

LÍDIA DO NASCIMENTO CAVALCANTE

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE UM PAINEL DE GENÓTIPOS DO PROGRAMA
TRIGO - UFV PARA RESISTÊNCIA A *Magnaporthe oryzae* pat. *Triticum***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Maicon Nardino

Coorientadora: Eveline Teixeira Caixeta

**VIÇOSA- MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de
Viçosa - Campus Viçosa**

T

C377d
2022
Cavalcante, Lidia do Nascimento, 1997-
Diversidade genética de um painel de genótipos do Programa Trigo - UFV
para resistência a *Magnaporthe oryzae* pat. *Triticum* / Lidia do Nascimento
Cavalcante. - Viçosa, MG, 2022.
1 dissertação eletrônica (45 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Maicon Nardino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de
Agronomia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 41-45.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.174>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Brusone. 2. Trigo - Resistência a doenças e pragas - Aspectos genéticos.
3. Marcadores genéticos. I. Nardino, Maicon, 1988-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Genética e
Melhoramento. III. Título.

CDD 22. ed. 633.1194

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto CRB6 2523

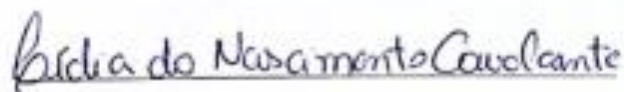
LÍDIA DO NASCIMENTO CAVALCANTE

**DIVERSIDADE GENÉTICA DE UM PAINEL DE GENÓTIPOS DO
PROGRAMA TRIGO - UFV PARA RESISTÊNCIA A *Magnaporthe oryzae* pat.
*Triticum***

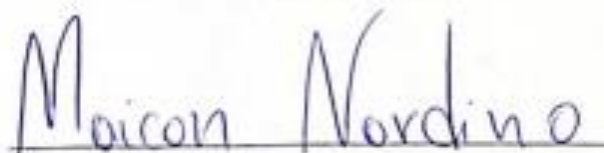
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 14 de março de 2022.

Assentimento:



Lídia do Nascimento Cavalcante
Autor



Malcon Nardino
Orientador

*Aos meus pais e para minha amada sobrinha Isabelle que
se tornou a grande alegria da casa*

AGRADECIMENTOS

Ao término de mais uma etapa na minha vida profissional, gostaria de agradecer aqueles que de alguma forma colaboraram para esta realização.

Primeiramente a Deus, por me conceder o dom da vida, pela proteção, pela saúde.

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pela oportunidade de formação e apoio para realização das pesquisas. Aos professores do PPGM pelos ensinamentos durante as disciplinas.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo apoio financeiro com a concessão de bolsa e financiamento das pesquisas.

Ao meu orientador, Dr. Maicon Nardino, agradeço pela confiança e por sempre estar disposto a me auxiliar. Pela troca de conhecimento e por toda atenção durante o período do mestrado.

À minha coorientadora, Dra. Eveline Caixeta, que me orientou nos momentos mais turbulentos da parte de biotecnologia. Agradeço pela ajuda, ensinamentos, orientação e por ser um exemplo de profissional. Ambos me incentivaram a buscar a fazer sempre o melhor, contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos membros examinadores da banca, Dra. Eveline Caixeta e Dra. Jéssica Rosset Ferreira por aceitarem o convite em participar e pelos conhecimentos compartilhados para o enriquecimento deste trabalho.

Aos meus pais, Jonas da Silva Cavalcante e Rosilene do Nascimento Cavalcante, pela paciência, carinho, apoio, orações e conselhos.

À minha orientadora de Iniciação Científica na EMBRAPA, Dra. Tatiana de Campos, por acreditar em meu potencial, dar “broncas” quando necessário, pelos conselhos de vida e profissional. Ao meu grande amigo, Dr. Luciano Arruda Ribas, por todo apoio durante esses anos, por celebrar todas as minhas vitórias mesmo que a distância, desde a minha entrada na EMBRAPA. Essa conquista, sem dúvida, também é de vocês!

Aos amigos do Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento de Plantas, ao Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro e aos amigos do Laboratório de Melhoramento de Trigo, pelo companheirismo, aprendizado, momentos compartilhados, e amizade sincera, vocês tornaram os trabalhos do laboratório bem mais prazerosos. Em especial, a Denise, Milene e Edilson, pela ajuda no laboratório.

Aos amigos do Acre e Viçosa que estão ao meu lado há muito tempo e outros que a vida

foi me presenteando ao longo do caminho do mestrado: Vanderleia, Mel, Lydce, Emily, Cláudio, Bruna, Thainá, Leo, Sâmera, Bianca Camargo, Pedro, Edilson, Grazi, André Lucas, Hellen Azevedo. Obrigada por não fazerem da distância obstáculos, pela compreensão quando não pude dividir alguns momentos com vocês, pelo incentivo, ombro amigo e por comemorarem comigo.

“É bem mais difícil julgar a si mesmo do que julgar os outros. Se consegues fazer um bom julgamento de ti, és um verdadeiro sábio.”

(O Pequeno Príncipe - Antoine de Saint-Exupéry)

RESUMO

CAVALCANTE, Lídia N., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2022. **Diversidade genética de um painel de genótipos do Programa Trigo - UFV para resistência a *Magnaporthe oryzae* pat. *Triticum***. Orientador: Maicon Nardino. Coorientadora: Eveline Teixeira Caixeta.

O trigo é um dos cereais mais produzidos no mundo, seu valor nutricional é muito apreciado para a dieta humana. Contudo, alguns estresses bióticos, como a brusone causado pelo fungo *Magnaporthe oryzae* tem devastado os campos de trigo. Existem algumas fontes de resistência disponível como: a translocação 2NS/AS e alguns genes *Rmg*, além das descobertas de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) próximos a regiões de resistência. Entretanto, são necessários mais estudos para aumentar o conhecimento sobre os mecanismos de resistência da planta contra essa doença. O sucesso dos programas de melhoramento está intrinsecamente ligado com o conhecimento da diversidade genética em conjunto com as características agronômicas, através dessas informações o melhorista pode traçar estratégias de seleção para obtenção de maiores ganhos genéticos e com resistências a doenças. Objetivou-se analisar a diversidade genética por meio de marcadores moleculares com direcionamento para resistência a brusone e caracterização fenotípica de um painel de genótipos de trigo para direcionar possíveis cruzamentos. Foram utilizados 45 acessos do Banco de Germoplasma do Programa Trigo-UFV, foram realizadas análises de diversidade genética com seis marcadores microssatélites com direcionamento para resistência a brusone e o marcador dominante da translocação 2NS. A estrutura genética das populações foi verificada por meio do *Software Structure*. A diversidade genética foi verificada a partir da matriz de distância com índice de Jaccard. Para a caracterização fenotípicas foram utilizadas três características: produtividade, Peso Hectolitro e índice de severidade. A produtividade teve uma média mais alta nos indivíduos moderadamente resistente. Ao se comparar os índices de severidade e o nível de resistência que o detentor da cultivar informa, observou-se divergência em alguns genótipos com sugere que possa existir resistência parcial nesses genótipos a ser explorada pelos programas de melhoramento. A maioria dos acessos do Programa Trigo apresenta a translocação 2NS/2AS, entretanto é necessário a ampliação de fontes de resistência, pois houve uma variação severidade de brusone. Os seis marcadores microssatélite do presente estudo, foram altamente informativos e suficiente para discriminar os 45 acessos presente no painel de genótipos do

Programa Trigo. Os acessos de trigo possuem alta diversidade genética, se agruparam em diferentes clusters e isso tem grande relevância para os futuros passos do programa de melhoramento. Com isso, conclui-se que existe variabilidade genética no painel de genótipos do Programa Trigo, para que se possa selecionar genitores potenciais e divergentes para fins de uso para a resistência a MoT.

Palavras-chave: Brusone. Resistência genética. SAM.

ABSTRACT

CAVALCANTE, Lídia N., M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2022. **Genetic diversity of a panel of genotypes from the Wheat Program - UFV for resistance to *Magnaporthe oryzae* pat. *Triticum***. Advisor: Maicon Nardino. Co-advisor: Eveline Teixeira Caixeta.

Wheat is one of the most produced cereals in the world, its nutritional value is highly appreciated for the human diet. However, some biotic stresses, such as blast caused by the fungus *Magnaporthe oryzae*, have devastated wheat fields. There are some sources of resistance available, such as: the 2NS/AS translocation and some *Rmg* genes, in addition to the discoveries of QTLs (*Quantitative Trait Loci*) close to resistance regions. However, further studies are needed to increase knowledge about the plant's resistance mechanisms against this disease. The success of breeding programs is intrinsically linked to the knowledge of genetic diversity together with agronomic characteristics, through this information the breeder can outline selection strategies to obtain greater genetic gains and resistance to diseases. The objective was to analyze genetic diversity using molecular markers targeting blast resistance and phenotypic characterization of a panel of wheat genotypes to target possible crosses. Forty-five accessions from the Germplasm collection of the Program Trigo - UFV were used. Genetic diversity analyzes were performed with six microsatellite markers targeting blast resistance and the dominant translocation marker 2NS. The genetic structure of populations was verified using the Software Structure. Genetic diversity was verified from the distance matrix with Jaccard index. For the phenotypic characterization, three characteristics were used: productivity, Hectoliter weight and severity index. Productivity had a higher average in moderately resistant individuals. When comparing the severity indices and the level of resistance that the cultivar holder informs, divergence was observed in some genotypes, suggesting that there may be partial resistance in these genotypes to be exploited by breeding programs. Most of the accessions of the Wheat Program present the 2NS/2AS translocation, however it is necessary to expand the sources of resistance, as there was a variation in blast severity. The six microsatellite markers of the present study were highly informative and sufficient to discriminate the 45 accessions present in the genotype panel of the Wheat Program. Wheat accessions have high genetic diversity, they were grouped in different clusters and this has great relevance for the future steps of the breeding program. With this, it is concluded that there is

genetic variability in the genotype panel of the Trigo Program, so that potential and divergent parents can be selected for use for MoT resistance.

Keywords: Blast. Genetic resistance. SAM.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVO.....	17
2.1. Geral.....	17
2.2. Específicos.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1. Material Vegetal.....	18
3.2. Genotipagem dos marcadores microssatélites.....	19
3.3. Genotipagem do marcador dominante da translocação 2NS/AS.....	22
3.4. Fenotipagem.....	22
3.5. Análises estatísticas.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1. Caracterização fenotípica.....	24
4.2. Translocação 2NS/AS.....	27
4.3. Qualidade das amplificações e caracterização genética.....	31
4.4. Estrutura populacional.....	33
4.5. Diversidade genética.....	37
5. CONCLUSÃO.....	40
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é muito importante na dieta humana, por sua qualidade, quantidade de proteínas e variedade de produtos derivados. A produção mundial de trigo em 2021 foi 794 milhões de toneladas (ABITRIGO, 2021). Ele é utilizado principalmente como farinha para a produção de pães e outros produtos de como biscoitos e massas (IGREJAS; IKEDA; GUZMÁN, 2020).

A região do Cerrado tem se mostrado promissora para a expansão da produção desse cereal, devido sua proximidade com os principais consumidores de trigo no Sudeste do país, capacidade de produção do trigo tipo pão e a possibilidade de colheita na entressafra da produção dos estados do Sul e da Argentina (PASINATO et al., 2018). Entretanto, apesar do alto potencial, existem diversas limitações para o aumento do cultivo, como os estresse bióticos, destacando-se a brusone.

