,5	236,4
PF 004130-A	28	MS	7,5	173,4
PF 004131	27	MS	7,5	137,7
PF 004132-B	28	MS	7,5	168,0
PF 013536	37	MS	7,5	200,1
PF 004134-A	24	MR	5	179,4
PF 004135-B	19,6	MR	0,8	134,4
PF 004137-A	37	MS	7,5	232,5
PF 004139-B	41	MS	30	268,5
PF 004140-A	19,2	MR	1,2	121,8
PF 004141	18,8	MR	1,2	118,8
PF 004142-B	29	MS	17,5	210,3
PF 004143-A	23	MR	7,5	143,1
PF 004144-B	21,6	MR	10,3	141,6
PF 004145	32	MS	7,5	208,2
PF 004146-B	20,2	MR	8,2	115,5
PF 004147-A	33	MS	7,5	199,5
PF 004149	24	MR	17,5	148,2
PF 004150-A	37	MS	7,5	209,1
PF 004152-A	29	MS	17,5	166,5
PF 004153-A	43	MS	7,5	212,7
PF 013206-A	28	MS	7,5	136,8
PF 013545	35	MS	12,5	230,7
PF 013207	28	MS	7,5	160,8
PF 013208-B	27	MS	7,5	206,7
PF 013210	33	MS	7,5	237,9
PF 013211	37	MS	7,5	188,7
PF 013212-B	27	MS	7,5	182,1
PF 013213	21	MR	17,5	146,1
PF 013214	27	MS	7,5	147,3
PF 013215	34	MS	5	254,4
PF 013217	37	MS	32,5	170,7
PF 013218	18,8	MR	1,2	158,4
PF 013219	25	MR	12,5	155,1

Continuação tabela 7

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 013220	29	MS	5	179,1
PF 013221-A	21,6	MR	10,3	144,6
PF 013222	37	MS	7,5	230,1
PF 013223	39	MS	17,5	251,7
PF 013224	21	MR	17,5	165,9
PF 013225	45	MS	25	239,7
PF 013226-B	38	MS	20	198,0
PF 013227	33	MS	7,5	192,9

MR=Moderadamente Resistente; MS=Moderadamente Suscetível; S=Suscetível.

Tabela 8 – Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da mancha marrom, em genitores e linhagens duplo-haplóides de trigo, do Grupo IV (melhoramento geral), avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009

Genótipos	Severidade média (%)	Reação	Variância	ASCPD
PF 014072	67	S	20	459,9
PF 014165	70	S	37,5	442,8
PF 014166	69	S	30	465,9
PF 013792-A	75	S	25	471,3
PF 014860-A	60	S	12,5	427,8
PF 014302-A	55	S	25	420,9
PF 014316-A	64	S	42,5	451,8
PF 014388-A	64	S	30	442,2
PF 014644-A	60	S	37,5	428,4
PF 014653-A	77	AS	45	482,7
PF 014664-A	70	S	50	409,8
PF 014670-A	61	S	30	418,5
PF 013945	90	AS	12,5	528,6
PF 013949	74	S	30	435,0
PF 013953-A	66	S	30	454,2
PF 014075-A	90	AS	37,5	540,0
PF 014076	76	AS	30	492,0

R=Resistente; MR=Moderadamente Resistente; MS=Moderadamente Suscetível; S=Suscetível; AS=Altamente Suscetível.

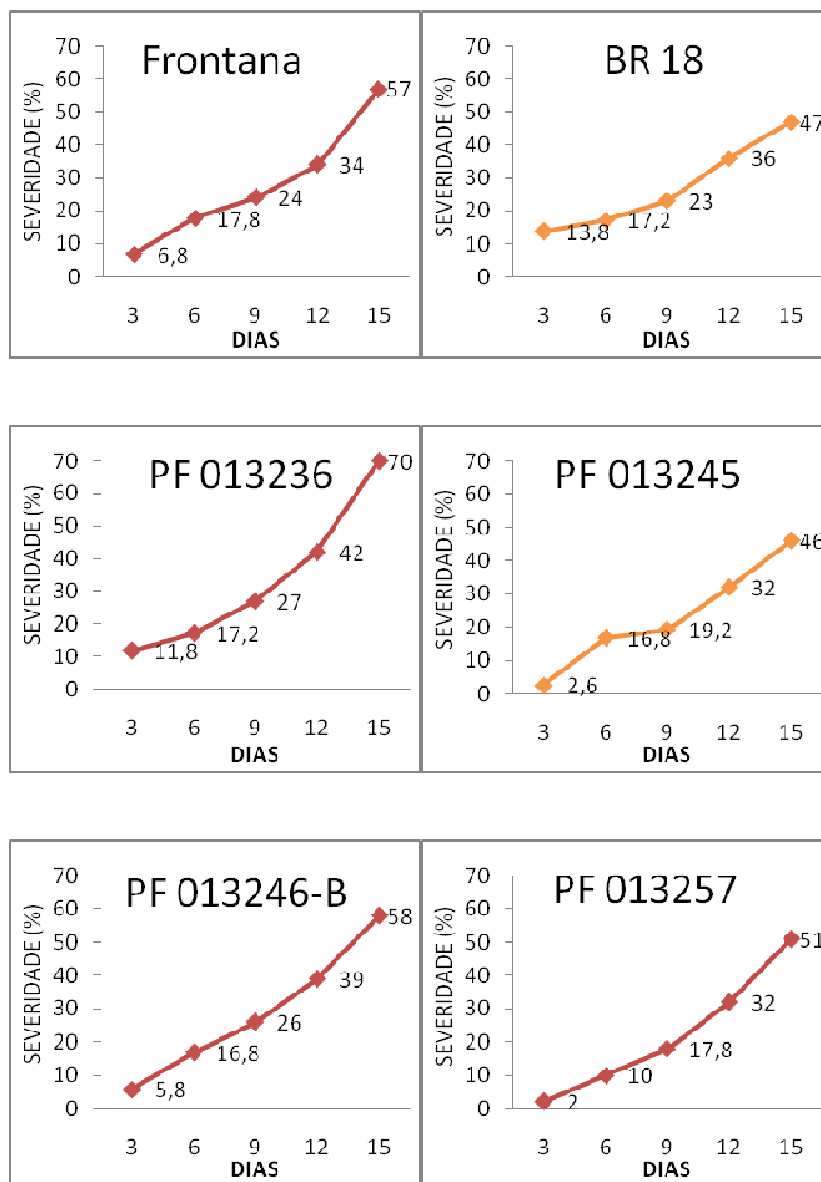


Figura 7 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo I, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

