

**EDUARDO FILIPE TORRES VIEIRA**

**VALIDAÇÃO DE MARCADORES KASP ASSOCIADOS A  
CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE EM GENÓTIPOS BRASILEIROS  
DE TRIGO PARA SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES**

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

Coorientador: Guilherme da Silva Pereira

**VIÇOSA – MINAS GERAIS**

**2023**

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

T

V658  
2023

Vieira, Eduardo Filipe Torres, 1995-  
Validação de marcadores Kasp associados a características  
de interesse em genótipos brasileiros de trigo para seleção  
assistida por marcadores / Eduardo Filipe Torres Vieira. –  
Viçosa, MG, 2023.

1 dissertação eletrônica (42 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Maicon Nardino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Agronomia, 2023.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.074>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Trigo - Seleção. 2. Trigo - Melhoramento genético.  
3. Marcadores genéticos. 4. Polimorfismo (Genética). 5. *Triticum  
aestivum*. 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. 633.112

**EDUARDO FILIPE TORRES VIEIRA**

**VALIDAÇÃO DE MARCADORES KASP ASSOCIADOS A  
CARACTERÍSTICAS DE INTERESSE EM GENÓTIPOS  
BRASILEIROS DE TRIGO PARA SELEÇÃO ASSISTIDA POR  
MARCADORES**

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: 28 de Julho de 2023

Assentimento:

Eduardo Filipe Torres Vieira  
Eduardo Filipe Torres Vieira

Autor

Maicon Nardino  
Maicon Nardino

Orientador

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida;

À minha mãe Regiane Saraiva Torres e ao meu pai Israel Oliveira Vieira por todo amor, incentivo e investimento na minha formação;

À Ana Carolina pelo companheirismo e apoio nos momentos mais difíceis;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela estrutura e curso de excelência;

Aos amigos do Programa Trigo pela convivência, colaboração e trabalho em equipe;

Ao meu orientador, professor Dr. Maicon Nardino, pelo apoio, confiança e compartilhamento de conhecimentos;

Aos membros do Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal pelo acolhimento e parceria.

Ao professor Dr. Guilherme da Silva Pereira pela coorientação, auxílio e disponibilidade.

Ao *Excellence in Breeding* (CIMMYT) pelo financiamento dos dados moleculares.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), pela concessão das bolsas de estudos e financiamento das pesquisas - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

VIEIRA, Eduardo Filipe Torres, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2023. **Validação de marcadores KASP associados a características de interesse em genótipos brasileiros de trigo para seleção assistida por marcadores.** Orientador: Dr. Maicon Nardino. Coorientador: Dr. Guilherme da Silva Pereira.

O Brasil está expandindo suas fronteiras agrícolas da triticultura para a região do Cerrado, onde pesquisas por programas de melhoramento de instituições públicas e privadas visam a desenvolver cultivares adaptadas às condições de clima tropical. Novas tecnologias vêm auxiliando os métodos tradicionais de melhoramento como a seleção assistida por marcadores (SAM). Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) são marcadores abundantes no genoma, além de serem de fácil detecção em larga escala, por esse motivo, são muito utilizados na SAM. O ensaio KASP (*Kompetitive Allele Specific PCR*) é uma plataforma para genotipagem para detecção de SNPs. O objetivo deste estudo foi validar marcadores KASP em germoplasma com linhagens e cultivares de trigo do Programa Trigo UFV. Foram utilizados 67 cultivares comerciais de trigo brasileiras desenvolvidas por empresas públicas e privadas e 27 linhagens do Banco de Germoplasma do Programa Trigo UFV. As plantas foram semeadas em casa de vegetação e as folhas amostradas no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, no Departamento de Agronomia da UFV. Para genotipagem, foram coletados quatro discos de 6 mm de diâmetro de folhas jovens, com perfuradores, 15 dias após a semeadura na casa de vegetação. Os discos foliares foram colocados em uma placa de 96 poços. As amostras dentro da placa foram secadas em dessecador de vidro com sílica gel por 37 horas. Posteriormente, a placa foi condicionada em saco plástico contendo pacotes de 10 g com sílica gel, devidamente lacrada e empacotada de acordo com as especificações da empresa *Intertek*. Quinze marcadores selecionados da coleção de marcadores *KASP* disponíveis para *Triticum aestivum L.* na *Excellence in Breeding* (EiB) foram utilizados. Dois marcadores (snpTA00019 e snpTA00665) falharam na amplificação e três marcadores (snpTA00018, snpTA00601 e snpTA00608) foram monomórficos. Os ensaios de fenotipagem conduzidos no campo experimental Professor Diogo Alves de Melo da Universidade Federal de Viçosa. Os materiais foram fenotipados em campo para as seguintes características: altura de planta (AP), massa de 100 grãos (M100G), dias para espigamento (DPE) e produtividade (PROD). Os dados fenotípicos foram submetidos a uma análise de modelos mistos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) para obtenção dos parâmetros e valores da genotípicos (BLUP). Por fim, foi verificado se há associação entre os marcadores e as características fenotipadas utilizando o teste de Kruskal-

Wallis ( $P < 0.05$ ), teste de Mann-Whitney (*Wilcoxon rank-sum test*) e foi realizada regressão linear para avaliar o efeito dos marcadores. Os marcadores para fotoperíodo snpTA0003 e snpTA0008 tiveram associação significativa com os dados fenotípicos para dias para espigamento, produção e massa de 100 grãos. O marcador para altura snpTA0002 não apresentou associação, porém quando comparado em conjunto com o marcador para o gene Rht-B1, mostrou associação significativa, denotando a necessidade de usar estes dois marcadores juntos. As associações para tamanho de grão não foram significativas para nenhum marcador.

Palavras-chave: *Triticum aestivum* L.; *Single Nucleotide Polymorphisms*; *Kompetitive Allele Specific PCR*.

## ABSTRACT

VIEIRA, Eduardo Filipe Torres, M.Sc., Federal University of Viçosa, July 2023. **Validation of KASP markers associated with traits of interest in Brazilian wheat genotypes for marker-assisted selection.** Advisor: Dr. Maicon Nardino. Co-advisor: Dr. Guilherme da Silva Pereira.

Brazil is expanding its wheat agriculture frontiers to the Cerrado region, where research programs by public and private institutions aim to develop cultivars adapted to tropical climate conditions. New technologies are aiding traditional breeding methods, such as marker-assisted selection (MAS). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are abundant markers in the genome and easily detectable on a large scale, making them widely used in MAS. The Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) assay is a genotyping platform for SNP detection. The goal of this study was to validate KASP markers in germplasm with Brazilian wheat lines and cultivars from the UFV Wheat Program. We used sixty-seven commercial Brazilian wheat cultivars developed by public and private companies, along with 27 lines from the UFV Wheat Germplasm Bank. The plants were sown in a greenhouse, and leaf samples were collected at the Laboratory of Biotechnology and Plant Breeding in the Department of Agronomy at UFV. For genotyping, four 6 mm diameter leaf discs were collected using punches, 15 days after sowing in the greenhouse. The leaf discs were placed in a 96-well plate and dried in a desiccator with silica gel for 37 hours. Subsequently, the plate was placed in a plastic bag containing 10 g packets of silica gel, properly sealed, and packaged according to the specifications of the Intertek company. Fifteen selected markers from the KASP marker collection available for *Triticum aestivum* L. at Excellence in Breeding (EiB) were used. Two markers (snpTA00019 and snpTA00665) failed in amplification, and three markers (snpTA00018, snpTA00601, and snpTA00608) were monomorphic. Phenotyping assays were conducted at the Professor Diogo Alves de Melo Experimental Field at the Federal University of Viçosa. The materials were phenotyped in the field for the following traits: plant height (PH), 100-grain weight (100GW), days to heading (DH), and yield (YLD). The phenotypic data were subjected to a mixed model analysis using the restricted maximum likelihood (REML) method to obtain the genotypic parameters and best linear unbiased predictions (BLUP) values. Finally, the association between markers and phenotypic traits was tested using Kruskal-Wallis test ( $P < 0.05$ ), Mann-Whitney test (Wilcoxon rank-sum test), and linear regression was performed to evaluate marker effects. The markers for photoperiod (snpTA0003 and snpTA0008) showed significant associations with phenotypic data for days to heading, yield, and 100-grain weight. The height marker (snpTA0002) did not show any significant association, but when compared together with the Rht-B1 gene marker, a significant association was observed, indicating the need to use these two markers together. Associations with grain size were not significant for any marker.

**Key-Words:** *Triticum aestivum* L.; *Single Nucleotide Polymorphisms*; *Kompetitive Allele Specific PCR*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema representando o funcionamento do KASP.....	16
Figura 2 – Gráficos com médias previstas dos valores BLUP para os 94 genótipos.....	22
Figura 3 – Correlação entre valores genotípicos das características. AP: altura de planta; M100: massa de 100 grãos; DPE: dias para espigamento; PROD: produção.....	23
Figura 4 – Dispersão, distribuição e correlação dos dados para as variáveis selecionadas.....	23
Figura 5 – Gráficos de cultivares de trigo genotipadas com 15 marcadores KASP. Eixo X: FAM, eixo y: HEX.....	24
Figura 6 – Frequências alélicas dos genótipos de trigo para os marcadores utilizados.....	25
Figura 7 – <i>Boxplots</i> da segregação dos haplótipos Rht-D1 e Rht-B1 para Altura, Massa de 10 grãos, Dias para Espigamento e Produção. D: Anão; T: Alto.....	29
Figura 8 - <i>Boxplot</i> da segregação do marcador para o gene Rht-D1 para Altura.....	30
Figura 9 – <i>Boxplots</i> com segregação dos cinco marcadores para fotoperíodo. snpTA00003: Ppd-A1, snpTA00008: Ppd-D1, snpTA00017: FT3-D1, snpTA00020:FT3-B1 e snpTA00425:TaTOE1.....	31
Figura 10 - <i>Boxplot</i> da segregação do marcador para o gene Ppd-D1 para DPE, M100, PROD e AP.....	32
Figura 11 - <i>Boxplots</i> da segregação do marcador para o gene Ppd-A1 (snp0003) para Dias para espigamento (DPE), Massa de 100 grãos (M100) e Produção (PROD).....	33

Figura 12 – <i>Boxplots</i> da segregação dos quatro marcadores para grãos.....	34
---	----

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	10
2. OBJETIVOS.....	12
2.1 Objetivo Geral .....	12
2.2 Objetivos Específicos .....	12
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	13
3.1 Trigo: origem e importância socioeconômica .....	13
3.2 Marcadores Moleculares e SNPs ( <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> ).....	14
3.3 <i>Kompetitive Allele Specific PCR</i> (KASP) .....	14
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	16
4.1. Material Vegetal.....	16
4.2. Fenotipagem .....	18
4.3. Genotipagem.....	18
4.4. Análises estatísticas .....	20
4.4.1. Análise de dados fenotípicos .....	20
4.4.2. Análise de dados genotípicos.....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
5.1 Análises Fenotípicas .....	20
5.2 Análises Genotípicas .....	23
5.1. Associações e efeito dos marcadores nas características.....	27
5.1.1. Altura .....	27
5.1.2. Fotoperíodo.....	30
5.1.3 Tamanho de Grão.....	32
6. CONCLUSÃO .....	33
7. REFERÊNCIAS .....	34
APÊNDICES .....	389

## 1. INTRODUÇÃO

O cenário global atual, marcado pelo aumento da população e crescente demanda por alimentos, tem despertado sérias preocupações em relação à produção agrícola mundial. De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), estima-se que será necessário um aumento de 70% na produção de alimentos para suprir uma população projetada em 9,7 bilhões de pessoas para 2050 e 10,8 bilhões em 2100 (Al-Khayri et al, 2019; FAO, 2018).

Dentre as mais importantes fontes de calorias para a população mundial, destaca-se o trigo. Este cereal é a principal fonte de carboidrato de um terço da população mundial, o que representa mais de dois bilhões de pessoas. *Triticum aestivum* L. é a espécie de trigo mais comum e mais amplamente cultivada de todas as culturas, incluindo outros cereais (Dayani et al. 2019; Mourad et al., 2019).

No entanto, vários fatores ameaçam a produção e o abastecimento regular global do trigo. As previsões atuais de mudanças climáticas sugerem que a agricultura irá encarar mudanças climáticas mais extremas, incluindo seca, calor, solos salinos e alcalinos (Fernie e Yan, 2019). E, além dos fatores climáticos, fatores geopolíticos, como a guerra entre Rússia e Ucrânia - dois grandes produtores de trigo no mundo - reduziram as exportações deste cereal nos últimos anos, ameaçando a segurança alimentar de várias nações (FAO, 2021).

Para a safra de 2022/2023, a produção global de trigo é estimada em 789 milhões de toneladas (USDA, 2023). O Brasil é o 14º maior produtor mundial, com estimativa de produção em 9,55 milhões na safra 2023/2024. Na safra anterior, o país registrou recorde histórico de 10,5 milhões de toneladas e nos últimos cinco anos apresentou um crescimento de 76%. Apesar dessa crescente, o Brasil ainda busca a autossuficiência e, para suprir o consumo interno de 12 milhões de toneladas, precisou importar 5,4 milhões de toneladas em 2022/2023 (CONAB, 2023).