A brusone de trigo (MoT) é uma doença causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* B. C. Couch (Anamorfo: *Pyricularia oryzae* Cavara) (COUCH; KOHN, 2002). Essa doença tem impacto direto na produtividade e qualidade dos grãos de trigo. O fungo que causa a brusone pode infectar todas as partes do trigo acima do solo. Nas espigas pode ocorrer branqueamento total ou parcial, dependendo do local do ponto de penetração do patógeno na ráquis que impede a translocação de água e nutrientes impedindo o enchimento de grãos, causando os sintomas de produção grãos com má formação, menores e enrugados (CRUZ e VALENT, 2017). A brusone também pode ocorrer nas folhas, produzindo lesões elípticas, de cor acinzentada, com bordas escuras (MALAKER et al., 2016) (Figura 1).



Figura 1 - Sintomas de Brusone em trigo. (A) Branqueamento parcial ou completo no campo, as setas vermelhas indicam pontos de infecção na ráquis, (B) Grãos afetados por brusone vs. grãos saudáveis de trigo, (C) Lesões elípticas nas folhas maduras de trigo. Fonte: SINGH et al., 2021.

Essa doença foi observada em trigo pela primeira vez no estado do Paraná, Brasil em 1985 (COUCH et al., 2005). O patógeno expandiu-se para o Cerrado, em Minas Gerais em 1990 (LIMA, 2004), Goiás em 1992 (PRABHU et al., 1992) e Brasília em 1993 (ANJOS et al., 1996), espalhando-se cerca de 1200 km ao norte de sua origem (Figura 2).

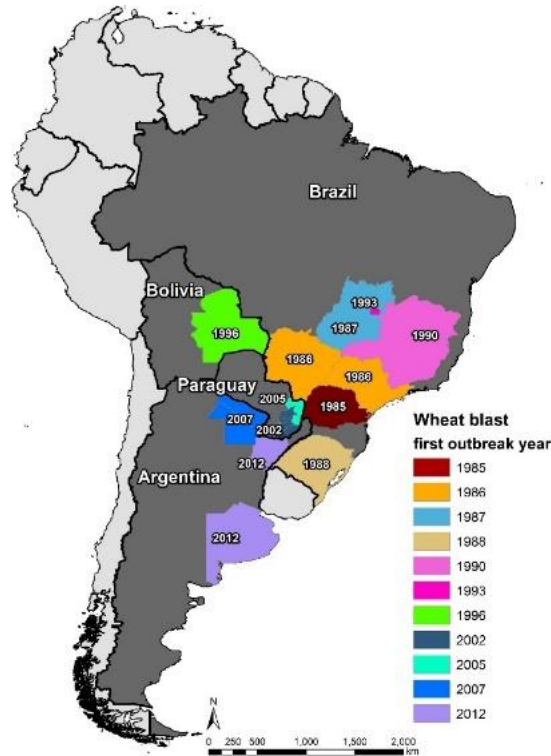


Figura 2 - Dispersão ao longo dos anos da Brusone de trigo na América do Sul de 1985 a 2021. Fonte: SINGH et al., 2021.

A doença também foi relatada na Bolívia, Paraguai e Argentina (KOHLI et al., 2011). No ano de 2016 em Bangladesh, a brusone provocou perdas de produção e diminuição de área de trigo semeada (MALAKER et al., 2016; MOTTALEB et al., 2019). E mais recentemente, foi relatado a presença de brusone na Zâmbia na África (TEMBO et al., 2020). Desde seu primeiro relato, a brusone tem chamado atenção principalmente devido o seu potencial de se disseminar por países que são grandes produtores de trigo como: Índia, Paquistão e China (SINGH et al., 2021).

A busca por fontes de resistência à brusone tem sido apontada como prioritária em programas de melhoramento de trigo em locais com histórico de ocorrência da doença no Brasil (CRUZ et al., 2010). Um segmento cromossômico (2NS) de 25 a 38 cM, oriundo de *Triticum ventricosum* (sin. *Aegilops ventricosa*), foi translocado para o cromossomo 2AS da linhagem de trigo comum VPM1. Essa região é conhecida por conferir resistência à brusone em condições epidêmicas naturais (CRUZ et al., 2016). Esse segmento apresenta resistência a ferrugem causada por *Puccinia triticina* (Lr37), *P. graminis* (Sr38) e por *P. striiformis* (Yr17) (HELGUERA et al., 2003) e contra nematoides *Heterodera avenae* (Cre5) e *Meloidogyne* spp (Rkn3) (JAHIER et al., 2001). Além disso, segundo Singh et al. (2019) esse fragmento contribui para a resistência ao acamamento no trigo para pão. Outra característica importante desses

genótipos é que a presença da translocação não ocasionou perda de rendimento de grãos no trigo (WILLIAMSON et al., 2013).

Entretanto, é necessário ampliar o mapeamento por novas fontes de resistência, pois a durabilidade da translocação 2NS/2AS não é totalmente eficaz, uma vez que a agressividade do fungo se torna maior com o aparecimento de novos isolados mais agressivos (CRUZ et al., 2016; CRUZ E VALENT, 2017).

Alguns genes de resistência a brusone são encontrados na literatura com eficiência para alguns isolados de *M. oryzae*: *Rmg1(Rwt4)*, *Rmg2* e *Rmg3* (TAKABAYASHI et al., 2002; ZHAN; MAYAMA; TOSA, 2008), *Rmg4* e *Rmg5* (NGA; HAU; TOSA, 2009), *Rmg6 (Rwt3)* (VY et al., 2014), *RmgTd(t)* (CUMAGUN et al., 2014), *Rmg7* (TAGLE; CHUMA; TOSA, 2015), *Rmg8* (ANH et al., 2015), e *RmgGR119* (WANG et al., 2018). Entretanto, apenas *Rmg2*, *Rmg3*, *Rmg7*, *Rmg8* e *RmgGR119* conferem resistência isolados de *M. oryzae*. Os genes *Rmg2* e *Rmg3* conferem resistência de planta jovem na cultivar de trigo Thatcher. O gene *Rmg7* encontrado no trigo tetraploide *T. dicoccum*, demonstra um papel importante de incorporar acessos silvestres nos bancos de germoplasma para ampliar as fontes de resistência no *T. aestivum*. O *Rmg8* confere resistência não apenas no estágio de plântula, mas também no estágio de espigamento, e é flanqueado pelos marcadores microssatélites WMC317 e BARC159 (ANH et al., 2015). O gene *RmgGR119* atua de modo aditivo com o gene *Rmg8*, entretanto eles interagem de forma diferente durante a infecção fúngica (WANG et al., 2018). O *Rmg8* previne o desenvolvimento de lesões, enquanto o *RmgGR119* reduz o número de lesões. Embora não tenham sido desenvolvidos marcadores moleculares, o *Rmg8* e *RmgGR119* estão sendo introduzidos em genótipos japoneses por retrocruzamento recorrente (WANG et al., 2018). Embora esses genes de resistência tenham sido identificados, são poucas as pesquisas que demonstram o emprego desses genes em programas de melhoramento para o desenvolvimento de cultivares de trigo resistentes.

Além disso, alguns estudos de mapeamento genético e identificação de QTL são relatados na literatura, Ferreira et al. (2020), identificou 14 QTLs em trigo que conferem resistência a *M. oryzae* nos cromossomos 2A, 5B, 7B. Dos QTL mapeados, 12 foram localizados no cromossomo 2A. Os QTL identificados no 2A estão distantes do marcador VENTRIUP/LN2, utilizado para identificar a presença da translocação 2NS/2AS. Em outro trabalho, Juliana et al. (2020) para identificar regiões genômicas associadas à resistência a brusone contra isolados MoT na Bolívia e Bangladesh, realizaram um estudo de mapeamento de associação de todo o genoma e foram identificados 36 marcadores significativos nos cromossomos 2AS, 3BL, 4AL e 7BL.

Ao se iniciar um programa de melhoramento é necessário conhecer a diversidade genética do germoplasma disponível, para direcionar cruzamentos entre genitores divergentes, com potencial para resistência a doenças sem a perda da qualidade e produtividade dos grãos. Com isso é necessário analisar a diversidade genética por meio de marcadores moleculares que possuam um direcionamento para a resistência a brusone.

O marcador microssatélites SSR (*Simple Sequence Repeat*), pode ser utilizado nessa situação quando flanqueam genes de resistência potenciais. Esse marcador apresenta características de polimorfismo, natureza codominante, multialelismo, não apresentam interações com o ambiente, podem ser avaliada em qualquer fase de desenvolvimento e são muito utilizados em análises de similaridade, diversidade genética, em mapeamento e seleção assistida (BORÉM E CAIXETA, 2009). Mas, também é importante integrar essas informações moleculares com análises de características de interesse agrônômico para contribuir de forma significativa no conhecimento e uso dos recursos genéticos disponíveis e para sua conservação em programas de melhoramento (VIEIRA et al., 2007).

2. OBJETIVO

2.1 Geral

- Analisar a diversidade genética por meio de marcadores moleculares com direcionamento para resistência a brusone e caracterização fenotípica de um painel de genótipos de trigo para direcionar possíveis cruzamentos.

2.2 Específicos

- Obter a caracterização molecular de genótipos de trigo com marcadores microssatélites.
- Avaliar a presença da translocação 2NS/2AS nos genótipos de trigo.
- Identificar e selecionar genótipos de trigo potenciais para cruzamentos visando resistência a MoT com base em informações moleculares e agronômicas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, localizado no Setor de Fruticultura, casa de vegetação e no campo experimental Diogo Alves de Mello pertencentes ao Departamento de Agronomia DAA/UFV localizado nas coordenadas 20°45'14''S, 42° 52'55''W e altitude de 648 metros no município de Viçosa, Minas Gerais. da Universidade Federal de Viçosa-MG. Foram utilizados 45 acessos de *Triticum aestivum* L. provenientes do Banco Ativo de Germoplasma do Programa Trigo, com diferentes níveis de resistencia e suscetibilidade a brusone (Tabela 1).

Tabela 1 - Genótipos de trigo (*Triticum aestivum*) do Programa e suas características agromorfológicas, utilizados na caracterização molecular.

