

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

GENÉTICA E MAPEAMENTO MOLECULAR DA RESISTÊNCIA PARCIAL À  
FERRUGEM DA FOLHA DA AVEIA (*AVENA SATIVA* L.)

Marta Martins Barbosa  
Bióloga M. Sc.

Tese apresentada como um dos  
requisitos à obtenção do Grau de  
Doutor em Fitotecnia  
Área de Concentração Plantas de Lavoura

Porto Alegre (RS), Brasil  
Julho de 2002

## Homologação

## AGRADECIMENTOS

A Deus que me acompanha sempre,

Ao Professor Luis Carlos Federizzi, pela confiança em mim depositada para desenvolver este trabalho, que foi fundamental para a concretização deste objetivo, e também pelo apoio durante o curso e preparação da tese.

À Professora Sandra C. K. Milach, por ter aceito a co-orientação deste trabalho e por ter acompanhado-o desde o início, em todas as etapas, dispondo de seu tempo e trabalho.

Aos Professores Suzana Cavalli Molina e José Antônio Martinelli, membros da comissão de orientação, pelas importantes contribuições para o trabalho,

Aos meus pais Raul e Geni, que foram meus grandes incentivadores e a quem devo todas as minhas conquistas,

Ao Ariano, meu grande companheiro de todos os momentos, pelo seu apoio, compreensão e incentivo inesgotáveis,

Aos meus irmãos Beto e Regina, meus cunhados Ademar e Clarisse e meus queridos sobrinhos Guto, Manú, Dú e Lipe, pelos momentos tão bons que passamos juntos e pelas boas risadas que compartilhamos, as quais tornaram mais amenos os momentos mais difíceis,

À Greicy, minha querida amiga, sempre disposta a colaborar no trabalho, dando sua palavra de estímulo quando alguma coisa não acontecia conforme esperado,

Ao Émerson, pela amizade, companheirismo, e pela sua inata solicitude,

À Cândida Raquel, pela amizade, companheirismo e pelos incontáveis géis nos quais colaborou como segunda leitora, sempre com entusiasmo e interesse pelos resultados,

A Gracinha, que me auxiliou durante alguns meses, e por quem, embora tenhamos tido pouco tempo de convivência, tenho um grande carinho,

Ao Paulo Henrique, colega de curso e de laboratório, pela troca de idéias, pelo companheirismo e amizade durante o curso, e pela ajuda com o SAS.

Aos colegas de laboratório e/ou de curso Dani, Paulo Roberto, Roberto, Luís Marcelo, Cícero, Émerson, Cândida Raquel, Greicy, Gracinha, Caren, Cândida Cabral, Paulo Henrique, Vinícius, Roberta, Gustavo, Fábio, Fernando, Tati, Cláudia Lange, Larissa, Mariângela, Mara e Sérgio Lopes, pela amizade, pelo companheirismo e pela convivência que tornaram a longa jornada de trabalho mais agradável.

À Márcia Chaves, pela amizade e por ter estado sempre disposta a ajudar-me quando iniciei este trabalho,

À Marilusse Disconzi, sempre simpática, com quem trocava idéias preciosas sobre as técnicas mirabolantes de se preparar um gel de poliacrilamida,

Ao professor José Barbosa Neto, pela contribuição para a representação gráfica dos grupos de ligação dos mapas moleculares,

Ao Técnico de laboratório Celso Alves e à Secretária da Pós-graduação Marisa Carvalho Bello, pela amizade e convivência,

Aos demais Professores e funcionários do Departamento de Plantas de Lavoura,

E ao CNPq pelo apoio financeiro.

# GENÉTICA E MAPEAMENTO MOLECULAR DA RESISTÊNCIA PARCIAL À FERRUGEM DA FOLHA DA AVEIA (*AVENA SATIVA* L.)<sup>1/</sup>

Autora: Marta Martins Barbosa  
Orientador: Luiz Carlos Federizzi  
Co-orientadora: Sandra Cristina Kothe Milach

## RESUMO

A ferrugem da folha é a moléstia de maior importância econômica para a cultura da aveia e a resistência qualitativa, geralmente utilizada para o seu controle, apresenta pouca durabilidade. A utilização de resistência parcial, caracterizada pelo progresso lento da moléstia, tem sido reconhecida como alternativa para obtenção de genótipos com resistência mais durável. Os objetivos deste trabalho foram determinar o progresso da ferrugem, o controle genético da resistência, e identificar marcadores moleculares associados a essa resistência, em várias gerações e anos. Populações  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$  e  $F_6$  do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 (sucetível/parcialmente resistente) (1998, 1999 e 2000) e  $F_2$  do cruzamento UFRGS7/UFRGS922003 (1998), foram avaliadas a campo quanto à porcentagem de área foliar infectada, para determinar a área sob a curva do progresso da doença (ASCPD). Mapeamento molecular, com marcadores AFLP (amplified fragment length polymorphism), foi realizado em  $F_2$  e  $F_6$ , do primeiro cruzamento, identificando marcadores associados à resistência quantitativa ("quantitative resistance loci" ou QRLs). Resultados de três anos evidenciaram alta influência do ambiente na expressão da resistência, apresentando, entretanto, variabilidade genética para resistência parcial nas populações segregantes. A distribuição de frequências do caráter ASCPD nas linhas recombinantes  $F_5$  e  $F_6$  foi contínua, indicando a presença de vários genes de pequeno efeito em seu controle. Estimativas de herdabilidade variaram de moderada a alta. O mapa molecular  $F_2$  foi construído com 250 marcadores, em 37 grupos de ligação, e o mapa  $F_6$  com 86 marcadores em 17 grupos de ligação. Cinco QRLs foram identificados na  $F_2$  e três na  $F_6$ . O QRL identificado na  $F_6$ , pelo marcador PaaMtt340 apresentou consistência em dois ambientes.

---

<sup>1/</sup> Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, ( 113 p. ) Julho, 2002.

# GENETICS AND MOLECULAR MAPPING OF PARTIAL RESISTANCE OF CROWN RUST IN OAT (*AVENA SATIVA* L.)<sup>1/</sup>

Author: Marta Martins Barbosa  
Advisers: Luiz Carlos Federizzi  
Sandra Cristina Kothe Milach

## ABSTRACT

Crown rust is the most economic important disease on the oat crop. Qualitative resistance is used to control crown rust, but it is not durable. The development of genotypes possessing quantitative resistance has been recognized as the most promising alternative to improve genotypes with a more durable resistance. The objectives of this research were to determine the crown rust progress as well as its genetic control, and to identify molecular markers associated to resistance, in different generations and different years. Populations F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub> and F<sub>6</sub> of the cross UFRGS7 X UFRGS910906 (susceptible X partial resistance) (1998, 1999 and 2000) and F<sub>2</sub> of the cross UFRGS7 X UFRGS922003 (1998), were evaluated under field conditions regarding the percentage of infected leaf area to determine the area under the disease progress curve (AUDPC). Molecular mapping with AFLP markers (amplified fragment length polymorphism) were done on F<sub>2</sub> and F<sub>6</sub> populations on the first cross, identifying molecular markers associated to quantitative resistance (quantitative resistance loci or QRLs). The results of three years study showed that regardless the great environmental effect on the expression of resistance, showing, nevertheless, variability for partial resistance on the segregating population. The frequencies distribution of AUDPC, was continuous for this trait in the recombinant inbred lines F<sub>5</sub> and F<sub>6</sub>, indicating the presence of several genes of small effects controlling the disease. The estimatives of heritability varied from moderate to high. The F<sub>2</sub> map was built up with 250 markers in 37 linkage groups, and the F<sub>6</sub> map was built up with 86 markers in 17 linkage groups. Five QRLs was identified on F<sub>2</sub> and three QRLs on F<sub>6</sub>. The QRL identified on F<sub>6</sub>, through the PaaMtt340 marker show consistency across two different environments.

---

<sup>1/</sup> Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. ( 113 p.) July, 2002.

## SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I:	01
1.1. INTRODUÇÃO	01
1.1.1. Importância econômica da aveia ( <i>Avena sativa</i> L.)	05
1.1.2. Ferrugem da folha da aveia	08
1.1.2.1. <i>Puccinia coronata</i> f. sp. <i>avenae</i> Fraser & Led.	08
1.1.2.2. Epidemiologia da ferrugem da folha da aveia	10
1.1.2.3. Influência do ambiente sobre a ferrugem da folha da aveia	12
1.1.3. Importância econômica da ferrugem da folha da aveia	13
1.1.4. Resistência parcial à ferrugem da folha da aveia	14
1.1.5. Mapeamento molecular	21
1.1.5.1. Base teórica do mapeamento	21
1.1.5.2. Marcadores moleculares	22
1.1.5.3. Mapeamento molecular em aveia	26
2. CAPÍTULO II: PROGRESSO DA FERRUGEM DA FOLHA EM GENÓTIPOS FIXOS DE AVEIA EM DIFERENTES ANOS	30
2.1. INTRODUÇÃO	31
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	34
2.2.1. Avaliação da severidade da ferrugem da folha	35
2.2.2. Análise Estatística	35
2.2.2.1. Área sob a curva do progresso da doença (ASCPD)	36
2.2.2.2. Teste de médias	36
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
2.4. CONCLUSÕES	44
3. CAPÍTULO III: CONTROLE GENÉTICO DA RESISTÊNCIA PARCIAL À FERRUGEM DA FOLHA EM AVEIA	45
3.1. INTRODUÇÃO	46
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	49
3.2.1. Avaliação da severidade da ferrugem da folha	52
3.2.2. Análise Estatística	53
3.2.2.1. Área sob a curva do progresso da doença (ASCPD)	53
3.2.2.2. Componentes de variância	53
3.2.2.3. Componentes de médias	54
3.2.2.4. Estimativas de herdabilidade	54
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.3.1. Severidade da ferrugem da folha	55
3.3.2. Controle genético da resistência parcial	62
3.3.2.1. Componentes de variância	62
3.3.2.2. Distribuição de freqüências da ASCPD	65
3.3.2.3. Componentes de médias	67
3.3.2.4. Estimativas de herdabilidade	67
3.4. CONCLUSÕES	70

4. CAPÍTULO IV: MAPEAMENTO MOLECULAR E IDENTIFICAÇÃO DE LOCOS RELACIONADOS À RESISTÊNCIA PARCIAL À FERRUGEM DA FOLHA EM AVEIA ( <i>AVENA SATIVA</i> L.) .....	72
4.1. INTRODUÇÃO .....	73
4.2. MATERIAL E MÉTODOS .....	75
4.2.1. Mapeamento molecular da população $F_2$ : .....	76
4.2.1.1. Pré-amplificação .....	76
4.2.1.2. Amplificação Seletiva .....	76
4.2.1.3. Identificação de marcadores .....	77
4.2.2. Mapeamento molecular da população $F_6$ .....	78
4.2.2.1. Extração e quantificação de DNA .....	78
4.2.2.2. Restrição do DNA .....	79
4.2.2.3. Ligação dos adaptadores e ligação ao DNA .....	79
4.2.2.4. Pré-amplificação, amplificação seletiva e identificação dos marcadores .....	79
4.2.3. Mapeamento comparativo entre as populações $F_2$ e $F_6$ .....	79
4.2.4. Análise morfológica da característica de resistência parcial à ferrugem da folha da aveia .....	80
4.2.5. Análise estatística .....	80
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	81
4.3.1. Mapeamento molecular da população $F_2$ .....	81
4.3.2. Mapeamento molecular da população $F_6$ .....	89
4.3.3. Mapeamento comparativo entre as populações $F_2$ e $F_6$ .....	93
4.3.4. Identificação de QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia na população $F_2$ .....	96
4.3.5. Identificação de QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia na população $F_6$ .....	98
4.4. CONCLUSÕES .....	101
5. CAPÍTULO V: CONCLUSÕES .....	102
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104

## RELAÇÃO DE TABELAS

2.1. Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da ferrugem da folha da aveia, em genótipos de aveia, avaliados nos anos de 1998, 1999 e 2000. EEA. UFRGS. 2002.....	37
2.2. Médias de temperatura e valores absolutos de precipitação medidos na Estação Experimental Agronômica (EEA) em intervalos (dias) entre duas avaliações de severidade da ferrugem da folha da aveia, nos anos de 1998, 1999 e 2000. UFRGS. 2002.....	41
3.1. Médias, variâncias e área total sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da severidade da ferrugem da folha da aveia avaliadas nos parentais e nas populações segregantes, nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002.....	57
3.2. Variâncias fenotípicas (VF), variâncias genéticas (VG), variâncias ambientais (VE) para o caráter área foliar infectada da ferrugem da folha da aveia, avaliada nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002. ....	64
3.3. Estimativas dos efeitos gênicos $\underline{m}$ , $\underline{a}$ e $\underline{d}$ analisados pelo modelo aditivo-dominante para a característica área foliar infectada, testado para o cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. UFRGS. 2002.....	68
3.4. Estimativas de herdabilidade nos sentidos amplo ( $h^2a$ ) e restrito ( $h^2r$ ) para a característica área foliar infectada nos diferentes cruzamentos e gerações. UFRGS. 2002.....	69
4.1. Combinações de primers Pst/Mse utilizadas para amplificação seletiva, seguindo o protocolo de AFLP, para mapeamento das populações F <sub>2</sub> e F <sub>6</sub> . UFRGS. 2002.....	78
4.2. Grupos de ligação, número de marcadores, distância acumulada dos grupos de ligação e QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, no mapa F <sub>2</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. UFRGS. 2002.....	88
4.3 Grupos de ligação, número de marcadores, distância acumulada dos grupos de ligação e QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, no mapa F <sub>6</sub> o cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. UFRGS. 2002.....	93

4.4. Marcadores em comum identificados nas populações F <sub>2</sub> e F <sub>6</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 e os respectivos grupos de ligação a que foram integrados. UFRGS. 2002.....	94
4.5. “Quantitative resistance loci” (QRLs) identificados na população F <sub>2</sub> do cruzamento UFRGS7 / UFRGS910906, associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia. UFRGS. 2002....	96
4.6. “Quantitative resistance loci” (QRLs) identificados na população F <sub>6</sub> do cruzamento UFRGS7 / UFRGS910906, associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia. UFRGS. 2002.....	98

## RELAÇÃO DE FIGURAS

2.1. Progresso da ferrugem da folha em genótipos de aveia, avaliados nos anos de 1998, 1999 e 2000, na Estação Experimental Agronômica (EEA). UFRGS. 2002.....	39
3.1. Avanço de gerações realizado nas populações $F_1$ e $F_2$ do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002.....	51
3.2. Progresso da ferrugem da folha da aveia nos genótipos parentais e populações segregantes $F_2$ dos cruzamentos UFRGS7/UFRGS910906 e UFRGS7/UFRGS922003, avaliados quanto à área foliar infectada, em 1998, na EEA. UFRGS. 2002.....	59
3.3. Progresso da ferrugem da folha da aveia nos genótipos parentais e linhas das populações $F_3$ e $F_4$ do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, avaliados no ano de 1999, na EEA. UFRGS. 2002.....	61
3.4. Progresso da ferrugem da folha da aveia nos genótipos parentais e linhas das populações $F_5$ e $F_6$ do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, avaliados no ano de 2000, na EEA. UFRGS. 2002.....	63
3.5. Distribuições de freqüências do caráter área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) nos genótipos parentais e nas populações $F_2$ (A); $F_3$ (B); $F_4$ (C); $F_5$ (D) e $F_6$ (E) do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, avaliados a campo nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002.....	66
4.1. Mapa de ligação molecular da aveia baseado na população $F_2$ do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. Distâncias no mapa são dadas em centi-Morgan . LOD 10. QRLs identificados são indicados por setas. UFRGS. 2002.....	83
4.2. Mapa de ligação molecular da aveia baseado na população $F_6$ do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. Distâncias no mapa são dadas em centi-Morgan. LOD 10. QRLs identificados são indicados por setas. UFRGS. 2002.....	90

## **CAPÍTULO I**

### **1.1. Introdução**

A aveia (*Avena sativa* L.) é uma cultura importante tanto para a alimentação humana, como animal, podendo também ser utilizada como pastagem de inverno ou como adubo verde, apresentando efeito recuperador do solo. Destaca-se entre outros cereais, por suas propriedades nutricionais, apresentando de 16-21% de proteína no grão. O farelo e a farinha de aveia diminuem os níveis séricos de colesterol total, devido à presença da fibra solúvel  $\beta$ -glicana. A utilização da aveia na alimentação humana permite também, melhoras na digestão, diminuição da incidência de alta pressão sanguínea, de doenças do coração e diminuição da incidência de câncer de cólon, devido à alta concentração de fibras solúveis que possui. A aveia é também considerada como fonte de antioxidantes, atuando na remoção de radicais livres do organismo. Cultivada em várias partes do mundo, apresenta aproximadamente 14 milhões de hectares em área plantada e produção anual de cerca de 30 milhões de toneladas, os quais representam 1,6% da produção mundial total de grãos. Entretanto, a produção mundial de aveia tem sido reduzida devido a vários fatores, entre os quais estão as moléstias que atacam a cultura.