Para sair da condição de país importador para país autossuficiente e, futuramente, exportador de trigo, o Brasil vem expandindo suas fronteiras agrícolas. Apesar da triticultura nacional estar concentrada nos estados da região Sul, a região do Brasil Central tem se mostrado de grande potencial, devido à localização geográfica, clima, extensão e

topografia (Albrecht et al, 2007; Chagas et. al., 2021; CONAB, 2023). Esta região do país detém o recorde mundial de produtividade com trigo irrigado, com 9.630 kg/ha em Cristalina, Goiás (Caldas, 2021). Essas novas fronteiras, com novos ambientes, têm sido alvo de pesquisas por programas de melhoramento de instituições públicas e privadas para o desenvolvimento de cultivares adaptadas às condições de clima tropical, visando maiores produtividades, ciclo precoce, maior qualidade tecnológica e maior resistência a doenças (Albrecht et al., 2020; Chagas et al., 2020; Chagas et al., 2021).

O melhoramento do trigo tem sido tradicionalmente realizado por meio do cruzamento artificial de linhagens parentais adequadas, seguido da seleção das melhores combinações genéticas (Maccaferri et al., 2022). Esta seleção pode ser realizada por meio da seleção visual das melhores plantas, porém apesar de ser menos onerosa, dependendo da característica, pode ser bem menos eficiente (Rutkoski, 2022). Novas tecnologias e abordagens vêm auxiliando os métodos tradicionais de melhoramento, aumentando a acurácia e ganhos genéticos, como a seleção assistida por marcadores.

Nos últimos anos, a seleção assistida por marcadores (SAM) tem expandido a variedade de características avaliadas nas gerações iniciais e tem sido utilizada para reduzir populações (Trethowan, 2022). A SAM é baseada na premissa de que a seleção feita por marcadores moleculares pode ser mais eficiente que a seleção baseada no fenótipo (Rutkoski et al., 2022). Segundo Collard e Mackill (2008), a SAM é feita em três etapas: (1) identificação de marcadores ligados a genes afetando características de interesse, (2) validação dos marcadores no germoplasma no qual a SAM foi aplicada, e (3) seleção de rotina dos marcadores validados durante o processo de melhoramento.

Dentre os marcadores para este tipo de seleção está o *single nucleotide polymorphism* (SNP) ou polimorfismo de nucleotídeo único. Os SNPs têm sido amplamente utilizados como marcadores na seleção assistida por marcadores nos últimos anos, devido à sua abundância nos genomas e à facilidade de detecção em alta escala (Tan et al., 2017). Diversos estudos já identificaram SNPs associados a características de interesse, como peso e tamanho de grão, ciclo, altura, resistência a doenças, qualidade tecnológica, dentre outras (Maccaferri et al., 2022). Entre as diferentes plataformas de detecção de SNPs, o ensaio Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) é uma utilizado para genotipagem com poucos marcadores em muitas amostras (Tan et al., 2017). O KASP possui alto rendimento, baixo custo, alta especificidade e alta sensibilidade, quando comparados com outras técnicas de marcadores moleculares e são aplicados na seleção assistida por marcadores de várias culturas, incluindo o trigo (Grewal et al, 2022).

Nos últimos anos, vários marcadores KASP foram desenvolvidos para o trigo. Rasheed et al. (2016) realizaram 70 ensaios KASP obtidos de bancos de dados de trigo. Trinta e cinco desses marcadores KASP foram validados para várias características agronômicas e de qualidade tecnológica em um painel com 300 cultivares da China e 13 outros países, como Austrália, Japão, Rússia, Itália e Estados Unidos, porém nenhuma cultivar brasileira. Germoplasmas de trigo de diferentes backgrounds genéticos ainda não foram bem estudados e são oportunidades para implantar alelos favoráveis usando marcadores moleculares nos programas de melhoramento (Khalid et al., 2019).

Mellers et al. (2020) genotiparam 349 acessos de trigo relevantes para os programas de melhoramento no Brasil com 26 marcadores funcionais KASP para identificar as combinações alélicas em genes com efeitos previamente conhecidos em características agronomicamente importantes. No entanto, estes marcadores não foram associados com dados fenotípicos. Além disso, vários outros marcadores e cultivares recomendadas para o Cerrado ainda não foram validados para uso rotineiro em programas de melhoramento.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Validar marcadores *KASP* em germoplasma com linhagens e cultivares de trigo brasileiros do Programa Trigo UFV.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Genotipar painel de genótipos de trigo brasileiros com 15 marcadores *KASP* pré-selecionados;
- Identificar marcadores polimórficos para associação com as características-alvo;
- Fenotipar cultivares de trigo brasileiros para as características de interesse;
- Verificar se há associação entre os marcadores e as características fenotipadas para utilização na seleção assistida por marcadores no Programa Trigo UFV.

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Trigo: origem e importância socioeconômica

O trigo (*Triticum* spp. L.) é a cultura de cereais mais antiga, cultivada em uma ampla variedade de condições climáticas e de solo. Acredita-se que o centro de origem da cultura está localizado na região sudoeste da Ásia, e seu centro de diversidade genética na região do “Crescente Fértil” e arredores, com registros de cultivo há cerca de 10.000 anos. É uma planta autógama, realizando preferencialmente a autofecundação, pertence ao gênero *Triticum*, tribo *Triticeae*, família *Poaceae* (*Gramineae*) e ordem *Cyperales*. As inflorescências consistem em espiguetas florais, que são sésseis e alternadas em ambos os lados da ráquis, formando uma espiga (Preece et al, 2017; Mourad et al., 2019).

A espécie de trigo mais cultivada é a *Triticum aestivum* L., um trigo alohexaploide, com 42 cromossomos ( $2n=6x=42$ ) provenientes de três genomas diferentes (AABBDD). O genoma atual desta espécie foi resultado dois eventos de poliploidização ao longo do processo evolutivo, iniciando-se com o cruzamento do *T. urartu* ( $2n = 14$ , AA), fornecendo o genoma A, com um ancestral desconhecido ( $2n = 14$ , BB), que forneceu o genoma B, que, após a duplicação espontânea dos cromossomos, formou um indivíduo tetraploide (AABB,  $2n = 28$ ) gerando *T. turgidum*. O segundo evento de poliploidização ocorreu com o cruzamento entre *T. turgidum* e *Aegilops tauschii* (DD), que após duplicação espontânea dos híbridos, gerou o trigo hexaploide ( $2n = 42$ , AABBDD) (De Sousa et al., 2021).

Atualmente, dentre os cereais mais produzidos no mundo, o trigo ocupa o segundo lugar, com 789 milhões de toneladas nas safras de 2023/2024, e o maior em área cultivada. Os maiores produtores mundiais, em milhões de toneladas, são: China (140); União Europeia (139); Índia (110); Rússia (81,5) e Estados Unidos (45,1). O Brasil está na 14ª posição no ranking, com produção de 9,55 milhões de toneladas de trigo na safra 2023/2024 (USDA, 2023).

A segurança alimentar é inerente à triticultura, sendo o trigo é um alimento básico para mais de 35% da população mundial, haja vista que é essencial na dieta humana e animal devido ao alto valor energético provenientes dos carboidratos e proteínas. Além disso, a cadeia produtiva do trigo é considerada uma das mais importantes do setor alimentício, por ser responsável pela geração de empregos (Conab, 2017; FAO, 2022).

### 3.2 Marcadores Moleculares e SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*)

A posição dos genes ou as regiões genômicas que regulam características de importância nas plantas podem ser identificadas por meio do uso de marcadores moleculares. Vários marcadores moleculares foram desenvolvidos ao longo dos anos, como os *Simple Sequence Repeats* (SSRs), *Amplified Fragment Length Polymorphisms* (AFLPs), *Restriction Fragment Length Polymorphisms* (RFLPs) *Random Amplified Polymorphic DNAs* (RAPDs) e os *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) (Dwiningsih et al, 2020).

Os SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeo Único) são os tipos mais comuns de variação genética e são marcadores ideais para descoberta genética e melhoramento molecular. Eles ocorrem quando um único nucleotídeo (A, T, C ou G) no genoma difere entre os membros de uma espécie ou entre pares de cromossomos em um indivíduo (Semagn et al., 2014).

O desenvolvimento de marcadores funcionais é uma tarefa complexa para o trigo pela sua natureza alohexaploide. Para a maioria dos genes, existem pelo menos três ortólogos nos cromossomos homólogos, e como suas sequências e funções são muito semelhantes, é extremamente difícil caracterizá-los separadamente (Bagge et al. 2007; Su et al., 2011).

As tecnologias de sequenciamento de nova geração (NGS) têm substituído rapidamente os marcadores tradicionais e agora são amplamente utilizados em estudos genéticos e melhoramento molecular (Son et al., 2013). Várias plataformas de genotipagem de SNPs foram desenvolvidas, combinando diferentes técnicas de discriminação de alelos, como digestão por enzimas de restrição, amplificação por alelo específico, sequenciamento e diferentes métodos de detecção, como, colorimetria, espectrometria, fluorescência, dentre outros. Algumas das plataformas mais usadas de genotipagem de SNPs está a Kompetitive allele-specific PCR (KASP) da KBioscience ou LGC Genomics (<http://www.lgcgenomics.com>) (Semagn et al., 2014).

### 3.3 *Kompetitive Allele Specific PCR* (KASP)

A disponibilidade de marcadores genéticos altamente preditivos do estado alélico em *loci* genéticos que controlam as principais características agrônômicas do trigo permite que *loci* conhecidos sejam rapidamente caracterizados em germoplasma relevante para melhoristas (Mellers et al., 2020).

Plataformas de identificação de SNPs de alto rendimento, alta densidade, alta comercialização, baixo custo e flexíveis são necessárias para o melhoramento assistido

por marcadores (Sun et al., 2020). A plataforma de genotipagem de SNP uniplex KASP ou “PCR de Alelos Específicos Competitivos”, foi introduzida pela LGC Genomics (Kaur et al., 2020). Esse sistema é mais fácil, mais barato e flexível entre todos os sistemas *uniplex* disponíveis para a detecção de SNP e inserção/deleção (InDel) (Semagn et al., 2014).

Nos ensaios *KASP*, os *primers forward* são projetados com sequências específicas (tags), FAM ou HEX, que são responsáveis pela fluorescência quando amplificados no *KASP* master mix (Figura 1). Além disso, é necessário um *primer* reverso comum específico do genoma em análise. O tamanho total do fragmento amplificado geralmente varia de 50 a 125 pares de base (pb). Os resultados da PCR são adquiridos através de uma leitura realizada em um leitor de microplacas. Por fim, os genótipos são analisados para verificar sua associação com dados fenotípicos (Son et al., 2023).

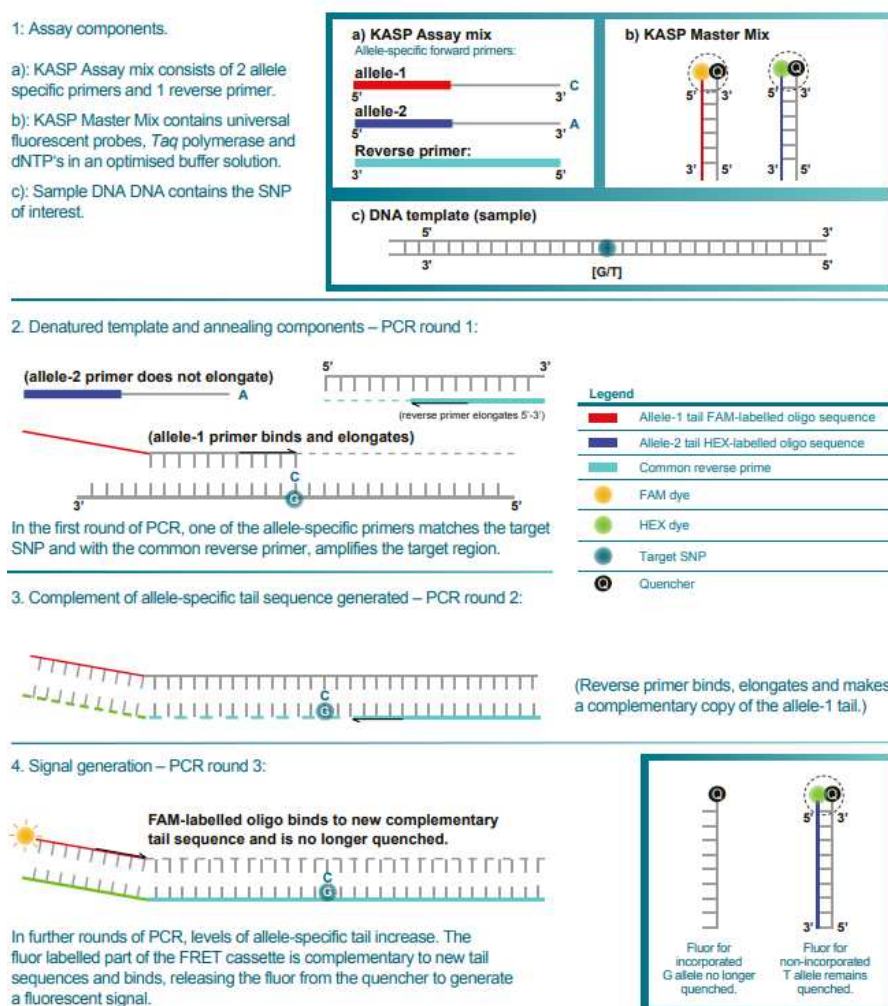


Figura 1 - Esquema representando o funcionamento do KASP (LGC *Biosearch Technologies*, 2019).