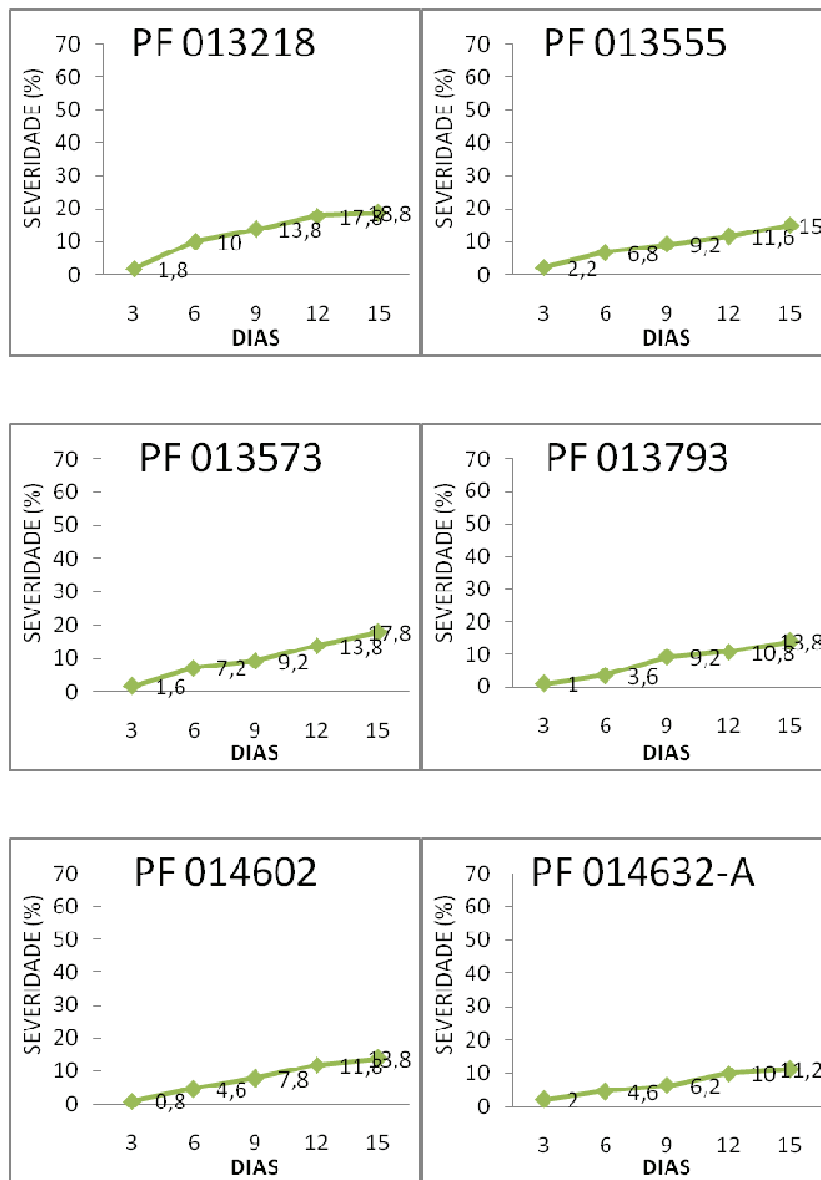


Figura 8 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo II, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009

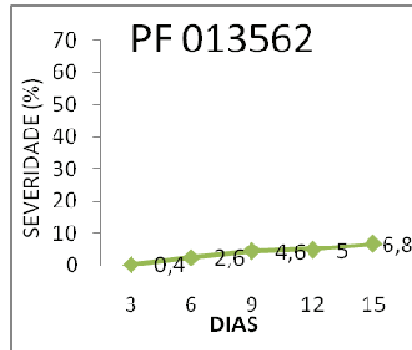


Figura 9 – Evolução da severidade da mancha marrom em uma linhagem duplo-haplóide de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo III, avaliada nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009.

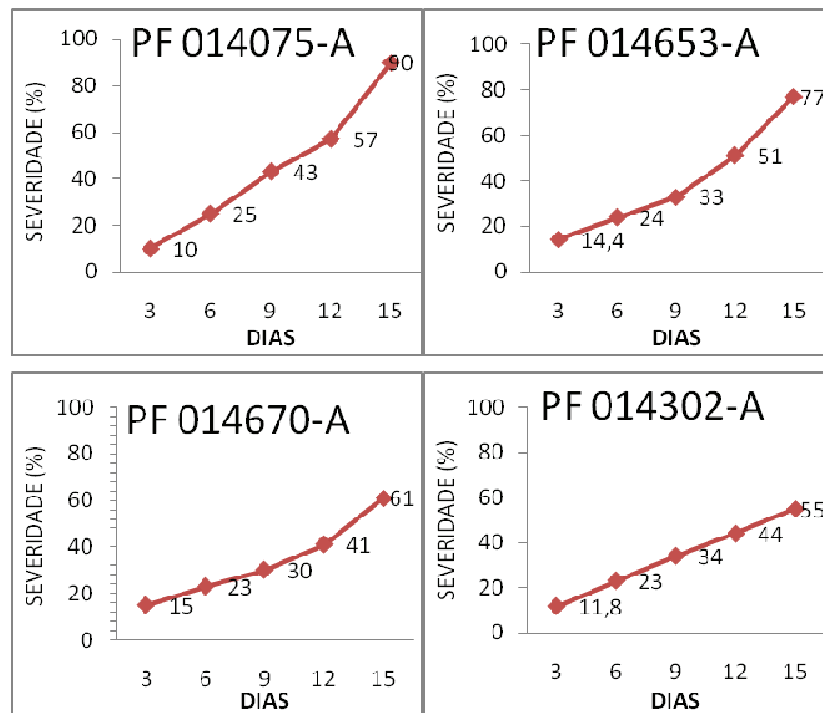


Figura 10 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo IV, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009



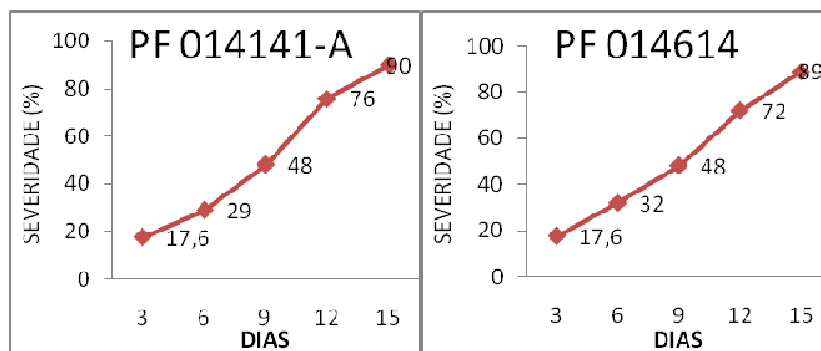


Figura 11 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, do Melhoramento Geral, do Grupo V, avaliadas nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009

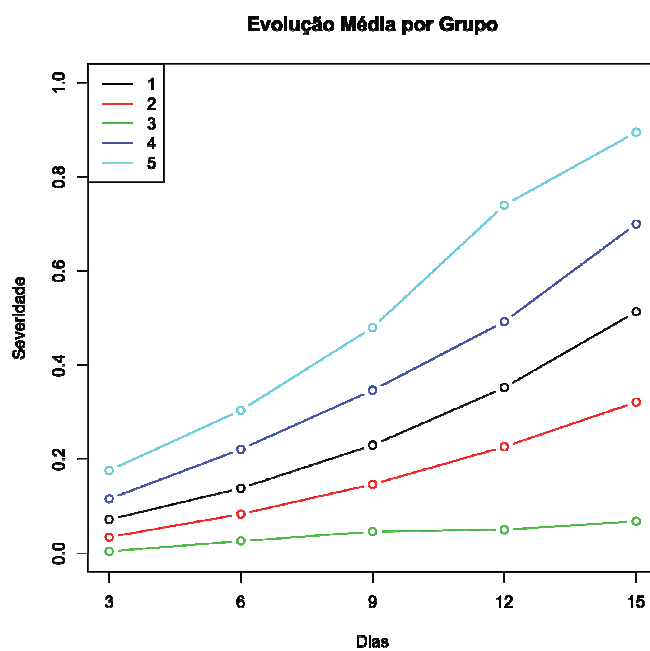


Figura 12 – Evolução da severidade da mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, dos cinco grupos do Melhoramento Geral, avaliados nos anos de 2007 e 2008. Embrapa, 2009

### **CAPÍTULO III**

#### **HERDABILIDADE DA RESISTÊNCIA A *Bipolaris sorokiniana* EM LINHAGENS DUPLO-HAPLÓIDES DE TRIGO**

**FABIANA R. MÜHL<sup>1</sup>, ARIANO M. PRESTES<sup>2</sup>, PEDRO L.  
SCHEEREN<sup>3</sup>**

**RESUMO** - A mancha marrom da folha do trigo, causada pelo fungo *Bipolaris sorokiniana*, é uma doença de grande expressão econômica em diversas áreas produtoras de trigo no Brasil. Danos elevados devido a essa doença são relatados, podendo chegar a valores de até 80% do rendimento dessa cultura. Para o complexo de doenças existentes na cultura do trigo, tornou-se muito difícil a incorporação

---

<sup>1</sup> Bióloga, Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Agronomia (PPGAgro) da FAMV/UPF, Área de Concentração em Fitopatologia.