Código	Obtendor	Ano de lançamento	Reação a Brusone*
UFVT1	BIOTRIGO	2007	MR
UFVT2	BIOTRIGO	2010	MR/MS
UFVT3	BIOTRIGO	2010	MS/S
UFVT4	BIOTRIGO	2011	MS
UFVT5	BIOTRIGO	2011	MS
UFVT6	BIOTRIGO	2012	S/MS
UFVT8	BIOTRIGO	2012	MR/R
UFVT9	BIOTRIGO	2013	MR
UFVT10	BIOTRIGO	2013	MS/MR
UFVT11	BIOTRIGO	2013	S/MS
UFVT12	BIOTRIGO	2015	MR/R
UFVT13	BIOTRIGO	2016	S/MS
UFVT14	BIOTRIGO	2017	MR/R
UFVT15	BIOTRIGO	2017	MR
UFV T16	BIOTRIGO	2017	MR/R
UFV T17	BIOTRIGO	2018	MR
UFV T18	BIOTRIGO	2018	MR
UFV T19	BIOTRIGO	2018	MR
UFV T23	OR SEMENTES	2003	S
UFV T24	OR SEMENTES	2011	SI
UFV T25	OR SEMENTES	2016	MR
UFV T26	OR SEMENTES	2017	SI
UFV T32	EMBRAPA	2005	S
UFV T38	EMBRAPA	2014	S
UFV T45	EMBRAPA	1999	MR
UFV T52	IAPAR	2005	S

UFV T68	IAPAR	2002	MS
UFV T81	IAPAR	2016	MS
UFV T85	COODETEC	2005	S
UFV T88	COODETEC	2007	MR
UFV T89	COODETEC	2009	MR
UFV T96	COODETEC	2016	MR
UFV T100	FUNDACEP	2006	SI
UFVT103	IAC	2012	SI
UFV T102	EMBRAPA	1940	SI
UFV T105	IAC	2016	MR
UFV T106	EMBRAPA	2003	MR
UFV T108	EMBRAPA	1988	SI
UFV T110	EMBRAPA	1986	MR
UFV T112	TAMONA	2019	MR
UFV T116	TAMONA	2013	SI
UFV T118	OR SEMENTES	2020	MR
UFV T119	OR SEMENTES	2020	MR
UFV T120	OR SEMENTES	2020	MR
UFV T121	OR SEMENTES	2021	MR

*Reação a doença informado pelo obtentor (RCBPTT 2020).

R: Resistente; MR: Moderadamente Resistente; MS: Moderadamente Susceptível;

S: Susceptível; SI: Sem Informação

3.2 Genotipagem dos marcadores microssatélites

Os genótipos semeados em casa de vegetação, foram utilizados para o estudo com marcadores SSR (Tabela 1). Aos 15 dias após a semeadura, as folhas jovens foram coletadas e acondicionadas em papel alumínio, que foi mantido no gelo e conduzido laboratório, onde foi realizada a extração de DNA a partir do material fresco. A extração de DNA genômico foi realizada com protocolo de extração baseado no método CTAB (SAGHAI-MAROOF et al., 1984).

A quantidade de 200 mg de tecido vegetal foi macerada em cadinho e pistilo contendo nitrogênio líquido, após isso foi adicionado 750 µL de tampão de extração e 15 µL de 2-mercaptoetanol. O tampão de extração era composto de CTAB 2%, NaCl 5 M, EDTA 0,5 M, Tris-HCl pH 8,0 1 M e PVP 1%, adicionado após a autoclavagem do tampão.

O microtubo contendo o tecido macerado foi levado ao banho-maria à 65 °C, por 1 hora e homogeneizados a cada dez minutos. Para a purificação, 600 µL da mistura de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) foi adicionada sobre no microtubo e centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo de 1,5 µL no qual foi adicionado 275 µL de acetato de amônio 7,5M e 550 µL de isopropanol. As amostras foram então deixadas em *overnight*, a temperatura de 4 °C.

No dia seguinte, as amostras foram centrifugadas a 12.000 rpm por 10 min. Em seguida, o DNA foi lavado com 130 μL de álcool 70%, e centrifugado a 12.000 rpm por 5 minutos seguido de outra lavagem em 130 μL de etanol 95% gelado. A eluição do DNA foi realizada em 100 μL de água deionizada, adicionado 1 μL de RNase 10 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, aquecidos em banho-maria a 37 °C por 30 minutos. A concentração e qualidade do DNA foram verificadas por meio de leitura da absorbância em um espectrofotômetro de microplacas (Multiskan™ GO), nos comprimentos de onda 230, 260, 280 nm.

O DNA purificado foi amplificado com 6 *primers* microssatélites (SSR) com direcionamento para resistência a brusone. Dois *primers* selecionados flanqueiam o gene *Rmg8* no cromossomo 2B, um *primer* que está próximo ao gene *Rmg7* conforme descrito por Anh et al., (2015) (Figura 2), um *primer* próximo ao QTL (*QWbr.emt-2A*) localizado no cromossomo 2A (FERREIRA et al., 2020), e os outros dois primers foram escolhidos aleatoriamente e estão presentes no cromossomo 1B e 5D (Tabela 2).

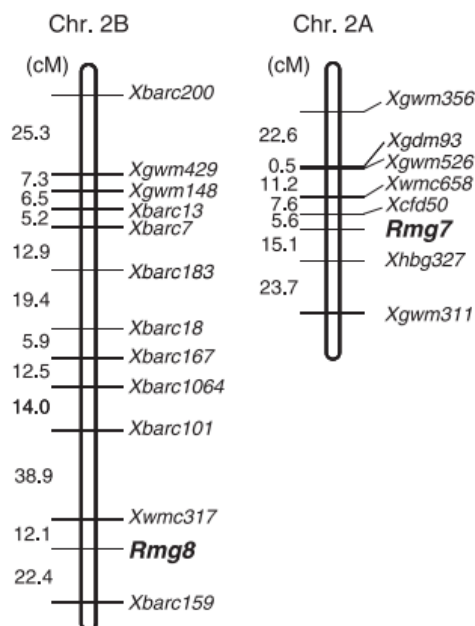


Figura 3 - Mapa genético do gene *Rmg7* e *Rmg8*. Fonte: ANH et al., 2015.

Tabela 2 - Sequências dos *primers*, seus respectivos tamanhos de fragmentos esperados e função.

Marcador	<i>Primer</i> Forward	<i>Primer</i> Reverse	Temperatura de anelamento (°C)	Loci associado
VENTRIUP/ LN2	AGGGGCTACTGACCAAGGCT	TGCAGCTACAGCAGTATGTACA CAA	63	2NS/AS
BARC212	GGCAACTGGAGTGATATAAATACCG	CAGGAAGGGAGGAGAACAGA GG	62	QTL
WMC317	TGCTAGCAATGCTCCGGGTAAC	TCACGAAACCTTTTCCTCCTCC	60	<i>Rmg8</i>
BARC159	CGCAATTTATTATCGGTTTTAGGAA	CGCCCGATAGTTTTTCTAATTT CTGA	58	<i>Rmg8</i>
CFD50	TTCTGCAACATTTTGTCCCA	CGTATGATCCTAACGAGGGC	63	<i>Rmg7</i>
BARC61	TGCATACATTGATTCATAACTCTCT	TCTTCGAGCGTTATGATTGAT	60	-
BARC130	CGGCTAGTAGTTGGAGTGTTGG	ACCGCCTCTAGTTATTGCTCTC	63	-

Para a reação em cadeia de polimerase (PCR), foi preparado um mix de reagentes nas seguintes concentrações: 40 ng de DNA; tampão 1X (500 mM de KCl; 100 mM Tris-HCl pH 8,4; 1% Triton X-100); 2,0 mM de MgCl₂; 0,10 μM de cada dNTP; 0,35 μM de cada *primer*; 1 U de Taq DNA polimerase (*Invitrogen*).

A amplificação dos fragmentos foi realizada em termociclador Veriti®, sob a seguinte condição: desnaturação a 94 °C por 3 min, por 30 segundos seguido de anelamento variando de 60°C a 63°C, conforme o *primer*, alongamento a 72° C por 30 segundos e extensão final a 72° C por dez minutos, com 30 ciclos

Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante 6%, a 60 watts, 1750 volts e 60 mA por 2 h. Os produtos da amplificação foram corados com nitrato de prata.

3.3 Genotipagem do marcador dominante da translocação 2NS/AS

Os iniciadores VENTRIUP e LN2 (HELGUERA et al., 2003) (Tabela 2.), foram utilizados para verificar a presença da translocação 2NS/2AS. Utilizou-se BR-18 Terena como controle negativo.

Para reação em cadeia de polimerase (PCR), foi preparado um mix de reagentes nas seguintes concentrações: 60 ng de DNA; tampão 1X (500 mM de KCl; 100 mM Tris-HCl pH 8,4; 1% Triton X-100); 1,5 mM de MgCl₂; 0,10 μM de cada dNTP; 0,6 μM de cada *primer*; 1 U de Taq DNA polimerase (*Invitrogen*).

A PCR foi realizada em termociclador Veriti®, sob a seguinte condição: desnaturação a 95° C por 40 segundos; anelamento na temperatura de 63°C por 40 segundos, alongamento a 72° C por 40 segundos e extensão final a 72° C por quinze minutos com 40 ciclos.

Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% e tabelados para análise de presença e ausência da translocação.

3.4 Fenotipagem

Os genótipos foram conduzidos a campo, na safra de inverno em delineamento experimental de blocos completamente casualizados, com três repetições. As variáveis avaliadas foram: produtividade de grãos, o peso hectolitro (PH) que é a massa de 100 litros de trigo, expressa em quilos, determinado em equibalança Dalle Molle e a avaliação de severidade de brusone em campo.

Para avaliação da severidade da doença, os dados da variável foram obtidos segundo a escala de Maciel (MACIEL et al., 2013), dado a distribuição dos dados, assumimos a distribuição Gamma para os estimadores dos parâmetros. Com isso, foi criado índice de severidade pela classificação de: 0 = resistente, $0 > e < 1$ = Moderadamente resistente, $> 1 e < 1.5$ moderadamente suscetível e > 1.5 susceptível.

3.5 Análises estatísticas

A partir da avaliação dos géis, foi construída uma matriz de similaridade onde cada banda foi tratada como um caráter único devido a ploidia da espécie ($x = 7$ e $6x = 2n = 42$) e a sua presença em um indivíduo foi designada por 1 (um) e a ausência por 0 (zero). Utilizou-se os dados obtidos dos marcadores microssatélites e da translocação.

A estimativa do conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi feita utilizando o aplicativo “Gddom” o PIC foi calculado de acordo com a fórmula de Roldan-Ruiz et al. (2000):

$$PIC_i = 2f_i (1 - f_j)$$

Onde: PIC_i é o conteúdo de informação polimórfica do marcador ' i ', f_i é a frequência do alelo amplificado (presença da banda = 1) e $1 - f_j$ é a frequência do alelo ausente (0). Essa estimativa é um parâmetro que considera a dependência do número de alelos e de suas frequências por locos. O valor de PIC de acordo com essa fórmula pode ter uma variação de 0 a 0,5 (ABUZAYED et al., 2017).

Com base no coeficiente de similaridade de Jaccard, foram realizadas comparações pares a par, entre os genótipos. Para representar as distâncias genéticas foi realizado um dendrograma obtido pelo método Ward.D2. A matriz de distância, agrupamentos, análises de componentes principais (PCA) e análise discriminante de componentes principais (DAPC), foram realizados no *software* R (WICKHAM, 2016; KAMVAR et al., 2014).

Para verificar a estrutura da população, foi utilizado o *software* STRUCTURE V 2.3.4 (PRITCHARD ET AL., 2000), utilizando estatística bayesiana a partir de dados obtidos pelos seis marcadores SSRs, para determinar o número de grupos (K) formados. O programa foi executado com variação de K de 1 a 10 com 20 simulações independentes para cada K com 1.000.000 iterações MCMC (*Markov Chain Monte Carlo*), com um burn-in de 100.000 e *thin* de 10 iterações, com cluster misto para o modelo de mistura e de frequências de alelos

correlacionados. O número de K foi determinado pelo aplicativo Structure Harvester v0.6.92 (EARL e VON HOLDT, 2012) e o gráfico foi obtido pelo Structure Plot 2 (RAMASAMY et al., 2014).