A ferrugem da folha é a principal moléstia da aveia em nível mundial. No Brasil, a ferrugem da folha ocorre todos os anos e freqüentemente apresenta alta

severidade, diminuindo tanto a quantidade, quanto a qualidade dos grãos de aveia. Cultivares com alto potencial de rendimento, suscetíveis à moléstia, reduzem drasticamente o rendimento quando expostas a altos níveis de ferrugem, podendo haver dano de até 50% no peso de grãos em cultivares elites de aveia, suscetíveis à doença.

As formas mais efetivas para o controle da ferrugem da folha são a utilização de fungicidas e a resistência varietal. A resistência varietal é a opção mais barata e ambientalmente mais favorável para o controle da doença, uma vez que o uso de produtos químicos, embora eficiente, eleva os custos e pode trazer danos ao ambiente.

A forma de resistência varietal mais fácil de ser obtida, e por essa razão a mais utilizada, é a resistência qualitativa, ou raça-específica. Entretanto, genes de resistência qualitativa exercem alta pressão de seleção sobre as raças do patógeno causador da ferrugem, resultando na superação da resistência do hospedeiro, em curto período de tempo. Por esse motivo, a resistência qualitativa é pouco durável, na maioria dos casos. Uma alternativa para aumentar a durabilidade da resistência é a obtenção de resistência quantitativa ou parcial.

A resistência parcial interfere na reprodução do patógeno e reduz a taxa de desenvolvimento da moléstia, ocorrendo efeitos combinados de redução no número de lesões, aumento do período de latência e menor produção de esporos. Como a resistência parcial não impede a reprodução do patógeno, a pressão de seleção sobre o mesmo é menor, e a resistência torna-se potencialmente mais durável. Um dos componentes utilizados para medir a resistência parcial é a área sob a curva do progresso da doença (ASCPD), a qual permite evidenciar diferentes níveis de resistência, auxiliando na identificação e

caracterização de genótipos hospedeiros que apresentam progresso lento da ferrugem, permitindo o acompanhamento da doença no tempo.

O controle genético desse tipo de resistência depende do patossistema em questão e pouco é conhecido a respeito do controle genético da resistência parcial à ferrugem da folha da aveia em genótipos brasileiros.

Uma ferramenta importante no estudo da resistência parcial tem sido o mapeamento molecular e identificação de QRLs (“Quantitative resistance loci” ou locos de resistência quantitativa). A construção de mapas moleculares permite obter cobertura e análise completas do genoma; localização de regiões genômicas que controlam caracteres úteis e utilização dessas informações para o melhoramento genético. Tais informações permitem uma nova estratégia para a avaliação de plantas com reações de resistência difíceis de serem medidas visualmente, como é o caso da resistência parcial, e para o desenvolvimento de germoplasma com resistência quantitativa.

No programa de melhoramento de aveia, do Departamento de Plantas de Lavoura, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, trabalhos vêm sendo realizados com resistência parcial desde 1995, na tentativa de desenvolver linhagens que apresentem esse tipo de resistência, combinada a características agrônomicas desejáveis. Neste programa foram produzidas várias populações segregantes, através de cruzamentos entre genótipos suscetíveis e parcialmente resistentes.

Nesse sentido, os objetivos deste trabalho foram: 1) determinar o progresso da ferrugem da folha em genótipos de aveia e suas populações segregantes, em diferentes anos, sob condições naturais de infecção; 2) estudar o controle genético envolvido na expressão da resistência parcial à ferrugem da folha da aveia em genótipos brasileiros; 3) desenvolver mapas moleculares em

linhas recombinantes de aveia; e 4) identificar QRLs (“quantitative resistance loci”) associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia.

As hipóteses nas quais basearam-se os objetivos foram de que: 1) existem diferenças genéticas entre genótipos para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia; 2) é possível determinar os mecanismos genéticos de herança da resistência parcial; 3) é possível identificar marcadores associados a essa resistência, a partir do desenvolvimento de mapas moleculares de linhas recombinantes de aveia.

O presente trabalho iniciou em 1998, dando prosseguimento aos trabalhos anteriores e foi composto de duas etapas: 1) determinação do progresso da ferrugem da folha em genótipos de aveia e suas populações segregantes, através de avaliações de severidade da moléstia e determinação dos mecanismos genéticos de herança; e 2) mapeamento molecular das populações  $F_2$  e  $F_6$  e identificação de QRLs. Na primeira etapa, foram utilizadas sementes  $F_2$  dos cruzamentos UFRGS7 / UFRGS910906 e UFRGS7 / UFRGS922003, sendo que populações do segundo cruzamento foram avaliadas somente em 1998. Populações  $F_2$  e  $F_3$  do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 foram semeadas a campo no ano de 1998 e as gerações foram avançadas nos anos de 1999 e 2000, sendo simultaneamente avaliadas quanto à severidade da ferrugem da folha, em condições naturais. Para quantificar a resistência parcial utilizou-se o componente área sob a curva do progresso da doença (ASCPD). Na segunda etapa, foram mapeadas molecularmente a população  $F_2$  e as linhas recombinantes  $F_6$  do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, através da identificação de marcadores do tipo AFLP (“amplified fragment length polymorphism”). A partir da construção dos mapas moleculares das populações recombinantes  $F_2$  e  $F_6$ , foram identificados marcadores ligados à locos de

resistência quantitativa (QRLs) associados à característica de resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, em ambas populações.

## 1.2. Revisão Bibliográfica

### 1.2.1. Importância econômica da aveia (*Avena sativa* L.)

A aveia cultivada é uma espécie alopoliplóide, autógama, de cultivo anual, com um ciclo de desenvolvimento de aproximadamente cinco meses, nas condições do Sul do Brasil, e, de maneira geral, tem adaptação a diferentes condições de solo e clima.

O gênero *Avena* L., apresenta quatro diferentes genomas: A, B, C e D, cada um com um número básico de sete cromossomos, os quais distribuem-se em espécies diplóides, tetraplóides e hexaplóides (Zhou et al., 1999). A espécie cultivada *A. sativa* é hexaplóide e apresenta número básico de cromossomos  $n = 3x = 21$ , distribuídos nos genomas A, C e D, sendo que a história da evolução da aveia poliplóide é vagamente entendida até o momento (Murphy & Jellen, 2000).

A aveia cultivada apresenta alto valor nutricional, possibilitando uma utilização diversificada na alimentação humana e animal. Como cultura de inverno é uma ótima alternativa para rotação de cultivo com o trigo, para a formação de pastagens de inverno, em cultivo isolado ou consorciado, para a elaboração de feno e silagem e como adubo verde, apresentando um reconhecido efeito de recuperação e conservação do solo (Carvalho et al., 1987).

A aveia destaca-se entre outros cereais devido as suas propriedades nutricionais, apresentando uma cariopse de grãos que contém de 16-21% de proteína (Forsberg & Shands, 1986). Estudos sugerem que o farelo e a farinha

de aveia diminuem os níveis séricos de colesterol total, devido à presença da fibra solúvel b-glucana neste cereal (Garcia et al., 2002). A utilização da aveia na alimentação humana permite também, melhora na digestão (Ali et al., 1986), diminuição da incidência de alta pressão sanguínea, e de doenças do coração (Liu et al., 1982), diminuição da incidência de câncer de cólon (Reddy, 1986), devido à alta concentração de fibras solúveis. A aveia é também fonte de antioxidantes, atuando na remoção de radicais livres do organismo, os quais são prejudiciais ao funcionamento da célula ( Peterson, 2002).

A aveia é cultivada em várias partes do mundo, totalizando uma área plantada de aproximadamente 14 milhões de hectares (USDA, 2001), com produção anual de aproximadamente 30 milhões de toneladas, a qual representa 1,6% da produção mundial total de grãos (Pullinen, 2000).

A maior parte da área cultivada com este cereal está nas regiões de clima temperado e úmido, principalmente América do Norte, Norte da Europa e Federação Russa, estando a última, em primeiro lugar, com 4,5 milhões de hectares, seguido do Canadá com 1,30 milhões e dos Estados Unidos com 0,94 milhões de hectares cultivados (USDA, 2001).

Mundialmente, a produção de aveia diminuiu em algumas regiões de cultivo nas últimas décadas. A Federação Russa, que produzia 15.876.000t em 1987, diminuiu para 10.530.000t em 1997 (Weaver, 1997), decrescendo para 6 milhões de toneladas em 2001. Os Estados Unidos que produzia 5.424.000t em 1987, baixou para 2.720.000t em 1997, e para 2.170.000t em 2001. A Alemanha produziu em 1987, 3.043,000t, em 1997, 1.500,000t e em 2001, 1.320,000t. O Canadá produziu 2.957,000t em 1987, 3.500,000t em 1997 e 1.300,000t em 2001(USDA, 2001). Vários fatores são responsáveis por esse declínio nos principais países produtores de aveia, estando entre eles a falta de demanda,

baixa lucratividade por hectare, programas governamentais e danos provocados por moléstias que atacam a cultura, bem como os altos custos para controlá-las, especialmente a ferrugem da folha (Weaver, 1997), além da competição do mercado entre a aveia e a soja (Federizzi & Stuthman, 1998). Entretanto, diferentemente de outros países produtores, o Brasil produziu 210.000t em 1987 e aumentou a produção para 320.000t em 1997 (Weaver, 1997). Os países da América do Sul produziram juntos aproximadamente 2 milhões de toneladas em 2001, sendo o maior produtor a Argentina (com 642.360t), seguido do Chile (com 344.527t) e do Brasil (com 317.342t) (USDA, 2001).

No ano de 2001, o Brasil cultivou 224mil hectares com aveia branca (USDA, 2001), e essa área atingiu 2 milhões de ha quando considerado o plantio com aveia preta (*Avena strigosa*), utilizada na sua maior parte como cobertura de solo (Federizzi, 2000). Federizzi & Stuthman (1998) sugerem que seria vantajoso para o Brasil aumentar sua produção de aveia de alta qualidade com vistas ao mercado de exportação. Segundo esses autores, a redução na produção dos Estados Unidos, Canadá e países da Europa, reforçada pelo aumento da demanda por produtos alimentícios mais saudáveis e pelos baixos estoques mundiais no momento, oferecem excelentes perspectivas de negócios no mercado mundial.

No Rio Grande do Sul, houve um aumento da área plantada com aveia devido à criação de variedades adaptadas, com alto potencial de rendimento e qualidade de grãos, boa estatura e ciclo precoce, as quais foram desenvolvidas pelos programas de melhoramento locais (Carvalho & Federizzi, 1989). Além disso, as novas variedades aumentaram o rendimento industrial de 51,5%, em 1982, para 67,7%, em 1991 (Federizzi, com. pessoal). Ganhos progressivos têm

sido alcançados no Sul do Brasil, sendo que em 1990 o rendimento foi de 920Kg/ha, aumentando para 1.425Kg/ha em 1997 (Almeida, 1997).

Apesar dos ganhos em rendimento, as condições de ambiente da região Sul do Brasil são muito propícias à ocorrência de moléstias, limitando a expressão do potencial de rendimento em genótipos suscetíveis. A ferrugem da folha da aveia tem sido historicamente a mais destrutiva, causando danos na quantidade e na qualidade de grãos deste cereal (Martinelli et al., 1994). No Rio Grande do Sul, as condições de umidade e temperatura favorecem o desenvolvimento da ferrugem da folha, sendo que o patógeno pode permanecer durante a estação de cultivo da aveia por um período de até 100 dias (Federizzi & Stuthman, 1998).

## **1.2.2. Ferrugem da folha da aveia**

### **1.2.2.1. *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led.**

*Puccinia coronata* é classificado como um fungo basidiomiceto da ordem *Uredinales*. Identificado como o agente causal da ferrugem da folha da aveia, o patógeno foi primeiramente relatado em 1872 nos Estados Unidos por C. H. Peck e atualmente está presente em várias partes do mundo (Simons, 1985). Caracteriza-se por ser um parasita obrigatório, policíclico e apresentar uma alta especialização fisiológica. *Puccinia coronata* é capaz de infectar vários hospedeiros na família *Poaceae*, nos quais pode ocorrer sob várias formas especiais morfológicamente semelhantes. A forma especial patogênica da aveia é denominada *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led., composta por várias raças capazes de infectar diferentes cultivares, promovendo efeitos que levam a reações desde alta resistência até extrema suscetibilidade (Coffman, 1961). Como os outros fungos causadores de ferrugem, *P. coronata* é capaz de

colonizar intercelularmente os tecidos vegetais e produzir haustórios, que retiram nutrientes diretamente da célula viva. Esse resgate de nutrientes pelo fungo, acompanhado da destruição da área foliar, em decorrência da formação de pústulas, afeta o processo de fotossíntese da planta (Simons, 1985).

*P. coronata* é, na maioria das vezes, um típico fungo heteroécio de ciclo longo. A condição de heteroécio significa que o fungo necessita de um hospedeiro alternativo para completar seu ciclo vital. O estágio de aécio, o qual caracteriza a fase sexual do fungo, tem sido relatado em todas as grandes áreas produtoras de aveia do hemisfério Norte, onde espécies de *Rhamnus* (hospedeiros alternativos) ocorrem próximas à área de cultivo da aveia. Porém, espécies suscetíveis de *Rhamnus* são raras ou inexistentes na América do Sul e na Austrália (Simons, 1985), sendo que não existem relatos de que a fase sexual ocorra nesses locais. No Brasil, *P. coronata* é autoécio, ou seja, envolve apenas um hospedeiro durante seu ciclo vital, não necessitando de hospedeiro alternativo e não apresentando fase sexual (Martinelli, 2000).

A característica mais marcante desse patógeno, em termos de melhoramento, é a alta variabilidade para virulência que apresenta, podendo rapidamente desenvolver novos patótipos virulentos que superem os genótipos resistentes em cultivo (Chong & Seaman, 1994). O aparecimento de novas raças virulentas tem origem predominantemente na mutação, havendo relatos de que o fungo pode apresentar um mutante a cada dois mil esporos produzidos (Zimmer et al., 1963). Outra possível fonte de variação patogênica é a anastomose, a qual ocorre por fusão de duas hifas através de reprodução assexuada (Simons, 1985).

Amostras de ferrugem foram coletadas nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, no ano de 1997, e analisadas quanto ao número

de raças. De um total de 53 amostras coletadas foram identificadas 53 raças diferentes de *P. coronata* f. sp. *avenae*. Esse estudo apresentou uma média geral de 20 genes de virulência por raça, sendo que o menor número de genes de virulência por raça do patógeno foi de 10 e o maior foi de 27 (Martinelli et al., 1998). Segundo os autores, os resultados desse trabalho evidenciam a grande diversificação da população de *P. coronata* f. sp. *avenae*, bem como a presença de raças muito complexas desse patógeno no Sul do Brasil.

Observações na Estação Experimental Agronômica da UFRGS em Eldorado do Sul, em 1998, feitas pelo grupo de melhoramento de aveia, demonstraram que 26 variedades diferenciadoras de raças para ferrugem da folha da aveia apresentaram a doença a campo, com infecção natural, indicando alta complexidade das raças existentes.

#### **1.2.2.2. Epidemiologia da ferrugem da folha da aveia**

A infecção de *A. sativa* por *P. coronata* inicia quando o esporo entra em contato com a planta e encontra condições propícias para sua germinação, sendo que a condição mais importante é a umidade, havendo a necessidade que um filme de água cubra o esporo para que a germinação ocorra (Heath, 1997).

A dispersão de esporos ocorre principalmente pelo vento, meio pelo qual os esporos das ferrugens são transportados, percorrendo geralmente grandes distâncias. Entretanto, os esporos de *P. coronata*, apesar de percorrerem longas distâncias, apresentam uma viabilidade menor que a maioria dos outros esporos das ferrugens (Heath, 1997).