<sup>2</sup> Orientador, Eng. Agr., PhD. Fitopatologia.

<sup>3</sup> Co-orientador, Eng. Agr., Dr., Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo.

de resistência genética para todas as enfermidades e, além disso, pouco se conhece sobre a herança da resistência a *Bipolaris sorokiniana*. O objetivo deste trabalho foi descrever a variabilidade genética da resistência à mancha marrom em linhagens duplo-haplóides de trigo, bem como estimar a herdabilidade da resistência. Foram avaliadas a severidade e a reação de 52 linhagens duplo-haplóides do trigo, derivadas do cruzamento BR 18 x Frontana, em casa-de-vegetação, mediante inoculação do patógeno, para posterior avaliação da severidade e reação da planta. Pode-se analisar uma distribuição normal da maioria das linhagens entre os genitores BR 18 e FN. A herdabilidade observada neste estudo foi de 9% a 85%, apresentando grande variabilidade. Isto demonstra que a herança genética que governa esta população é determinada por um número elevado de genes, sendo considerada uma resistência poligênica, com efeitos de aditividade.

**Palavras-chave:** *Bipolaris sorokiniana*, herança da resistência.

## **INHERITANCE OF RESISTANCE TO *Bipolaris sorokiniana* ON DOUBLE-HAPLOID LINES OF WHEAT**

**ABSTRACT** – Brown leaf spot of wheat incited by fungus *Bipolaris sorokiniana* is a disease of great economic important in several wheat producing áreas in Brazil. High yield losses up to 80%, due to the disease, have been reported in literature. Hence, for the disease complex attacking wheat it has been very hard to incorporate genetic resistance to all diseases and besides that little is known about the inheritance of resistance to *Bipolaris sorokiniana* brown spot. The objective of this work was to describe the genetic variability and to study the genetic control on double-haploid lines for resistance to *Bipolaris sorokiniana* brown spot. Fifty two double-haploid wheat lines derived from the cross BR 18 x Frontana werw evaluated for reation and disease severity under artificially inoculation of the pathogen in green-house. A moderate herdability values observed in this study ranged from 9% to 85%, indicating great variability. This data indicated that genetic inheritance that governs the population is determined by a great number of genes and can be considered polygenic resistance with additive effect.

**Key-words:** *Bipolaris sorokiniana*, resistance, herdability.

### 3 INTRODUÇÃO

A cultura do trigo pode ser afetada por várias doenças, que estão entre os principais fatores que limitam ou comprometem a sua produção. As doenças que incidem na parte aérea, como as manchas foliares podem causar prejuízos consideráveis, especialmente sob condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de epidemias. Dentre as manchas foliares, pode-se destacar a mancha marrom, cujo agente causal é *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.), Drechs. ex Dastur. (anamorfo: *Bipolaris sorokiniana* Sacc. In Sorok.) (MEHTA, 1981), que é considerada uma das doenças mais danosas para a cultura do trigo (MEHTA *et al.*, 1992), chegando a acarretar perdas que variam de 20% a 80% no rendimento desse cereal (DUVEILLER & GILCHRIST, 1994) e podendo, entretanto chegar a 100% sob condições muito favoráveis para o desenvolvimento da doença podendo ocorrer durante todo o ciclo da cultura (HETZLER *et al.*, 1991, METHA, 1993).

O controle químico com fungicidas e práticas culturais como a rotação de culturas ainda é a forma mais utilizada para evitar as perdas ocasionadas pela doença (VEISZ *et al.*, 2000). Este método, no entanto, tem grande impacto econômico, ambiental e social (MORAES-FERNANDES, 1987).

Porém, o método mais eficiente e econômico para a redução dos danos provocados pela mancha marrom na lavoura é a utilização de cultivares resistentes. Esta prática, além de evitar os danos causadas por esta doença, não aumenta os custos de produção,

garantindo maior retorno aos produtores (PRIESTLEY & BAYLES, 1988). Por outro lado, as fontes de resistência para a doença são bastante limitadas e, muitas vezes, não são avaliadas (BARTOS *et al.*, 2002; HE & HUGHES, 2003).

Existem relatos na literatura de vários estudos sobre a herança da resistência à mancha marrom em trigo. Estudo recente enfatiza um controle poligênico, com vários genes de aditividade (FOFANA *et al.*, 2008). Outro estudo demonstra que em gerações F6, quando analisadas por modelos quantitativos e qualitativos, a resistência parece ser governada por uma interação de genes de aditividade, possivelmente de três a quatro genes (JOSHI *et al.*, 2004). Outras pesquisas demonstram que dois genes recessivos homozigotos (*hlbr1* e *hlbr2*) são responsáveis pela resistência em trigos hexaplóides sintéticos (RAGIBA *et al.*, 2004).

Como existe muita dúvida sobre como se expressa a resistência em populações duplo-haplóides, este trabalho teve como objetivos descrever a variabilidade genética da resistência à mancha marrom em linhagens duplo-haplóides, bem como estudar a herdabilidade.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Escolha das cultivares parentais**

O trabalho foi realizado no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS.

As cultivares parentais, **BR 18** (D 6301/NAINARI 60/WEIQUE/RED MADE/3/CINO\*2/CHRIS ALD SIB) e **Frontana** (FRONTEIRA x MENTANA), formaram o bloco de cruzamentos para obtenção das linhagens duplo-haplóides. Esses genitores foram previamente escolhidos com base nas características agronômicas e na reação à mancha marrom.

#### **4.2 Cruzamentos para obtenção da geração F<sub>1</sub>**

As sementes das cultivares parentais BR 18 e Frontana (FN), foram semeadas em vasos com capacidade para 7 kg, contendo solo de campo nativo corrigido e adubado de acordo com a interpretação de análise de solos, segundo recomendações da Comissão de Química e Fertilidade do Solo – RS/SC (2004). Cada cultivar foi semeada em três vasos, em três épocas, mantendo de cinco a seis plantas por vaso para evitar a competição por nutrientes.

No início do espigamento foram realizados os cruzamentos entre os genitores e aproximadamente quarenta dias após, as sementes F<sub>1</sub> foram coletadas e secas em estufas a 35 °C, por sete dias, para a quebra da dormência. Posteriormente, as sementes foram armazenadas em câmara de conservação para manter o vigor e o poder germinativo.

#### **4.3 Obtenção das linhagens duplo-haplóides (LDH)**

As sementes da geração F<sub>1</sub>, obtidas dos cruzamentos realizados, foram semeadas e mantidas em casa-de-vegetação para o desenvolvimento das plantas. O híbrido de milho DKB212 foi

semeado em vasos e mantido em estufa a uma temperatura de 25 °C, a fim de fornecer pólen viável para as polinizações.

Para efetuar os cruzamentos, a geração F<sub>1</sub> foi emasculada e após quatro dias, nas primeiras horas da manhã as espigas foram polinizadas com pólen de milho, recém coletado,. Os embriões gerados foram resgatados e cultivados *in vitro* e as plântulas tratadas com colchicina, para duplicação do número cromossômico.

Posteriormente, as plântulas foram aclimatadas em câmara de crescimento para produção de sementes e identificadas.

#### **4.4 Cultivo das linhagens duplo-haplóides (LDH)**

A semeadura dos genitores e das linhagens LDH foi realizada em copos com volume de 350 mL em casa-de-vegetação. Os tratamentos (genótipos) foram dispostos em três repetições, mantendo cinco a seis plantas por copo, sendo que cada copo foi considerado uma repetição. O delineamento utilizado nesse experimento foi completamente casualizado.