As análises fenotípicas foram realizadas utilizando o modelo misto: $y = Xb + Zg + e$ com b é o vetor do efeito de bloco (repetição) fixo; g é o vetor do efeito de genótipo aleatório, com $g \sim N(0, I\sigma_g^2)$; e é o vetor do efeito aleatório do resíduo, com $e \sim N(0, I\sigma_e^2)$; X e Z são as matrizes de incidência do efeito fixo (bloco) e aleatório (genótipo), respectivamente. Os efeitos do *best linear unbiased prediction* (BLUP) de cada variável foram obtidos com auxílio do software SAS, (SAS Instituto 2014) com o procedimento PROC GLIMMIX. A variáveis produtividade de grãos e peso hectolitro foi assumida distribuição normal para os estimadores dos parâmetros.

Além disso, para seleção dos genótipos promissores para futuros cruzamentos, foi utilizado o índice de seleção baseado na soma de ranks de Mulamba e Mock (1978), com pressão de seleção de 20%, ou seja, visando a seleção de 09 genitores potenciais. Esta análise foi realizada no software Genes (CRUZ et al., 2013)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização fenotípica

Foram utilizadas três características fenotípicas: produtividade, PH e o índice de severidade de brusone em campo, para analisar o impacto da doença na coleção de trigo estudada (Tabela 3).

Tabela 3 - Fenotipagem do painel de 45 genótipos de trigo para caracteres relacionados a severidade a brusone, peso Hectolitro e produtividade de grãos.

Código	Severidade	Peso Hectolitro (PH)	Produtividade
UFVT1	0,00	72,38	4532,11
UFVT2	0,50	76,11	5722,22
UFVT3	0,48	-	-
UFVT4	0,28	74,03	4365,00
UFVT5	0,00	71,22	4256,00
UFVT6	0,70	72,24	3384,42
UFVT8	0,00	71,16	3417,53
UFVT9	0,66	73,50	3895,97

UFVT10	0,23	73,16	4055,56
UFVT11	0,27	74,66	4437,50
UFVT12	0,00	72,87	4131,95
UFVT13	0,20	75,24	5888,89
UFVT14	0,57	75,95	4125,86
UFVT15	0,00	73,58	4032,11
UFVT16	0,80	71,64	4687,5
UFVT17	0,00	74,57	3740,45
UFVT18	0,70	75,00	5118,06
UFVT19	0,08	72,61	5041,67
UFVT23	0,00	72,81	4384,41
UFVT24	0,80	76,86	5948,78
UFVT25	0,00	75,04	5113,58
UFVT26	0,20	72,91	5034,72
UFVT32	0,90	68,95	2202,06
UFVT38	0,49	76,72	4826,39
UFVT45	1,40	75,96	4215,00
UFVT52	-	-	-
UFVT68	-	-	-
UFVT81	0,28	71,30	6277,78
UFVT85	1,10	71,66	2708,33
UFVT88	0,40	72,44	4094,61
UFVT89	0,97	76,40	4784,72
UFVT96	1,07	77,55	4687,50
UFVT100	0,50	72,65	3382,28
UFVT103	0,32	-	-
UFVT102	1,50	74,28	1323,78
UFVT105	1,81	74,67	3845,00
UFVT106	0,08	74,55	4594,61
UFVT108	0,53	75,37	5823,78
UFVT110	0,53	74,87	5833,33
UFVT112	0,60	74,12	3957,33
UFVT116	0,50	74,13	3999,00
UFVT118	0,10	75,00	4789,00
UFVT119	0,00	74,00	5236,00
UFVT120	0,12	72,00	5123,00
UFVT121	0,05	-	4856,00
MÉDIA	0,46	73,90	4435,95

A variável severidade quando comparada a produtividade apresentou uma correlação negativa de -0.36, quanto menor a severidade de brusone, maior será a produtividade de grãos. Segundo Castro et al. 2019, quanto menor a incidência da brusone na planta, menor o risco de queda de produtividade e seus componentes de produção. A utilização da correlação entre

variáveis é um importante parâmetro para os programas de melhoramento de plantas, pois proporciona a possibilidade de realizar uma escolha paralela entre os caracteres de interesse (CRUZ, REGAZZI e CARNEIRO, 2012).

Observou-se uma variação considerável na severidade de brusone em campo nos experimentos realizados na Universidade Federal de Viçosa de 0 a 1,81, com média de 0,46. A produtividade teve uma média de 4435,95 com variação de 1323,78 (UFVT102) a 6277,78 (UFVT81). E o Peso Hectolitro variou de 71,22 (UFVT5) a 77,55 (UFVT96) com média de 73,90.

Na tabela 4, foram colocadas as médias obtivas de produtividade e Peso Hectolitro (PH) com base nas avaliações de severidade em campo.

Tabela 4 - Avaliações fenotípicas de produtividade e Peso Hectolitro (PH), nas cultivares presentes no Programa Trigo – UFV, com base nas avaliações de severidade de brusone em campo.

Nível de Severidade	Produtividade	PH	Severidade em campo
0 = R*	4316,02	73,07	0,00
0 > e < 1 = MR*	4675,93	73,94	0,44
> 1 e < 1.5 = MS*	3233,65	74,89	1,27
> 1.5 = S*	2584,59	74,47	1,65

R: Resistente; MR: Moderadamente Resistente; MS: Moderadamente Susceptível S: Susceptível;

Foi possível inferir pela Tabela 4, que a produtividade teve uma média mais alta nos indivíduos moderadamente resistente. Entretanto, ao se comparar os resultados fenotípicos com a resistência que o detentor da cultivar informa, observou-se divergência entre genótipos que são considerados moderadamente resistentes pelo detentor e no presente estudo se apresentou como susceptível: UFVT105, UFVT45, UFVT96 com severidade de 1,81; 1,40; 1,05; respectivamente. Os indivíduos considerados como susceptíveis apresentaram valores muito baixos de severidade de brusone: 0; 0,20; 0,27; respectivamente. E os moderadamente susceptíveis apresentaram-se como moderadamente resistentes 0; 0,20; 0,23; 0,28; 0,28; 0,49; respectivamente. Destaca-se que a UFVT81, considerada moderadamente susceptível, se mostrou moderadamente resistente em campo, com o valor mais alto de produtividade 6277,78 kg.

A variação no grau de resistência observada nesse estudo, sugere que possa existir

resistência parcial nesses genótipos a ser explorada pelos programas de melhoramento, além das resistências qualitativas, tendo em vista que os prejuízos causados pela brusone podem ter muitas variáveis como: grau de resistência da cultivar em campo, época de incidência em conjunto com as condições climáticas, além da presença de diferentes das raças predominantes na região (PRABHU et al., 2003; PRABHU E FILIPPI, 2006).

4.2 Translocação 2NS/AS

Foram identificadas com presença da translocação a maioria dos acessos do presente estudo (Tabela 5).

Tabela 5 - Presença ou ausência da translocação 2NS/2AS nas cultivares e linhagens de trigo utilizadas nesse estudo.

Cultivar	2NS/AS	Cultivar	2NS/AS
UFV T1	-	UFV T18	+
UFV T2	+	UFV T19	+
UFV T3	+	UFV T23	+
UFV T4	+	UFV T24	+
UFV T5	+	UFV T25	+
UFV T6	+	UFV T26	+
UFV T8	+	UFV T32	-
UFV T9	+	UFV T38	+
UFV T10	+	UFV T45	+
UFV T11	+	UFV T52	+
UFV T12	+	UFV T68	+
UFV T13	+	UFV T81	+
UFV T14	+	UFV T85	+
UFV T15	+	UFV T88	+
UFV T16	+	UFV T89	+
UFV T17	+	UFV T96	+
UFVT105	+	UFVT100	+
UFVT106	+	UFVT103	+
UFVT108	+	UFVT102	+
UFVT110	-	UFVT119	+
UFVT112	+	UFVT120	+
UFVT116	+	UFVT121	+
UFVT111	+		

Apenas três cultivares apresentaram ausência da translocação: UFVT1, UFVT110 e a UFVT32 (Figura 4).

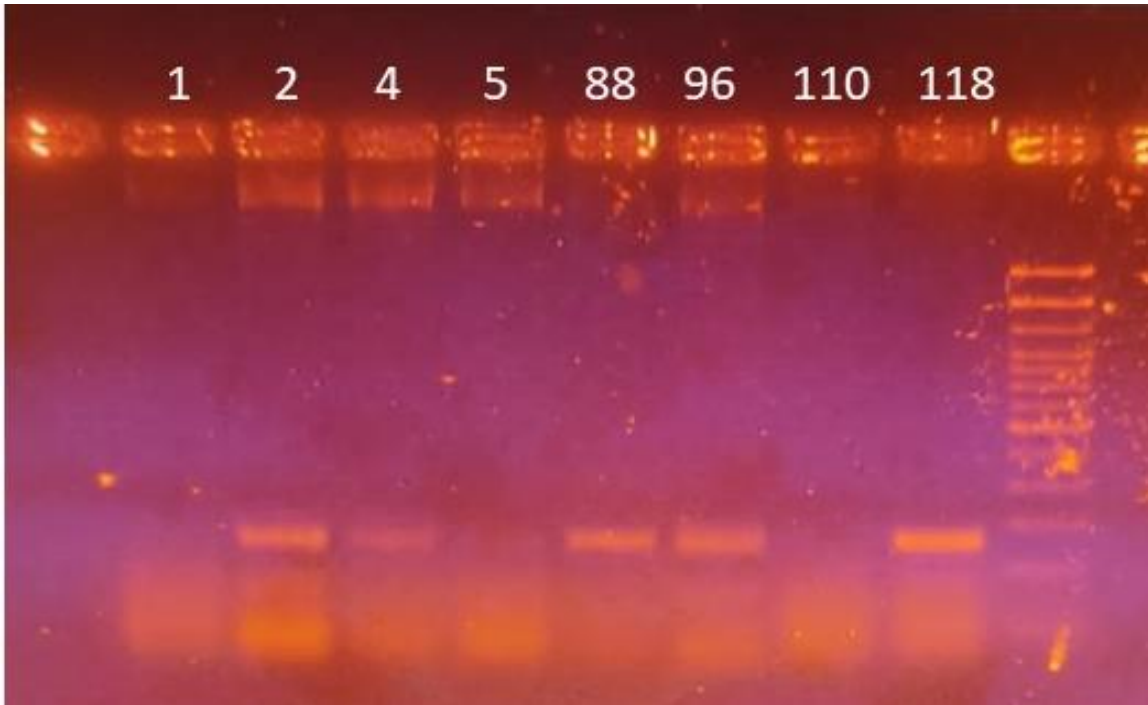


Figura 4 - Produto de amplificação com os iniciadores VENTRIUP e LN2, em 8 cultivares de trigo. As cultivar BR18 (UFVT100) foi empregada como controle negativo da presença da translocação 2NS/2AS. 100pb marcador de peso molecular. A seta branca indica produto de amplificação específico 2NS com tamanho de 259 pares de bases (pb) (Fonte: CAVALCANTE, 2022).

Foi realizada uma análise com comparação do peso Hectolitro, produtividade e severidade em campo em relação a presença e ausência da translocação (Figura 5).