As condições ideais para ocorrência e disseminação do patógeno são temperaturas amenas e alta umidade do ar. Quando depositados na planta, os uredósporos de muitos fungos das ferrugens respondem às características

topográficas da superfície da folha, através do desenvolvimento do tubo germinativo, que cresce em direção ao estômato, que é reconhecido pelo sulco presente em sua periferia. O tubo germinativo diferencia-se em uma estrutura chamada haustório e ocorre a penetração das estruturas do fungo no tecido da planta. Após a penetração, a colonização do tecido hospedeiro pode ser facilitada pela produção de fitotoxinas ou de compostos semelhantes a hormônios vegetais, que alteram a fisiologia das plantas em favor do patógeno (Heath, 1997).

A colonização pelo fungo se caracteriza pela formação de pústulas, no estágio de urédia, o qual ocorre principalmente na lâmina foliar da planta, mas há algumas extensões na bainha e estrutura floral. Nas cultivares suscetíveis, este estágio apresenta uma coloração amarelo alaranjado brilhante, cercado de pústulas oblongas que apresentam 5mm ou mais no comprimento, quando a infecção é leve. Cultivares com diferentes tipos e graus de resistência mostram reações que vão de pequenas manchas claras coloridas até pústulas de tamanho pequeno a médio cercado, geralmente, por áreas necróticas ou cloróticas bem definidas (Simons, 1985). Uma estrutura de resistência chamada telia usualmente aparece após o estágio de urédia estar bem estabelecido, algumas vezes formando anéis de coloração preta ou marrom-escuro (Simons, 1985), havendo também relatos dessa estrutura no Brasil (Chaves & Martinelli, 1997).

A ferrugem da folha é caracterizada como policíclica, ou seja, vários ciclos secundários ocorrem durante o desenvolvimento da moléstia, começando, tipicamente, com níveis muito baixos de infecção (Shaner, 1996), sendo que um ciclo se completa a cada sete dias. No Brasil, onde as condições ambientais são altamente propícias, o desenvolvimento da moléstia ocorre durante um período

de até 100 dias na cultura da aveia, permitindo a ocorrência de muitos ciclos de infecção. Além disso, outras espécies de gramíneas, presentes na área de cultivo da aveia, são formas de produção de inóculo. Segundo Federizzi & Stuthman (1998), considerando-se uma área de cultivo de aveia de aproximadamente 200 mil hectares, com um nível de ferrugem de 10%,  $1,2 \times 10^{17}$  esporos seriam produzidos anualmente.

### **1.2.2.3. Influência do ambiente sobre a ferrugem da folha da aveia**

Segundo Flor (1956), a resistência ou suscetibilidade de uma planta a um fungo causador de ferrugem e a avirulência ou virulência do patógeno em relação à planta, é a expressão da interação do complexo gênico e citoplasmático do hospedeiro com o complexo gênico e citoplasmático do patógeno, influenciado pelo ambiente que atua sobre hospedeiro e patógeno individualmente e sobre a interação entre ambos.

Os fatores que mais afetam o início e desenvolvimento da infecção em plantas são temperatura, umidade, luz e nutrientes. Os efeitos combinados desses fatores podem atuar na suscetibilidade do hospedeiro, na multiplicação e atividade do patógeno e, ainda, na interação hospedeiro-patógeno, influenciando assim, a severidade dos sintomas (Agrios, 1988). Segundo Prabhu & Moraes (1993), os níveis de doença nas plantas são variáveis devido a alterações na frequência da população do patógeno virulento, ao nível de resistência do hospedeiro, e as modificações do ambiente.

No caso da ferrugem da folha da aveia, as condições ambientais são também de grande importância, principalmente nas condições de cultivo brasileiras, as quais favorecem o desenvolvimento da infecção e a especialização do fungo, de maneira que muitas cultivares previamente

consideradas resistentes ou parcialmente resistentes podem ser fortemente infectadas (Federizzi et al., 1993). A severidade da infecção varia de um ano para outro, devido às alterações das condições climáticas. Estudos indicam a presença de interação genótipo/ano para a expressão da resistência à ferrugem da folha em condições do Sul do Brasil (Federizzi et al., 1993).

### **1.2.3. Importância econômica da ferrugem da folha em aveia**

A ferrugem da folha da aveia é a doença mais amplamente disseminada e danosa para a cultura deste cereal em nível mundial (Simons, 1985; Ohm & Shaner, 1992). Identificada há mais de 200 anos, é atualmente encontrada em todas as regiões de cultivo de aveia no mundo, sendo mais severa em áreas úmidas (Rooney et al., 1994). Desde 1900, há muitos relatos de grandes prejuízos no rendimento de aveia devido à moléstia. Em 1916, Gassner, relatou grandes perdas em lavouras do Uruguai antes mesmo do estágio de espigamento das plantas. Em 1942, D'Oliveira, relatou que uma epidemia de ferrugem da folha, em Portugal, foi tão severa que a colheita somente permitiu o suficiente para o plantio do cereal no ano seguinte. A partir disso, grandes epidemias foram relatadas no Sudeste da Europa, em Israel e na Austrália (dados sumarizados por Simons, 1985).

No Brasil, a ferrugem da folha é também a principal moléstia da aveia, ocorrendo todos os anos, sendo mais destrutiva quando o inverno é ameno e a primavera úmida (Forcelini, 2002). Pode-se dizer que a ferrugem da folha coexiste com essa cultura no Sul do Brasil, freqüentemente apresentando alta severidade (Martinelli et al., 1994). Esta alta severidade pode diminuir tanto a quantidade quanto à qualidade dos grãos de aveia (Martinelli & Federizzi, 1994). O uso de cultivares suscetíveis leva a uma redução nos componentes de

rendimento da panícula, tais como: número de panículas, peso de panícula, número de grãos, peso de grãos e peso de mil grãos, dependendo do genótipo e do nível de infecção (Cruz et al., 1999). No Brasil, dano de até 50% no peso de grãos foi observado em cultivares elites de aveia de alto potencial de rendimento, suscetíveis à ferrugem da folha, sendo que uma porcentagem de infecção de apenas 5% de ferrugem foi suficiente para reduzir o rendimento de grãos em 478 kg/ha, na cultivar suscetível UFRGS 7 (Martinelli et al., 1994). Forcelini (2002) relata que intensidades pequenas de ferrugem causam dano significativo ao rendimento, podendo chegar a 50Kg/ha para cada 1% de severidade.

A resistência de cultivares é considerada uma forma de controle efetiva da ferrugem da folha da aveia. O desenvolvimento e utilização de variedades de aveia resistentes ou menos suscetíveis, é uma opção mais barata e ambientalmente favorável para o controle da doença. Uma forma alternativa de controle da doença é o uso de produtos químicos, que embora eficientes, aumentam os custos financeiros, uma vez que cada aplicação de fungicida recomendado pode custar até 30 dólares por hectare (Picinini & Fernandes, 1994). Além dos custos financeiros imediatos, podem ocorrer custos ao ambiente e relativos à saúde dos trabalhadores e comunidades rurais.

#### **1.2.4. Resistência parcial à ferrugem da folha da aveia**

Resistência pode ser definida como a habilidade do hospedeiro para retardar o crescimento e desenvolvimento do patógeno, podendo ser classificada como raça-específica ou raça-não-específica, sendo que a obstrução da doença poderá variar de leve a total (Parlevliet, 1979).

O tipo de resistência mais utilizado nos programas de melhoramento tem sido a resistência completa, com interação raça-específica, que pode ser

caracterizada como aquela que não permite o crescimento do patógeno. Quando a resistência qualitativa está presente, o fungo penetra a planta facilmente, porém, as células são sensíveis à presença do patógeno e sua reação é tão violenta que o tecido na vizinhança imediata do micélio morre rapidamente. Como o patógeno é um parasita obrigatório, o resultado é uma reação de resistência, chamada hipersensibilidade. Nesse caso não ocorrem ciclos secundários e poucas células da planta são mortas.

Resistência conferida por genes maiores presentes em variedades extensivamente cultivadas, embora seja um método bem sucedido de controle da doença, geralmente, permanece eficiente por poucos anos antes que o patógeno supere a resistência, diminuindo a durabilidade da resistência (Ohm & Shaner, 1992). Apesar de existirem na literatura alguns relatos de resistência durável sob controle genético de um ou dois genes de grande efeito (Johnson, 1984; Johnson, 2000), na maioria dos casos, ocorre a perda da resistência. Isto ocorre porque a resistência completa para todas as raças do fungo aumenta a pressão de seleção sobre o patógeno, resultando no desenvolvimento de novas raças virulentas (Brière & Kushalappa, 1995) e na conseqüente “quebra” da resistência. Em função da alta taxa de mutação que *P. coronata* apresenta, em relação aos outros fungos do gênero *Puccinia*, a sua capacidade para superar a resistência do hospedeiro é também maior (Chong & Seaman, 1994).

Na Europa, quase todos genes maiores de resistência à ferrugem da folha em cevada (designados *Pa* ou *Rph*), foram completamente superados pela adaptação do patógeno, incluindo os genes *Rph3* e *Rph12*, os quais foram considerados os mais efetivos e mais amplamente usados nos programas de melhoramento daquele local (Kicherer et al., 2000).

No Brasil, exemplos de “quebra de resistência” ocorreram em trigo, sendo um deles com a cultivar Alondra, portadora do gene *Lr 26*, a qual teve sua resistência superada antes mesmo de seu cultivo em escala comercial. Outro exemplo pode ser dado pelas cultivares Tifton e CEP14, que tornaram-se suscetíveis um ano após o lançamento (Barcellos et al., 1997). No RS, cultivares de aveia têm mantido a efetividade da resistência por dois ou três anos, e no ano seguinte ocorre epidemia. Como a resistência de variedades permanece efetiva nas lavouras apenas por poucos anos, torna-se necessário o desenvolvimento constante de novas cultivares resistentes, que substituam aquelas que tiveram sua resistência superada, acompanhando as mudanças de virulência do patógeno.

Em condições brasileiras, vários fatores contribuem para a baixa durabilidade da resistência, além da alta mutação de *P. coronata*. Entre eles estão o cultivo de aveia em todos os meses do ano na região do Cone Sul e a presença de outras espécies de gramíneas na área de seu cultivo, o que aumenta o inóculo; e as condições do ambiente brasileiro, as quais proporcionam um longo período de infecção e esporulação, aumentando a produção de esporos do patógeno (Federizzi & Stuthman, 1998).

A grande influência do ambiente sobre genes de resistência, muitas vezes, está relacionada a mudanças de temperatura. Nesse caso, cultivares que são resistentes em determinada temperatura, podem ser suscetíveis quando estas condições forem alteradas (Pretorius, 1990). Barcellos et al. (1997) relataram que linhas de trigo com *Lr 17* e *Lr18* mostram sensibilidade à temperatura. Kaul e Shaner (citados por Pretorius, 1990), demonstraram que temperaturas altas geralmente diminuem a resistência de planta adulta para ferrugem da folha em trigo.

De acordo com Johnson (1984), a resistência é durável quando permanece efetiva em uma variedade extensivamente cultivada, por longo período de tempo, em ambiente favorável à doença, ou seja, a estabilidade da resistência é função da interação entre o hospedeiro e a população do patógeno, estando relacionada ao período de tempo em que esta é mantida em um determinado ambiente. O mecanismo de resistência da planta e a flexibilidade evolucionária do patógeno são os fatores mais importantes na durabilidade da resistência (Prabhu & Morais, 1993), sendo que, no sentido evolucionário toda resistência é transitória (Parlevliet, 1997). Diferenças na durabilidade da resistência a várias ferrugens de cereais parece ser explicado por uma combinação de diferenças entre: taxa de mutação do patógeno, coeficientes de seleção, tamanho da população do fungo, recombinação sexual e assexual, bem como o número de genes de resistência inicialmente efetivos em cultivares comerciais (Schafer & Roelfs, 1985).

Segundo Prabhu & Morais (1993), a resistência estável pode ser específica ou não-específica às raças fisiológicas. Da mesma forma, Parlevliet (1979) afirma que resistência estável pode ser de natureza vertical ou horizontal, ou ambos, sendo que a resistência não pode ser classificada sem ambigüidade em dois grupos, não havendo uma forma fácil para diferenciar resistência estável de não-estável. Segundo o mesmo autor, resistência durável é geralmente incompleta, entretanto, resistência incompleta nem sempre é durável, sendo que em muitos casos resistência incompleta aparece como raça-específica e instável. A complexidade genética através da combinação de muitos genes, cada um com pequeno efeito, é a mais provável fonte de obtenção de resistência durável (Barcellos et al., 1997).

O aumento na durabilidade da resistência à ferrugem tem sido a meta principal de fitopatologistas e melhoristas de aveia. Nesse sentido, estratégias baseadas na filosofia do manejo da doença, mais do que no controle da mesma, têm sido estudadas (Shaner, 1996).

O desenvolvimento de genótipos com resistência quantitativa e o uso de piramidização de genes maiores para a resistência têm sido estratégias sugeridas para aumentar a durabilidade da resistência à ferrugem em aveia (Rooney et al., 1994). Porém, o uso da piramidização apresenta limitações relacionadas à dificuldade de incorporação de muitos genes que conferem resistência ao mesmo patógeno em um genótipo (Milach & Cruz, 1997).

Resistência quantitativa pode ser definida como resistência que varia de uma forma contínua entre os vários fenótipos da população hospedeira, indo de quase imperceptível (somente uma fraca redução no crescimento do patógeno) a muito forte (pouco crescimento do patógeno) (Vale et al., 2001). Resistência quantitativa pode também ser indicada como resistência residual, de campo ou parcial, sendo resistência parcial a denominação que será utilizada aqui.

A resistência parcial, ou de progresso lento da ferrugem, é também conhecida na literatura internacional pelo termo "slow rusting". Esse tipo de resistência caracteriza-se por uma redução na taxa de desenvolvimento da doença, manifestando-se por efeitos combinados de redução na frequência de infecção (número de lesões), de períodos de latência mais longos e de taxas reduzidas de produção de esporos (Parlevliet, 1979), estando entre resistência e suscetibilidade completas (Shaner, 1996).

A resistência parcial à ferrugem da folha tem sido identificada em diversas espécies de cereais, incluindo a aveia (Luke et al., 1972), o trigo (Shaner, 1983) e a cevada (Parlevliet et al., 1980), tendo sido também relatada

em *A. byzantina*; *Dactylis glomerata*; *Hordeum vulgare*; *Lolium multiflorum*; *Panicum virgatum*; *T. aestivum* e *Zea mays*, sumarizado por Barcellos et al. (1997).

Resistência parcial é, geralmente, de herança oligogênica ou poligênica, podendo apresentar diversas formas de controle. Em arroz, resistência à brusone (*Pyricularia oryzae*) está associada com resistência poligênica, sem evidência de especificidade de raça (Bonman, 1992). Resistência parcial à ferrugem da folha em cevada é controlada de forma poligênica, com ação gênica aditiva (Parlevliet, 1976). Estudos com *Avena sterilis* (Sztejnberg & Wahl, 1976), *A. byzantina* (Luke et al., 1975) e linhagens não adaptadas de *A. sativa* (Simons, 1975) revelaram que resistência parcial à ferrugem da folha em aveia é de herança poligênica e de herdabilidade moderada à alta. Alguns trabalhos identificaram esse controle como sendo recessivo ou parcialmente recessivo, estando sob controle monogênico ou oligogênico. Em trigo (Skovmand et al., 1978; Lee & Shaner, 1985; Bjarko & Line, 1988) e em cevada (Johnson & Wilcoxson, 1979), a resistência parcial às ferrugens está sob controle genético, com herança oligogênica, apresentando de um a quatro genes envolvidos no controle da resistência. Segundo Germán (1997), os genes podem ser recessivos, parcialmente recessivos ou parcialmente dominantes, com efeito de aditividade, sendo a herdabilidade de média a alta. Em genótipos brasileiros há evidências de vários genes com pequeno efeito no controle da resistência parcial à ferrugem da folha em aveia (Thomé, 1999).

Segundo Barcellos et al. (1997), a resistência parcial é promissora, por ter se mostrado mais durável que a resistência específica, em algumas espécies, como no trigo. Cultivares americanas de trigos de primavera, Thatcher e Lee, apresentaram progresso lento para *P. graminis* f. sp. *tritici* por 55 e 30 anos,

respectivamente (Wilcoxson, 1981). Luke (1972), relatou que a cultivar de aveia “Red Rustproof” foi reconhecida como de progresso lento para ferrugem da folha por mais de 100 anos (Wilcoxson, 1981). Na África, variedades de milho foram resistentes a *P. sorghi* por no mínimo 80 e a *P. polysora* por cerca de 30 anos (Barcellos et al., 1997). Em arroz, algumas variedades com resistência durável também apresentam um alto nível de resistência parcial (Wang et al., 1994).