#### **4.5 Inoculação do patógeno em linhagens duplo-haplóides (LDH)**

Primeiramente foi realizado o isolamento seguindo os Postulados de Koch e obtidas colônias puras de *B. sorokiniana*. Para a inoculação foi utilizado um isolado agressivo de *B. sorokiniana*, obtido de população natural, coletado nos campos experimentais da Embrapa Trigo, recebendo a denominação de *Bip01*.



A suspensão de inóculo foi ajustada com auxílio de um hemocítômetro, em contagem de volume conhecido, contendo  $10^4$  conídios de *B. sorokiniana* por mL. Para cada 1000 mL de suspensão foram adicionadas duas gotas de Polioxietileno Sorbitam Monolaurato 20 (Tween 20).

Os parentais e as linhagens foram inoculados com o patógeno no estágio de afilhamento. A temperatura da câmara de incubação foi ajustada para 24 °C, com umidade relativa superior a 90% e fotoperíodo de 12 horas, por 24 horas. As plantas foram atomizadas com a suspensão de esporos utilizando uma pistola pressurizada (De Vilbiss, modelo SGA 570), devidamente regulada, dirigida da parte inferior à superior da folha. Após o período de incubação as plantas permaneceram em câmara de crescimento até a avaliação, em temperatura de 24 °C, mas sem molhamento foliar.

#### **4.6 Avaliação dos parentais e das linhagens duplo-haplóides (LDH)**

A avaliação de reação desse material foi realizada com base na escala para avaliação de manchas foliares (Tabela 1), onde foi atribuída uma nota de severidade segundo a área foliar necrosada, e a partir desse resultado determinada a reação de todas as linhagens.

As avaliações para determinar a ASCPD foram realizadas 3, 6, 9, 12 e 15 dias após a inoculação.

Tabela 1 – Escala para avaliação de manchas foliares.

NOTA	REAÇÃO	SEVERIDADE (%)
0	IMUNE	0
1	R	1-5
2	MR	6-25
3	MS	26-50
4	S	51-75
5	AS	+75

R=Resistente, MR=Moderadamente Resistente, MS=Moderadamente Suscetível, S=suscetível, AS=Altamente Suscetível.

Fonte: FETCH & STEFFENSON, 1999.

#### 4.7 Análise estatística dos resultados

Analisou-se nesse experimento 52 linhagens duplo haplóides derivadas do cruzamento BR 18 x Frontana, onde procedeu a análise de agrupamento, sendo as linhagens divididas em quatro grupos distintos, com base em dados de severidade.

A partir dos dados médios obtidos através da avaliação de severidade da mancha marrom, calcularam-se as variâncias fenotípicas ( $V_P$ ), as variâncias genéticas ( $V_G$ ) e a variância ambiental ( $V_E$ ), utilizando-se as equações propostas por Allard (1960), mostradas a seguir. Para o cálculo das médias, utilizou-se as avaliações de seis leituras de severidade de cada planta. A partir dessas médias calculou-se a média geral de cada genótipo.

$$VE = \sqrt{VP1 \times VP2}$$

$$VG = VLDH^* - VE$$

\*variância da linhagem duplo-haplóide

#### 4.8 Estimativas da herdabilidade

A herdabilidade é um parâmetro genético muito importante para o melhoramento, pois a partir dessa estimativa pode-se visualizar a proporção da variância genética presente na variância fenotípica total. É possível estimar dois tipos de herdabilidade, no sentido amplo ( $h^2_a$ ) e no sentido restrito ( $h^2_r$ ). A herdabilidade no sentido restrito considera apenas a variância genética aditiva, aquela que é fixada pela seleção. É importante salientar que a herdabilidade não está relacionada apenas ao caráter em questão, mas também à população em estudo e as condições ambientais a que foram submetidos os indivíduos da população (RAMALHO *et al.*, 1994).

Para a estimativa da herdabilidade no sentido restrito ( $h^2_r$ ), utilizou-se os valores das variâncias dentro da linhagem (VDL) e da variância entre as linhagens (VEL), (BARBOSA *et al.*, 2002) da população duplo-haplóide BR 18 x FN, pela fórmula descrita abaixo.

$$h^2_r = V_{EL} - V_{DL} / V_{DL}$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cada grupo foi analisado separadamente e os resultados são apresentados a seguir. Pela análise de agrupamento os genótipos distribuíram-se em quatro grupos de acordo com a severidade da doença. O grupo I foi composto pelas linhagens de severidade média de 15% a 30%; o grupo II de severidade de 35% a 56%; o grupo III com severidade de 28% a 38% e o grupo IV com severidade de 51% a 63%.

Os valores de variância fenotípica (VP) e variância genética (VG) de cada um dos grupos são apresentados nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 respectivamente. A estimativa da porção genética (VG) para o caráter área foliar necrosada foi baixa nas linhagens PF 015321-A (8,76) e PF 004979 (7,03) do Grupo I (Tabela 2). Nas demais linhagens os valores foram maiores e apresentaram uma grande variabilidade entre as linhagens duplo-haplóides. As linhagens deste grupo apresentaram valores de herdabilidade estimados entre 9,3% a 56,4%.

No grupo II, as linhagens apresentaram valores de herdabilidade altos entre 52,6% a 82,8% (Tabela 3). No grupo III, os valores de herdabilidade foram considerados moderados, variando entre 24,2% a 71,3% (Tabela 4). Na Tabela 5, são apresentados os valores para as linhagens do grupo IV, onde a herdabilidade foi alta, entre 74,9% a 85,9%.

A estimativa da variância ambiental (VE), obtida a partir da variância fenotípica dos genitores parentais, foi de 67,8. A variância fenotípica (VP) variou entre 21,2 a 482,9.

A severidade da doença nos anos de 2007 e 2008 apresentou valores entre 15% e 63% entre os diferentes grupos, indicando elevada variabilidade. Essa diferença nos níveis de infecção é muito importante, uma vez que significa variabilidade disponível entre os genitores e nas linhagens duplo-haplóides para a seleção nos programas de melhoramento. Os valores de severidade dos genitores e das linhagens estão apresentados nas Tabelas 2, 3, 4 e 5.

Tabela 2 – Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e estimativa da herdabilidade para a característica área foliar necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo I. EMBRAPA, 2009.

<b>Genótipo</b>	<b>Severidade (%)</b>	<b>Reação</b>	<b><math>V_P</math></b>	<b><math>V_G</math></b>	<b><math>h^2_r</math> (%)</b>
BR 18	15	MR	21,17	-	
PF 015319-A	26	MS	83,54	15,71	18,76
PF 015321-A	27	MS	76,59	8,76	11,39
PF 015322-A	29	MS	93,99	26,16	27,79
PF 015323-C	27	MS	78,92	11,09	14,01
PF 004978	33	MS	131,08	63,25	48,22
PF 004979	25	MR	74,86	7,03	9,33
PF 995002-A	27	MS	97,43	29,60	30,34
PF 995006-A	35	MS	155,74	87,91	56,42
PF 999540	30	MS	104,21	36,38	51,14

MR=Moderadamente Resistente; MS=Moderadamente Suscetível;

A diferença dos valores de severidade entre os genitores BR 18 (15%) (Tabela 2) e Frontana (51%) (Tabela 3) indicam que a presença de vários níveis de severidade entre as linhagens é devido a diferenças genéticas herdadas dos parentais e não da variação do ambiente.

A herdabilidade estimada considerando a variância entre as linhagens (VEL) e a variância dentro a linhagem (VDL) foi considerada aqui como de sentido restrito, uma vez que foi obtida de populações homozigotas. A herdabilidade moderada observada neste estudo foi de 9% a 85%, apresentando grande variabilidade. Isto se dá pelo fato de aumentar a variância entre as linhas.