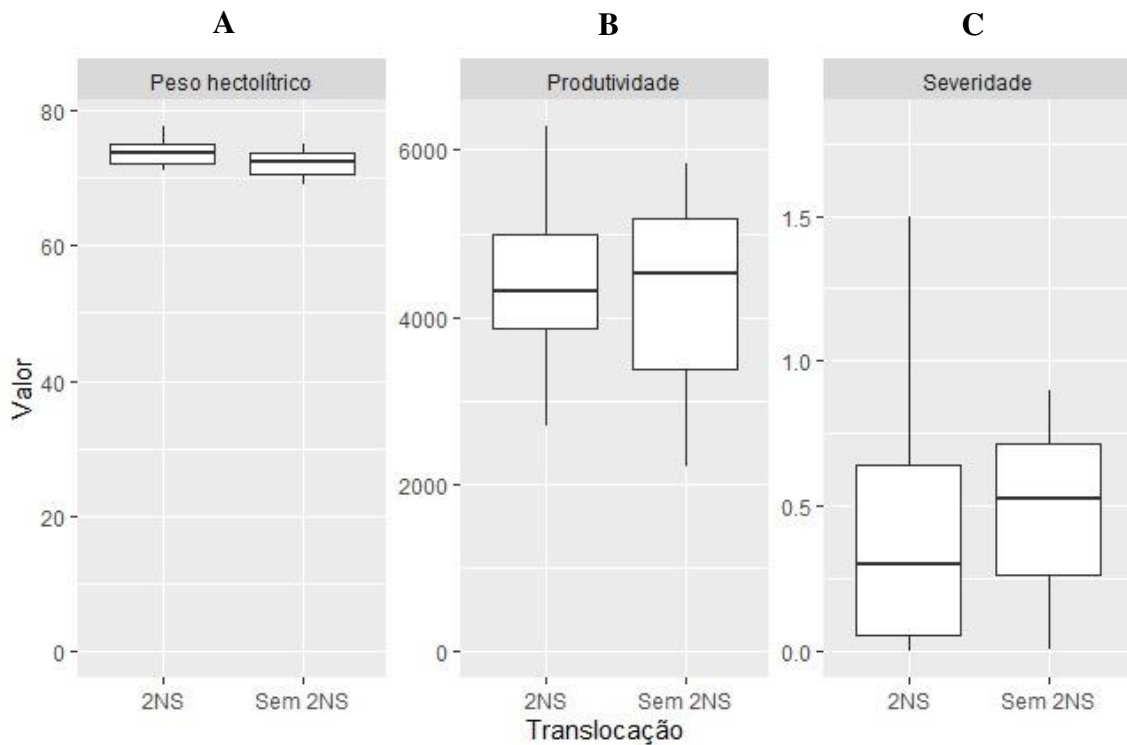


Figura 5 - Avaliação do peso hectolitro (A) produtividade (B) e índice de severidade (C) em genótipos com e sem a presença da translocação 2NS/AS.

Em relação ao peso hectolitro, a média dos indivíduos com translocação foi maior, entretanto para as outras duas variáveis, a produtividade e severidade, as médias com a translocação foram menores. Cabe ressaltar que a quantidade de indivíduos sem translocação, foi muito menor em relação aos que possuem translocação, e isso pode influenciar na análise (Figura 9A e B).

Ao se verificar como a translocação se comporta em relação ao PH, identificou que UFVT96, UFVT24, UFVT38, UFVT89 e UFVT2 apresentaram as maiores médias variando de 76 e 77 kg, e os indivíduos identificados sem a translocação apresentaram valores de 68 a 74 kg.

A maior média da produtividade com presença de translocação foram encontradas nos genótipos UFV24 e UFVT81, com os valores de 5948 e 6277 kg respectivamente, e se apresentaram como moderadamente resistente em campo. Os genótipos com translocação que apresentaram as menores médias de produtividade foram UFVT85 e UFVT102 com 2708 e

1323 kg, respectivamente, esses genótipos se comportam como susceptíveis a brusone no campo em nosso experimento.

Em relação a severidade da doença (C), alguns genótipos sem translocação se apresentaram moderadamente resistente a brusone no campo no presente estudo a UFVT110 (BR-18 Terena), é um genótipo muito utilizado nos programas de melhoramento e se comportou como moderadamente resistente no presente estudo com a produtividade média de 5833 kg. Segundo Silva et al. (2019) essa cultivar obteve maior ativação de mecanismos de resistência após a infecção com MoT em comparação com a cultivar suscetível BRS Guaramirim como produção de enzimas de defesa como fenilalanina amônia-liase (PAL) e polifenoloxidase (PPO) nas folhas bandeira e também a produção enzima que protege as células do excesso de ROS, produzidos pela planta após infecção por patógenos. Segundo Godard et al. (2019), a resistência de BR-18 Terena provavelmente é quantitativa, o que poderia explicar a sua característica de resistência em vários ambientes e com diferentes isolados de MoT, pois é uma resistência mais durável do que a mediada por genes R.

A UFVT32, é um acesso a brusone e não apresenta a translocação e no presente estudo, apresentou com baixa produtividade e moderadamente resistente a brusone. E a UFVT1, apresentou-se como resistente em experimento em campo com produtividade média de 4532.11 kg e também não apresenta a translocação.

Os genótipos com translocação que apresentaram no presente estudo como resistente a brusone em campo com severidade no nível 0, foram: UFVT25, UFVT17, UFVT119, UFVT15, UFVT12, UFVT23, UFVT5 e UFVT8, pertencentes a BIOTRIGO e OR SEMENTES com produtividade variando de 3417 a 5236 kg. E o PH com valores de 71 a 75 kg.

Diversos acessos com a presença da translocação têm sido usados nos programas de melhoramento de trigo como uma valiosa fonte de resistência, todavia a durabilidade dessa fonte de resistência não é clara, principalmente com o possível surgimento de isolados mais agressivos de *M. oryzae*. Cruz et al. (2016) em seu trabalho observou que nem todos os genótipos com a translocação 2NS/2AS apresentaram diminuição de severidade de brusone na espiga, sugerindo que o *background* genético e o ambiente influenciam na expressão da resistência da translocação. A forte interação do isolado-cultivar podem influenciar a doença com isso não se recomenda apenas o uso de genótipos com a translocação para resistência à brusone do trigo (CRUZ e VALENT, 2017).

O presente trabalho demonstra que o painel de genótipos do Programa Trigo apresenta fontes de resistência a *M. oryzae*, com a translocação 2NS/2AS, entretanto é necessário a ampliação de fontes de resistência, tendo em vista que houve uma variação severidade de

brusone e produtividade com as diferentes cultivares com e sem presença da translocação.

4.3 Qualidade das ampliações e caracterização genética

Todos os SSRs testados foram polimórficos. O número de alelos por loco variou de 2 (BARC130) a 6 alelos (BARC61) e um total de 26 alelos foram encontrados, o que resultou em uma média alélica de 4,3 alelos por loco (Tabela 6).

Tabela 6 - Número de alelos presentes nos marcadores microssatélites utilizados e Conteúdo de Informação de Polimorfismo (PIC).

Primer	Alelos	PIC
BARC212	3	0,33
WMC317	4	0,47
BARC159	5	0,35
CFD50	5	0,37
BARC61	6	0,29
BARC130	2	0,35
Média	4,3	0,36

Os valores de conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) variaram de 0,29 (BARC61) a 0,47 (WMC317) com média de 0,36 (Tabela 6). Os valores de PIC encontrados no presente estudo são considerados alto, segundo Preczenhak (2013), os valores de PIC demonstram a eficiência do marcador na detecção da variabilidade entre os indivíduos e, quanto maior essa capacidade, maior o valor de PIC.

O padrão de amplificação do primer 61 nas cultivares ilustra a qualidade das bandas obtidas, na figura 6.

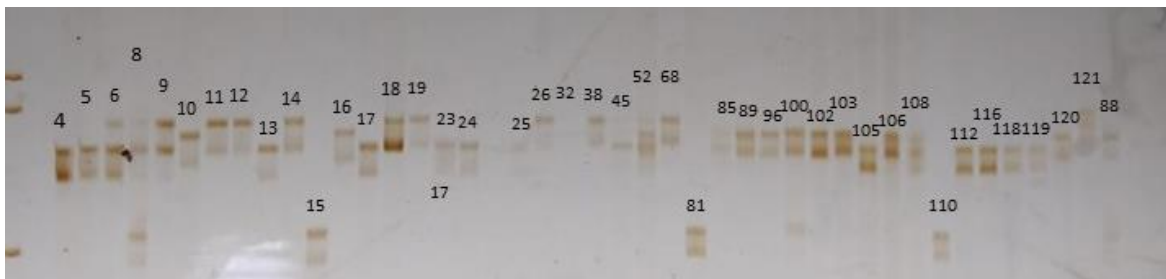


Figura 6 - Padrão de amplificação do BARC61 no painel de genótipos presentes no Programa Trigo (Fonte: CAVALCANTE, 2022).

Phougat et al. (2018), utilizou 100 pares de primers de microssatélites localizados nos cromossomos A, B, D, em 44 genótipos (cultivares e linhagens) e foram encontrados um total de 181 alelos com variação de 1 a 5, com média de 2,58 alelo por locus. E no trabalho de Drikvand et al. (2015) foram avaliados quarenta genótipos de *Triticum durum* e *T. aestivum* utilizando 37 marcadores microssatélites e foram identificados um conjunto de 71 alelos variando de 2 a 4 alelo por loco, com média de 2,36. A média de 4,3 alelos por loco encontrada no presente estudo foi superior ao que é descrito na literatura. Tsoneva et al. (2021) com 117 variedades da Bulgária e vários países da Europa Ocidental, Central e Oriental encontrou 179 alelos com 22 marcadores microssatélites, com média de 8,14 alelos por locus. É possível observar uma média alélica mais alta, entretanto, os autores utilizaram genótipos provenientes de várias localidades, o que pode explicar o resultado obtido de alta diversidade alélica.

Os seis marcadores foram suficientes e informativos para discriminar os acessos do presente no Programa Trigo, apresentando grande diversidade alélica, mesmo quando comparada a estudos com presença de duas espécies de *Triticum* ou que utilizaram muitos marcadores SSRs.

4.4 Estrutura populacional

Devido os marcadores serem altamente informativos, foram utilizados os seis marcadores microsatélite para compreender a estrutura genética por meio do software STRUCTURE. Com isso, pode-se definir que a população está dividida em dois grupos com o $K = 2$ ou em três grupos com o $K = 3$ (Figura 7 e 8).