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Material Vegetal

Foram utilizados 67 cultivares comerciais de trigo brasileiras desenvolvidas por empresas públicas e privadas e 27 linhagens do Banco de Germoplasma do Programa Trigo UFV (Tabela 1). As plantas foram semeadas em casa de vegetação e as folhas amostradas no Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal, no Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa. Em seguida, experimento de campo foi estabelecido conforme descrito a seguir.

Tabela 1 – Genótipos do Banco de Germoplasma do Programa Trigo UFV.

<b>Cultivar Comercial</b>	<b>Obtentores</b>	<b>Cultivar Comercial</b>	<b>Obtentores</b>	<b>Linhagens</b>	<b>Obtento</b>
<b>ORS Agile</b>	OR SEMENTES	<b>IAC 385 - Mojave</b>	IAC	<b>VI 14022</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>TBIO Alpaca</b>	BIOTRIGO	<b>IAC 388 - Arpoador</b>	IAC	<b>VI 14026</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>TBIO Astro</b>	BIOTRIGO	<b>IAC 389 - Atakama</b>	IAC	<b>VI 14050</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>TBIO Aton</b>	BIOTRIGO	<b>IPR Catuara</b>	IAPAR	<b>VI 14055</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>TBIO Audaz</b>	BIOTRIGO	<b>IPR Panaty</b>	IAPAR	<b>VI 14088</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BR 18 - Terena</b>	EMBRAPA	<b>IPR Potyporã</b>	IAPAR	<b>VI 14127</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BR 26 - São Gotardo</b>	EMBRAPA	<b>IPR Taquari</b>	IAPAR	<b>VI 14194</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS 194</b>	EMBRAPA	<b>LG Prisma</b>	LG SEMENTES	<b>VI 14197</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS 234</b>	EMBRAPA	<b>LG Supra</b>	LG SEMENTES	<b>VI 14204</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS 254</b>	EMBRAPA	<b>ORS Madre Pérola</b>	OR SEMENTES	<b>VI 14208</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS 264</b>	EMBRAPA	<b>MG 1</b>	EMBRAPA	<b>VI 14214</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS 328</b>	EMBRAPA	<b>MGS Aliança</b>	EMBRAPA	<b>VI 14239</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS 394</b>	EMBRAPA	<b>Montes Claros</b>	EPAMIG	<b>VI 14327</b>	PROG. TRIGO UFV

<b>BRS 404</b>	EMBRAPA	<b>TBIO Noble</b>	BIOTRIGO	<b>VI 14426</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS Atobá</b>	EMBRAPA	<b>OR 1</b>	OR SEMENTES	<b>VI 14774</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS Guamirim</b>	EMBRAPA	<b>ORS Absoluto</b>	OR SEMENTES	<b>VI 14950</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS Marcante</b>	EMBRAPA	<b>ORS Destak</b>	OR SEMENTES	<b>VI 14980</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS Pardela</b>	EMBRAPA	<b>ORS Feroz</b>	OR SEMENTES	<b>VI 19006</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>BRS Sanhaço</b>	EMBRAPA	<b>ORS Guardião</b>	OR SEMENTES	<b>VI 19007</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 105</b>	COODETEC	<b>ORS SENNA</b>	OR SEMENTES	<b>VI 19011</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 116</b>	COODETEC	<b>ORS Soberano</b>	OR SEMENTES	<b>VI 19015</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 1303</b>	COODETEC	<b>TBIO Ponteiro</b>	BIOTRIGO	<b>VI 19053</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 1403</b>	COODETEC	<b>ORS Quartzo</b>	OR SEMENTES	<b>VI 19057</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 1440</b>	COODETEC	<b>RBO 301</b>	TAMONA	<b>VI 19065</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 150</b>	COODETEC	<b>RBO 303</b>	TAMONA	<b>VI 19075</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 151</b>	COODETEC	<b>RBO 403</b>	TAMONA	<b>VI 19084</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>CD 1705</b>	COODETEC	<b>TBIO Sintonia</b>	BIOTRIGO	<b>VI 19092</b>	PROG. TRIGO UFV
<b>TBIO Duque</b>	BIOTRIGO	<b>TBIO Sinuelo</b>	BIOTRIGO		
<b>Embrapa 21</b>	EMBRAPA	<b>TBIO Sonic</b>	BIOTRIGO		
<b>FPS Certero</b>	FUNDAÇÃO PRÓ SEMENTES	<b>TBIO Sossego</b>	BIOTRIGO		
<b>FPS Luminus</b>	FUNDAÇÃO PRÓ SEMENTES	<b>TBIO Toruk</b>	BIOTRIGO		
<b>FPS Regente</b>	FUNDAÇÃO PRÓ SEMENTES	<b>TSZ Chiaro</b>	SEMEVINE A		
<b>Frontana</b>	EMBRAPA	<b>TSZ Dominador e</b>	SEMEVINE A		
<b>IAC 375 Parintins</b>	IAC				

## 4.2. Fenotipagem

Os ensaios foram conduzidos no campo experimental Professor Diogo Alves de Melo (20° 45' 14" S; 42° 52' 55" W; 648 m de altitude) da UFV, localizado no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil, em 2022. Os ensaios foram conduzidos no campo experimental Professor Diogo Alves de Melo (20° 45' 14" S; 42° 52' 55" W; 648 m de altitude) da UFV, localizado no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Os genótipos de trigo foram fenotipados em campo para as seguintes características: altura de planta (AP), em centímetros, medindo do solo até a inserção da espiga com régua; massa de 100 grãos (M100G), em gramas, medida em balança de precisão a partir de uma amostra de cem grãos; dias para espigamento (DPE), em dias, a partir do intervalo de dias entre a semeadura e o espigamento e produtividade (PROD), em kg/há, obtida a partir do peso total da parcela.

## 4.3. Genotipagem

Foram coletados quatro discos de 6 mm de diâmetro de folhas jovens, com perfuradores, 15 dias após a semeadura na casa de vegetação. Os discos foliares foram colocados em uma placa de 96 poços. As amostras dentro da placa foram secadas em dessecador de vidro com sílica gel por 37 horas. Posteriormente, a placa foi condicionada em saco plástico contendo pacotes de 10 g com sílica gel, devidamente lacrada e empacotada de acordo com as especificações da empresa *Intertek* para ser enviada ao laboratório *INTERTEK ScanBi Diagnostics AB*, na Suécia.

Quinze marcadores selecionados da coleção de marcadores *KASP* disponíveis para *Triticum aestivum L.* na *Excellence in Breeding* (EiB) foram utilizados do serviço de genotipagem de baixa densidade (*Low-Density Genotyping service*) da EiB: [KASP markers for Wheat\\_3112022\\_final.xlsx \(live.com\)](#) (Tabela 2).

Tabela 2 –Marcadores KASP selecionados da coleção disponível para *Triticum aestivum* L. na *Excellence in Breeding* (EiB).

ID INTERTEK	QTL/Gene	Característica	Cromosomo	Alelo 1	Fenótipo Alelo 1	Alelo 2	Fenótipo Alelo 2	SNP/In del	Referência
snpTA00002	Rht-D1	Altura de Planta	4D	G	Tipo Selvagem	T	Anão	G/T	Ellis et al (2002). TAG 105:1038-1042
snpTA00003	Ppd-A1	Sensibilidade ao fotoperíodo	2A	INS	Tipo Selvagem, Sensível	DEL	Sensível (null allele)	INDEL	Beales et al (2007). TAG, 115: 721–733
snpTA00008	Ppd-D1	Sensibilidade ao fotoperíodo	2D	C	Tipo Selvagem, Insensível	T	Sensível	INDEL	Beales et al (2007). TAG, 115: 721–733
snpTA00017	FT3-D1	Tempo de Florescimento	1DL	A	Florescimento Tardio	G	Precoce	G/A	Zikhali et al- (2017). Plant Cell & Env., 40:2678-2690
snpTA00018	TaMOT1-D1	Precocidade	1DL	INS	Florescimento Tardio	DEL	Precoce	INDEL	Zikhali et al- (2017). Plant Cell & Env., 40:2678-2690
snpTA00019	TaBradi2g14790	Precocidade	1DL	INS	Florescimento Tardio	DEL	Precoce	INDEL	Zikhali et al (2016) J Exp Bot 67: 287 - 299;
snpTA00020	FT3-B1	Tempo de Florescimento	1B	A	Tardio	G	Precoce	G/A	Zikhali et al- (2017). Plant Cell & Env., 40:2678-2690
snpTA00057	TaGW2	Massa de 100 grãos - Produção	6A	A	Menor peso de grão	G	Maior peso de grão	A/G	Sun et al (2011)
snpTA00425	TaTOE1	Sensibilidade ao fotoperíodo	1B	C	Florescimento Precoce	T	Tardio	C/T	Zikhali et al- (2017). Plant Cell & Env., 40:2678-2690
snpTA00600	TaCwi-4A	Tamanho de Grão	4A	C	Maior massa de 100 grãos	T	Menor massa de 100 grãos	C/T	Jiang et al (2015) TAG 128: 131 -143;
snpTA00601	TaCwi-5D	Tamanho de Grão	5D	C	Maior massa de 100 grãos	G	Menor massa de 100 grãos	C/G	Jiang et al (2015) TAG 128: 131 -143;
snpTA00606	TaGS-D1	Tamanho de Grão	7D	G	Maior massa de 100 grãos	T	Menor massa de 100 grãos	G/T	Zhang et al (2014) Mol Breeding 34: 1097 - 1107;
snpTA00608	TaMoc-7A	Tamanho de Grão	7A	G	Maior número de grãos	A	Menor número de grãos	G/A	Zhang et al (2015) Sci Rep 5:12211;
snpTA00664	TaGS5-A1	Tamanho de Grão	3A	G	Menor massa de 100 grãos	T	Maior massa de 100 grãos	G/T	Wang et al (2016) Front. Plant Sci 7: 783,
snpTA00665	TaCKX-D1	Tamanho de Grão	3D	INS	Menor massa de 100 grãos	DEL	Maior massa de 100 grãos	INDEL	Zhang et al (2012) New Phytol 195:574–584;

#### 4.4. Análises estatísticas

##### 4.4.1. Análise de dados fenotípicos

Para estimação de parâmetros genéticos com os dados das observações fenotípicas foi realizada uma análise de modelos mistos pelo método da máxima verossimilhança restrita (REML) e a predição de valores genéticos pela melhor predição linear não-viesada (BLUP) utilizando o pacote *Metan* (Olivoto e Lúcio, 2020) pelo *software* R (R Development Core Team, 2023) para posterior associação com os dados genotípicos.

##### 4.4.2. Análise de dados genotípicos

Para a associação entre os marcadores e as características, foi feita a análise de marcador individual, por meio do teste de Kruskal-Wallis e teste de Mann-Whitney (*Wilcoxon rank-sum test*), pelo *software* R (R Development Core Team, 2023), e foi realizada regressão linear para avaliar o efeito dos marcadores, de acordo com o modelo:

$$y_i = \mu + \beta x_i + \varepsilon_i$$

em que  $y_i$  é o valor fenotípico da característica para o indivíduo  $i$ ,  $\mu$  é a média da população,  $\beta$  é o coeficiente de regressão linear para os efeitos genéticos e  $\varepsilon_i$  é o erro assumido como tendo uma distribuição normal com média zero e variância  $\sigma^2$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análises Fenotípicas

A análise de modelos mistos para as características selecionadas está presente na Tabela 3. A herdabilidade média variou de 0.8591 para M100 até 0.8973 para DPE. A acurácia variou de 0.9473 para M100 a 0.9888. Os coeficientes de variação genotípica variaram de 9.347 para AP a 44.76 para PROD. Por fim, o coeficiente de variação residual variou de 8.769 para M100 a 22.23 para PROD.

Tabela 3 – Análise de modelos mistos para 94 genótipos de trigo.

Parâmetros	Características			
	AP	M100	DPE	PROD
$\sigma^2_g$	80.24	0.2062	44.62	1,428,725.00
$\sigma^2_r$	21.89	0.07076	3.048	352,352.00
$\sigma^2_p$	102.1	0.2769	47.67	1,781,077.00
$h^2_m$	0.8654	0.8591	0.8973	0.8744
Acurácia	0.9574	0.9473	0.9888	0.9613
$CV_g$ (%)	9.347	13.73	10.60	44.76

$CV_r$ (%)	4.882	8.042	2.769	22.23
p-valor	2,99E-40	6,32E-34	5,03E-85	3,60E-42

AP: altura de planta; M100: massa de 100 grãos; DPE: dias para espigamento; PROD: produção;  $\sigma^2_g$ : componente de variância genotípica;  $\sigma^2_r$ : componente de variância residual;  $\sigma^2_p$ : componente de variância fenotípica;  $CV_g$  (%): coeficiente de variação genotípica;  $CV_r$  (%): coeficiente de variação residual.

A figura 2 apresenta as médias previstas para M100, PROD, DPE e AP. Para M100 os valores variaram de 2,5910 (CD 1705) a 4,2899 (VI 1204). A variável PROD teve valor mínimo de 510,86 (Montes Claros) e máximo de 4957,64 (VI 19007). Para AP os valores foram de 75,71 (VI 19053) a 127,15 (Frontana). A variável DPE variou de 45,40 (VI 19053) a 77,015 (Montes Claros). Montes Claros, que foi a cultivar com maior DPE também teve menor produção.