Allard (1960) sugeriu que o número de genes, a dominância, a herdabilidade e o efeito do ambiente podem constituir os efeitos-chaves que afetam a reação de severidade nas linhagens.

A herança genética considerada poligênica e com efeitos de aditividade também foi observada em outra população duplo-haplóide, onde foram avaliadas 185 linhagens de trigo, derivadas do cruzamento RL4452 x AC Domain, quanto ao fungo *Tilletia tritici* (BONMAN *et al.*, 2006; FOFANA *et al.*, 2008). Cao *et al.* (2001), também relatou a herança genética poligênica em populações de duplo-haplóides. Em estudos de uma população duplo-haplóide derivada do cruzamento entre CA9613 x H1488 a herança genética da mancha marrom foi governada por vários genes de aditividade (LI, 1998).

É mais vantajoso trabalhar com população duplo-haplóide para determinar a resistência e o tipo de herança genética as manchas foliares, considerando que o material é fixo, ou seja, em homozigose, uma vez que em gerações iniciais a seleção para resistência parcial à mancha marrom do trigo pode ser dificultada devido ao fato de características quantitativas sofrerem maior influência do ambiente em gerações iniciais, devido a heterozigose.

A variância entre as linhagens duplo-haplóides foi alta, isso porque, em gerações mais avançadas ou fixas ocorre aumento da

homozigose dentro das linhas e a variabilidade entre as linhas, o que torna plantas da mesma linha semelhantes e plantas de linhas diferentes distantes entre si, concordando com o relato de Barbosa (2002).

Tabela 3 – Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e estimativa da herdabilidade para a característica área foliar necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo II. EMBRAPA, 2009

<b>Genótipo</b>	<b>Severidade (%)</b>	<b>Reação</b>	<b><math>V_P</math></b>	<b><math>V_G</math></b>	<b><math>h^2_r</math> (%)</b>
FN	51	S	237,34	265,1	
PF 015318-A	53	S	332,93	108,43	79,61
PF 015326-A	41	MS	176,26	276,2	61,49
PF 003957-A	55	S	344,03	106,09	80,27
PF 983236-A	40	MS	173,92	147,51	60,98
PF 003907-A	48	MS	215,34	114,49	68,48
PF 003908-A	44	MS	182,32	110,39	62,77
PF 003909-A	43	MS	178,22	129,94	61,92
PF 003911-A	40	MS	197,77	327,33	65,68
PF 003915-A	56	S	395,17	195,96	82,82
PF 003917-A	50	MS	263,79	136,46	74,27
PF 003920-A	46	MS	204,29	75,44	66,78
PF 003958-A	35	MS	143,27	183,41	52,63
PF 994768-A	46	MS	251,24	79,13	72,99
PF 995008-B	37	MS	146,96	197,96	53,82
PF 995019-A	52	S	265,79		74,46

MS=Moderadamente Suscetível; S=Suscetível

. Tabela 4 – Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e estimativa da herdabilidade para a característica área foliar necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo III. EMBRAPA, 2009.

Genótipo	Severidade (%)	Reação	$V_P$	$V_G$	$h^2_r$ (%)
PF 015324-A	36	MS	150,67	82,84	54,95
PF 015325-A	33	MS	114,54	46,71	40,75
PF 995001-A	34	MS	149,52	81,69	54,61
PF 995003-A	45	MS	236,17	168,34	71,26
PF 995004-A	34	MS	146,49	78,66	53,67
PF 995005-A	38	MS	140,49	72,66	51,69
PF 995007-A	33	MS	117,0	49,17	41,99
PF 999995-B	35	MS	141,89	74,06	52,17
PF 999999-A	35	MS	151,17	83,34	55,1
PF 003905-A	32	MS	138,92	71,09	51,14
PF 003910-A	30	MS	109,51	41,68	38,02
PF 003912-A	38	MS	176,26	108,43	61,49
PF 003913-A	32	MS	125,42	57,59	45,89
PF 003916-A	35	MS	105,87	38,04	35,9
PF 003960-A	32	MS	157,94	90,11	57,03
PF 004849	35	MS	136,83	69,0	50,4
PF 004850	35	MS	139,59	71,76	51,38
PF 004981	37	MS	183,83	116,0	63,08
PF 983238-A	31	MS	155,52	87,69	56,36
PF 983239-A	30	MS	89,51	21,68	24,17
PF 983241-A	34	MS	151,54	83,71	55,21
PF 983244-A	37	MS	160,96	93,13	57,83
PF 983245-A	28	MS	88,83	21,00	23,6
PF 983246-A	30	MS	96,75	28,92	29,85

MS=Moderadamente Suscetível;



Tabela 5 –Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) estimativa da herdabilidade para a característica área foliar necrosada, do Melhoramento Especial, Grupo IV. EMBRAPA, 2009.

<b>Genótipo</b>	<b>Severidade (%)</b>	<b>Reação</b>	<b><math>V_P</math></b>	<b><math>V_G</math></b>	<b><math>h^2_r</math> (%)</b>
PF 015320-A	62	S	403,54	335,71	83,18
PF 003918-A	55	S	339,58	271,75	80,01
PF 003919-A	51	S	269,92	202,09	74,86
PF 983247-A	63	S	482,87	415,04	85,94

S=Suscetível

## CONCLUSÕES

Diante dos objetivos propostos neste trabalho e baseado nos resultados obtidos, chegou-se as seguintes conclusões:

- ❖ Existe variabilidade genética dentro da população duplo-haplóide BR 18 x Frontana para resistência à mancha marrom do trigo;
- ❖ O uso de linhagens duplo-haplóides são ótimos instrumentos para serem usadas para estudos genéticos da resistência as manchas foliares.
- ❖ A herdabilidade para resistência a mancha marrom é de baixa a moderada, indicando a necessidade de maior número de populações para a seleção de genótipos de interesse.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCORN, J. L. Generic concepts in *Drechslera*, *Bipolaris*, *Exserohilum*, *Micotaxon.*, v. 17, p. 186-192. 1982.

ALLARD, R. W. *Princípios do melhoramento genético das plantas*. São Paulo: Edgard Blucher, 381p. 1971.

ANDERSON, W. H.; BANTTARI, E. E. The effect of *Bipolaris sorokiniana* on yield, kernel weight and kernel discoloration in six-row spring barleys. *Plant Disease Reporter*, v. 60, p. 754-758. 1976.

BARBOSA, M. M. Genética e mapeamento molecular da resistência parcial à ferrugem da folha da aveia (*Avena sativa* L.). Tese Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. Porto Alegre, 2002.

BARROS, B. C.; SALGADO, C. L.; OLIVEIRA, D. A ; RUIZ, E. L. A. Efeito da inoculação artificial de *Heminthosporium sativum* (PAM.) King & Bakke em plantas de trigo em diferentes estádios de desenvolvimento. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 56, n.1/2, p. 75-77. 1989.

BARTOS P.; SIP V.; CHRPOVÁ J. Achievements and prospects of wheat breeding for disease resistance. *Czech J. Genet Plant Breed* v. 38, p. 16-28. 2002.

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

BERGER, R. D.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Lesion expansion as an epidemic component. *Phytopathology* v. 87, p. 1005-1013. 1997.

BHATTA, M. R.; POKHAREL, D. R.; DEVKOTA, R. N.; DUBIN, H. J.; MUDWARI, A.; BIMB, H. P.; TAPA, B. R.; SAH, B. P.; BHANDARI, D. Breeding for *Helminthosporium* blights resistance in Nepal: strategy followed by the national wheat research program and

genetic gains. In: DUVEILLER, E.; DUBIN, H. J.; McNAB, A. (eds). *Proc. Int. Workshop Helminthosporium Diseases of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*, CIMMYT, El Batán, México, 9-14 Feb. 1997. p. 188-195. México, DF, CIMMYT. 1998.