A resistência parcial é complexa e pode estar sob o controle de muitos genes, o que dificulta a quantificação da resistência, pois exige uma forma precisa de avaliação.

Alguns dos componentes usados para quantificar resistência parcial são eficiência da infecção, período de latência, período de infecção, área da lesão, quantidade de esporulação (Brière & Kushalappa, 1995) e área sob a curva do progresso da doença (Singh & Rao, 1989). Tradicionalmente, melhoristas têm usado a percentagem de área foliar ocupada por pústulas como uma medida da severidade da doença (Shaner, 1996). Este conceito foi introduzido por Nathan Cobb em 1892, apresentando diagramas de folha com diferentes densidades de pústulas de ferrugem possibilitando uma estimativa visual da percentagem de severidade (Shaner, 1996).

A área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) é um dos componentes da resistência parcial útil para revelar pequenas diferenças de severidade e níveis de resistência, auxiliando na identificação e caracterização de genótipos hospedeiros que apresentam progresso lento da moléstia, permitindo o acompanhamento do aumento da moléstia no tempo. Este tipo de componente tem sido muito utilizado para quantificar resistência parcial e pode ser revisado em Jeger & Viljanen-Rollinson (2001).

O programa de melhoramento da UFRGS tem trabalhado com resistência parcial desde 1995, identificando materiais resistentes através do estudo de alguns dos componentes dessa resistência, tais como área sob a curva do progresso da doença (ASCPD), tamanho de pústula e área foliar afetada. Resultados foram obtidos na identificação de materiais parcialmente resistentes através da avaliação de alguns dos componentes da resistência parcial (Thomé et al., 1997; Mellos et al., 1998; Chaves et al., 2001). Também foi demonstrada a existência de variabilidade entre genótipos quanto aos caracteres comprimento e largura de pústula (Thomé et al., 1997; Chaves & Martinelli, 1997).

A vantagem da utilização da resistência parcial é que enquanto a resistência qualitativa, dada pela incompatibilidade entre patógeno e hospedeiro (ausência da doença), impede a reprodução do fungo, a resistência parcial reduz a reprodução do patógeno dentro do contexto de uma interação compatível (Wang et al., 1994). Nesse sentido, o objetivo da utilização da resistência parcial não é suprimir a população do patógeno completamente, mas impedir que ele atinja níveis destrutivos (Shaner, 1996).

### **1.2.5. Mapeamento Molecular**

#### **1.2.5.1. Base teórica do mapeamento**

O mapeamento molecular é realizado a partir de técnicas de biologia molecular aplicadas aos conceitos da herança mendeliana. Para isso, é necessária a utilização de plantas com reprodução sexuada que sejam capazes de produzir descendência e marcadores moleculares com comportamento mendeliano. A disponibilidade de um grande número de marcadores genéticos

altamente polimórficos, que não sofrem a influência do ambiente, possibilita a construção de mapas de ligação para muitas espécies.

Para a elaboração de um mapa molecular é necessário: a) a escolha adequada de linhagens genitoras e o desenvolvimento de populações segregantes; b) a identificação dos genótipos nos locos marcadores através de técnicas de biologia molecular; e c) a utilização de diversas técnicas de análise estatística e computacional para estimar a ligação e distância entre os marcadores (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

A construção desses mapas permite obter uma cobertura e análise completas do genoma; a localização de regiões genômicas que controlam caracteres de importância econômica e a utilização dessas informações para o melhoramento genético (Young, 1996). A identificação de marcadores moleculares ligados a caracteres de interesse agrônômico aumenta o entendimento da base genética da herança desses caracteres e facilita a seleção assistida por marcadores (Lee & Penner, 1997). À medida que mais marcadores associados a genes de resistência sejam encontrados e aumente a saturação de mapas de ligação, o uso de marcadores moleculares na seleção assistida de genes de resistência será cada vez mais viável (Milach & Cruz, 1997).

#### **1.2.5.2. Marcadores Moleculares**

Vários tipos de marcadores de plantas têm sido desenvolvidos, os quais podem ser utilizados conforme o objetivo de cada trabalho. Os primeiros marcadores utilizados foram os morfológicos, os quais eram úteis, porém, apresentavam limitações quanto ao número de marcadores identificados, ao número restrito de espécies as quais eram aplicáveis e também à influência ambiental à que estão sujeitos. Com o desenvolvimento de marcadores

isoenzimáticos, ou também chamados bioquímicos, foi possível a identificação de maior número de marcadores, além do que maior número de espécies puderam ser estudadas. Entretanto, esse tipo de marcador também apresenta limitações, como a pouca abrangência do genoma e o baixo nível de polimorfismo que apresenta.

A partir disso, foram desenvolvidas técnicas baseadas em marcadores de DNA, as quais trouxeram várias vantagens para a identificação de marcadores, tais como: alta ou até mesmo completa cobertura do genoma, alto nível de polimorfismo, independência da expressão do gene, além de utilização em qualquer estágio de desenvolvimento da planta.

A primeira técnica desenvolvida para identificação de marcadores de DNA foi a de RFLP (“restriction fragment length polymorphism”), ou seja, restrição de fragmentos de comprimentos polimórficos. Essa técnica baseia-se na diferença de comprimento de fragmentos de DNA gerados quando clivados pela mesma enzima, e que diferem quanto ao tamanho, em pares de bases, em indivíduos geneticamente diferentes, como resultado de possíveis mutações nos sítios de restrição, deleções, inserções, translocações ou inversões, as quais alteram a distância entre os sítios de restrição. Em relação às isoenzimas, a técnica de RFLP apresenta a vantagem de abranger todo o genoma (dependendo do tipo de biblioteca de sondas de DNA utilizada). Entretanto, apresenta algumas desvantagens, tais como, a inexistência de bibliotecas de sondas disponíveis em algumas espécies, a exigência de intensiva mão-de-obra e a necessidade de instalações adequadas para o manuseio de radioatividade (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

Na década de 80, foi desenvolvida por Kary Mullis (Mullis & Faloona, 1987) a técnica de PCR (“polimerase chain reaction”), ou reação em cadeia da

polimerase, a qual possibilitou a elaboração de várias outras técnicas para identificação de marcadores baseadas em PCR. A técnica de PCR permite a síntese de milhões de cópias de uma seqüência específica de DNA, na presença de iniciadores específicos (primers) e da enzima Taq DNA polimerase, a partir de três passos: desnaturação do DNA molde, anelamento dos iniciadores (primers) e extensão das novas fitas de DNA. Essa técnica trouxe as vantagens de rapidez, simplicidade e versatilidade de aplicações.

A primeira técnica derivada a partir da PCR foi RAPD (“random amplified polymorphism DNA”) ou DNA polimórfico amplificado ao acaso, desenvolvida por Williams et al. (1990). Com a RAPD veio a superação da limitação encontrada na técnica de PCR, a qual exige a utilização de iniciadores específicos (primers) construídos a partir de seqüências conhecidas do DNA. A possibilidade de utilizar iniciadores arbitrários que amplificam seqüências alvos desconhecidas, trouxe novas perspectivas para a identificação de marcadores moleculares. Entretanto, uma das limitações do RAPD é a repetibilidade dos resultados.

Outra técnica baseada em PCR, bastante utilizada atualmente, é a SSR (“simple sequence repeats”), ou seja, seqüências simples repetidas, ou ainda, microssatélites (Litt & Luty, 1989). Baseada na amplificação de seqüências simples repetidas em tandem no genoma, essa técnica permite a detecção de locos genéticos altamente variáveis, multialélicos e de grande conteúdo informativo. A maior limitação da técnica de microssatélite é a necessidade de construção de uma biblioteca de fragmentos de DNA e seu sequenciamento, se esta não estiver ainda disponível.

Uma das técnicas mais recentes e mais utilizada atualmente é o AFLP (Vos et al., 1995). A técnica consiste basicamente de quatro etapas: 1) clivagem

do DNA genômico total com duas enzimas de restrição; 2) ligação de adaptadores específicos aos terminais dos fragmentos genômicos gerados pela clivagem; 3) amplificação seletiva via PCR de uma fração dos fragmentos gerados na etapa anterior, através da utilização de iniciadores (primers) especificamente desenhados para reconhecer sequências nos adaptadores; e 4) separação dos fragmentos amplificados em gel de alta resolução.

A técnica de AFLP está baseado em amplificação através de PCR de fragmentos gerados por enzimas de restrição específicas e oligonucleotídeos adaptadores de poucas bases. Este método gera um amplo número de bandas de fragmentos de restrição, facilitando a detecção de polimorfismos. Mapas de ligação usando AFLP foram desenvolvidos em cevada, sendo essa técnica muito usada para saturação de mapas e para discriminação de variedades (Mohan et al., 1997).

Alta reproducibilidade, rápida geração e alta freqüência de polimorfismos identificáveis fizeram do AFLP uma técnica atrativa para identificar polimorfismos e para determinar ligações por análise de indivíduos de uma população segregante. Entre as vantagens da utilização de marcadores do tipo AFLP está o grande número de fragmentos que são produzidos e analisados em um único gel, podendo-se visualizar em um gel cerca de 50 a 100 fragmentos de restrição amplificados (Vos et al., 1995). Esse tipo de marcador permitiu rápida extensão do mapa de aveia proveniente da população de Kanota X Ogle (O'Donoghue, 2000). Jin et al. (2000) estenderam o mesmo mapa em 35% através da aplicação deste tipo de marcador.

Entretanto, marcadores AFLP são ainda caros, já que as bandas geradas são detectadas por coloração com nitrato de prata, fluorescência ou radioatividade (Mohan et al., 1997). Apesar de a técnica de AFLP ser bastante

eficiente para mapeamento de populações e identificação dos marcadores associados a caracteres de interesse, seu uso não é indicado da mesma forma para seleção assistida por marcadores. Como a técnica de AFLP apresenta um custo elevado e exige treinamento especializado, seu uso torna-se inviável na rotina diária de um programa de melhoramento, podendo-se superar este obstáculo através da conversão dos marcadores identificados em marcadores mais práticos e de menor custo. Lee & Penner (1997) relatam a conversão de marcadores RFLP em sequências específicas como uma forma de facilitar grandemente a aplicação de marcadores moleculares em programas de melhoramento de cevada.

#### **1.2.5.3. Mapeamento molecular em aveia**

Mapas moleculares da aveia foram construídos para os genomas diplóide e hexaplóide. Para o genoma diplóide (genoma A) dois mapas foram desenvolvidos, sendo um a partir do cruzamento *A. hirtula* X *A. atlântica* (O'Donoghue et al., 1992; Van Deynze et al., 1995) e o outro a partir de *A. strigosa* X *A. wiestti* (Rayapati et al., 1994), ambos com sete grupos de ligação distintos.

Para o genoma hexaplóide mapas moleculares foram também desenvolvidos (O'Donoghue et al., 1995; Jin et al., 2000; Portyanko et al., 2001; Groh et al., 2001). O mapeamento da aveia hexaplóide é mais complicado devido ao tamanho de seu genoma e de sua natureza poliplóide, sendo um alopoliplóide, com  $2n = 6X = 42$  cromossomos. Obter cobertura completa do genoma hexaplóide e resolver os grupos de ligação nos 21 cromossomos esperados tem sido uma tarefa difícil. Parte do problema pode ser devido a diferenças de translocação entre as linhas parentais (O' Donoghue, 2000).

Portyanco et al. (2001) salientam que as relações entre alguns grupos de ligação permanecem incertas devido à cobertura incompleta do genoma e também pelas complicações introduzidas por duplicações e rearranjos ocorridos no genoma da aveia.

Uma aplicação muito importante do mapeamento molecular é o mapeamento de caracteres quantitativos. Enquanto caracteres de herança simples podem ser extensivamente analisados por métodos tradicionais, formas geneticamente complexas apresentam dificuldade em seu estudo (Young, 1996). O desenvolvimento de mapas moleculares auxilia o estudo e compreensão dessas formas complexas de resistência, baseando-se no uso de marcadores de DNA (Lee e Penner, 1997). Van Deynze et al. (1995) relatam que genes controlando caracteres tais como rendimento, heterose e resistência a moléstias foram identificadas em mapas genéticos de trigo, cevada, centeio e arroz. Além disso, o mapeamento acompanhado de seqüenciamento pode auxiliar no estudo da função, regulação e expressão do gene (Mohan et al., 1997).

Para o mapeamento de caracteres qualitativos ou quantitativos, a seleção de genitores baseia-se na utilização de pais com fenótipos o mais contrastante possível, tanto para os caracteres de interesse, como para o restante do genoma, permitindo que os locos sejam detectados mais facilmente. Após a escolha dos genitores, o desenvolvimento da população segregante deve resultar em um número razoável de indivíduos para que se obtenha uma amostra com todas as recombinações possíveis (Mohan et al., 1997).

Mapeamento de QTLs (“quantitative trait loci” ou locos de características quantitativas) é feito pelo teste de marcadores de DNA para a probabilidade de estarem associados a um loco quantitativo. Indivíduos de uma população de mapeamento ( $F_2$ , retrocruzamento ou linhas recombinantes) são analisados

quanto ao marcador de DNA e o fenótipo de interesse. Para cada marcador de DNA, os indivíduos são divididos em classes de acordo o fenótipo de interesse. Parâmetros de médias e variâncias são calculados e comparados entre classes. Uma diferença significativa entre classes sugere que há uma relação entre o DNA marcador e a característica de interesse, ou seja, o DNA de interesse é ligado ao QTL (Young, 1996).

Vários QTLs e marcadores associados têm sido identificados, incluindo resposta a vernalização em aveia (Holland et al., 1997), conteúdo de óleo em aveia (Kianian et al., 1999); caracteres agronômicos em cevada (Kicherer et al., 2000; Qi, et al., 1999); caracteres agronômicos em tomate (Vicente & Tanksley, 1993); altura de planta, rendimento de grãos e outras em aveia (Beer et al., 1995), características agronômicas em aveia (Hoffman et al., 2000), entre outras.

Com relação ao melhoramento para resistência a moléstias, estas técnicas têm auxiliado principalmente na avaliação de moléstias com reações difíceis de serem interpretadas devido a interações do genótipo com o ambiente, penetrância incompleta da resistência e diferentes graus de virulência do patógeno (Young, 1996).

Muitos trabalhos tem sido relatados na literatura com mapeamento de QRLs ("quantitative resistance loci" ou locos para resistência quantitativa) para resistência a doenças: resistência à ferrugem da folha em aveia (Chen et al., 2000); brusone em cevada (Sato et al., 2001); ferrugem da folha em cevada (Kicherer et al., 2000; Qi, et al., 1999); *Sclerotinia sclerotiorum* em soja (Arahana et al., 2001); brusone em arroz (Guo-Liang et al., 1994); e vírus do nanismo amarelo da cevada (Jin et al., 1998); resistência à *Puccinia polysora* em milho (Brunelli, et al., 2002); entre outros.

As técnicas de biologia molecular oferecem muitas possibilidades para utilização no melhoramento de plantas. O mapeamento molecular e a identificação de marcadores associados a características de interesse, sejam elas qualitativas ou quantitativas, permitem, em muitos casos, a partir do emprego da seleção assistida por marcadores, maior eficiência na seleção, ganho de tempo e praticidade. A identificação de marcadores moleculares associados a características que possuem um controle genético complexo, como no caso de moléstias de plantas com resistência quantitativa ou resistência parcial, representa uma ferramenta de grande importância para o desenvolvimento de genótipos com resistência mais durável.