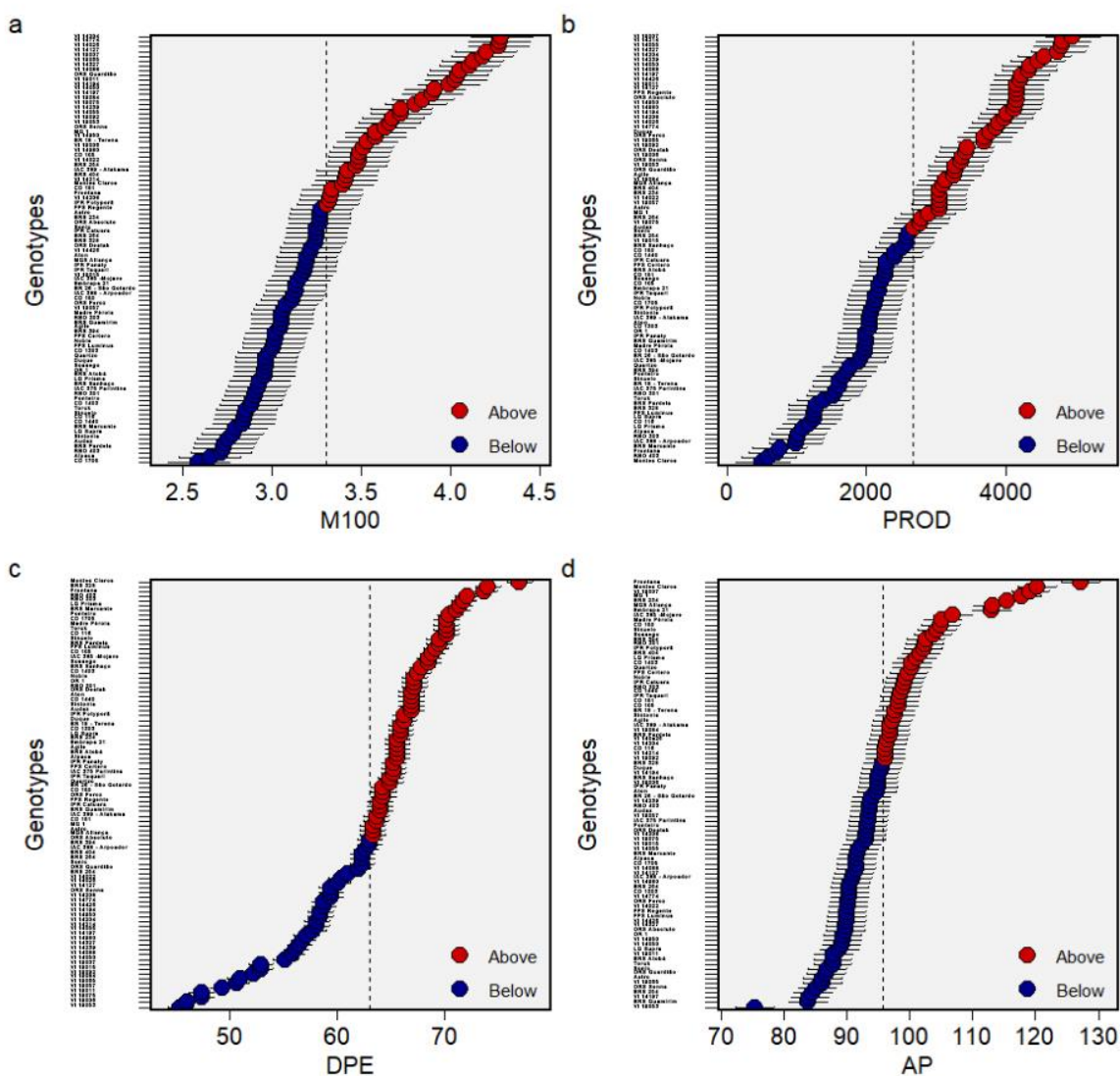


Figura 2 – Gráficos com médias previstas dos valores BLUP para os 94 genótipos.

As figuras 3 e 4 mostram correlação, e dispersão e distribuição dos dados entre as quatro variáveis, respectivamente. M100 e PROD apresentaram a maior correlação positiva (0.71); As variáveis PROD e DPE tiveram a maior correlação negativa (-0.71). M100 e AP não apresentaram correlação significativa.

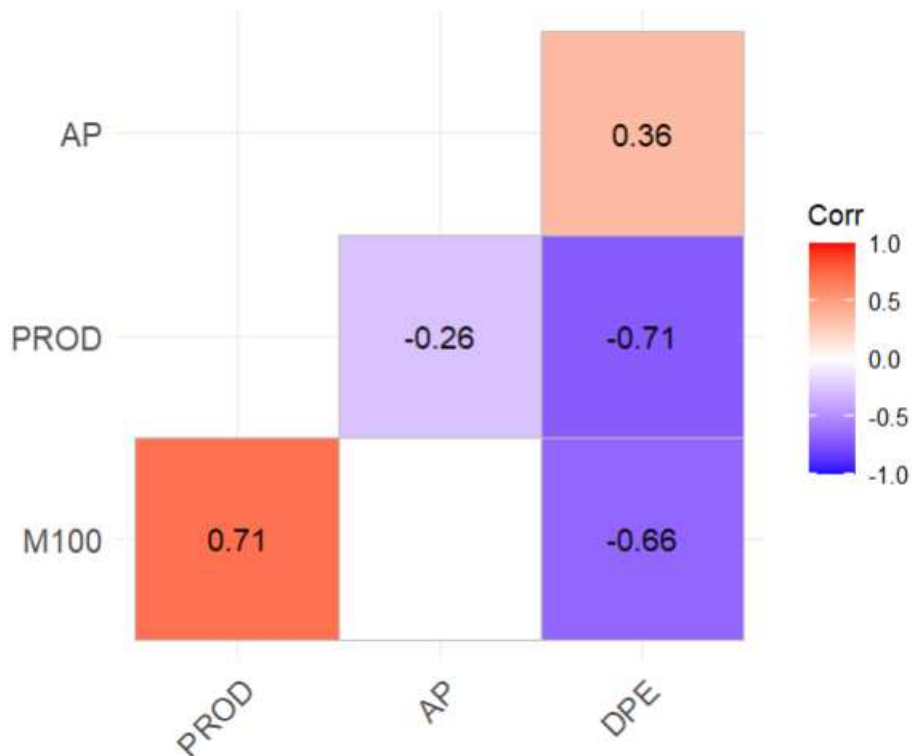


Figura 3 – Correlação entre valores genotípicos das características. AP: altura de planta; M100: massa de 100 grãos; DPE: dias para espigamento; PROD: produção.

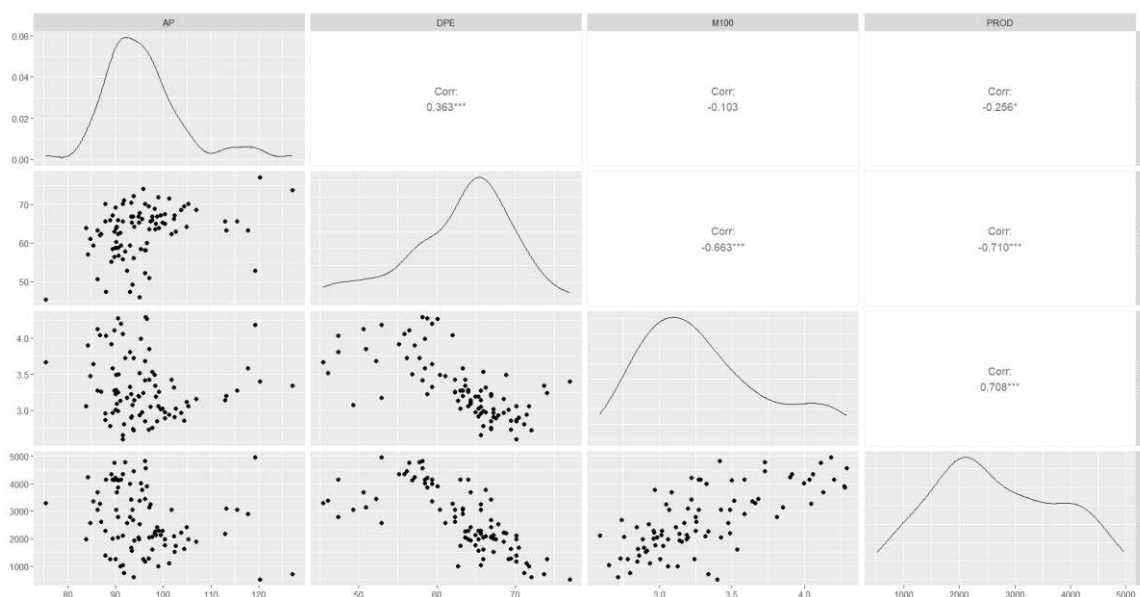


Figura 4 – Dispersão, distribuição e correlação dos dados para as variáveis selecionadas.

## 5.2 Análises Genotípicas

A Figura 5 apresenta o gráfico com a dosagem alélica dos genótipos para cada marcador *KASP*, exibido pela sua identificação de *SNP*. O eixo x indica a fluorescência emitidas de alelos tipo FAM e o eixo y do tipo HEX. *Clusters* em 3 grupos estão representados: 0 (homozigoto para o alelo tipo FAM), em vermelho; 2 (homozigoto para o alelo tipo HEX) em azul e 1 (heterozigoto), com coloração verde.

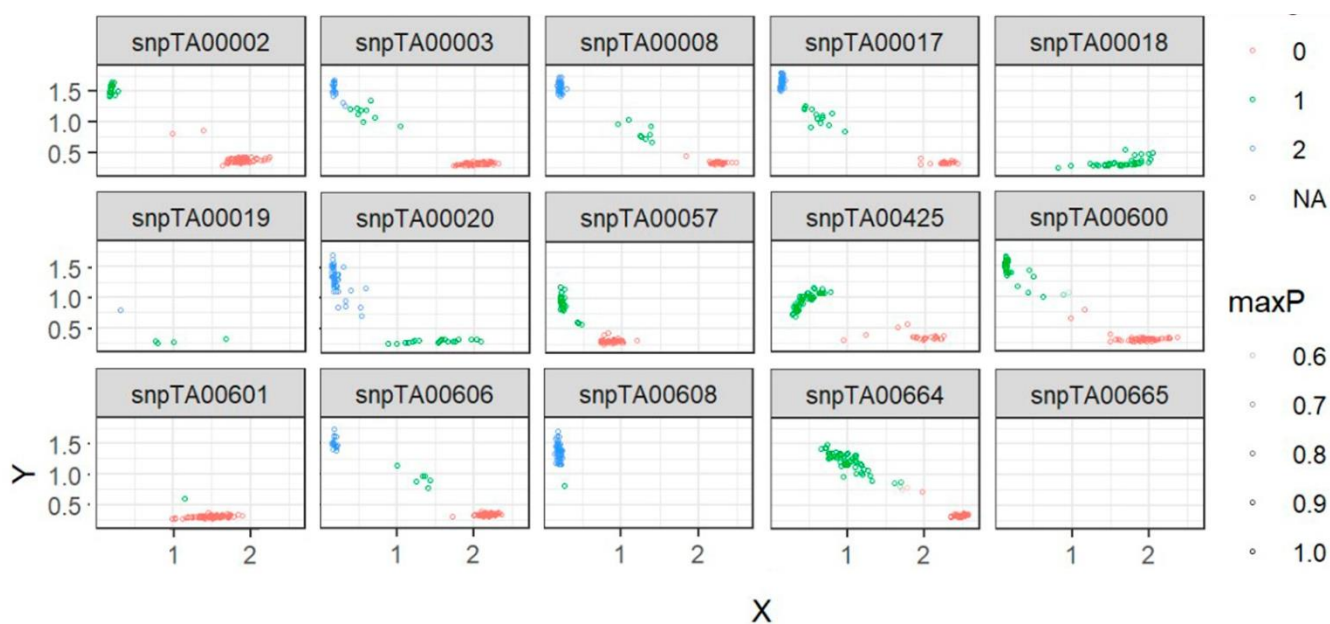


Figura 5 – Gráficos de cultivares de trigo genotipadas com 15 marcadores *KASP*. Eixo X: FAM, eixo y: HEX.

Para realizar a associação entre o fenótipo e o genótipo não foram utilizadas todas as 94 cultivares entre os marcadores, devido a leituras que não geraram sinais consistentes ou falharam na amplificação, representadas por “?” ou “*uncallable*” no resultado da genotipagem (Figura 5). Além de alguns dados fenotípicos faltantes, reduzindo o número de amostras. A tabela 4 indica o número de genótipos e associações realizadas para cada marcador.

Tabela 4 - Número de genótipos utilizados para realizar associações em cada marcador.