BISEN, P. S.; CHANNY, B. Some observations on the surface of wheat leaves during the early stages of infection by *Helminthosporium sativum*. *J. Ind. Bot. Soc.*, 62 (3): 285-287. 1983.

BONMAN, J. M.; BOCKELMAN H. F.; GOATES B. J.; Geographic distribution of common and dwarf bunt resistance in landraces of *Triticum aestivum* subsp. *aestivum*. *Crop Sci* 46: 1622-1629. 2006.

BORDES, J.; CHARMET, G.; VAULEX, R. D. Doubled haploid versus S1 family recurrent selection for testcross performance in a maize population. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 112, p. 1063-1072. 2006.

BRAMMER, S. P., MORAES-FERNANDES, M. I. B. de., BARCELLOS, A. L. Haplodiploidization as a tool for speeding up genetic mapping in wheat. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA VEGETAL, 2., 1997, Gramado. *Programas e resumos...* Gramado.; REBBIO Sub-região Brasil, p. 227, 1997.

CAMARGO, C.E.O., RAMOS, L.C.S., FERREIRA FILHO, A.W.P., FELÍCIO, J.C., PETTINELLI JR., A., CASTRO, J.L., YOKOO, E.Y. Linhagens diaplóides de trigo: produção de grãos, características agronômicas e tolerância à toxicidade de alumínio. *Bragantia*, Campinas, v.58, p.235-246, 1999.

CAMPBELL, A. W.; GRIFFIN, W. B.; CONNER, A. J.; ROWARTH, J. S.; BURRITT, D. J. The effects of temperature and light intensity on embryo numbers in wheat doubled haploid production through wheat x maize crosses. *Annals of Botany*, v. 82, p. 29 – 33. 1998.

CAO, G.; HE, C.; GAO, Y.; YAN, J.; WU, P. Impacto f epistasis and QTL x environment interaction on the developmental behavior of plant height in Rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl. Genet*, v. 103, p. 153-160. 2001.

CHANG, N.; WU, Y. Incidence and current management of spot blotch of wheat in China. In: Duveiller , E., Dubin, H.J., Reeves, J., McNab, A. (eds). *Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot*. México, DF, México: CIMMIYT, p. 119-133. 1998.

CHRISTENSEN, J. J. Physiological specialization and parasitism of *Helminthosporium sativum*. *Minn. Agr. Expt. Sta. Tech. Bull.* 37, 101. 1926.

COMEAU, A.; NADEAU, P.; PLOURDE, A.; SIMARD, R.; MAËS, O.; KELLY, S.; HARPER, L.; LETTRE, J.; LANDRY, B.; St-PIRRE, C. A. Media for the in ovulo culture of proembryos of wheat and wheat-derived interspecific hybrids or haploids. *Plant Science*. v. 81, n. 1, p. 117 – 125, 1992.

COUTURE, L.; SUTTON, J. C. Control of spot blotch in barley by fungicides applications timed according to weather factors. *Phytoprotection*, v. 59, p. 65-75. 1978.

DARVEY, N. L. Doubled haploid technology: an interactive model for germplasm enhancement. In: INTERNATIONAL WHEAT GENETICS SYMPOSIUM, 9., 1998, Saskatoon, Saskatchewan. *Proceedings...* Saskatoon: University of Saskatchewan, v.1, p.148-151. 1998.

DAS, M. K. Inheritance of slow-rusting resistance to leaf rust in wheat. *Crop Science*, Madison, v. 32, n. 6, p. 1452-1456. 1992.

DUBIN, H. J.; BIMB, H. P. Studies of soilborne diseases and foliar blights of wheat at the Nacional Wheat Research Experiment Station, Bhairahawa, Nepal. *Wheat Special Report*. México, DF, CIMMYT. 1994.

DUBIN, H. J.; RAJARAM, S. Breeding disease resistant wheats for tropical highlands and lowlands. *Ann. Rev. Phytopath.*, 34: 503-526. 1996.

DUCZEK, L. J.; JONES-FLORY, L. L. Relationship between common root rot, tillering and yield loss in spring wheat and barley. *Can. J. Plant Pathol.* 15: 153-158. 1994.

DUVEILLER, E.; GILCHRIST, L. Production constraints due to *Bipolaris sorokiniana* in wheat: Current situation and future prospects. In: D.A. Saunders and G.P. Hettel (Eds), *Wheat in Heat Stressed Environments: Irrigated, Dry Areas and Rice-Wheat Farming Systems*, pp. 343-352, CIMMYT, Mexico, D.F. 1994.

DUVEILLER, E.; GILCHRIST, L. Productions constraints due to *Bipolaris sorokiniana* in wheat: current situation and future prospects. In: Saunders, D., Hettel, G. (eds). *Proc. Wheat in the Warmer Areas, Rice/Wheat Systems*, Nashipur, Dinajpur Bangladesh, 13-16 Feb. 1993, p. 343-352. México, DF, CIMMYT/UNDP. 1994.

DUVEILLER, E.; DUBIN, H. J.; REEVES, J.; McNAB, A. (eds). *Proc. Int. Workshop Helminthosporium Diseases of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*, CIMMYT, El Batan, México, 9-14 Feb. 1997. México, DF, CIMMYT. 1998.

DUVEILLER, E.; GARCIA, A. Pathogenicity of *Bipolaris sorokiniana* isolates from wheat roots, leaves and grains in México. *Plant Pathol.* 49, 235-242. 2000.

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

DUVEILLER, E.; SINGH, R. P.; NICOL, J. M. The challenges of maintaining wheat productivity: pests, diseases and potential epidemics. *Euphytica*, v. 157, p. 417-430. 2007.

FETCH, T. G.; STEFFENSON, B. J. *Rating scales for assessing infection responses of barley infected with Cochliobolus sativus*. PhD Thesis, department of Plant Pathology, North Dakota State University, Fargo, ND 58105. 1999.

FOFANA, B.; HUMPHREYS, D. G.; CLOUTIER, S.; McCARTNEY, C. A.; SOMERS, D. J. Mapping quantitative trait loci controlling common bunt resistance in a doubled haploid population derived from the spring wheat cross RL4452 x ACDomain. *Molecular Breeding*, v. 21, p. 317-325. 2008.

FORSTER, B. P.; HEBERLE-BROS, E.; KASHA, J.; TOURAEV, A. The resurgence of haploid in higher plants. *Trends in Plant Science*, v. 12, n. 8, p. 368-375, 2007.

HE C.; HUGHES G. R. Inheritance of resistance to common bunt in spelt and common wheat. *Can J. Plant Sci* 83:47-56. 2003.

HETZLER, J.; EYAL, Z.; METHA, Y. R.; CAMPOS, L. A. C; FEHRMANN, H.; KUSHNIR, U.; OREN, J. Z.; COHEN, L. Interaction between *Cochliobolus sativus* and wheat cultivars. In: SAUNDERS, D. A. (Ed.) *Proc. Int. Conf. On Wheat for Non-Traditional Warmer Areas*, Cimmyt: Mexico, p. 146-164. 1991.

HOFFMANN, F., THOMAS, E., WENZEL, G. Anther culture as a breeding tool in rape. II. Progeny analysis of androgenetic lines and induced mutants from haploids cultures. *Theor. Appl. Genet*, v. 61, p. 225-232, 1982.

JEGER, M. J.; VILJANEN-ROLLINSON, S. L. H. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 2, n. 2, p. 32-40. 2001.

JENSEN, C. J. Monoploid production by chromosome elimination. In: REINERT, J. & BAJAJ, Y. P. S. *Plant cell, tissue and organ culture*. New York: Spring-Verlag. p. 299 – 340. 1977.

JOSHI, A. K.; CHAND, R.; KUMAR, S.; SINGH, R.P. Leaf tip necrosis: a phenotypic marker associated with resistance to spot blotch disease in wheat. *Crop Science*, v. 44, n°3, p. 792-796. 2004.