## CAPÍTULO II

Progresso da ferrugem da folha em genótipos fixos de aveia em diferentes anos

### RESUMO

A disponibilidade de variedades de aveia adaptadas às condições brasileiras, resultou em aumento da área plantada no Sul do Brasil, o que levou a um aumento da ferrugem, provocando significantes reduções no rendimento desse cereal. O objetivo do trabalho foi determinar o progresso da ferrugem da folha em genótipos suscetíveis e parcialmente resistentes, em diferentes anos. Plantas de UFRGS7 (susceptível), de UFRGS910906 e de UFRGS922003 (parcialmente resistentes) foram marcadas e avaliadas individualmente quanto à porcentagem de área foliar infectada, utilizando-se a escala modificada de Cobb. Uma ASCPD (área sob a curva do progresso da doença) foi calculada para cada genótipo, para determinar o progresso da ferrugem da folha. Em 1998, as condições ambientais altamente favoráveis ao desenvolvimento da infecção mascararam a reação dos genótipos parcialmente resistentes, sendo que os valores de ASCPD foram semelhantes para os três genótipos: 1319 (UFRGS7); 1207 (UFRGS910906) e 1226 (UFRGS922003). Em 1999, a ferrugem começou um mês mais tarde no campo e o inóculo da doença foi menor, sendo que a ASCPD foi de 131 para UFRGS7 e 54 para UFRGS910906. No ano de 2000, a interferência do ambiente foi menor, permitindo a expressão do genótipo parcialmente resistente UFRGS910906, o qual apresentou ASCPD de 52, enquanto que UFRGS7 apresentou ASCPD de 874. A diferença de severidade da ferrugem entre os três anos, mostrou que a resistência parcial à ferrugem da folha da aveia é altamente influenciada pelo ambiente, sendo necessário um acompanhamento do desenvolvimento da infecção em cada ano especificamente para que sejam tomadas decisões adequadas relativas à seleção de genótipos nos programas de melhoramento e também no manejo da doença na lavoura pelo agricultor.

### ABSTRACT

With oat varieties more adapted to Brazilian conditions increased the cultivated area in Southern Brazil, but resulted in the spreading of crown rust and yield losses of oat crop. The objective of this study was to determine the area

under the disease progress curve (AUDPC) of susceptible and partial resistant oat genotypes. Plants of UFRGS7 (susceptible), UFRGS910906 and UFRGS922003 (partial resistant), were identified and individually evaluated regarding the percentage of infected leaf area, by using modified Cobb's scale. An AUDPC (area under disease progress curve) was developed for each genotype, to determine the progress of crown rust. In 1998, the environmental conditions were highly favorable to disease development, and thus, masked the reaction of partial resistant genotypes, considering that all values of AUDPC were similar for all genotypes: 1319 (UFRGS7); 1207 (UFRGS910906) and 1226 (UFRGS922003). However, in 1999 the rust started a month later and thus the inoculum of the pathogen was lower and resulted in values of AUDPC 131 for UFRGS7 and 54 for UFRGS910906. In 2000, the environmental effect was less pronounced and allowed the expression of partial resistant genotype UFRGS910906, which showed AUDPC of 52, while UFRGS7 showed AUDPC 874. The difference in severity of crown rust among the three years of evaluations, indicated that partial resistance to oat crown rust is highly influenced by the environment, been necessary to monitor the development of infection in each year to help decisions regarding selection in breeding programs as well as management of the disease in the farmers field.

## 2.1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de variedades de aveia (*Avena sativa* L.), adaptadas às condições brasileiras, foi um passo muito importante para o seu estabelecimento como uma cultura de importância econômica. Em consequência disso, houve um aumento da área cultivada no Sul do Brasil, resultando em maior disseminação do inóculo do fungo causador da ferrugem da folha da aveia (*Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser e Led.), provocando reduções no rendimento de até 50% e perda da qualidade de grãos colhidos (Martinelli et al., 1994). Em condições ideais para a ocorrência da ferrugem podem haver perdas no rendimento de mais de 90% (Martinelli, 2000). Mesmo baixas intensidades de ferrugem têm causado dano significativo, próximo a 50 kg/ha para cada 1% de severidade (Forcelini, 2002). Internacionalmente, a ferrugem da folha da aveia tem sido também problema, sendo que, em condições de alta severidade de ferrugem, reduções no rendimento de até 97% foram observadas em genótipos

americanos suscetíveis à moléstia (McDaniel, 2000). A estratégia mais apropriada para o controle da doença tem sido o uso de resistência varietal, sendo que o desenvolvimento de variedades resistentes é alcançado, na maioria das vezes, através do uso de genes maiores que conferem resistência qualitativa. Entretanto, esse tipo de resistência tem se mostrado pouco durável nas atuais condições de cultivo, devido à alta pressão de seleção que exerce sobre o patógeno, sendo necessário a constante substituição das cultivares em uso pelos agricultores. A busca de fontes de resistência quantitativa ou resistência parcial à ferrugem da folha da aveia parece ser uma estratégia promissora na tentativa de aumentar a durabilidade da resistência em cultivares comerciais. A resistência parcial tem se mostrado mais durável que a resistência total em algumas espécies, tais como o trigo e o milho. Trigos americanos “Tatcher” e “Lee” apresentaram resistência parcial a *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* por 55 e 30 anos (Wilcoxson, 1981). Na África, variedades de milho foram resistentes a *P. sorghu* por, no mínimo, 80 e a *P. polysora* por cerca de 30 anos (Barcellos et al., 1997).

O desenvolvimento de variedades com resistência parcial a ferrugem da folha da aveia apresenta algumas dificuldades, como a alta influência do ambiente sobre a expressão da resistência, a qual é um fator muito importante a ser considerado. Vários autores ressaltam que os níveis de moléstia nas plantas são influenciados pelas variações do ambiente (Prabhu & Moraes, 1993; Flor, 1956). Os fatores que mais afetam a patogênese em plantas são temperatura, umidade, luz e nutrientes. Os efeitos combinados desses fatores podem atuar na suscetibilidade do hospedeiro, na multiplicação e atividade do patógeno e, ainda, na interação hospedeiro-patógeno, bem como seu efeito na severidade dos sintomas (Agris, 1988).

Nas condições brasileiras de cultivo, o ambiente favorece o desenvolvimento da infecção e a especialização das raças do fungo, de maneira que muitas cultivares previamente consideradas resistentes ou parcialmente resistentes podem ser fortemente infectadas. Tais condições de ambiente proporcionam um longo período de infecção e esporulação, aumentando o potencial de produção de esporos do patógeno, sendo que a moléstia ocorre durante um período de até 100 dias na lavoura durante a estação de cultivo da aveia (Federizzi e Stuthman, 1998). Um novo ciclo de produção de esporos de *Puccinia coronata* ocorre aproximadamente a cada sete dias, sendo que para os esporos germinarem é necessária a presença de água livre sobre a superfície foliar e temperaturas entre 10 e 25<sup>0</sup>C (Simons, 1985). Nas condições do Sul do Brasil, as temperaturas ideais para a ocorrência e disseminação da moléstia estão entre 16 e 18<sup>0</sup>C (Martinelli, 2000).

A severidade da infecção varia de um ano para outro, devido às alterações das condições climáticas (Wilcoxson et al., 1975), ocorrendo interação genótipo/ano para a expressão da resistência à ferrugem da folha em condições do Sul do Brasil (Federizzi et al., 1993).

Um dos componentes utilizado para quantificar resistência parcial é a área sob a curva do progresso da doença (ASCPD), o qual permite identificar diferentes níveis de resistência, auxiliando na identificação e caracterização de genótipos que apresentam progresso lento da ferrugem e permitindo o acompanhamento do aumento da moléstia no tempo (Jeger & Viljanen-Rollinson, 2001).

O objetivo deste trabalho foi determinar o comportamento do genótipo suscetível UFRGS7 e dos genótipos parcialmente resistentes UFRGS910906 e

UFRGS922003, através do cálculo da área sob a curva do progresso da doença (ASCPD), sob diferentes condições de ambiente.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado na Estação Experimental Agronômica (EEA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizada no município de Eldorado do Sul (RS), a 30° 05' 27" de latitude sul e 51° 40' 18" de longitude oeste, com altitude média de 46m (Bergamaschi & Guadagnin, 1990), sendo o solo caracterizado como Argissolo Vermelho Distrófico típico (Embrapa, 1999).

Para os três anos foram semeadas, no sistema de semeadura direta na palha, duas linhas de cada genótipo, em três repetições, utilizando-se 20 sementes por linha, com espaçamento de 20cm entre plantas e 30cm entre linhas. A área experimental foi adubada conforme recomendações técnicas para a cultura da aveia.

Os genótipos estudados neste trabalho foram UFRGS7, UFRGS910906 nos anos de 1998, 1999 e 2000 e UFRGS922003, somente em 1998. A linhagem UFRGS922003 foi avaliada somente no primeiro ano porque houve necessidade de restringir o volume de trabalho, nos anos subsequentes.

A variedade UFRGS7 apresenta vários caracteres agronômicos importantes, tais como ciclo precoce, baixa estatura e bom rendimento, tendo sido cultivada por muitos anos no Sul do Brasil, apesar de sua suscetibilidade à ferrugem da folha (Com. Bras. Pesq. Aveia, 2000). As linhagens UFRGS910906 e UFRGS922003 foram indicadas como fontes de resistência parcial à ferrugem da folha (Chaves et al., 1998; Mellos et al., 1998). Além dos genótipos citados, foram também semeadas e avaliadas, em campo, as populações segregantes

dos cruzamentos UFRGS7 / UFRGS910906 e UFRGS7 / UFRGS922003. Entretanto, esses dados serão citados somente no próximo capítulo.

### **2.2.1. Avaliação da severidade da ferrugem da folha:**

Primeiramente, as plantas foram marcadas com um barbante, para assegurar que as avaliações eram realizadas sempre na mesma planta. As avaliações para severidade da infecção foram realizadas através da medida da área foliar infectada do afilho principal (1 a 100%), utilizando-se a escala modificada de Cobb (Peterson et al., 1948). Cada avaliação obedeceu a um intervalo de aproximadamente sete dias, tendo sido realizadas seis avaliações no total.

Em 1998, os genótipos UFRGS7, UFRGS910906 e UFRGS922003 foram semeados em 29 de maio e, posteriormente, marcadas 30, 20 e 20 plantas de cada genótipo, respectivamente. A primeira avaliação foi realizada em 18/08 e as seguintes em 28/08, 08/09, 15/09, 22/09 e 29/09.

Em 1999, os genótipos UFRGS7 e UFRGS910906 foram semeados em 14 de junho e marcadas 30 plantas de cada genótipo. As avaliações foram feitas em 16/09, 23/09, 30/09, 07/10, 15/10 e 21/10.

Em 2000, os genótipos UFRGS7 e UFRGS910906 foram semeados em 14 de junho e marcadas 20 plantas de cada genótipo, sendo que as avaliações foram realizadas em 01/09, 09/9, 16/09, 23/09, 30/09 e 06/10.

### **2.2.2. Análise estatística:**

A partir dos dados obtidos na avaliação de severidade da ferrugem da folha, foram estimadas: médias dos genótipos, variância entre plantas e ANOVA (análise de variância). Para o cálculo das médias utilizou-se as leituras de

severidade de seis avaliações de cada planta. A partir dessas médias calculou-se a média geral de cada genótipo.

### **2.2.2.1. Área sob a curva do progresso da doença (ASCPD):**

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

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

Onde: n = número de avaliações

$x_i$  = severidade da ferrugem na data  $t_i$

$x_{i+1}$  = severidade da ferrugem na data  $t_{i+1}$

$t_i$  = data da avaliação

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

### **2.2.2.2. Teste de médias:**

Análises de variância (ANOVA) e testes de médias (Teste t e Teste Duncan) foram realizados para verificar a significância das diferenças entre os genitores, quanto aos caracteres área foliar infectada e ASCPD. Antes de proceder a análise de variância, foi verificada a normalidade dos dados para ambas as características nos três anos. Para o ano de 1998, as pressuposições foram satisfeitas para a característica de área foliar infectada, não sendo necessário nenhum tipo de transformação. Para o caráter ASCPD do mesmo ano, os dados foram transformados através da raiz quadrada. Para os demais

anos e ambos os caracteres, os dados foram transformados pela raiz quadrada. As médias apresentadas nas tabelas são de dados não transformados.

### 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de severidade da ferrugem da folha da aveia observados em 1998 foram altos nos três genótipos, onde UFRGS910906 e UFRGS922003 apresentaram médias de porcentagem de área foliar infectada de 35,07% e 34,93% respectivamente, as quais foram semelhantes à média do genótipo suscetível UFRGS7 (37,96%) (Tabela 2.1).

Tabela 2.1. Médias, variâncias e área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da ferrugem da folha da aveia, em genótipos de aveia, avaliados nos anos de 1998, 1999 e 2000. EEA. UFRGS. 2002.

Ano	Genótipos	N <sup>o</sup> plantas	Severidade média (%)	Variância	ASCPD
1998	UFRGS7	30	37,96 <b>a</b> <sup>1</sup>	19,52	1319 <b>a</b> <sup>1</sup>
1998	UFRGS922003	20	34,93 <b>b</b>	11,79	1226 <b>ab</b>
1998	UFRGS910906	20	35,07 <b>b</b>	22,67	1207 <b>b</b>
			CV = 12%		CV = 7,3%
1999	UFRGS7	30	3,71 <b>a</b> <sup>1</sup>	3,97	131 <b>a</b> <sup>1</sup>
1999	UFRGS910906	30	1,44 <b>b</b>	2,83	54 <b>b</b>
			CV = 37%		CV = 22%
2000	UFRGS7	20	26,51 <b>a</b> <sup>1</sup>	2,78	874 <b>a</b> <sup>1</sup>
2000	UFRGS910906	15	1,78 <b>b</b>	0,12	52 <b>b</b>
			CV = 4,3%		CV = 8%

<sup>1</sup>Valores seguidos da mesma letra não diferem estatisticamente pelo Teste Duncan ou pelo Teste t (5%)

Apesar da aparente semelhança entre médias dos genótipos suscetível e parcialmente resistente, UFRGS7 foi significativamente diferente de UFRGS910906 e de UFRGS922003 pelo Teste Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). Devido às condições de temperatura e umidade elevadas, a reação dos genótipos

parcialmente resistente (UFRGS910906 e UFRGS922003) foi mascarada pelo ambiente altamente favorável ao desenvolvimento da infecção, mostrando níveis de infecção próximos aos do genótipo suscetível (Figura 2.1A), sendo que os valores de ASCPD foram de: 1319 para UFRGS7; 1207 para UFRGS910906 e 1226 para UFRGS922003. Apesar dos valores serem próximos, houve diferença significativa entre os genótipos, sendo UFRGS7 significativamente diferente de UFRGS910906, e estatisticamente igual à UFRGS922003 pelo Teste Duncan ( $\alpha = 0,05$ ). Relato semelhante foi feito por Berger e Luke (1979) para as cultivares americanas com diferentes níveis de resistência. Os autores observaram que a reação da cultivar parcialmente resistente Burt foi grandemente influenciada pelo ambiente e, apesar de ter sido intermediária quanto à reação de resistência, não diferiu significativamente da suscetível Fulghum. A aproximação entre os resultados da variedade suscetível UFRGS7 e das linhagens parcialmente resistentes (UFRGS910906 e UFRGS922003) pode ser explicada pelas condições climáticas ocorridas em 1998, as quais foram altamente propícias ao desenvolvimento da moléstia e favoreceram o aparecimento muito cedo da infecção no campo, sendo que em meados de agosto ocorreu o surgimento das primeiras pústulas. Em relação à época de ocorrência da ferrugem, é importante considerar que a resistência parcial para algumas espécies não se manifesta em estágio de planta jovem e sim em estágio de planta adulta. Dessa forma, quando a ferrugem ocorre muito cedo na lavoura é possível que genótipos parcialmente resistentes não expressem resistência, demonstrando fenótipo de suscetibilidade.