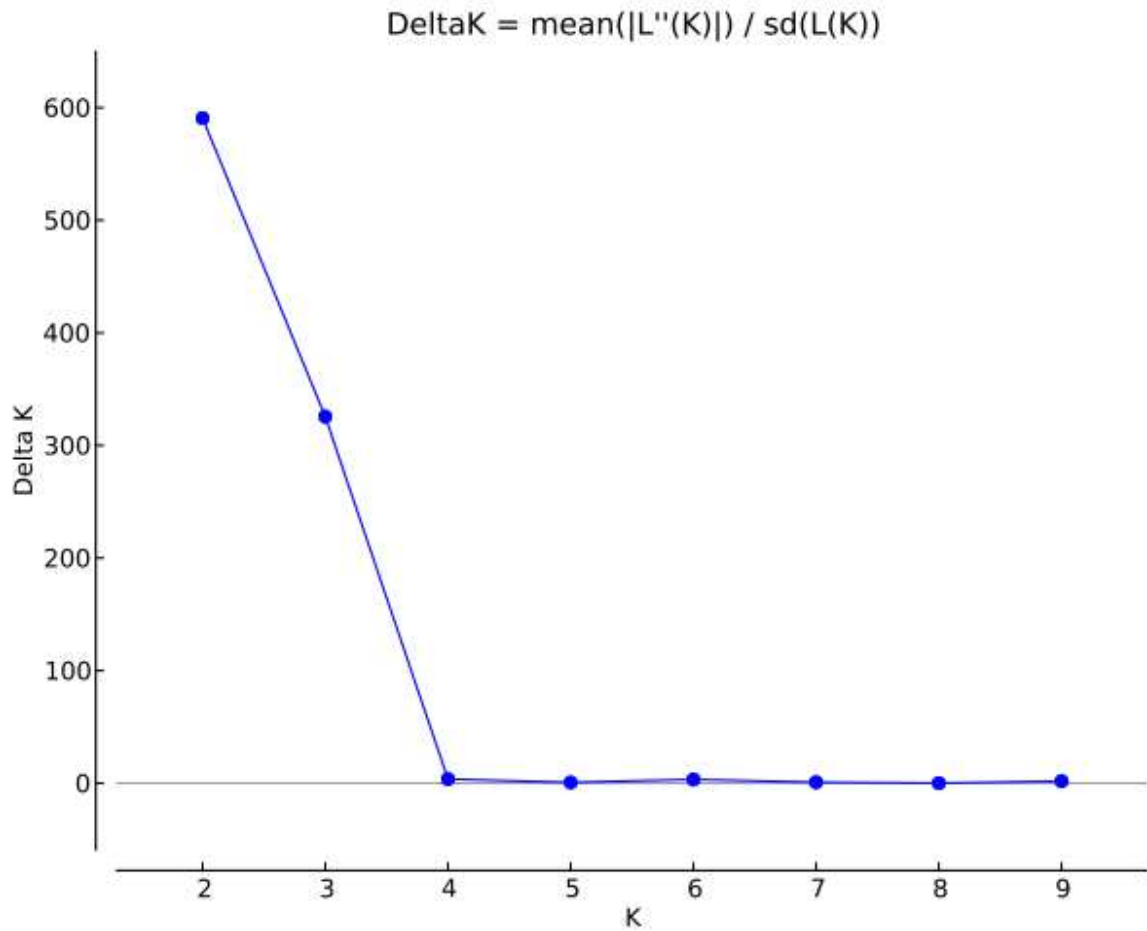


Figura 7 - Estimativa das probabilidades de K, a partir do método de Evanno et al. 2005.

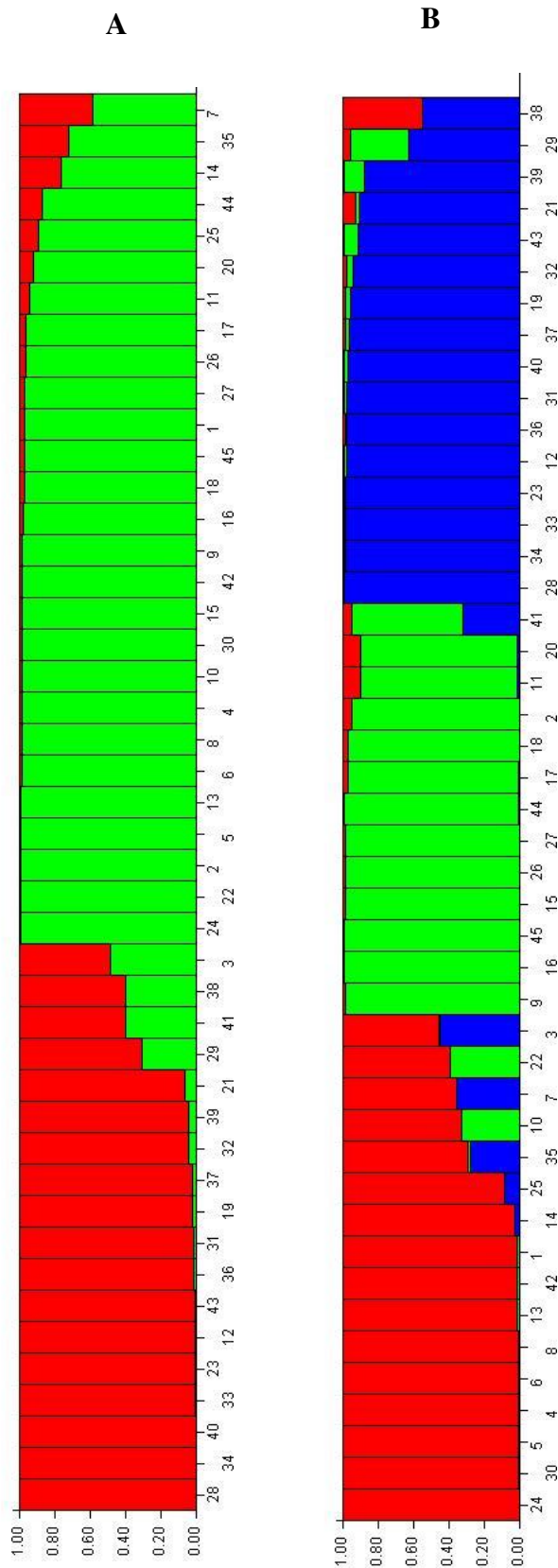


Figura 8 - Barplots ilustrando a estrutura da diversidade genética dos 45 acessos de trigo através do programa STRUCTURE, baseada no modelo bayesiano, para determinar a estrutura populacional. $K = 2$ (A) e com $K = 3$ (B).

Na análise do STRUCTURE, obteve-se a estruturação da população em dois grupos distintos ($K = 2$) (Figura 6A), o pool gênico representado pela cor vermelha agrupou-se quatro acessos com suscetibilidade a brusone, entretanto o indivíduo: UFVT81 apresentou em ensaios de campo a maior produtividade: 6277 kg, com severidade moderadamente resistente e peso hectolitro de 71 kg (Tabela 1). É possível inferir que apesar de alguns indivíduos serem considerados susceptíveis pelo detentor da cultivar, nota-se que a incidência de brusone em campo pode ser variável de acordo com o ambiente (PRABHU et al., 2003; PRABHU E FILIPPI, 2006). Nesse pool gênico também observou-se o agrupamento de três genótipos, considerados moderadamente resistentes pelo obtentor UFVT25, UFVT119, UFVT110, com as maiores médias de produtividade em campo: 5113,58; 5236; 5833,33 kg, respectivamente. E no experimento de severidade em campo também apresentaram-se como moderadamente resistente. O pool gênico verde agrupou 12 indivíduos susceptíveis ou moderadamente susceptíveis a MoT. Distinguiu-se nesse pool gênico, quatro acessos com potencial para futuros cruzamentos com alta produtividade e baixa severidade, sendo eles: UFVT2, UFVT18, UFVT19, UFVT120.

A análise do STRUCTURE em $K = 3$, foi motivada pelo segundo pico no gráfico de Evanno. Em $K = 3$, é possível identificar a presença de oito genótipos susceptíveis no pool gênico vermelho e quatro genótipos susceptíveis em cada pool gênico verde e azul. Identificou-se perfis genéticos que podem ser considerados intermediários: UFVT102, UFVT45, UFVT11, UFVT8, UFVT3, UFVT26, UFVT108, UFVT116 e UFVT 85. Foi observado que os genótipos UFVT108, UFVT102, UFVT45 apresentam-se como os indivíduos mais antigos presentes no estudo e todos são oriundos da EMBRAPA.

Ao comparar a análise de STRUCTURE, com a estruturação da população em dois grandes grupos e os grupos formados no método baseado em análise de componentes principais (PCA), demonstrou-se uma grande concordância para a estruturação em dois grupos distintos, considerando $K = 2$, mais representante da estruturação da população (Figura 9).

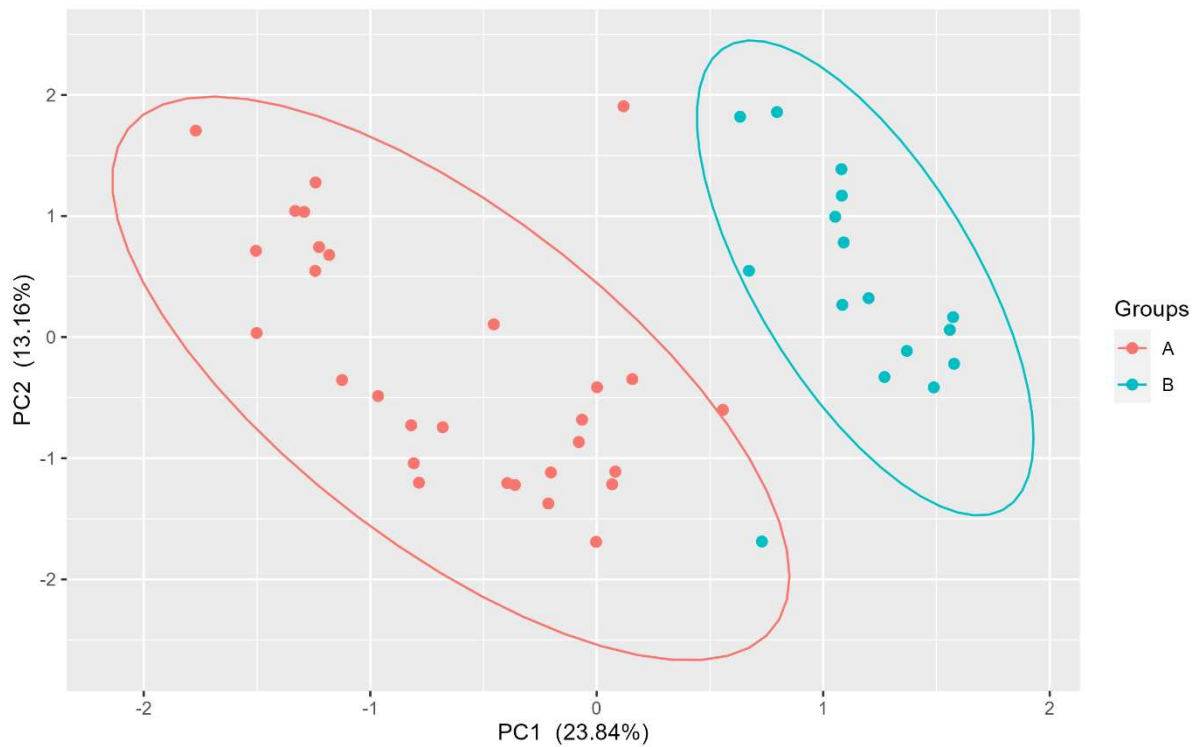


Figura 9 - Análise de componentes principais (PCA) de 45 acessos de trigo provenientes do Programa Trigo.

Os dados obtidos sugerem uma estruturação da população em dois grupos, apoiado pelas duas análises realizadas, com isso é importante a investigação da estruturação genética de uma população para o uso efetivo da diversidade genética e ampliar a base genética de variedades modernas pela seleção de genótipos com características desejáveis em futuros programas de melhoramento.