ID INTERTEK	Característica	QTL/Gene	Nº de genótipos
snpTA00002	Altura de Planta	Rht-D1	90
snpTA00003	Sensibilidade ao Fotoperíodo	Ppd-A1	84

snpTA00008	Sensibilidade ao Fotoperíodo	Ppd-D1	89
snpTA00017	Tempo de Florescimento	FT3-D1	85
snpTA00018	Precocidade	TaMOT1-D1	-
snpTA00019	Precocidade	TaBradi2g14790	-
snpTA00020	Tempo de Florescimento	FT3-B1	70
snpTA00425	Sensibilidade ao Fotoperíodo	TaTOE1	80
snpTA00057	Massa de 100 Grãos	TaGW2	87
snpTA00600	Tamanho de Grão	TaCwi-4A	86
snpTA00601	Tamanho de Grão	TaCwi-5D	-
snpTA00606	Tamanho de Grão	TaGS-D1	89
snpTA00608	Tamanho de Grão	TaMoc-7A	-
snpTA00664	Tamanho de Grão	TaGS5-A1	88
snpTA00665	Tamanho de Grão	TaCKX-D1	-

Os marcadores snpTA00019 e snpTA00665 falharam na amplificação, portanto foram descartados das análises. Já os marcadores snpTA00018, snpTA00601 e snpTA00608 foram monomórficos, apresentando apenas homozigotos para o alelo 1, sendo, assim, também descartados. Para estes dois últimos marcadores, os alelos para maior número e peso de grãos, estão presentes em mais de 98% dos genótipos, indicando que estes alelos favoráveis estão fixados no germoplasma. Já para o marcador

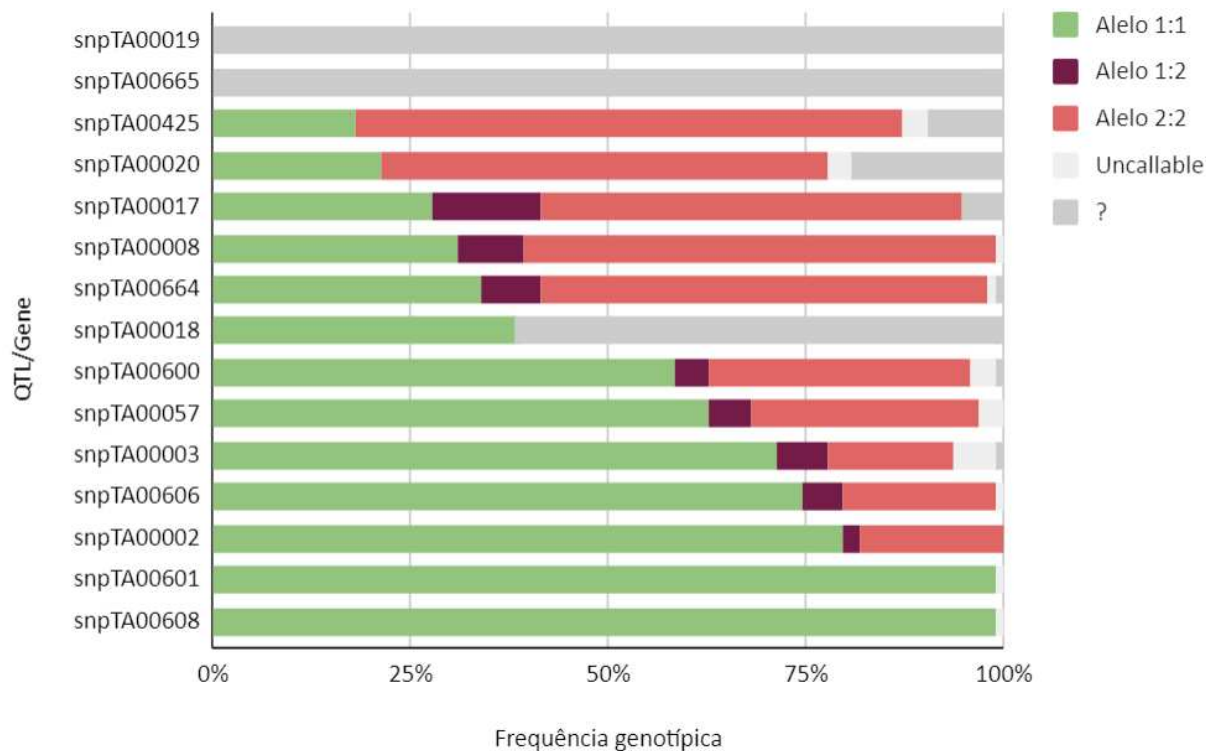


Figura 6 – Frequências genotípicas dos genótipos de trigo para os marcadores utilizados.

snpTA00018, 38,3% da chamada foi para o alelo de florescimento tardio. Os demais marcadores foram polimórficos, permitindo as análises estatísticas (Figura 6).

A taxa de chamada de alelos foi de acima de 90% para 10 marcadores. O marcador para altura, snpTA00002, foi o único a ter taxa de 100%. A menor taxa de chamada foi do snpTA00018 com 38,3%, para precocidade, todas as chamadas foram apenas para um homocigoto. Os marcadores polimórficos com maiores taxas foram snpTA00002 (100%), snpTA00606 (98,9%), snpTA00008 (98,9%) e snpTA00664 (97,9%). Os marcadores para a característica de tamanho de grão tiveram as maiores porcentagens, todos acima de 90%, com exceção do snpTA00665, que, como já mencionado, apresentou falha na amplificação.

Marcadores para oito QTLs/Genes apresentaram indivíduos em heterocigose: snpTA00017 (13,83%), snpTA00008 (8,51%), snpTA00664 (7,45%), snpTA00003 (6,38%), snpTA00606 (5,32%), snpTA00057 (5,32%), snpTA00600 (4,26%) e snpTA00002 (2,13%). Indivíduos homocigotos com genomas poliploides podem ter polimorfismo entre subgenomas (chamados de polimorfismos inter-homeólogos ou SNPs homeólogos), agrupando-os em *clusters* heterocigotos na genotipagem (Makhoul et al., 2020). Estes aglomerados heterocigotos com indivíduos homocigotos podem surgir devido a hibridização das sondas de SNP individuais com as sequências genômicas homeólogas. Em sondas do 90K *Wheat iSelect array* da Illumina, desenvolvidas para avaliar a variação genética em populações de trigo alohexaploides e alotetraploides, aproximadamente 30% são heterocigotos por este fenômeno (Wang et al., 2014).

Mellers et al. (2020) também detectaram presença de cultivares de trigo brasileiras com chamadas em heterocigose em *KASP*, como a cultivar BR 21 – Nhandeva (T:G), para o gene *Rht-D1*; IAC 7 Bartira (T:A), no gene *Lr34* (wMAS000003); CIGM93388 (G:A), no gene *GluA1* (wMAS000013) e (A:C) no gene *Vrn-A1b* (wMAS000035); IAC\_7\_Bartira (T:C), no gene *Sbm1* (wMAS000016) e (T:A) no gene *Gpc-B1* (wMAS000017); FUNDACEP\_30\_825608 (C:T), gene *Sus2* (wMAS000021); JUP\_73 (C:G), OCEPAR\_9\_Perdiz (C:G) e KARINA\_10 (C:G), no gene *Ppd-D1* (wMAS000026). É importante notar, porém, que as frequência genotípicas de heterocigotos encontrada pelos autores para cada marcador foi menor: 0,85% para o marcador do gene *Sus2* e 0,28% para os demais.

Para o marcador snpTA00002, para altura, ligado ao gene *Rht-D1*, 79,79% dos indivíduos possuem alelos G:G (tipo selvagem), 18,09% alelos T:T (anão) e 2,13% foram heterocigotos. Todavia, isto não significa que estes indivíduos irão possuir o fenótipo

indicado apenas por estes alelos. Dois *loci* principais controlam a altura da planta de trigo, o Rht-B1 (cromossomo 4B) e Rht-D1 (cromossomo 4D), logo é necessário a genotipagem para estas duas regiões. Basta apenas um alelo T:T em qualquer um dos dois *loci* para determinar o fenótipo anão. Dessa forma, é possível o indivíduo possuir alelo G:G para o gene Rht-D1 e ser classificado como anão caso possua o alelo para nanismo (T:T) no gene Rht-B1 e vice-versa. Assim, como as cultivares foram genotipadas apenas para o gene Rht-D1, é possível que indivíduos G:G possuam menor altura.

Para o SNP snpTA00008, ligado ao gene *Ppd-D1*, 30,85% dos indivíduos contêm o genótipo C:C, logo, possuindo a deleção 2089 pb e insensibilidade ao fotoperíodo. A maioria das cultivares (59,57%) apresentaram o genótipo T:T, que confere sensibilidade ao fotoperíodo. 8,51% indivíduos foram heterozigotos para esse marcador. Todas as linhagens do Programa Trigo UFV possuem o genótipo T:T. Para a melhor determinação desta característica nos indivíduos é importante a genotipagem em conjunto de outros marcadores para este *locus* (snpTA00009/CIMwMAS0041 e snpTA00010/CIMwMAS0042), pois a cultivar pode ter um alelo T – que confere sensibilidade - para o marcador snpTA00008, no entanto, pode possuir *loci* para insensibilidade para os demais marcadores, conferindo a característica de insensibilidade ao fotoperíodo no indivíduo. É esperado que ao comparar todos os marcadores para o gene *Ppd-D1*, encontre-se maior porcentagem de indivíduos com alelos para insensibilidade, pois como no Brasil o trigo é cultivado em até 3 safras no ano, as cultivares são mais insensíveis ao fotoperíodo, possuindo menor tempo de espigamento e, por conseguinte, menor ciclo.

Dos 26 marcadores KASP utilizados por Mellers et al. (2020) em 349 acessos de trigo, 19 acessos e 03 marcadores (snpTA00002/Rht-D1, snpTA00008/Ppd-D1 e snpTA00003/Ppd-A1) foram os mesmos utilizados neste trabalho, permitindo a comparação entre os dois resultados de genotipagem, discutidas a seguir.

Para altura (Rht-D1), todas as cultivares demonstraram os mesmos resultados, com exceção da BR 26 – São Gotardo, o qual neste estudo evidenciou genótipos G:G, porém na genotipagem feita pelos pesquisadores apresentou o genótipo T:T. Estes autores, ao compararem os dois genes, Rht-B1 e Rht-D1, encontraram 10 cultivares que possuíam o genótipo G:G (Tipo selvagem) para o gene Rht-D1, porém foram classificados como “anão”, pois possuíam o genótipo T:T que confere nanismo para o gene Rht-B1, incluindo a cultivar BR 26 - São Gotardo.

Para sensibilidade ao fotoperíodo (Ppd-D1), das 19 cultivares, 13 foram iguais entre as duas genotipagens, no entanto, as cultivares BRS Marcante e CD 150 apresentaram genótipos opostos, C:C (insensível ao fotoperíodo) nesta pesquisa, enquanto o resultado possui sensibilidade ao fotoperíodo, com o genótipo T:T na comparação entre as genotipagens. Ainda para este marcador, a genotipagem indicou dois indivíduos heterozigotos (T:C): BRS 234 e IPR Catuara. Na genotipagem feita por Mellers et al. (2020) estas cultivares tiveram genótipos T:T e C:C, respectivamente. Por fim, a cultivar Sinuelo teve chamada “uncallable” em nossa genotipagem e T:T no artigo citado.

Para sensibilidade ao fotoperíodo (Ppd-A1), 14 cultivares têm o mesmo genótipo nas duas genotipagens. Apresentaram genótipos opostos BRS 254, BR 26 – São Gotardo.

Para determinação da característica, Mellers et al. (2020) utilizaram os três marcadores disponíveis para o gene Ppd-D1 (wMAS000024, wMAS000025 e wMAS000026) para construir haplótipos e, a partir da combinação entre os três, classificou as cultivares em insensível ou sensível.

## 5.1. Associações e efeito dos marcadores nas características

### 5.1.1. Altura

A genotipagem para apenas um dos genes *Rht* pode gerar falsas interpretações. Para atestar essa informação, foram cruzados dados entre o marcador do gene *Rht-D1* genotipados neste trabalho e os resultados de genotipagem do marcador para o gene *Rht-B1* publicado por Mellers et al. (2020), para classificação de altura a partir dos genótipos de ambos os marcadores. Ao total, foi possível cruzar informações genótípicas entre 18 cultivares e classificar o fenótipo, que foram associados com os valores de BLUP demonstrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Fenótipos para cultivares cruzando informações com dois marcadores para altura para associação com valores BLUP.

Cultivares	Rth-D1	Rth-B1		AP	M100	DPE	PROD
		(Mellers et al., 2020)	Fenótipo				
BR 18 - Terena	T:T	C:C	D	97,71736	3,536093	65,93405	1613,162
BR 26 - São Gotardo	T:T	T:T	D	93,94889	3,138386	64,30448	1924,641
BRS 234	G:G	T:T	D	115,4393	3,269996	65,60813	3048,887
BRS 254	G:G	T:T	D	84,6805	3,473394	61,04534	2579,168
BRS 264	G:G	T:T	D	90,48598	3,249058	62,349	2794,777
BRS Guamirim	T:T	C:C	D	83,8657	3,057625	63,97857	1986,244

BRS Marcante	T:T	C:C	D	91,81003	2,800387	71,14866	760,3532
BRS Pardela	T:T	C:C	D	96,90256	2,731591	69,5191	1277,814
CD 105	G:G	T:T	D	98,22661	3,488349	68,86727	2186,419
CD 116	G:G	T:T	D	96,1896	2,848246	70,17092	1177,71
CD 150	T:T	T:T	D	104,9487	3,114457	64,30448	2417,461
CD 151	G:G	T:T	D	98,32846	3,338792	63,65265	2271,155
Frontana	G:G	C:C	T	127,1521	3,335801	73,75597	706,4509
IAC 375 Parintins	T:T	C:C	D	93,43964	2,914051	65,28222	1565,806
IAC 385 -Mojave	G:G	T:T	D	106,8839	3,153342	68,54135	1893,84
IPR Catuara	T:T	C:C	D	99,14327	3,252049	63,97857	2294,256
Montes Claros	G:G	C:C	T	120,3282	3,398615	77,01511	510,8629
Sinuelo	G:G	T:T	D	104,4395	2,851237	69,5191	1616,628

D: Anão; T: Alto; AP: altura de planta; M100: massa de 100 grãos; DPE: dias para espigamento; PROD: produção;

Ao analisar a segregação da característica, houve diferença significativa entre os indivíduos classificados como Anões (D) e Altos (T) para Altura de Planta (AP) ( $p$ -valor = 0.02459). Os dois maiores valores de BLUP para altura (Frontana = 127,15 e Montes Claros = 120,32) foram os únicos dois indivíduos com a combinação que determina o fenótipo “Alto”: alelos G:G para o gene Rht-D1 e C:C para o gene Rht-B1. A associação com as características DPE e PROD também foram significativas,  $p$ -valor = 0.02437 e 0.02459, respectivamente. Já para M100 o  $p$ -valor foi de 0.2061, portanto, não houve diferença significativa entre as classificações D e T (Figura 7 e Tabela suplementar 1). É importante ressaltar a baixa quantidade de amostras, sendo necessário aumentar o número de cultivares genotipadas com os dois genes para resultados mais precisos.