Segundo Martinelli & Buss (1999), as condições de ambiente durante o ciclo da aveia em 1998, apresentaram temperaturas mais elevadas no inverno e primavera, quando comparadas à média dos anos anteriores, ocorrendo alta

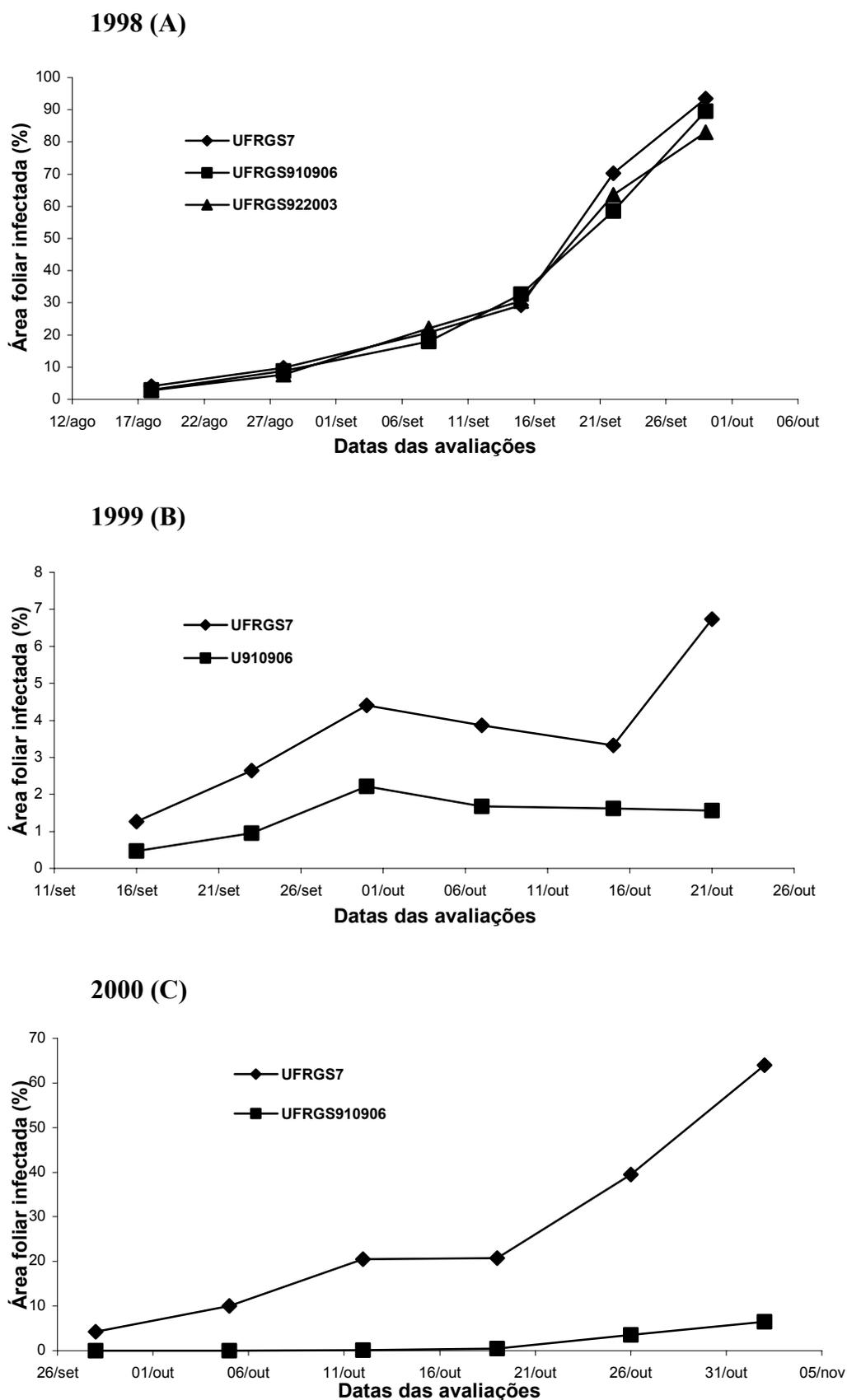


Figura 2.1. Progresso da ferrugem da folha em genótipos de aveia, avaliados na EEA, UFRGS, nos anos de 1998, 1999 e 2000. UFRGS. 2002.

umidade relativa do ar, o que permitiu a manutenção do inóculo do fungo sobre plantas voluntárias na lavoura e regiões vizinhas durante o inverno.

Dados meteorológicos referentes ao período de avaliação da severidade da ferrugem da folha são resumidos na Tabela 2.2, onde os valores mostrados para cada ciclo compreendem o período anterior à avaliação (aproximadamente 7 dias), representando aproximadamente um ciclo de reprodução do fungo *P.coronata*. Como podem ser observadas, as temperaturas máximas e mínimas em 1998 foram favoráveis a multiplicação do fungo. A precipitação pluviométrica foi constante durante todo o período de avaliação, totalizando 315,7mm, satisfazendo a condição de ambiente mais importante para o fungo, uma vez que há a necessidade que um filme de água cubra o esporo para que a germinação ocorra. Em consequência das condições ambientais, bastante propícias ao desenvolvimento da moléstia, um fator que pode ter contribuído para o aumento da severidade de infecção nas linhagens parcialmente resistentes, foi a interferência entre linhas. Tal condição ocorre quando uma linha com resistência parcial recebe mais inóculo das vizinhas suscetíveis que ela poderia receber se suas vizinhas tivessem o mesmo grau de resistência, mascarando a expressão de resistência parcial, em função do alto fluxo de inóculo (Shaner, 1996). Da mesma forma, Johnson (1984) ressalta que a taxa de evolução do patógeno depende não somente do tamanho de sua população e variabilidade inerente, mas que mesmo plantas com um bom nível de resistência podem apresentar maior infecção devido às condições de clima mais favoráveis, ou ainda pelo aumento da doença em plantas suscetíveis vizinhas àquelas que estão sendo avaliadas.

Tabela 2.2. Médias de temperatura e valores absolutos de precipitação medidos na EEA em intervalos (dias) entre duas avaliações de severidade da ferrugem da folha da aveia, nos anos de 1998, 1999 e 2000. UFRGS. 2002.

Período de leitura	1998			Período de leitura	1999			Período de leitura	2000		
	T <sup>0</sup> Máx	T <sup>0</sup> Mín	Chuva		T <sup>0</sup> Máx	T <sup>0</sup> Mín	Chuva		T <sup>0</sup> Máx	T <sup>0</sup> Mín	Chuva
11-18/08	20,6	16,0	70,3	9-16/09	21,5	7,9	11,1	26/08-1/09	18,65	6,11	62,00
19-28/08	20,8	14,3	80,5	17-23/09	20,4	8,0	0,0	02-09/09	29,37	4,61	0,0
29/08-08/09	21,7	13,04	34,5	24-30/09	19,4	8,1	3,5	10-16/09	19,22	12,8	91,2
9-15/09	21,6	11,5	32,8	01-07/10	12,5	7,4	56,5	17-23/09	22,58	16,68	181,7
16-22/09	20,3	13,3	78,6	08-15/10	21,16	13,3	68,6	24-30/09	21,44	7,12	0,0
23-29/09	24,0	14,0	19,0	16-21/10	25,3	11,7	7,1	01-07/10	22,3	13,9	44,4

Fonte: Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia – Faculdade de Agronomia - UFRGS

A partir destas considerações, é esperado que, dependendo das condições ambientais, até mesmo genótipos com resistência parcial apresentem infecção severa. Isto indica que em anos onde a ferrugem da folha é muito severa não é aconselhável a seleção para resistência parcial.

No ano de 1999 (Figura 2.1B), os níveis de infecção foram bastante diferentes em relação aos de 1998. O nível de infecção foi bem menor nesse ano, sendo que a ferrugem começou a desenvolver-se em meados de setembro, iniciando praticamente um mês mais tarde que em 1998. As temperaturas foram mais baixas, sendo que as mínimas estiveram abaixo dos 10<sup>0</sup>C até a quarta avaliação, momento o qual coincide com o aumento da doença. A precipitação pluviométrica não foi constante e foi menor que em 1998 e totalizou 146,8mm durante as seis semanas de avaliação (Tabela 2.2). Conforme a literatura ressalta, climas secos e frios são desfavoráveis para a ferrugem, resultando em pouco desenvolvimento da infecção (Savi et al., 2000).

As médias de porcentagem de área foliar infectada dos genótipos UFRGS7 e UFRGS910906 foram de 3,71% e 1,44%, respectivamente, sendo significativamente diferentes (Tabela 2.1). A ASCPD mostrou valores de 131 para UFRGS7 e 54 para UFRGS910906, sendo os mesmos significativamente diferentes pelo Teste t ( $\alpha = 0,05$ ).

Em 1999, os genótipos começaram a diferenciar-se somente da quinta para a sexta semana de avaliação, que ocorreu no início do mês de outubro (Figura 2.1B). Provavelmente, se fossem realizadas outras avaliações além desse período, seria possível uma diferenciação maior entre os genótipos.

No ano de 2000, os valores médios de porcentagem de área foliar infectada foram estatisticamente diferentes, sendo de 26,51% para UFRGS7 e

de 1,78% para UFRGS910906 (Tabela 2.1). A ASCPD de UFRGS7 foi 874, enquanto foi 52 para UFRGS910906, com diferença significativa. O progresso da ferrugem ao longo do tempo mostrou ser mais lento para UFRGS910906 do que para UFRGS7 (Figura 2.1C).

No ano de 2000 a infecção iniciou no final de agosto e as condições climáticas permitiram um desenvolvimento normal da infecção quanto à quantidade de ferrugem no campo. Isto permitiu a expressão do genótipo parcialmente resistente (UFRGS910906), o qual apresentou desenvolvimento lento da ferrugem quando comparado à variedade UFRGS7, evidenciando a diferença existente entre os genótipos quanto ao progresso da moléstia.

Estes resultados reforçam estudos realizados em 1995, 1996 e 1997 quanto à área foliar afetada e ASCPD, os quais relataram diferenças quanto à reação à ferrugem da folha entre os genótipos UFRGS7 e UFRGS910906, sendo que a média nos três anos para a ASCPD foi de 639,95 para UFRGS7 e de 95,21 para UFRGS910906 (Mellos et al., 1998; Thomé, 1999).

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram que existem diferenças entre os genótipos UFRGS7 e UFRGS910906 quanto ao progresso da ferrugem da folha, indicando a presença de resistência parcial no genótipo UFRGS910906. Evidências indicam que as diferenças observadas entre os anos, estão relacionadas, também, à época de início da infecção no campo, ao período em que a ferrugem permanece na lavoura, produzindo e disseminando esporos, e a quantidade de inóculo. Em anos muito favoráveis ao desenvolvimento da moléstia e com aparecimento precoce da ferrugem no campo, a resistência de planta adulta não se manifesta, e a expressão da resistência parcial é mascarada pelo ambiente, dificultando a diferenciação de

níveis de resistência. Isto indica que, nessas circunstâncias de alta severidade da moléstia, o melhorista não deve usar uma forte pressão de seleção para esse caráter.

#### 2.4. CONCLUSÕES

O ambiente exerce alta influência sobre a expressão da resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, podendo mascarar os diferentes níveis desse tipo de resistência.

Os genótipos UFRGS7 e UFRGS910906 diferem quanto ao progresso da ferrugem da folha, indicando a presença de resistência parcial no genótipo UFRGS910906.

## CAPÍTULO III

### Controle genético da resistência parcial à ferrugem da folha em aveia

#### RESUMO

A ferrugem da folha é das moléstias da aveia a mais disseminada e a que induz danos mais severos à cultura de aveia. A utilização de resistência qualitativa, para o seu controle, é pouco durável, sendo que a utilização de resistência quantitativa ou parcial poderá aumentar a durabilidade da resistência, já que não suprime a população do patógeno completamente, mas impede que esse atinja níveis destrutivos. Os objetivos deste trabalho foram descrever a variabilidade para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia em populações segregantes de dois cruzamentos, bem como estudar o controle genético envolvido na expressão da resistência. As avaliações de severidade da ferrugem da folha foram realizadas na Estação Experimental da Agrônômica (UFRGS), nos anos de 1998, 1999 e 2000, seguindo a escala modificada de Cobb, considerando-se a porcentagem de área foliar infectada. Os resultados de três anos de estudo evidenciaram que apesar da grande influência do ambiente na expressão da resistência, as populações segregantes apresentaram grande variabilidade para resistência parcial. A distribuição de frequências da ASCPD nas gerações F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub>, foi contínua para o caráter, indicando a presença de vários genes de pequeno efeito no controle desse caráter. As estimativas de herdabilidade observadas variaram de moderada a alta. Os resultados indicam que a seleção de genótipos com resistência parcial deve ser confirmada em diferentes anos e ser feita em populações segregantes mais avançadas.

#### ABSTRACT

Crown rust is the most widespread disease that induces severe yield losses to the oat crop. The use of qualitative resistance for its control is not durable, and an alternative to improve durability of resistance is quantitative resistance, which does not totally suppress the pathogen population but do not let it reach destructive levels. The objective of this work was to describe the variability regarding partial resistance to leaf rust in segregating populations of two oat crosses and to study genetic control of the resistance expression. The evaluation of leaf rust severity was done at the Agronomy Experimental Station of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), during 1998, 1999 and 2000, according to modified Cobb's scale. The results of three years study

showed that regardless the great environmental effect on the expression of resistance, the segregating population presented great variability for partial resistance. The frequencies distribution of AUDPC for the F<sub>5</sub> and F<sub>6</sub> generation, was continuous for this trait, indicating the presence of several genes of small effects controlling the disease. The estimatives of herdability varied from moderate to high. The results indicated that the selection for partial resistance should be confirmed in different years and done in advanced segregating populations.

### 3.1. INTRODUÇÃO

A aveia (*Avena sativa* L.) é uma cultura anual, de estação fria, que apresenta alto valor nutricional, possibilitando uma utilização diversificada na alimentação humana e animal. O cultivo desse cereal ocorre praticamente em todo o mundo, com área plantada de aproximadamente 14 milhões de hectares (USDA, 2001) e produção anual de aproximadamente 30 milhões de toneladas (Pullinen, 2000). A produção de aveia reduziu nos principais países produtores nas últimas décadas (Weaver, 1997; USDA, 2001). Entre os fatores responsáveis por esse declínio, estão os danos provocados por moléstias que atacam a cultura, bem como o alto custo de controle, especialmente a ferrugem da folha (Weaver, 1997).

A ferrugem da folha, causada pelo fungo biotrófico *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* Fraser & Led., é a moléstia mais amplamente disseminada e danosa para a cultura da aveia a nível mundial (Simons, 1985; Ohm & Shaner, 1992), sendo responsável por reduções no rendimento de até 50% e perda da qualidade de grãos colhidos (Martinelli et. al., 1994). A forma mais efetiva de controle da ferrugem da folha é o uso de genótipos resistentes associado ao controle químico. A utilização de fungicidas em larga escala, apesar de eficiente,

encarece o sistema de produção e representa riscos ao ambiente e à saúde dos trabalhadores e das comunidades rurais.

A busca contínua de novos genótipos nos programas de melhoramento resultou no lançamento de cultivares resistentes à ferrugem da folha da aveia, embora em sua maioria, com resistência completa (herança simples). Apesar da relativa facilidade em se trabalhar e obter ganhos genéticos com resistência qualitativa, comparada à resistência quantitativa, a primeira traz uma limitação em termos de durabilidade da resistência efetiva. A interação hospedeiro-patógeno, no patossistema *Avena sativa* - *Puccinia coronata*, é altamente dinâmica, estabelecendo-se uma co-evolução entre ambos (Prabhu & Morais, 1993). Genes de resistência qualitativa em *A. sativa* exercem alta pressão de seleção sobre as raças de *P. coronata* correspondentes, levando à evolução do patógeno para a superação da resistência do hospedeiro, através da mutação desses genes. Nas condições brasileiras, a baixa durabilidade da resistência é atribuída, além da alta mutação de *P. coronata*, ao fato da aveia ser cultivada em todos os meses do ano na região do Cone Sul. Além desses fatores, a presença de outras espécies de gramíneas na área de cultivo da aveia aumentam o inóculo, e as condições do ambiente brasileiro proporcionam um longo período de infecção e esporulação, aumentando a produção de esporos do patógeno (Federizzi & Stuthman, 1998).

O aumento da durabilidade da resistência à ferrugem da folha é uma preocupação constante. Nesse sentido, estratégias baseadas na filosofia do manejo da moléstia, mais do que no controle da mesma, têm sido estudadas com o objetivo não de suprimir a população do patógeno completamente, mas impedir que ele atinja níveis destrutivos (Shaner, 1996). O desenvolvimento de

genótipos com resistência quantitativa ou parcial (progresso lento) poderia aumentar a durabilidade da resistência à ferrugem da folha em aveia (Rooney et al., 1994). Este tipo de resistência tem sido identificada em diversas espécies de cereais, como aveia (Luke et al., 1972), trigo (Shaner, 1983) e cevada (Parlevliet et al., 1980). Leonard (2002) relata que linhas experimentais de aveia, com resistência parcial à ferrugem da folha, mostraram severidade reduzida por mais de 30 anos de exposição a várias raças de *P. coronata*.