4.5 Diversidade genética

Uma matriz de dissimilaridade genética foi construída a partir dos marcadores SSRs e o marcador dominante VENTRIUP/ LN2 utilizando o coeficiente de Jaccard (Figura 10).

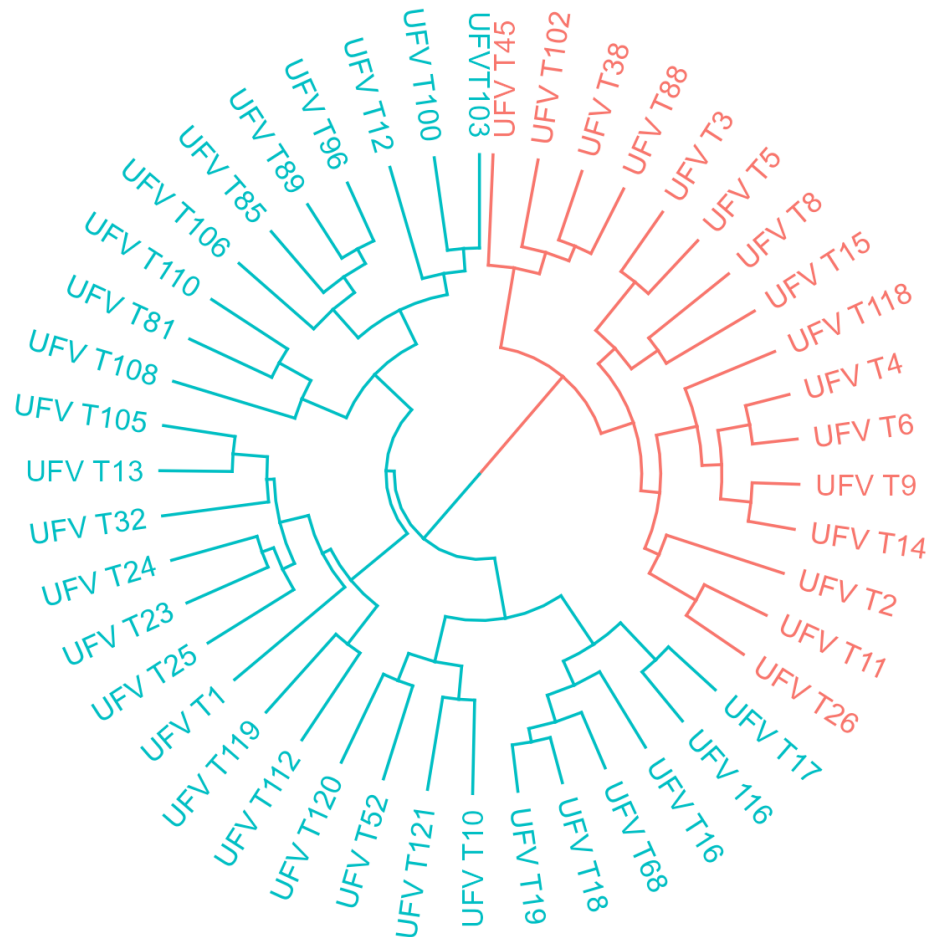


Figura 10 - Agrupamento hierárquico baseado no método Ward.D2 mostrando as relações genéticas entre os acessos de trigo baseado na matriz de distância a partir do método de Jaccard para marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares permitiram a discriminação dos acessos em dois grupos principais com subdivisões semelhante ao encontrado no STRUCTURE.

Os indivíduos com maior potencial agrônômico, com maior produtividade e resistente e/ou moderadamente resistente foram: UFVT88, UFVT3, UFVT15, UFVT118, UFVT14, UFVT2 que se agruparam no cluster vermelho, a produtividade variou de 4035 a 5722 kg e severidade a brusone variou de: Resistente (UFVT15) a Moderadamente resistente (UFVT14). No cluster azul, os acessos com alta produtividade e resistentes a brusone foram: UFVT1, UFVT12, UFVT25, UFVT119. E os moderadamente resistentes: UFVT103, UFVT89, UFVT106, UFVT110, UFVT120, UFVT121, UFVT16, UFVT18, UFVT19. Alguns acessos considerados susceptíveis ou moderadamente susceptíveis se agruparam em pares como: UFVT13, UFVT32, UFVT24, UFVT23 no cluster azul, e os acessos UFVT11 e UFVT26, UFVT4 e UFVT6 no cluster vermelho. Vale ressaltar, que os genótipos considerados susceptíveis e moderadamente susceptíveis, em campo no presente estudo se apresentaram como resistente, com exceção de um genótipo.

O coeficiente de dissimilaridade variou de 0,27 a 1 com média de 0,77. O menor valor encontrado foi observado entre os genótipos: UFVT4 e UFVT6 e UFVT14 e UFVT9. O maior valor foi observado entre os genótipos UFV10 e UFVT32. A cultivar UFVT32 é a BRS 264, muito utilizada na região do Cerrado, destaca-se pelo seu elevado potencial de produção, precocidade com um ciclo médio de 50 dias da emergência ao espigamento e 110 dias da emergência à maturação. Entretanto, é suscetível à brusone (ALBRECHT et al., 2006). Similar a UFVT32, a UFVT105, apresenta-se como moderadamente resistente, que pode ser escolhida pelo melhorista para seus cruzamentos potenciais.

A UFVT10 apresenta moderadamente susceptível a brusone de acordo com o obtentor, no presente estudo em campo, ela se apresentou como moderadamente resistente com alta produtividade. Próxima a essa cultivar o acesso UFVT121 (ORS Absoluto), é altamente resistente a brusone e obteve altos níveis de produtividade no presente estudo, esse acesso poderá ser utilizado para futuros cruzamentos visando resistência a MoT com alta produtividade. O segundo maior valor de 0.97, foi identificado nos indivíduos UFVT1, UFVT5 e nos genótipos UFVT110 e UFVT 38.

Os genótipos de trigo se agruparam em diferentes clusters, demonstrando alta diversidade genética e isso tem grande relevância para os futuros passos do Programa Trigo devido com a possibilidade de cruzamentos com indivíduos divergentes possibilitando um maior efeito complementariedade alélica.

A associação de dados fenotípicos e genotípicos permitem selecionar genótipos

potenciais para incorporar no programa trigo visando resistência a MoT. Na tabela 7, foi possível ranquear e distinguir possíveis genótipos potenciais para futuros cruzamentos e recombinações visando a resistência a MoT.

Tabela 7 - Ranqueamento de genótipos potenciais para cruzamentos visando resistência brusone sem diminuição de produtividade.

Rank	Código	Reação Brusone*	Severidade	PH	Produtividade	2NS
1 ^a	UFV T2	MR	0,50	76,11	5722,22	+
2 ^a	UFV T13	S/MS	0,20	75,24	5888,89	+
3 ^a	UFV T25	MR	0,00	75,04	5113,58	+
4 ^a	UFV T24	-	0,80	76,86	5948,78	+
5 ^a	UFV T11	S/MS	0,27	74,66	4437,50	+
6 ^a	UFV T38	S	0,49	76,72	4826,39	+
7 ^a	UFV T4	MS	0,28	74,03	4365,00	+
8 ^a	UFV T18	MR	0,70	75,00	5118,06	+
9 ^a	UFV T12	MR/R	0,00	72,87	4131,95	+

* Nível de resistência demonstrado pelo detentor das cultivares.

Com base nessas informações do presente estudo, o Programa Trigo UFV poderá utilizar esses genótipos para futuros cruzamentos com alta produtividade e baixa severidade posicionados em diferentes clusters presentes no Programa Trigo UFV, possibilitando um maior efeito de complementariedade alélica visando uma resistência a MoT.

5. CONCLUSÃO

Há variabilidade genética no painel de genótipos do Programa Trigo, para que se possa selecionar genitores potenciais e divergentes para fins de uso para a resistência a MoT.

Diante da avaliação que a maioria dos genótipos utilizados no presente estudo possuem a translocação 2NS/AS é necessário explorar novas fontes de resistência, devido a incidência de brusone em campo.

É necessário aumentar as pesquisas em busca de novos genes *Rmg*, e também ampliar os conhecimentos sobre os genes *Rmg8* e *RmgG119* para se implementar nos programas de melhoramento de trigo.

Os indivíduos UFVT23, UFVT5 se comportaram como resistentes e UFVT13, UFVT11, UFVT26, UFVT10, UFVT81, UFVT4, UFVT38, apresentaram-se como moderadamente resistente em condições de campo sugerindo a existência de genes de resistência que podem colaborar para evitar a brusone no campo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria do Trigo. **Farinha de trigo**. Copyrights, 2020. Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br>>. Acesso em: 04 jan. 2022
- ABUZAYED, M.; EL-DABBA, N.; FRARY, A.; DOGANLAR, S. GDdom: an online tool for calculation of dominant marker gene diversity. **Biochemical genetics**, 55(2), 155-157, 2017.
- ALBRECHT, J. C.; SÓ E SILVA, M.; DE ANDRADE, J. M. V.; SCHEEREN, P. L.; Trigo BRS 264: cultivar precoce com alto rendimento de grãos indicada para o cerrado do Brasil Central. **Embrapa Cerrados-Documents (INFOTECA-E)**, Planaltina: Embrapa Cerrados, 1 ed. 21p, 2006.
- ANH, V. L.; ANH, N. T.; TAGLE, A. G.; VY, T. T. P.; INOUE, Y.; TAKUMI, S.; CHUMA, I.; TOSA, Y. *Rmg8*, a new gene for resistance to *Triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* in hexaploid wheat. **Phytopathology**, v. 105, n. 12, p. 1568–1572, 2015.
- ANJOS, J. R. dos N.; DA SILVA, D. B.; CHARCHAR, M. J. D.; RODRIGUES, G. C. Ocorrência de brusone (*Pyricularia grisea*) em trigo e centeio na região dos cerrados do Brasil Central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 79–82, 1996.
- BERTAN, I.; CARVALHO, F. I. F. D.; OLIVEIRA, A. C. D.; DA SILVA, J. A.; BENIN, G.; VIEIRA, E. A.; TACIANE, F. Dissimilaridade genética entre genótipos de trigo avaliados em cultivo hidropônico sob estresse por alumínio. **Bragantia**, v. 65, p. 55-63, 2006.
- CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BOREM, A.; CAIXETA, E. T. (Ed.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: Editora Folha de Viçosa, 2009. p. 11-94
- CASTRO, D. G.; FERNANDES, M. C. N.; FÉLIX, M. R.; CAZASSA, R. S.; TOMÉ, L. M.; BOTELHO, F. B. S. Estimativas de associação entre caracteres agronômicos na seleção de genótipos de arroz de terras altas. **MAGISTRA**, v. 30, p. 359-367, 2020.
- CHAGAS, J., FRONZA, V., SOARES SOBRINHO, J., SUSSEL, A., ALBRECHT, J. Tecnologia de produção de trigo sequeiro no Cerrado do Brasil Central. Embrapa Trigo-Documents (INFOTECA-E), 2021.
- CORRÊA, P.C.; RIBEIRO, D.M.; RESENDE, O.; BOTELHO, F.M. Determinação e modelagem das propriedades físicas e da contração volumétrica do trigo, durante a secagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.10, p.665-670, 2006.
- COUCH, B. C.; FUDAL, I.; LEBRUN, M.-H.; THARREAU, D.; VALENT, B.; VAN COUCH, B. C.; KOHN, L. M. A multilocus gene genealogy concordant with host preference indicates segregation of a new species, *Magnaporthe oryzae*, from *M. grisea*. **Mycologia**, v. 94, n. 4, p. 683–693, 2002
- COUCH, B. C.; FUDAL, I.; LEBRUN, M.-H.; THARREAU, D.; VALENT, B.; VAN KIM, P.; NOTTÉGHEN, J.-L.; KOHN, L. M. Origins of host-specific populations of the Blast Pathogen *Magnaporthe oryzae* in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice. **Genetics**, v. 170, n. 2, p. 613–630, 2005.