KUMAR, J.; HUCKELHOVEN, R.; BECKHOVE, U.; NAGARAJAN, S.; KOGEL, K. H. A compromised Mlo pathway affects the response of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (teleomorph: *Cochliobolus sativus*). *Phytopathology*, v. 91, p. 127-133. 1995.

KUMAR, J.; SCHAFER, P.; HUCKELHOVEN, R.; LANGEM, G.; BALTRUSCHAT, H.; STEIN, E.; NAGARAJAN, S.; KOGEL, K. H. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular Plant Pathology* v. 3, n. 4, p. 185-195. 2002.

KUTCHER, H. R.; BAILEY, K. L.; ROSSNAGEL, B. G.; LEGGE, W. G. Heritability of common root rot and spot blotch resistance in barley. *Can. J. Plant. Pathol.* v. 16, p. 287-294. 1994.

KWASMA, H. Ecology, taxonomy and nomenclature of Helminthosporia history and actual situation. In: Chelkowski, J. (ed.). Helminthosporia-Metabolites, Biology, Plant Diseases: *Bipolaris*, *Drechslera*, *Exserohilum*. Poznan, Poland: Institute of Plant Genetics. *Polish Academy of Science*, p. 27-60. 1995.

LAURIE, D. A.; BENNETT, M. D. Wheat x maize hybridization. *Canadian Journal Genetics and Cytology*. Ottawa, v. 28, n. 2, p. 313 – 316. 1986.

LAURIE, D. A.; BENNETT, M. D. The timing of chromosome elimination in hexaploid wheat x maize crosses. *Genome*, Ottawa, v.32, n. 6, p. 953 – 961. 1989.

LAURIE, D. A.; BENNETT, M. D. Wheat x maize hybridization and the production of haploid plants. In: INTERNATIONAL WHEAT SYMPOSIUM, 7, p. 349 – 354. 1988.

LI, Q. Q. Creation, evaluation and utilization of winter wheat germplasm. Shangdong and technology press, p. 203-219. 1998.

LOUGHMAN, R.; WILSON, R. E.; THOMAS, G. J. Components of resistance to *Mycosphaerella graminicola* and *Phaeosphaeria nodorum* in spring wheats. *Euphytica* v. 89, p. 377-385. 1996.

LUZ, W. C. da; LUZZARDI, G. C.; SANTIAGO, J. C. Importância de *Helminthosporium* em sementes de trigo no Brasil. In: *Reunião anual conjunta de pesquisa de trigo*. Ponta Grossa. Sanidade. Passo Fundo, Embrapa, Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, v. 1, p. 115-129. 1976.



MARAITE, H.; ZINNO, D. T.; LONGRÉE, H.; DAUMERIE, V.; DUVEILLER, E. Fungi associated with foliar blight of wheat in warmer areas. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J., McNab, A. (eds). *Proc. Int. Workshop Helminthosporium Diseases of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*, CIMMYT, El Batán, México, 9-14 Feb. 1997. p. 293-300. México, DF, CIMMYT. 1998.

MARIATH, J. E. A.; SANTOS, R. P.; BITTENCOURT, N. S. *Flor.* In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELO-GUERREIRO, S. M. (eds). *Anatomia Vegetal*, Editora UFV, Viçosa, p.329-373, 2003.

MATHRE, D. E. *Compendium of barley diseases*. St. Paul, The American Phytopathological Society, 78p., 1982.

McFADDEN, E. S.; SEARS, E. R. The artificial synthesis of *Triticum spelta*. *Rec Genet Soc Am.* v. 13, p. 26-27. 1930.

METHA, Y. R. *Doenças do trigo e seu controle*. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres Ltda. 190p. 1978.

MEHTA, Y. R. Produção de conídios, período de esporulação e extensão da lesão por *Helminthosporium sativum* nas folhas-bandeira de trigo. *Pesq. Agropec. Bras.* v. 16, p. 77-99. 1981.

MEHTA, Y. R.; RIEDE, C. R.; CAMPOS, L. A. C.; KHOLI, M. M. Integrated management of major wheat diseases in Brazil: an example for the Southern Cone region of Latin America. *Crop Protection*, New York, v. 11, p. 517-524. 1992.

METHA, Y. R. Spot blotch: In: Mathur, S. B., Cunfer, B. M. (eds). *Seedborne diseases and seed health testing of wheat*. p. 105-112. Copenhagen, Denmark. 1993.

MEHTA, Y. R. *Manejo Integrado de Enfermedades de trigo Santa Cruz, Bolívia: CIAT/IAPAR*. p. 314. 1993.

METHA, Y. R. Constraints on the integrated management of spot blotch of wheat. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., McNab, A. (eds). *Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot*. México, DF, México: CIMMYT, p. 18-27. 1998.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, M. A. *Fungos Fitopatogênicos*. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária 227p. 1993.

MILACH, S.C.K., THOMÉ, G.C.H., FEDERIZZI, L.C. Characterization of partial resistance to oat crown rust through the area under the disease progress curve. In: V INTERNATIONAL OAT CONFERENCE & VII INTERNATIONAL BARLEY GENETICS SYMPOSIUM, 1996. Saskatoon, Canada. *Proceedings...* Saskatoon: University of Saskatchewan, v. 2, 814 p., p. 752-754. 1996.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. Perspectivas da biotecnologia para o melhoramento de plantas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v. 22, p. 881-896. 1987.

MORAES-FERNANDES, M.I.B., STIVAL, A.L., BRAMMER, S.P. Haplodiploidização: genética e melhoramento. In: TORRES, A.C., CALDAS, L.S., BUSO, J.A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: EMBRAPA/CBAB, v. 2, p. 569-612. 1999.

MUJEEB-KAZI, A.; ROSAS, V.; ROLDAN, S. Conservation of the genetic variation of *Triticum tauschii* (Coss) Schmalh (*Aegilops squarrosa* auct non L.) in synthetic hexaploid wheats (*T. turgidum* x *T. tauschii*, 2n=6x=42, AABBDD) and its potential utilization for wheat improvement. *Genet. Resources Crop Evol.* 43, 129-134, 1996.

NAGARAJAN, S.; KUMAR, J. Foliar blights of wheat in India: germoplasm improvement and future challenges for sustainable high yielding wheat production. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J., McNab, A. (eds). *Proc. Int. Workshop Helminthosporium Diseases of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*, CIMMYT, El Batán, México, 9-14 Feb. 1997. p. 52-58. México, DF, CIMMYT. 1998.

NELSON, R. R. Evidence of gene pools for pathogenicity in species of *Helminthosporium*. *Phytopathology*, v. 51, p. 736-737. 1961.

NUTTER, F. W.; PEDERSON, Jr. V. D.; FOSTER, A. E. Effect of inoculations with *Cochliobolus sativus* at specific growth stages on grain yield and quality of malting barley. *Crop Science*, v. 25, p. 933-938. 1985.

O'DONOUGHUE, L. S.; BENNETT, M. D. Comparative responses of tetraploid wheats pollinated with *Zea mays* L. and *Hordeum bulbosum* L.. *Theoretical and Applied Genetics*, Nova York, v. 87, n. 6, p. 673 – 680. 1994.

PICCININI, E. C.; FERNANDES, J. M. *Doenças em Gerais de inverno: aspectos epidemiológicos e controle*. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 58p. 1995.

PIRSON, H. Testing different wheat varieties for susceptibility to *Septoria nodorum*. *Phytopathology*. Z. v. 37, p.330-342, 1960.

PRABHU, A. S.; MORAIS, O. P. Resistência estável às doenças de plantas. In: LUZ, W. C. da. (Ed.). *Revisão Anual de Patologia de Plantas* v. 1, p. 239-273, 1993.