Resistência parcial ou de progresso lento da ferrugem (“slow rusting”) é uma forma de resistência incompleta, resultando da interação de diversos componentes, tais como reduzida capacidade do esporo infectar, maior período de latência, pústulas menores que produzem menos esporos e menor período de infecção e menor área sob a curva do progresso da doença (Parlevliet, 1979). A vantagem da resistência parcial é que esta apenas reduz a reprodução do patógeno em interação do tipo compatível, enquanto a resistência qualitativa, dada pela incompatibilidade entre patógeno e hospedeiro, impede completamente a reprodução do fungo (Wang, et al., 1994).

Uma das formas de identificar genótipos portadores de resistência parcial é a estimativa da área sob a curva do progresso da doença (ASCPD), um dos componentes desse tipo de resistência que permite identificar diferentes níveis de resistência, auxiliando na identificação e na caracterização de genótipos hospedeiros que apresentam progresso lento da moléstia. Este tipo de componente tem sido muito utilizado para quantificar resistência parcial e pode ser revisado em Jeger & Viljanen-Rollinson (2001).

Resistência parcial é, geralmente, de herança oligogênica ou poligênica. Em arroz, resistência à brusone (*Pyricularia oryzae*) está associada com

resistência poligênica, sem evidência de especificidade de raça (Bonman, 1992). Estudos com *Avena sterilis* (Sztejnberg & Wahl, 1976), *A. byzantina* (Luke et al., 1975) e linhagens não adaptadas de *A. sativa* (Simons, 1975) revelaram que resistência parcial à ferrugem da folha em aveia é de herança poligênica e de herdabilidade moderada à alta. Em trigo (Skovmand et al., 1978) e em cevada (Johnson & Wilcoxson, 1979), a resistência parcial às ferrugens também está sob controle genético, com herança oligogênica, apresentando de um a quatro genes envolvidos no controle da resistência. Os genes podem ser recessivos, parcialmente recessivos ou parcialmente dominantes, com efeito de aditividade, sendo a herdabilidade de média a alta (Germán, 1997). Vários trabalhos identificaram esse controle como sendo recessivo ou parcialmente recessivo, com segregação variada nas populações e estando sob controle monogênico ou oligogênico (Lee & Shaner, 1985; Bjarko & Line, 1988). Em genótipos brasileiros há evidências de genes de pequeno efeito no controle da resistência parcial em aveia (Thomé, 1999).

Os objetivos deste trabalho foram identificar a variabilidade existente para o progresso lento da ferrugem da folha, através da estivativa da ASCPD, bem como determinar o controle genético envolvido na expressão dessa resistência, em populações segregantes dos cruzamentos UFRGS7 / UFRGS910906 e UFRGS7 / UFRGS922003, sob condições naturais de infecção.

### 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na Estação Experimental Agronômica (EEA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizada no município de Eldorado

do Sul (RS), a 30° 05' 27" de latitude sul e 51° 40' 18" de longitude oeste, com altitude média de 46m (Bergamaschi & Guadagnin, 1990), sendo o solo caracterizado como Argissolo Vermelho Distrófico típico (Embrapa, 1999).

Os genitores que fizeram parte desse estudo apresentam os seguintes caracteres: UFRGS7 (P<sub>1</sub>) é uma variedade de ciclo precoce, baixa estatura e bom rendimento, tendo sido cultivado por muitos anos no Sul do Brasil, apesar de sua suscetibilidade à ferrugem da folha (Com. Bras. Pesq. Aveia, 2000). As linhagens UFRGS910906 (P<sub>2</sub>) e UFRGS922003 (P<sub>3</sub>) são originárias do programa de melhoramento genético da UFRGS e foram indicadas como fonte de resistência parcial à ferrugem da folha (Mellos et al., 1998).

Para a condução do trabalho, utilizaram-se sementes F<sub>2</sub> e F<sub>3</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 (P<sub>1</sub> / P<sub>2</sub>) e F<sub>2</sub> do cruzamento UFRGS7 / UFRGS922003 (P<sub>1</sub>/P<sub>3</sub>), disponíveis no Departamento de Plantas de Lavoura da UFRGS. Em 1998, as gerações foram avançadas para F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub> do primeiro e F<sub>3</sub> do segundo cruzamento. As populações segregantes do cruzamento UFRGS7/UFRGS922003 não foram levadas adiante no próximo ano, devido à necessidade de restrição no volume de trabalho.

Os genitores e as populações segregantes F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 foram conduzidos e avaliados quanto à severidade da ferrugem da folha da aveia na EEA, nos anos de 1998, 1999 e 2000 (Figura 3.1). Para os três anos foram semeadas, no sistema de semeadura direta na palha, duas linhas de cada genitor, em três repetições, e uma linha de cada genótipo das populações segregantes, utilizando 20 sementes por linha, com espaçamento de 20cm entre plantas e 30cm entre linhas. A área experimental foi adubada conforme recomendações técnicas para a cultura.

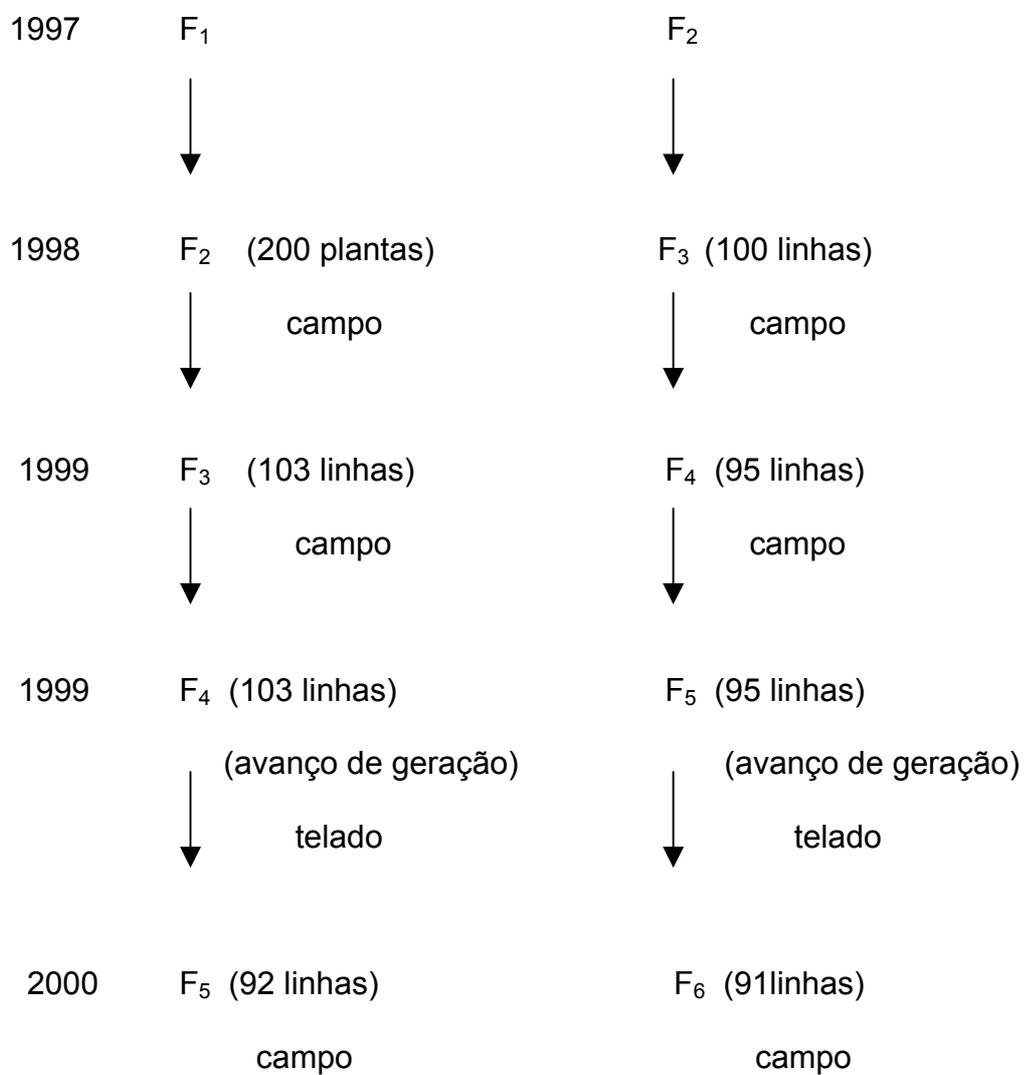


Figura 3.1. Avanço de gerações realizado nas populações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002.

### 3.2.1. Avaliação da severidade da ferrugem da folha:

Plantas dos genitores e das populações segregantes foram marcadas individualmente com um barbante e avaliadas visualmente para severidade da infecção, através da estimativa da porcentagem de área foliar infectada do afilho principal, com auxílio da escala modificada de Cobb (Peterson, 1948). Cada avaliação obedeceu a um intervalo de aproximadamente sete dias, que é o período correspondente à duração do ciclo biológico de *P. coronata*, nas condições do Sul do Brasil.

Em 1998, os genitores UFRGS7, UFRGS910906, UFRGS922003 e as populações segregantes  $F_2$  foram semeadas em 29 de maio. Posteriormente, foram marcadas 30 plantas do genótipo UFRGS7 e 20 plantas de cada um dos genótipos UFRGS910906 e UFRGS922003, além de 200 plantas de cada população  $F_2$ , sendo avaliadas em 18/08, 28/08, 08/09, 15/09, 22/09 e 29/09.

Em 14 de junho de 1999, foram semeados os genitores e as populações segregantes  $F_3$  (103 linhas) e  $F_4$  (95 linhas) do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. Posteriormente, foram marcadas 30 plantas de cada genitor, 10 plantas de cada linha  $F_3$  e de cada linha  $F_4$ . As avaliações foram realizadas em 16/09, 23/09, 30/09, 07/10, 15/10 e 21/10. As plantas de cada linha das populações  $F_4$  e  $F_5$  foram colhidas separadamente, e uma planta, ao acaso, de cada linha, a qual representa uma família na geração seguinte, foi semeada em 23 de dezembro de 1999, em telado, para avanço de geração no verão e obtenção de sementes  $F_5$  e  $F_6$ .

No ano de 2000, foram semeados os genitores, 92 linhas  $F_5$  e 91 linhas  $F_6$ , do mesmo cruzamento, das quais foram marcadas e avaliadas sete plantas de cada linha. As avaliações realizaram-se em 01/09, 09/09, 16/09, 23/09, 30/09

e 06/10.

### **3.2.2. Análise estatística:**

#### **3.2.2.1. Área sob a curva do progresso da moléstia (ASCPD):**

O progresso da ferrugem da folha foi quantificado através do cálculo da área sob a curva do progresso da doença (ASCPD), o qual baseia-se no progresso da moléstia ao longo do tempo. Para este cálculo utilizou-se a equação de Das et al. (1992):

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

Onde: n = número de avaliações

$x_i$  = severidade da ferrugem na data  $t_i$

$x_{i+1}$  = severidade da ferrugem na data  $t_{i+1}$

$t_i$  = data da avaliação

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

A partir dos dados de ASCPD foram construídos gráficos de freqüências desse componente para cada população segregante do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906.

#### **3.2.2.2. Componentes de variância:**

A partir dos dados obtidos na avaliação de severidade da ferrugem da folha, calcularam-se as variâncias fenotípicas ( $V_P$ ), as variâncias genéticas ( $V_G$ ) e a variância de ambiente ( $V_E$ ), utilizando-se as equações propostas por Allard

(1960):

$$VE = \sqrt{VP_1 \times VP_2}$$

$$VG = VF_2 - VE$$

### 3.2.2.3. Componentes de médias:

Para a estimativa dos componentes de média utilizou-se o teste de escala conjunta baseado no modelo de aditividade-dominância proposto por Cavalli (1952 – citado por Mather & Jinks, 1984). No contexto do modelo aditivo-dominante,  $\underline{m}$  representa a média fenotípica dos genótipos homozigotos, ou seja, o ponto intermediário entre os valores genotípicos favoráveis e desfavoráveis, sendo  $\underline{a}$  e  $\underline{d}$  desvios em relação à média. O valor genotípico  $\underline{a}$  pode estar associado com o genótipo favorável ( $+\underline{a}$ ) ou com o genótipo desfavorável ( $-\underline{a}$ ), indicando efeitos de aditividade. O valor genotípico  $\underline{d}$  representa a associação com o heterozigoto, podendo ser chamado de efeito de dominância (Mather & Jinks, 1984).

O modelo de três parâmetros, foi testado para os genótipos parentais  $P_1$  (UFRGS7) e  $P_2$  (UFRGS910906) e populações  $F_3$  e  $F_4$  de 1999, e  $P_1$  e  $P_2$  e populações  $F_5$  e  $F_6$  de 2000.

### 3.2.2.4. Estimativas de Herdabilidade:

A herdabilidade é um parâmetro genético muito importante para o melhoramento, pois a partir desta estimativa pode-se visualizar a proporção da variância genética presente na variância fenotípica total. É possível estimar dois tipos de herdabilidade, no sentido amplo ( $h^2_a$ ) e no sentido restrito ( $h^2_r$ ). A herdabilidade no sentido restrito considera apenas a variância genética aditiva,

aquela que é fixada pela seleção, e por conseqüência, a mais importante para o melhoramento. É importante salientar que a herdabilidade não está relacionada apenas ao caráter em questão, mas também à população em estudo e às condições ambientais, a que foram submetidos os indivíduos da população (Ramalho et al., 1994).

A herdabilidade no sentido amplo ( $h^2a$ ) foi estimada a partir das variâncias fenotípicas das populações segregantes, pela equação proposta por Allard (1960):  $h^2a = V_{F_2} - V_E / V_{F_2}$

A herdabilidade no sentido restrito ( $h^2r$ ) foi estimada de duas formas. A primeira pelo teste Pai-Progênie, utilizando-se as populações  $F_2$  (1998) -  $F_3$  (1999) e as populações  $F_4$  (1999) -  $F_5$  (2000), através das equações:

$$b \text{ (coeficiente de regressão)} = \text{Cov} (F_2 \& F_3) / VF_2$$

$$b \text{ (coeficiente de regressão)} = \text{Cov} (F_4 \& F_5) / VF_4$$

A segunda forma, utilizou as variâncias dentro de linhas ( $V_{DL}$ ) e variância entre linhas ( $V_{EL}$ ), das populações  $F_5$  (644 plantas) e  $F_6$  (637 plantas), pela fórmula:  $h^2r = V_{EL} - V_{DL} / V_{DL}$

A variância dentro de linhas total ( $V_{DLt}$ ) foi calculada por:

$$V_{DLt} = \sum (V_{DLi} / r)^{1/2}$$

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1. Severidade da ferrugem da folha:

Em 1998, as médias para os genitores UFRGS7 (37,96%), UFRGS910906 (35,07%) e UFRGS922003 (34,93%) foram semelhantes. As

médias para as populações segregantes  $F_2$  mostraram amplitudes entre 26 e 48% no cruzamento UFRGS7/ UFRGS910906 e entre 23 e 46% no cruzamento UFRGS7/UFRGS922003 (Tabela 3.1). A semelhança entre os valores de médias observados para os três genitores, pode ser explicada pela alta severidade da ferrugem da folha em 1998, a qual iniciou mais cedo no campo (ver datas de avaliação), propiciada por condições climáticas favoráveis à multiplicação de *P. coronata* e conseqüente aumento do inóculo do fungo na lavoura, infectando, praticamente com a mesma intensidade, plantas suscetíveis e resistentes à doença. Uma explicação para esse resultado foi discutida por Shaner (1996), que relatou a possibilidade de interferência entre linhas, a qual ocorre quando linhas parcialmente resistentes recebem quantidades excessivas de inóculo de linhas próximas suscetíveis, podendo a resistência parcial ser mascarada pelo alto fluxo de inóculo.

A variância entre plantas foi alta em 1998, apresentando valores de 19,52; 22,67 e 11,79 para os três genitores, respectivamente, refletindo novamente a alta contribuição do componente ambiental na expressão do caráter. As variâncias entre plantas para as populações  $F_2$  foram de 29,04 (UFRGS7/UFRGS910906) e de 18,26 (UFRGS7/UFRGS922003). Se estas forem comparadas às variâncias entre plantas dos genitores observa-se que esses valores foram semelhantes.

Em 1998 e 1999, houve semelhança quanto aos valores de variância entre populações segregantes e genótipos fixos. Essa semelhança indica que em gerações iniciais a seleção para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia pode ser dificultada, porque características quantitativas sofrem maior influência do ambiente em gerações iniciais, devido a heterozigose.