CRUPPE, G.; CRUZ, C. D.; PETERSON, G.; PEDLEY, K.; ASIF, M.; FRITZ, A.; VALENT, B. Novel sources of wheat head blast resistance in modern breeding lines and wheat wild relatives. **Plant disease**, v. 104, n. 1, p. 35-43, 2020.

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

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa, UFV: Editora UFV. v. 1, cap. 9, pp. 392-451, 2012.

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

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

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N.; SCHEEREN, P. L. Resistência parcial à brusone de genótipos de trigo comum e sintético nos estádios de planta jovem e de planta adulta. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 1, p. 24–31, 2010

CUMAGUN, C. J. R.; ANH, V. L.; VY, T. T. P.; INOUE, Y.; ASANO, H.; HYON, G.S.; CHUMA, I.; TOSA, Y. Identification of a hidden resistance gene in tetraploid wheat using laboratory strains of *Pyricularia oryzae* produced by backcrossing. **Phytopathology**, v. 104, n. 6, p. 634–640, 2014.

DRIKVAND, R. M., NAJAFIAN, G., SALAHVARZI, A. Investigation of genetic diversity of some durum and bread wheat genotypes using SSR markers. **Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)**, v. 6, n. 3, p. 24-32, 2015.

EARL, D. A., & VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, 4(2), 359-361, 2012.

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

FILIPPI, M. C.; PRABHU, A. S. Biologia e genética de *Pyricularia grisea*. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectiva**. 1. ed. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, v. 1, p. 17-82, 2006.

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

HELGUERA, M.; KHAN, I. A.; KOLMER, J.; LIJAVETZKY, D.; ZHONG-QI, L.; DUBCOVSKY, J. PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. **Crop Science**, 43(5), 1839-1847, 2003.

IGREJAS, G. E BRANLARD, G. The Importance of Wheat. In: Igrejas G., Ikeda T., Guzmán C. Wheat Quality For Improving Processing And Human Health. **Springer Nature Switzerland**, 2020

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

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

KAMVAR, Z. N.; TABIMA, J. F.; GRÜNWARD, N. J. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. **PeerJ**, v. 2, n. 281, p. e281, 2014.

KHAN, M. K.; PANDEY, A.; THOMAS, G.; AKKAYA, M. S.; KAYIS, S. A.; OZSENSOY, Y.; HAKKI, E. E. Genetic diversity and population structure of wheat in India and Turkey. **AoB Plants**, v. 7, 2015.

KOHLI, M. M.; MEHTA, Y. R.; GUZMAN, E.; VIEDMA, L. de; CUBILLA, L. E. *Pyricularia* blast-a threat to wheat cultivation. **Czech J. Genet. Plant Breed**, v. 47, p. S130-134, 2011.

LIMA, M. I. P. M. Giberela ou brusone? Orientações para a identificação correta dessas enfermidades em trigo e em cevada. **Embrapa Trigo-Documentos (INFOTECA-E)**, 2004.

MACIEL, J. L. N.; CERESINI, P. C.; CASTROAGUDIN, V. L.; ZALA, M.; KEMA, G. J.; MCDONALD, B. A. Population structure and pathotype diversity of the Wheat Blast pathogen *Magnaporthe oryzae* 25 years after its emergence in Brazil. **Phytopathology**, v. 104, n. 1, p. 95-107, 2014.

MALAKER, P. K.; BARMA, N. C. D.; TEWARI, T. P.; COLLIS, W. J.; DUVEILLER, E.; SINGH, P. K.; JOSHI, A. K.; SINGH, R. P.; BRAUN, H. J.; PETERSON, G. L.; PEDLEY, K. F.; FARMAN, M. L.; VALENT, B. First report of wheat blast caused by *Magnaporthe oryzae* pathotype *Triticum* in Bangladesh. **Plant Disease**. 100:2330. 2016

MOTTALEB, K. A.; SINGH, P. K.; HE, X.; HOSSAIN, A.; KRUSEMAN, G.; AND ERENSTEIN, O. Alternative use of wheat land to implement a potential wheat holiday as wheat blast control: In search of feasible crops in Bangladesh. **Land Use Policy**, v. 82, p. 1-12, 2019.

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Giza, v. 7, p. 40-51. 1978.

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

- PASINATO A.; CUNHA G.R.; FONTANA D.C.; MONTEIRO J.E.B.A.; NAKAI A.M, OLIVEIRA A.F. Potential area and limitations for the expansion of rainfed wheat in the Cerrado biome of Central Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 53: 779-790. 2018.
- PHOUGAT, D.; PANWAR, I. S.; PUNIA, M. S.; SETHI, S. K. Microsatellite markers based characterization in advance breeding lines and cultivars of bread wheat. **Journal of Environmental Biology**, v. 39, n. 3, p. 339-346, 2018.
- PRABHU, A. S., ARAÚJO, L. G. D., FAUSTINA, C., BERNI, R. F. Estimativa de danos causados pelo brusone na produtividade de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 1045-1051, 2003.
- PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolates of *Pyricularia oryzae* affecting rice, wheat, and grasses in Brazil. **International Journal of Pest Management**, v. 38, n. 4, p. 367-371, 1992.
- PRECZENHAK, A. P. Diversidade genética estimada por meio de marcadores moleculares e morfoagronômicos em acessos de mini-tomate. **Dissertação de mestrado**, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2013.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.
- PUTTEMANS, ARSÈNE. Alguns dados para servir à história da fitopatologia no Brasil e às primeiras notificações de doenças de vegetaes neste paiz. **Rodriguesia**, p. 17-36, 1936.
- RAMASAMY, R. K.; RAMASAMY, S.; BINDROO, B. B.; NAIK, V. G. STRUCTURE PLOT: a program for drawing elegant STRUCTURE bar plots in user friendly interface. **SpringerPlus**, 3(1), 1-3, 2014.
- RCBPTT - REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE, 11., 2020, Passo Fundo. Informações técnicas para trigo e triticale – safra 2020. Cascavel: Comissão de Pesquisa de Trigo e Triticale. 2020. 255 p.
- RÖDER, M. S.; KORZUN, V.; WENDEHAKE, K.; PLASCHKE, J.; TIXIER, M.-H.; LEROY, P.; GANAL, M. W. A microsatellite map of wheat. **Genetics**, v. 149, n. 4, p. 2007 LP-2023, 1998.
- SAGHAI-MAROOF, M. A.; SOLIMAN, K. M.; JORGENSEN, R. A.; ALLARD, R. W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 81, n. 24, p. 8014–8018, 1984.
- SALEM, K. F.; RÖDER, M. S.; BÖRNER, A. Assessing genetic diversity of Egyptian hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) using microsatellite markers. **Genetic resources and crop evolution**, v. 62, n. 3, p. 377-385, 2015.
- SANTANA, F. M.; LAU, D.; MACIEL, J. L. N.; FERNANDES, J. M. C.; COSTAMILAN, L. M. Manual de identificação de doenças de trigo. **Passo Fundo: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, 2012.
- SARDOUIE NASAB, S.; MOHAMMADI NEJAD, G.; NAKHODA, B. Assessing genetic diversity of promising wheat (*Triticum aestivum* L.) lines using microsatellite markers linked with salinity tolerance. **Journal of Plant Molecular Breeding**, v. 1, n. 2, p. 28-39, 2013.

- SILVA, E. T.; RIOS, J. A.; ARAUJO, M. U. P.; SILVEIRA, P. R.; RODRIGUES, F. A. Defence responses in flag leaves and spikes of common wheat *Triticum aestivum* cultivars with contrasting levels of basal resistance to blast caused by *Pyricularia oryzae*. **Plant Pathology**, v. 68, n. 4, p. 645-658, 2019.
- SINGH, P. K.; GAHTYARI, N. C.; ROY, C.; ROY, K. K.; HE, X.; TEMBO, B.; CHAWADE, A. Wheat blast: a disease spreading by intercontinental jumps and its management strategies. *Frontiers in Plant Science*, p. 1467, 2021.
- SOMERS, D. J.; ISAAC, P.; EDWARDS, K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, n. 6, p. 1105–1114, 2008.
- SOUSA, C. N. A.; CAIERÃO, E. **Cultivares de trigo indicadas para cultivo no Brasil Instituições criadoras 1922 a 2014**. 2. ed. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2014.
- TAGLE, A. G.; CHUMA, I.; TOSA, Y. *Rmg7*, a new gene for resistance to *triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* identified in tetraploid wheat. **Phytopathology**, v. 105, n. 4, p. 495–499, 2015.
- TAKABAYASHI, N.; TOSA, Y.; OH, H. S.; MAYAMA, S. A gene-for-gene relationship underlying the species-specific parasitism of *Avena/Triticum* isolates of *Magnaporthe grisea* on wheat cultivars. **Phytopathology**, 92(11), 1182-1188, 2002.
- TEMBO, B.; MULENGA, R. M.; SICHILIMA, S.; M'SISKA, K. K.; MWALE, M.; CHIKOTI, P. C.; BRAUN, H. J. Detection and characterization of fungus (*Magnaporthe oryzae* pathotype *Triticum*) causing wheat blast disease on rain-fed grown wheat (*Triticum aestivum* L.) in Zambia. **PLoS One**, v. 15, n. 9, p. e0238724, 2020.
- TSONEV, S.; CHRISTOV, N. K.; MIHOVA, G.; DIMITROVA, A.; TODOROVSKA, E. G. Genetic diversity and population structure of bread wheat varieties grown in Bulgaria based on microsatellite and phenotypic analyses. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 1520-1533, 2021.
- URASHIMA, A. S.; LAVORENT, N. A.; GOULART, A. C.; MEHTA, Y. R. Resistance spectra of wheat cultivars and virulence diversity of *Magnaporthe grisea* isolates in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 511-518, 2004.
- VIEIRA, E. A.; CARVALHO, F. I. F. D.; BERTAN, I.; KOPP, M. M.; ZIMMER, P. D.; BENIN, G.; OLIVEIRA, A. C. D. Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 392-399, 2007.
- VY, T. T. P.; HYON, G.S.; NGA, N. T. T.; INOUE, Y.; CHUMA, I.; TOSA, Y. Genetic analysis of host pathogen incompatibility between *Lolium* isolates of *Pyricularia oryzae* and wheat. **Journal of general plant pathology**, v. 80, n. 1, p. 59–65, 2014.
- WANG, S.; ASUKE, S.; VY, T. T. P.; INOUE, Y.; CHUMA, I.; WIN, J.; KATO, K.; TOSA, Y. A new resistance gene in combination with *Rmg8* confers strong resistance against *Triticum* isolates of *Pyricularia oryzae* in a common wheat landrace. **Phytopathology**, v. 108, n. 11, p. 1299–1306, 2018.