PRESTES, A. M.; CUNFER, B. M.; YOCUM, J. A. Components of partial resistance blotch among Brazilian spring wheats. *Cereal Research Communications*. v. 33, n. 4. 2005.

PRIESTLEY, R. H.; BAYLES, R. A. The contribution and value of resistant cultivars to disease control in cereals. In: CLIFFORD, B. C.; LESTER, E. (Eds.) *Control of Plant Diseases: Costs and Benefits*. Oxford UK. Blackwell Scientific Publications. p. 53-65. 1988.

RAEMAEEKERS, R. H. First occurrence in nature of *Cochliobolus sativus*, the teleomorph of *Bipolaris sorokiniana*. In: Contribution to the epidemiology of *Bipolaris sorokiniana* diseases and the development of rainfed wheat, a new crop in Zambia, p. 70-85, Chap. 6, *Dissertationes de Agricultura*. 1991.

RAGIBA, M.; PRABHU, K. V.; SINGH, R. B. Recessive genes controlling resistance to *Helminthosporium* leaf blight in synthetic hexaploid wheat. *Plant Breeding*, v. 123, p. 389. 2004.

RAJARAM, S.; van GINKEL, M. A.; FISCHER, R. A. CIMMYT's wheat breeding mega-environments (ME). In: Li, Z. S., Xin, Z. Y. (eds). *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Wheat Genetics Symp.*, Beijing, 20-25 Jul. 1993, p. 1101-1106. 1995.

RAJARAM, S.; van GINKEL, M. A guide to the CIMMYT bread wheat section. In: *Wheat Special Report*. México, DF, CIMMYT. 1996.

RAMALHO, M. P. A., SANTOS, J. B., ZIMMERMAN, M. J. *Genética quantitativa em plantas autógamas*. Goiânia: UFG, 271p. 1993.

REIS, E. M.; SANTOS, H. P. The increased sporulation of *Cochliobolus sativus* on above-ground tissues of small grains and its relationship to the origin of inoculum in the soil. *Fitopatologia Brasileira*, v.12, p. 206-208. 1987.

REIS, E. M. Integrated disease management. The changing concepts of controlling head blight and spot blotch. In: Saunders, D. A., Hettel, G. (eds). *Proc. Wheat for Nontraditional Warm Areas. Proc. Int. Conf.*, Foz do Iguazu, Brazil, 29 Jul-3 Aug. 1990, p. 165-177. México, DF, CIMMYT/UNDP. 1991.

REIS, E. M.; MEDEIROS, C.; CASA, R. T. Control of leaf blights of wheat by the elimination of the inoculum source. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J., McNab, A. (eds). *Proc. Int. Workshop Helminthosporium Diseases of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*, CIMMYT, El Batán, México, 9-14 Feb. 1997. p. 327-332. México, DF, CIMMYT. 1998.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes para órgãos radiculares e aéreos do trigo. *Fitopatologia Brasileira*, 18: 76-81. 2001.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. *Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno*. Londrina: ES Comunicação, 94 p. 2001.

RUCKSTUHL, M. *Bipolaris sorokiniana*: studies on its epidemiology and population structure in the rice-wheat cropping pattern of Nepal. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J., McNab, A. (eds). *Proc. Int. Workshop Helminthosporium diseases of wheat: Spot Blotch and Tan Spot*, CIMMYT, El Batan, México, 9-14 Feb. 1997. p. 88-106. México, DF, CIMMYT. 1998.

SAGER, R.; KITCHIN, R. Selective silencing of eukaryotic DNA. *Science*, v. 189, n. 4201, p. 426 – 433, Agosto. 1975.

SCHAREN, A. L.; KRUPINSKY, J. M. Detection and manipulation of resistance to *Septoria nodorum* in wheat. *Phytopathology* v. 68, p.245-248. 1978.

SHANER, G. Effect of environment on fungal leaf blights of small grains. *Ann. Rev. Phytopath.*, v. 19, p. 273-296. 1981.

SHARMA, R. C.; DUBIN, H. L.; DEVOKOTA, R. N.; BHATTA, M. R. Heritability estimates of field resistance to spot blotch in four spring wheat crosses. *Plant Breed.*,v. 116, p. 64-68. 1997.

SHARMA, R. C.; DUVEILLER, E. Effect of *Helminthosporium* leaf blight on the performance of timely and late seeded wheat under optimal and stressed levels of soil fertility and soil moisture. *Field Crops Res*, v. 89. P. 205-218. 2004.

SIDDIQUE, A. B.; HOSSAIN, M. H.; DUVEILLER, E.; SHARMA, R. C. On-farm and on-station trials under warm growing conditions confirm progress in breeding for spot blotch resistant wheat in Bangladesh. *J. Phytopathol*, v. 154, p. 16-22. 2006.

SILVA, J. A. G. da., CARVALHO, F. I. F. de., SILVA, S. A., BARBIERI, R. L., MARCHIORO, V. S., LORENCETTI, C., BENIN, G. Temperatura e seus efeitos na polinização para a obtenção de embriões haplóides em cruzamento intergenérico. *Revista Brasileira Agrociência*, v. 8, n. 2, p. 97-102, mai-ago, 2002.

SINGH, R. V.; SINGH, A. K.; SINGH, S. P. Distribution of pathogens causing foliar blights of wheat in India and neighboring countries. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J., McNab, A. (eds).

*Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot*. México, DF, México: CIMMYT, p. 59-62. 1998.

SNAPE, J. W.; CHAPMAN, V.; MOSS, J.; BLANCHARD, C. E.; MILLER, T. E. The crossabilities of wheat varieties with *Hordeum bulbosum*. *Heredity*, Edimburg, v. 42, n. 3, p. 291 – 298, 1986.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. Núcleo Regional Sul. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. *Manual de adubação e de calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina*. 10. ed. Porto Alegre, Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2004.

STEFFENSON, B. J.; HAYES, P. M.; KLEINHORFS, A. Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* f. sp. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley. *Theor. Appl. Genet.* 92, 552-558. 1996.

STEFFENSON, B. Spot blotch. In: MATHRE, D. E. (Ed.). *Compendium of barley diseases*. St. Paul, Minnesota. APS Press. p. 35-36. 1997.

TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics*, New York, v. 27, p. 205-233. 1993.

VALJAVEC-GRATIAN, M.; STEFFENSON, B. J. Pathotypes of *Cochliobolus sativus* on barley in North Dakota. *Plant Dis.* v. 81, p. 1275-1278. 1997.

VAN GINKEL, M.; RAJARAM, S. Breeding for resistance to spot blotch in wheat: global perspective. In: Duveiller, E., Dubin, H. J., Reeves, J., McNab, A. (eds). *Helminthosporium Blights of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot*. México, DF, México: CIMMYT, p. 162-170. 1998.

VELAZQUEZ-CRUZ, C. Genética de la resistencia a *Bipolaris sorokiniana* em trigos harineros. M.Sc. *thesis*. Montecillos, México, 84 p. 1994.

VILLAREAL, R. L.; MUJEEB-KAZI, A.; GILCHRIST, L.; DEL TORO, E. Yield loss to spot blotch in spring wheat in warm non-traditional wheat production areas. *Plant Dis.*, 79: 893-897. 1995.

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

ZHANG, J., FRIEBE, B., RAUPP, W. J., HARRISON, S. A., GILL, B. S. Wheat embryogenesis and haploid production in wheat x maize hybrids. *Euphytica*, Wageningen, v. 90, p. 315 – 324, 1996.

ZILLINSKY, F. *Common diseases of small grain cereals, a guide to identification*. México, DF, CIMMYT. 141 pp. 1983.

WILCOXSON, R. D.; RASMUSSEN, D. C.; MILES, M. R. N. Development of barley resistance to spot blotch and genetics of resistance. *Plant Disease* v. 74, p. 207-210. 1990.