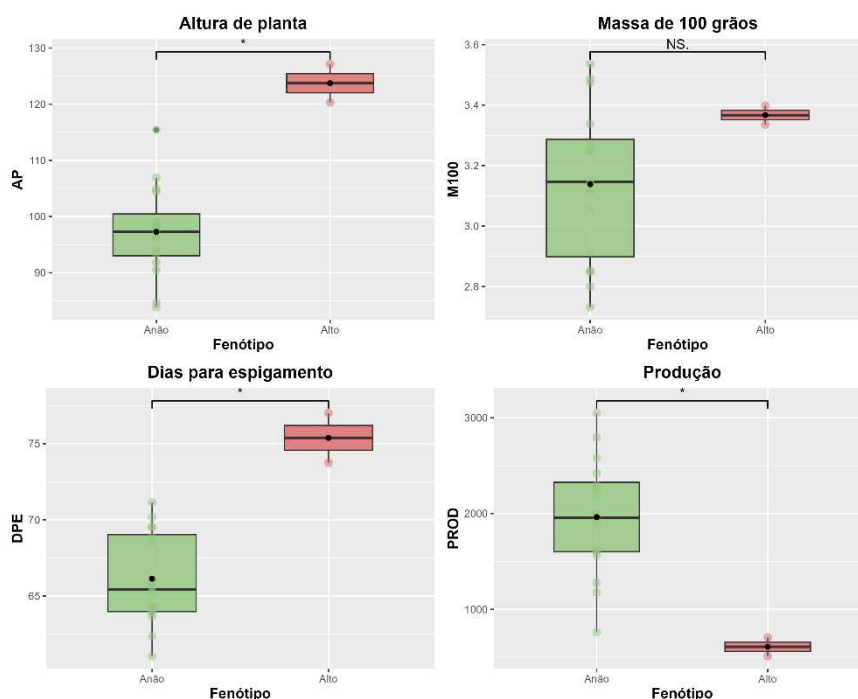


Figura 7 – *Boxplots* da segregação dos haplótipos *Rht-D1* e *Rht-B1* para Altura, Massa de 10 grãos, Dias para Espigamento e Produção. D: Anão; T: Alto.

Os genes *Rht-B1b* (*Rht-1*) e *Rht-D1b* (*Rht-2*) são homeólogos no cromossomo 4 do trigo e juntos são responsáveis por 67% da variação fenotípica em altura. O *Rht-D1b* é responsável por 44% e o *Rht-B1b* por 23% da variação. Eles foram importantes na redução da altura de trigo e aumento na produção na revolução verde. A sua introdução em variedades comerciais, a partir da cultivar japonesa Norin 10, ocorreu na década de 1960 melhorando a resistência ao acamamento e particionamento de assimilados para o grão em desenvolvimento (Ellis et al., 2002).

A cultivar Frontana foi lançada em 1940 e foi resultado dos primeiros cruzamentos artificiais de trigo no Brasil. Ela é considerada até hoje uma das maiores contribuições do melhoramento genético nacional para o trigo mundial, por sua resistência à ferrugem e germinação na espiga e tem descendentes no mundo todo (Scheeren et al., 2007). A cultivar Montes Claros é um trigo local antigo de Minas Gerais, cultivada a partir do século XIX (Sousa e Caierão, 2014). Ambas são anteriores à década de 60, portanto, era esperado que essas duas cultivares não apresentassem as mutações nos genes *Rht-B1b* e *Rht-D1b* e tivessem maiores alturas.

A figura 8 mostra a associação apenas para o marcador do gene *Rht-D1* (snpTA00002). Não houve diferença significativa entre os genótipos (Tabela suplementar 1). Observou-se indivíduos de genótipo C:C, com maiores e menores alturas, identificados como *outliers*. É possível que algumas destas cultivares C:C para o gene *Rht-D1* com menores alturas possuam o alelo T:T para o gene *Rht-B1*. Entretanto, a falta desta informação pode não ter possibilitado a detecção de diferença estatística entre os homocigotos.

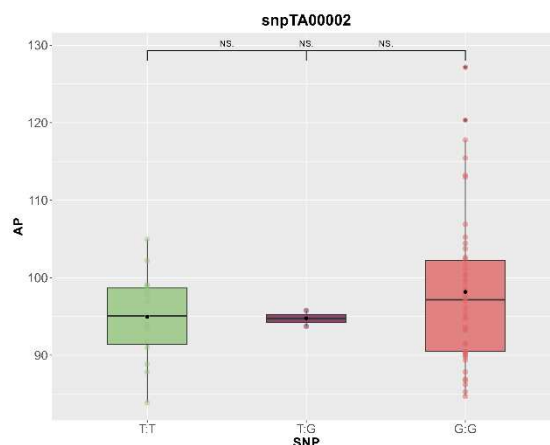


Figura 8 - *Boxplot* da segregação do marcador para o gene *Rht-D1* para Altura.

### 5.1.2. Fotoperíodo

A figura 9 apresenta os *boxplots* para os 5 marcadores para fotoperíodo. Tiveram associações significativas com DPE os marcadores snpTA00003 (p-valor = 0.007), snpTA00008 (p-valor = 0.0011) e snpTA00017 (p-valor=0.047) (Tabelas suplementares 2, 3 e 4).

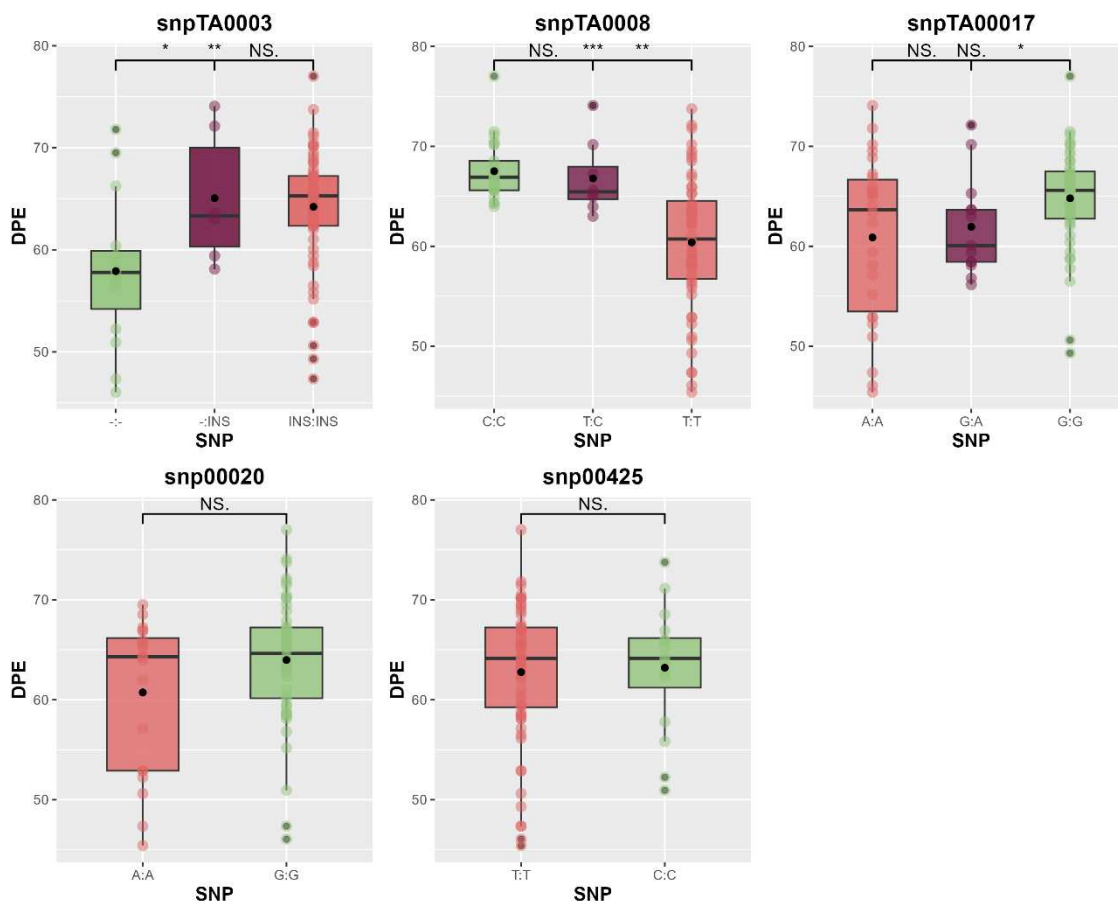


Figura 9 – *Boxplots* com segregação dos cinco marcadores para fotoperíodo. snpTA00003: Ppd-A1, snpTA00008: Ppd-D1, snpTA00017: FT3-D1, snpTA00020:FT3-B1 e snpTA00425:TaTOE1.

Os marcadores snp00020 e snp00425, que não possuíram cultivares com chamadas heterozigotas não tiveram diferença estatística para a variável DPE (Tabela suplementar 5).

No snp00008 (*Ppd-D1*), houve diferença significativa na variável DPE entre as cultivares de genótipos C:C e T:T, p-valor = 0.01673, e C:T e T:T, p-valor = 0.005934. Entre os genótipos C:C e C:T não teve diferença significativa. Para a variável produção, houve diferença estatística entre os dois homozigotos (p-valor = 0.001). As cultivares com

menor dias para espigamento, apresentaram maior produção. O tempo de florescimento está ligado à adaptabilidade e produção de grãos, segundo Achilli et al. (2022), a insensibilidade ao fotoperíodo aumentou a produtividade em 35% em trigo pão na Europa. Assim como a produção, a variável M100 também mostrou diferença significativa entre as cultivares de genótipos C:C e T:T, p-valor = 0.00000256 e C:T e T:T, p-valor = 0.023. Não houve diferença significativa entre os genótipos C:C e C:T. Por fim, a altura foi estatisticamente diferente entre as duas classes de homozigotos, cultivares com menor tempo de florescimento também possuíram menor altura (Figura 10 e Tabela suplementar 3).

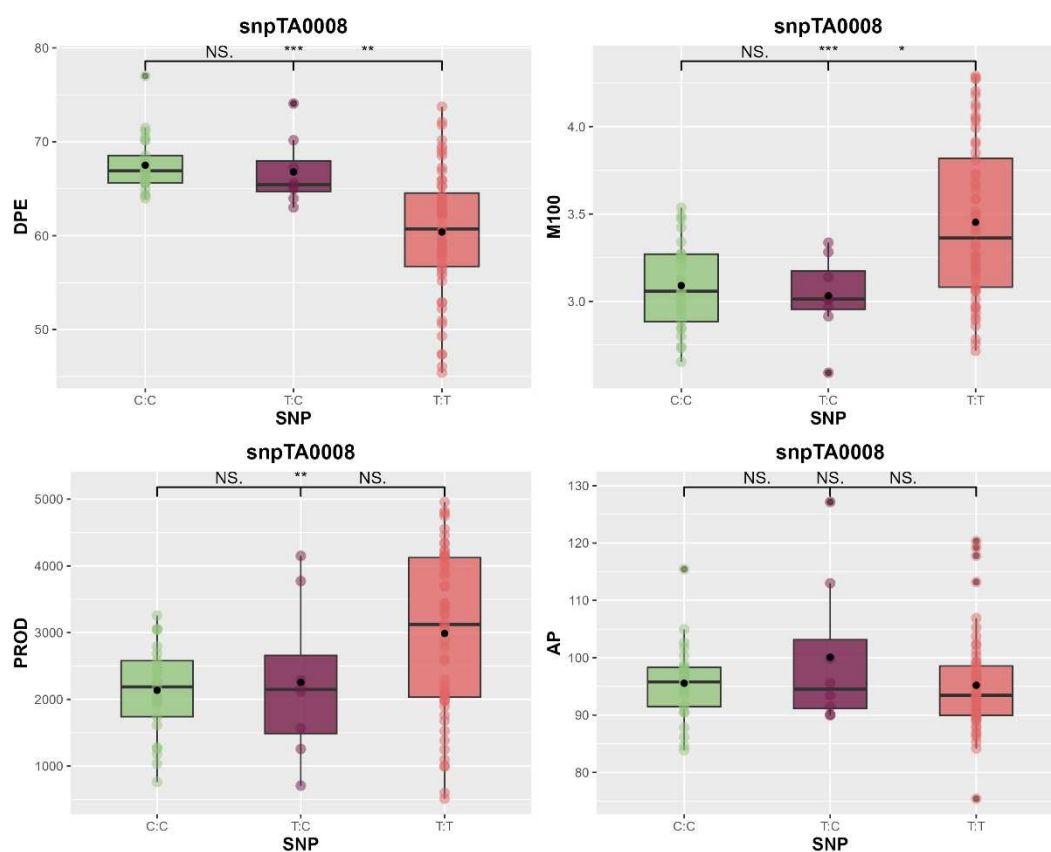


Figura 10 - *Boxplot* da segregação do marcador para o snpTA0008/*Ppd-D1* para DPE, M100, PROD e AP.

Os três homozigotos para o snp0003 tiveram diferenças significativas para DPE ((p-valor = 0.007), PROD (p-valor = 0.009) e M100 (p-valor = 0.008). (Figura 11)

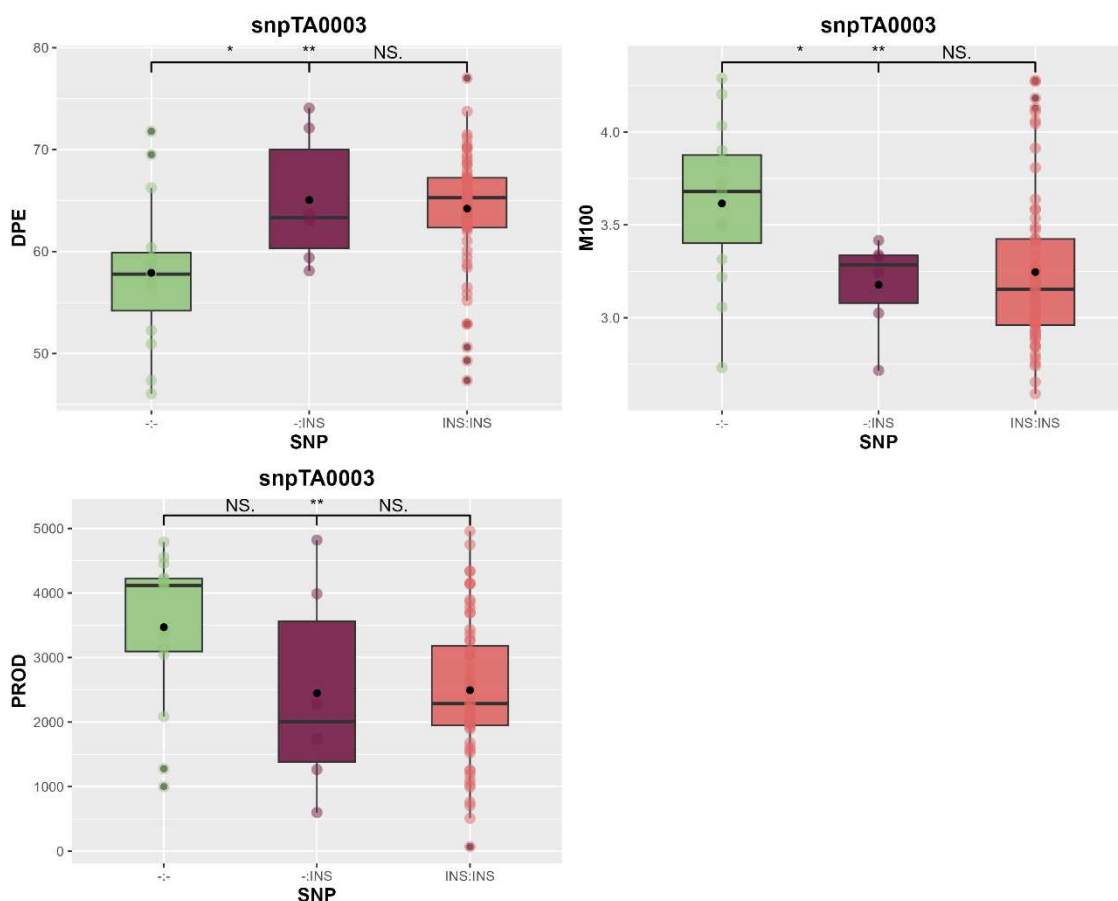


Figura 11 - *Boxplots* da segregação do marcador para o gene *Ppd-A1* (snp0003) para Dias para espigamento (DPE), Massa de 100 grãos (M100) e Produção (PROD).

### 5.1.3 Tamanho de Grão

As associações para tamanho de grão não foram significativas para nenhum marcador (Figura 12). Ao usar o marcador snp00057 para massa de 100 grãos, Sun et al. (2011) encontram associação significativa para comprimento e largura do grão, espigamento e maturação precoces em diferentes regiões da China e contribuiu para produção no norte da Europa, apesar do alelo favorável ocorrer em menor frequência. Os autores também concluíram que o alelo superior (A:A) contribuiu para o aumento no tamanho de grão sem ser limitado por fatores ambientais, como luz e temperatura, após avaliações em diferentes regiões chinesas. Com os genótipos brasileiros utilizados, o alelo G:G ocorreu em menor frequência e não houve associação significativa com espigamento, produção nem massa de 100 grãos para este marcador (Tabela suplementar 6).

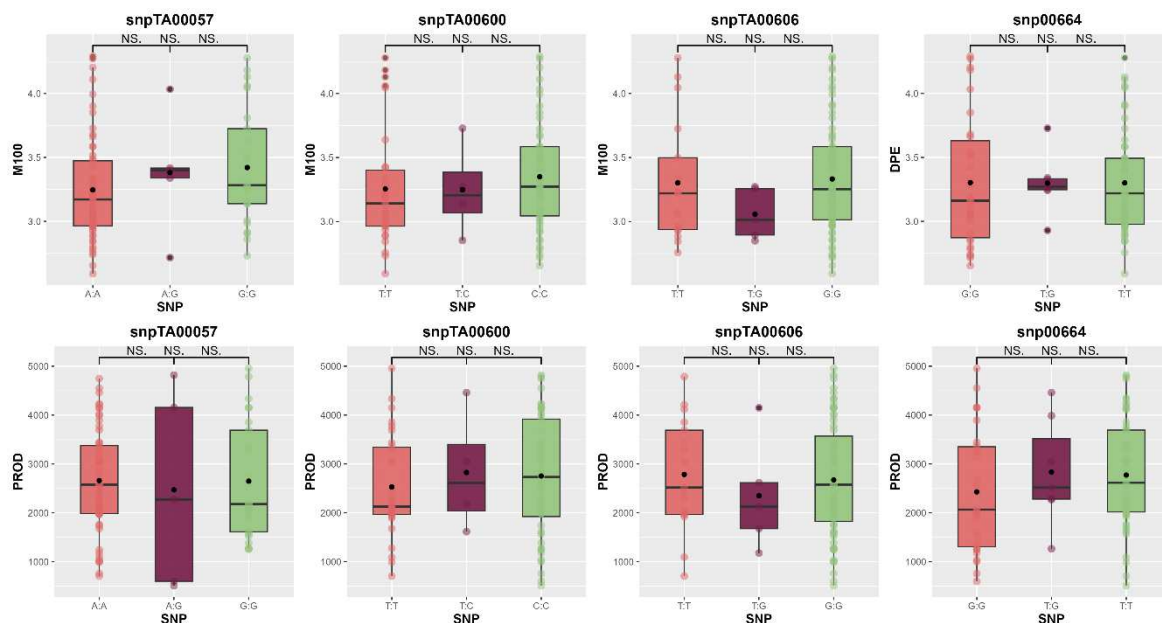


Figura 12 – *Boxplots* da segregação dos quatro marcadores para grãos.

Wamalwa et al. (2020) utilizaram 7 marcadores KASP (TaGS-D1, TaCKX-D1, TaCwi-4A, TaSus1-7B, TaGS5-A1, TEF-7A, TaGS1a) em germoplasma do Leste Africano e apenas 1 marcador mostrou efeito significativo no peso de mil grãos (TACKX-D1). Os autores concluíram que a falta de efeito fenotípico no estudo possa ter sido devido a diferenças na estrutura de haplótipos entre a população de trigo do Leste Africano e a população de estudo original usada para identificar esses marcadores, além do fato de esta característica ser altamente dependente do ambiente.

Sukumaran et al. (2018) utilizaram 10 ambientes diferentes e não encontraram um efeito consistente e significativo para tamanho do grão com o marcador para o gene TaGW2-A.

## 6. CONCLUSÃO

Os marcadores snpTA00019 e snpTA00665 falharam na amplificação e snpTA00018, snpTA00601 e snpTA00608 foram monomórficos. O marcador para altura snpTA0002 apresentou associação significativa quando comparado em conjunto com o marcador para o gene Rht-B1, denotando a necessidade de usar estes dois marcadores juntos. Os marcadores para fotoperíodo snpTA0003 e snpTA0008 tiveram associação significativa com os dados fenotípicos para dias para espigamento, produção e massa de 100 grãos. As associações para tamanho de grão não foram significativas para nenhum marcador.

## 7. REFERÊNCIAS

ACHILLI, A. L. et al. Population structure, allelic variation at Rht-B1 and Ppd-A1 loci and its effects on agronomic traits in Argentinian durum wheat. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 9629, 10 jun. 2022.

ALBRECHT, J. C. et al. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de trigo irrigado no Cerrado do Brasil Central. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 12, p. 1727–1734, dez. 2007.

ALBRECHT, J. C. et al. **Trigo BRS 394 - nova cultivar para o cerrado**, 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/158174/1/ID44011-2016RCBPTTJULIO55-.pdf>. Acesso em: 28 abr. 2023

BAGGE, M.; XIA, X.; LUBBERSTEDT, T. Functional markers in wheat. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 2, p. 211–216, abr. 2007.

BEALES, J. et al. A Pseudo-Response Regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive Ppd-D1a mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 115, n. 5, p. 721–733, 24 ago. 2007.

BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. **Trigo do plantio à colheita**. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2015.

CALDAS, J. **Trigo irrigado no Cerrado bate recorde mundial de produtividade com cultivar da Embrapa**. **Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação**, 2021. Disponível em: [https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/64981073/trigo-irrigado-no-cerrado-bate-sucessivo-recorde-mundial-de-produtividade-com-cultivar-da-embrapa#:~:text=safrinha%20na%20regi%C3%A3o.,A%20cultivar%20de%20trigo%20irrigado%20BRS%20264%2C%20desenvolvida%20pela%20Embrapa,%2C%20de%20Cristalina%20\(GO\)>](https://www.embrapa.br/en/busca-de-noticias/-/noticia/64981073/trigo-irrigado-no-cerrado-bate-sucessivo-recorde-mundial-de-produtividade-com-cultivar-da-embrapa#:~:text=safrinha%20na%20regi%C3%A3o.,A%20cultivar%20de%20trigo%20irrigado%20BRS%20264%2C%20desenvolvida%20pela%20Embrapa,%2C%20de%20Cristalina%20(GO)>). Acesso em: 1 jun. 2023

CHAGAS, J. H. et al. **Informações fitotécnicas das cultivares de trigo BRS 254, BRS 264 e BRS 394 para o sistema irrigado do Cerrado do Brasil Central**. , 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/216292/1/CirTec-54.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2023

CHAGAS, J. H. et al. **Tecnologia de produção de trigo sequeiro no Cerrado do Brasil Central**. Passo Fundo, RS: [s.n.].

COLLARD, B. C. Y.; MACKILL, D. J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 363, n. 1491, p. 557–572, 12 fev. 2008.

CONAB. **A cultura do trigo**. (A. A. de Oliveira Neto, C. M. R. Santos –, Eds.), 2017. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/outras-publicacoes/item/2903-2017-a-cultura-do-trigo>>

CONAB. **Análise mensal, trigo**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<file:///C:/Users/edufi/Downloads/Trigo-Analise-Mensal-Maio-2023.pdf>>. Acesso em: 30 maio. 2023.

DAYANI, S.; SABZALIAN, M. R.; MAZAHARI-TIRAN, M. CRISPR/Cas9 Genome Editing in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genetic Improvement. Em: AL-KHAYRI, J. M.; JAIN, S. M.; JOHNSON, D. V. (Eds.). **Advances in Plant Breeding Strategies: Cereals: Volume 5**. Cham: Springer International Publishing, 2019.

DE SOUSA, T. et al. The 10,000-Year Success Story of Wheat! **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2124, 8 set. 2021.

DWININGSIH, Y.; RAHMANINGSIH, M.; ALKAHTANI, J. Development of Single Nucleotide Polymorphism (SNP) Markers in Tropical Crops. **Advance Sustainable Science, Engineering and Technology**, v. 2, n. 2, 19 nov. 2020.

ELLIS, M. et al. “Perfect” markers for the Rht-B1b and Rht-D1b dwarfing genes in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, n. 6, p. 1038–1042, nov. 2002.

FALEIRO, F. G.; SOUSA, E. DOS S. DE (ED). **Pesquisa, desenvolvimento e inovação para o Cerrado**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007.

FAO. **The future of food and agriculture – Alternative pathways to 2050**. , 2018. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/I8429EN/i8429en.pdf>>. Acesso em: 15 maio. 2023

FERNIE, A. R.; YAN, J. De Novo Domestication: An Alternative Route toward New Crops for the Future. **Molecular Plant**, v. 12, n. 5, p. 615–631, maio 2019.

GREWAL, S. et al. Chromosome-specific KASP markers for detecting *Amblyopyrum muticum* segments in wheat introgression lines. **The Plant Genome**, v. 15, n. 1, mar. 2022.

JIANG, Y. et al. A yield-associated gene TaCWI, in wheat: its function, selection and evolution in global breeding revealed by haplotype analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 128, n. 1, p. 131–143, jan. 2015.

KAUR, B. et al. Utilization of KASP technology for wheat improvement. **Cereal Research Communications**, v. 48, n. 4, p. 409–421, dez. 2020.

LGC BIOSEARCH TECHNOLOGIES. **Analysis of end-point genotyping data using cluster plots**. 2019. Disponível em: <<https://biosearch-cdn.azureedge.net/assetsv6/Analysis-of-KASP-genotyping-data-using-cluster-plots.pdf>>

LIU, Y. et al. Functional markers in wheat: current status and future prospects. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 125, n. 1, p. 1–10, jun. 2012.

MACCAFERRI, M.; BRUSCHI, M.; TUBEROSA, R. Sequence-Based Marker Assisted Selection in Wheat. Em: REYNOLDS, M. P.; BRAUN, H.-J. (Eds.). **Wheat Improvement: Food Security in a Changing Climate**. Cham: Springer International Publishing, 2022.

- MAKHOUL, M. et al. Overcoming polyploidy pitfalls: a user guide for effective SNP conversion into KASP markers in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, n. 8, p. 2413–2430, ago. 2020.
- MELLERS, G. et al. Genetic Characterization of a Wheat Association Mapping Panel Relevant to Brazilian Breeding Using a High-Density Single Nucleotide Polymorphism Array. **G3 Genes|Genomes|Genetics**, v. 10, n. 7, p. 2229–2239, 1 jul. 2020.
- MITCHELL, A.; FINCH, L. R. Enzymes of pyrimidine metabolism in *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. **Journal of Bacteriology**, v. 137, n. 3, p. 1073–1080, mar. 1979.
- MOURAD, A. M. I. et al. Recent Advances in Wheat (*Triticum* spp.) Breeding. Em: AL-KHAYRI, J. M.; JAIN, S. M.; JOHNSON, D. V. (Eds.). **Advances in Plant Breeding Strategies: Cereals**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 559–593.
- OLIVOTO, T.; LÚCIO, A. D. metan: An R package for multi-environment trial analysis. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 11, n. 6, p. 783–789, jun. 2020.
- PREECE, C. et al. How did the domestication of Fertile Crescent grain crops increase their yields? **Functional Ecology**, v. 31, n. 2, p. 387–397, fev. 2017.
- R FOUNDATION FOR STATISTICAL COMPUTING. **R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing [Software]**. Vienna, Austria, 2023.
- ROMERO-PÉREZ, A. et al. Designing and evaluation of sodium selenite nanoparticles in vitro to improve selenium absorption in ruminants. **Veterinary Research Communications**, v. 34, n. 1, p. 71–79, jan. 2010.
- RUTKOSKI, J. E.; KRAUSE, M. R.; SORRELLS, M. E. Breeding Methods: Population Improvement and Selection Methods. Em: REYNOLDS, M. P.; BRAUN, H.-J. (Eds.). **Wheat Improvement: Food Security in a Changing Climate**. Cham: Springer International Publishing, 2022.
- SEMAGN, K. et al. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. **Molecular Breeding**, v. 33, p. 1–14, 2014a.
- SEMAGN, K. et al. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. **Molecular Breeding**, v. 33, n. 1, p. 1–14, jan. 2014b.
- SON, J.-H. et al. ISSR-derived Molecular Markers for Korean Wheat Cultivar Identification. **Plant Breeding and Biotechnology**, v. 1, n. 3, p. 262–269, 30 set. 2013.
- SONG, L. et al. Molecular Markers and Their Applications in Marker-Assisted Selection (MAS) in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Agriculture**, v. 13, n. 3, p. 642, 8 mar. 2023a.
- SONG, L. et al. Molecular Markers and Their Applications in Marker-Assisted Selection (MAS) in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). **Agriculture**, v. 13, n. 3, p. 642, 8 mar. 2023b.

SOUSA, C. N. A. de.; CAIERÃO, E. **Cultivares de trigo indicadas para cultivo no Brasil e instituições criadoras – 1922 a 2014.** – 2. ed. rev.e ampl. - Brasília, DF : Embrapa, 2014. 200 p.; 15,5 x 22,0 cm. ISBN 978-85-7035-384-9

SU, Z. et al. Identification and development of a functional marker of TaGW2 associated with grain weight in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 122, n. 1, p. 211–223, jan. 2011.

SUKUMARAN, S., Lopes, M., Dreisigacker, S. et al. Genetic analysis of multi-environmental spring wheat trials identifies genomic regions for locus-specific trade-offs for grain weight and grain number. **Theoretical and Applied Genetics** v. 131, p. 985–998, dez. 2018.

SUN, C. et al. The Wheat 660K SNP array demonstrates great potential for marker-assisted selection in polyploid wheat. **Plant Biotechnology Journal**, v. 18, n. 6, p. 1354–1360, jun. 2020.

TAN, C. et al. Development and Validation of KASP Markers for Wheat Streak Mosaic Virus Resistance Gene *Wsm2*. **Crop Science**, v. 57, n. 1, p. 340–349, jan. 2017.

TRETHOWAN, R. M. Abiotic Stresses. Em: REYNOLDS, M. P.; BRAUN, H.-J. (Eds.). **Abiotic Stresses**. Cham: Springer International Publishing, 2022.

USDA. **Grain: World Markets and Trade**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/grain.pdf>>. Acesso em: 30 maio. 2023.

WANG, S. et al. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90 000 single nucleotide polymorphism array. **Plant Biotechnology Journal**, v. 12, n. 6, p. 787–796, ago. 2014.

WANG, S. et al. Haplotypes of the TaGS5-A1 Gene Are Associated with Thousand-Kernel Weight in Chinese Bread Wheat. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, 3 jun. 2016.

**World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2022**. [s.l.] FAO, 2022.

ZHANG, B. et al. Novel function of a putative MOC1 ortholog associated with spikelet number per spike in common wheat. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 12211, 22 jul. 2015.

ZHANG, L. et al. *TaCKX6-D1*, the ortholog of rice *OsCKX2*, is associated with grain weight in hexaploid wheat. **New Phytologist**, v. 195, n. 3, p. 574–584, ago. 2012.

ZHANG, S. et al. CRISPR/Cas9-mediated genome editing for wheat grain quality improvement. **Plant Biotechnology Journal**, v. 19, n. 9, p. 1684–1686, set. 2021.

ZHANG, Y. et al. TaGS-D1, an ortholog of rice OsGS3, is associated with grain weight and grain length in common wheat. **Molecular Breeding**, v. 34, n. 3, p. 1097–1107, out. 2014.

ZIKHALI, M. et al. The identification of new candidate genes *Triticum aestivum* *FLOWERING LOCUS T3-B1* (*TaFT3-B1*) and *TARGET OF EAT1* (*TaTOE1-B1*) controlling the short-day photoperiod response in bread wheat: The identification of new candidate genes controlling short-day photoperiod response in bread wheat. **Plant, Cell & Environment**, v. 40, n. 11, p. 2678–2690, nov. 2017.

ZIKHALI, M.; WINGEN, L. U.; GRIFFITHS, S. Delimitation of the *Earliness per se D1* (*Eps-D1*) flowering gene to a subtelomeric chromosomal deletion in bread wheat (*Triticum aestivum*). **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 1, p. 287–299, jan. 2016.

## APÊNDICES

**Tabela suplementar 1** - Resumo dos resultados dos testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Regressão Linear para o marcador snpTA0002.

Gene	Variável	Teste de Kruskal-Wallis	Teste de Mann-Whitney		Regressão Linear		
		p-valor	Comparação	p-valor	R <sup>2</sup>	F	p-valor
Rht-D1 + Rht-B1	AP	0.02459*	-	-	0.5538	19.86	0.0003979**
	PROD	0.02459*	-	-	0.3651	9.201	0.007909**
	DPE	0.02437*	-	-	0.5095	16.62	0.0008778*
	M100	0.2061*	-	-	0.0865	1.515	0.2362
	AP	0.9911	-	-	0.003826229	0.338	0.5625
Rht-D1	PROD	0.0009959**	0-1	0.118	0.1183	11.81	0.0009007**
			0-2	0.006*			
			1-2	0.063*			
	DPE	0.01321*	0-1	0.02919*	0.0541	5.033	0.02738*
			0-2	0.06579			
			1-2	0.02236*			
	M100	0.04847*	0-1	0.6227	0.06007	5.624	0.0199*
0-2			0.02807				
1-2			0.2237				

DPE: dias para espigamento; PROD: produção; M100: Massa de 100 grãos; AP: Altura de Planta; \*: significativo a  $p < 0,05$ ; \*\*: significativo a  $p < 0,01$ ;

**Tabela suplementar 2** - Resumo dos resultados dos testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Regressão Linear para o marcador snpTA00003.

Marcador	Variável	Teste de Kruskal-	Teste de Mann-Whitney		Regressão Linear		
		Wallis	Comparação	p-valor	R <sup>2</sup>	Estatística F	p-valor
snpTA00003	DPE	0.007428**	0-1	0.032*	0.1202	11.2	0.001236**
			0-2	0.002**			
			1-2	0.898			
	PROD	0.01273**	0-1	0.205	0.0875	7.863	0.006298**
			0-2	0.003**			
			1-2	0.757			
	M100	0.008006**	0-1	0.047*	0.09153	8.262	0.005155**
			0-2	0.008**			
			1-2	0.856			
	AP	0.5158	-	-	-	-	-

DPE: dias para espigamento; PROD: produção; M100: Massa de 100 grãos; AP: Altura de Planta; \*: significativo a  $p < 0,05$ ; \*\*: significativo a  $p < 0,01$ ;

**Tabela suplementar 3** - Resumo dos resultados dos testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Regressão Linear para o marcador snpTA00008.

Marcador	Variável	Teste de Kruskal-Wallis	Teste de Mann-Whitney		Regressão Linear		
		p-valor	Comparação	p-valor	R <sup>2</sup>	Estatística F	p-valor
snpTA00008	DPE	1.081e-06**	0-1	0.264	0.2468	28.51	7.34e-07
			0-2	0.00000113**			
			1-2	0.006*			
	PROD	0.001145**	0-1	0.817	0.1535	15.78	0.0001463
			0-2	0.00048**			
			1-2	0.071			
	M100	1.158e-06**	0-1	0.172	0.2732	32.7	1,49E-04
			0-2	0.000000852**			
			1-2	0.012*			
	AP	0.0254*	0-1	0.659	0.03491	3.147	0.07958
			0-2	0.05*			
			1-2	0.188			

DPE: dias para espigamento; PROD: produção; M100: Massa de 100 grãos; AP: Altura de Planta; \*: significativo a  $p < 0,05$ ; \*\*: significativo a  $p < 0,01$ ;

**Tabela suplementar 4** - Resumo dos resultados dos testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Regressão Linear para o marcador snpTA0017.

Marcador	Variável	Teste de Kruskal-Wallis	Teste de Mann-Whitney		Regressão Linear		
		p-valor	Comparação	p-valor	R <sup>2</sup>	Estatística F	p-valor
snpTA00017	DPE	0.04787*	0-1	1	0.07767	6.989	0.009803
			0-2	0.06904*			
			1-2	0.02812*			
	PROD	0.1217	-	-	-	-	-
	M100	0.02026*	0-1	0.9762	0.07871	7.091	0.009303
			0-2	0.02156*			
1-2			0.02953*				
AP	0.4405	-	-	-	-	-	

DPE: dias para espigamento; PROD: produção; M100: Massa de 100 grãos; AP: Altura de Planta; \*: significativo a  $p < 0,05$ ; \*\*: significativo a  $p < 0,01$ ;

**Tabela suplementar 5** - Resumo dos resultados dos testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Regressão Linear para o marcador snpTA00020 e snpTA00425.

Marcador	Variável	Teste de Kruskal-Wallis
		p-valor
snpTA00020	DPE	0.2289 <sup>ns</sup>
	PROD	0.2289 <sup>ns</sup>
	M100	0.2289 <sup>ns</sup>
	AP	0.2290 <sup>ns</sup>
snpTA00425	DPE	0.9808 <sup>ns</sup>

PROD	0.9808 <sup>ns</sup>
M100	0.9808 <sup>ns</sup>
AP	0.9808 <sup>ns</sup>

DPE: dias para espigamento; PROD: produção; M100: Massa de 100 grãos; AP: Altura de Planta; ns: não significativo.

**Tabela suplementar 6** - Resumo dos resultados dos testes de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney e Regressão Linear para os marcadores para tamanho de grão.

Marcador	Variável	Teste de Kruskal-
		Wallis
		p-valor
snpTA00057	DPE	0.984 <sup>ns</sup>
	PROD	0.9076 <sup>ns</sup>
	M100	0.1871 <sup>ns</sup>
	AP	0.187 <sup>ns</sup>
snpTA00600	DPE	0.161 <sup>ns</sup>
	PROD	0.597 <sup>ns</sup>
	M100	0.411 <sup>ns</sup>
	AP	0.0135 <sup>ns</sup>
snpTA00600	DPE	0.3893 <sup>ns</sup>
	PROD	0.7587 <sup>ns</sup>
	M100	0.3417 <sup>ns</sup>
	AP	0.7598 <sup>ns</sup>
snpTA00600	DPE	0.9172 <sup>ns</sup>
	PROD	0.3351 <sup>ns</sup>
	M100	0.7962 <sup>ns</sup>
	AP	0.3809 <sup>ns</sup>

DPE: dias para espigamento; PROD: produção; M100: Massa de 100 grãos; AP: Altura de Planta; ns: não significativo