Tabela 3.1. Médias, variâncias e área total sob a curva do progresso da doença (ASCPD) da severidade da ferrugem da folha da aveia avaliadas nos parentais e nas populações segregantes, nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002.

Geração	N <sup>o</sup> de plantas avaliadas	Média da área foliar infectada (%)	Intervalos entre as médias	Variância	ASCPD
1998					
UFGRS7 (P <sub>1</sub> )*	30	37,96	28 – 45	19,52	1319
UFRGS922003 (P <sub>3</sub> )*	20	34,93	28 – 40	11,79	1226
UFRGS910906 (P <sub>2</sub> )*	20	35,07	26 – 43	22,67	1207
F <sub>2</sub> (P <sub>1</sub> X P <sub>2</sub> )*	197	37,06	26 – 48	29,04	898 – 1763
F <sub>2</sub> (P <sub>1</sub> X P <sub>3</sub> )*	179	36,45	23 – 46	18,26	773 – 1580
1999					
UFGRS 7*	30	3,71	0,4 – 9,8	3,97	131
UFGRS910906*	30	1,44	0,3 – 7,3	2,83	54
F <sub>3</sub> **	1030	1,64	0,1 – 17,6	4,43	4 – 644
F <sub>4</sub> **	950	2,70	0,08 – 8,8	4,56	2 – 343
2000					
UFGRS 7*	20	26,51	26,5 – 29,2	2,76	874
UFGRS910906*	15	1,78	1,4 – 2,4	0,12	52
F <sub>5</sub> **	644	12,04	2,5 – 32,6	34,59	86 – 1173
F <sub>6</sub> **	637	15,43	2,07 – 37,8	45,46	71 – 1417

\* entre plantas

\*\* entre linhas

Em relação à curva do progresso da infecção, o comportamento dos genitores foi semelhante, bem como das populações  $F_2$ , de ambos cruzamentos, refletindo a alta influência do ambiente sobre a expressão da característica (Figura 3.2).

Neste estudo, apesar da semelhança entre os genitores, as populações  $F_2$  apresentaram variabilidade para o progresso da moléstia, com amplitude de valores entre 898 e 1763 no cruzamento UFRGS7 / UFRGS910906 e entre 773 e 1580 no cruzamento UFRGS7 / UFRGS922003 (Tabela 3.1).

A alta influência do ambiente sobre a expressão de um caráter de interesse, dificulta o melhoramento para esse caráter, uma vez que é difícil a distinção entre a variação devido ao ambiente e variação genética.

No ano de 1999, a ferrugem começou mais tarde no campo e a infecção foi menor em relação a 1998, sendo que as médias foram de 3,71% para UFRGS7 e 1,44% para UFRGS910906, com variâncias de 3,97 e 2,83, respectivamente (Tabela 3.1).

A população segregante  $F_3$  apresentou médias com intervalos entre 0,1% - 17,6%, com variância entre linhas de 4,43. A população  $F_4$  apresentou médias com intervalos entre 0,08% - 8,8%, com variância entre linhas de 4,56.

A ASCPD, calculada em 1999, mostrou valores de 131 para UFRGS7 e 54 para UFRGS910906, apresentando diferença significativa. As populações segregantes  $F_3$  e  $F_4$  mostraram grande variabilidade para o caráter, variando entre 4 e 644 na  $F_3$  e entre 2 e 343 na  $F_4$  (Tabela 3.1). Essa diferença nos níveis de infecção é muito importante, porque significa variabilidade disponível para a seleção no programa de melhoramento. As curvas de progresso da infecção dos genitores e de algumas linhas das populações  $F_3$  e  $F_4$  estão na Figura 3.3.

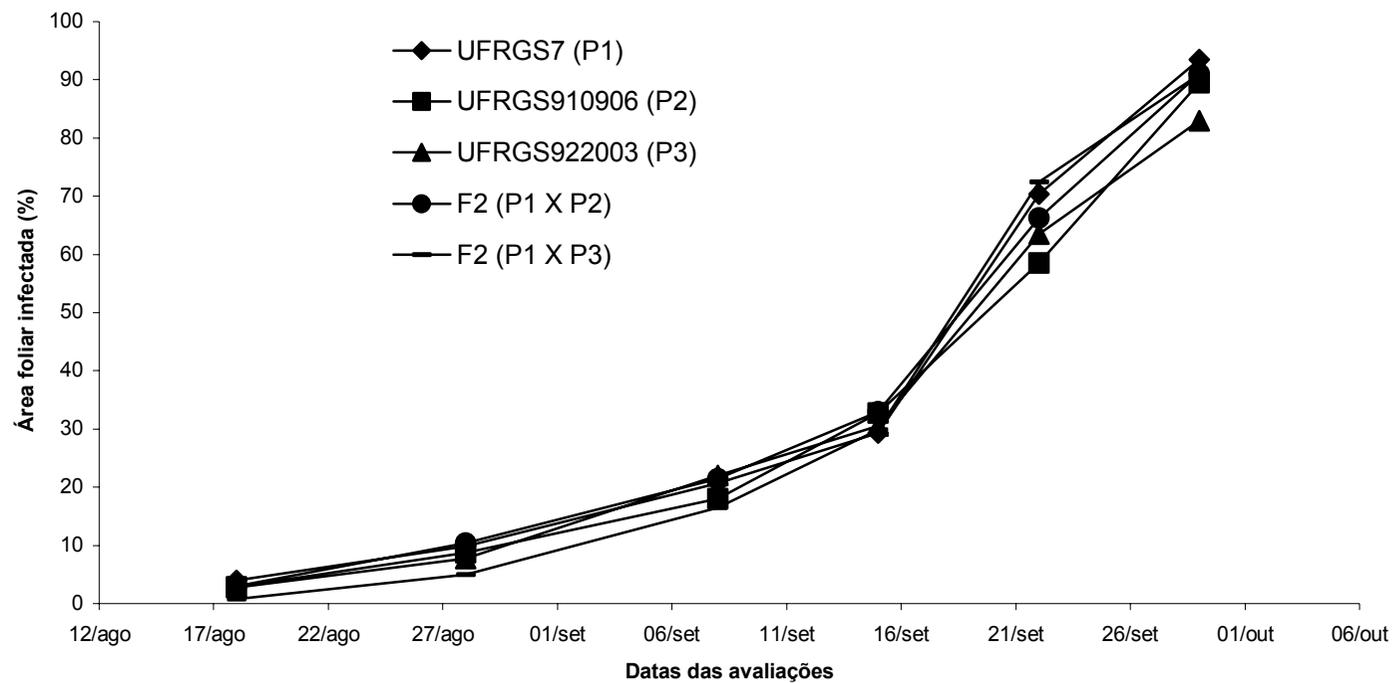


Figura 3.2. Progresso da ferrugem da folha da aveia nos genótipos parentais e populações segregantes F<sub>2</sub> dos cruzamentos UFRGS7 X UFRGS910906 e UFRGS7 X UFRGS922003, avaliados quanto a área foliar infectada, na EEA, em 1998. UFRGS. 2002.

A diferença entre UFRGS910906 e UFRGS7 foi discreta, podendo-se, entretanto, observar que UFRGS910906 apresentou progresso da moléstia mais lento que a cultivar UFRGS7.

Outro aspecto que pôde ser observado nas duas populações foi a presença de segregação transgressiva, sendo que as linhas segregaram tanto para menor, quanto para maior curva do progresso da doença. Segundo Tanksley (1993), a causa para este tipo de segregação pode ser, muitas vezes, o acúmulo em certas progênies, de alelos complementares herdados dos dois parentais.

No ano de 2000, a diferença entre os parentais foi evidenciada claramente, sendo que as médias foram de 26,51% para UFRGS7 e 1,78% para UFRGS910906. A amplitude das médias esteve entre 2,5% – 32,6% para  $F_5$  e entre 2,07% – 37,8% para  $F_6$  (Tabela 3.1), evidenciando a presença de grande variabilidade para o caráter área foliar infectada.

Estes resultados reforçam os observados por Mellos et al. (1998), que estudando tamanho de pústula, área foliar infectada e área sob a curva do progresso da doença, em três anos, encontraram diferenças quanto à reação a ferrugem da folha entre os genótipos UFRGS7 e UFRGS910906. A variância entre plantas foi baixa para os genótipos parentais no ano de 2000, sendo de 2,76 para UFRGS7 e de 0,12 para UFRGS910906. Porém, a variância aumentou acentuadamente entre linhas segregantes, sendo 34,59 na população  $F_5$  e 43,41 na população  $F_6$ . Alta variância entre linhas em gerações avançadas é esperada devido ao aumento da homozigose dentro das linhas, o que torna plantas dentro da mesma linha semelhantes e plantas de linhas diferentes distantes entre si.

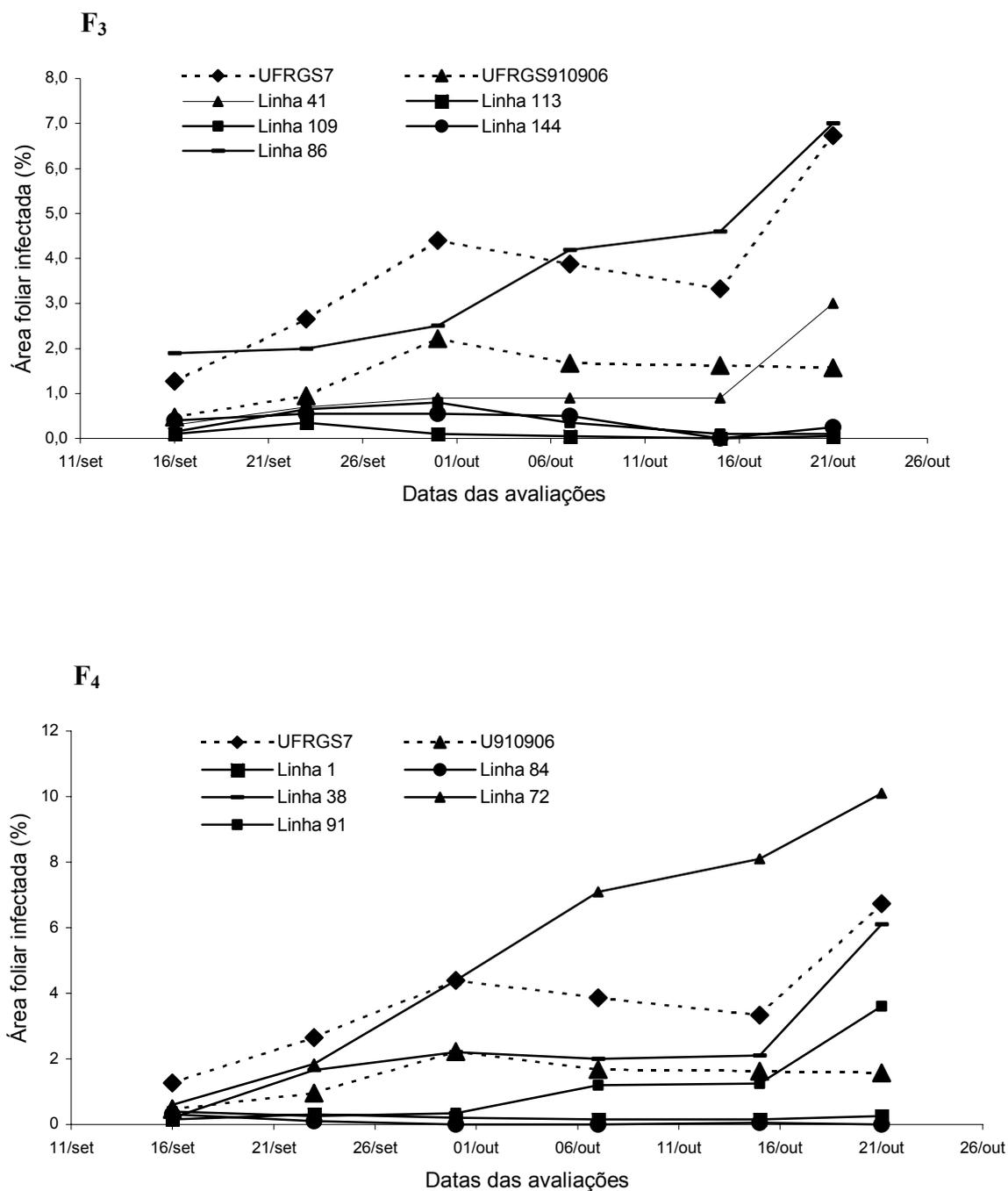


Figura 3.3. Curva do progresso da ferrugem da folha da aveia nos genótipos parentais e linhas das populações F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub> do cruzamento UFRGS7/ UFRGS910906, avaliados na EEA, no ano de 1999. UFRGS. 2002.

Esses resultados evidenciam que a seleção entre linhas, em gerações avançadas, pode ser mais efetiva que entre plantas, em gerações iniciais.

Os valores de ASCPD diferenciaram claramente os genótipos UFRGS7 (874) e UFRGS91096 (52) no ano de 2000. Da mesma forma, Chaves et al. (2001) estudando componentes de resistência parcial nos mesmos genótipos, caracterizou UFRGS7 como alta ASCPD e UFRGS91096 como baixa ASCPD.

A geração  $F_5$  mostrou valores de ASCPD entre 86 – 1173 e a geração  $F_6$  entre 71 – 1410, evidenciando grande variabilidade para a característica nessas populações. A curva do progresso da doença para a cultivar UFRGS7 foi pronunciada atingindo altos valores de área foliar infectada, enquanto que a curva para UFRGS91096 evidenciou um progresso lento da moléstia, permanecendo em baixos valores de infecção (Figura 3.4). As linhas segregantes  $F_5$  e  $F_6$  mostraram diferentes comportamentos quanto ao nível de infecção. Os resultados indicam que diferentes níveis de resistência à ferrugem da folha estão presentes nos genótipos parentais e principalmente nas populações segregantes deste estudo, podendo-se selecionar linhas com diferentes valores de área sob a curva do progresso da doença.

### **3.3.2. Controle genético da resistência parcial:**

#### **3.3.2.1. Componentes de variância:**

Os valores de variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e variância de ambiente ( $V_E$ ), nos anos de 1998, 1999 e 2000, são apresentados na Tabela 3.2. A estimativa da porção genética ( $V_G$ ) para o caráter área foliar infectada foi baixa nas populações  $F_2$  de ambos os cruzamentos. As estimativas

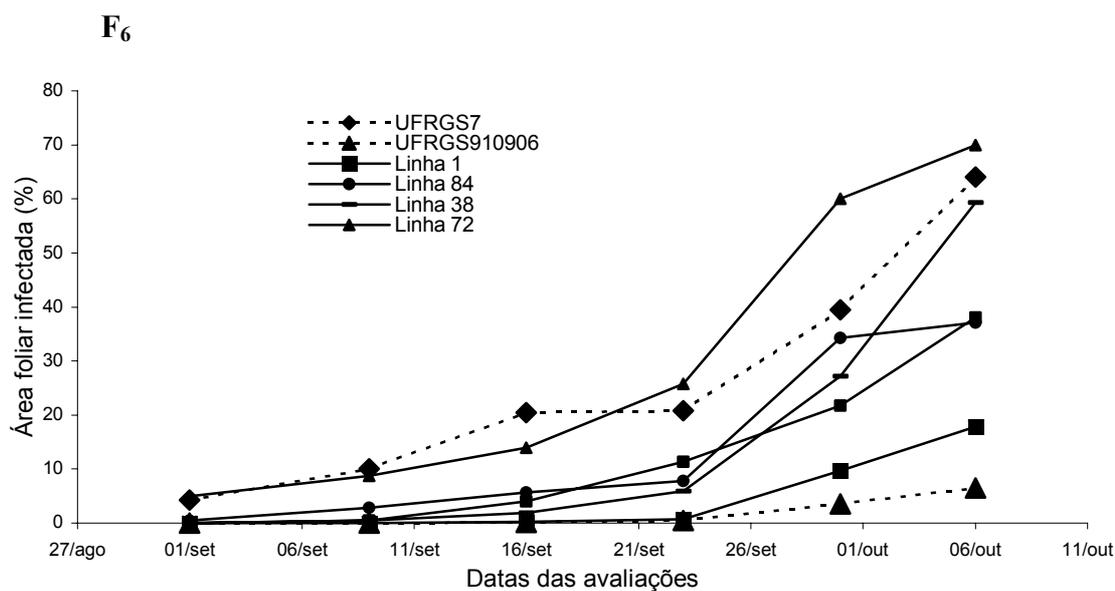
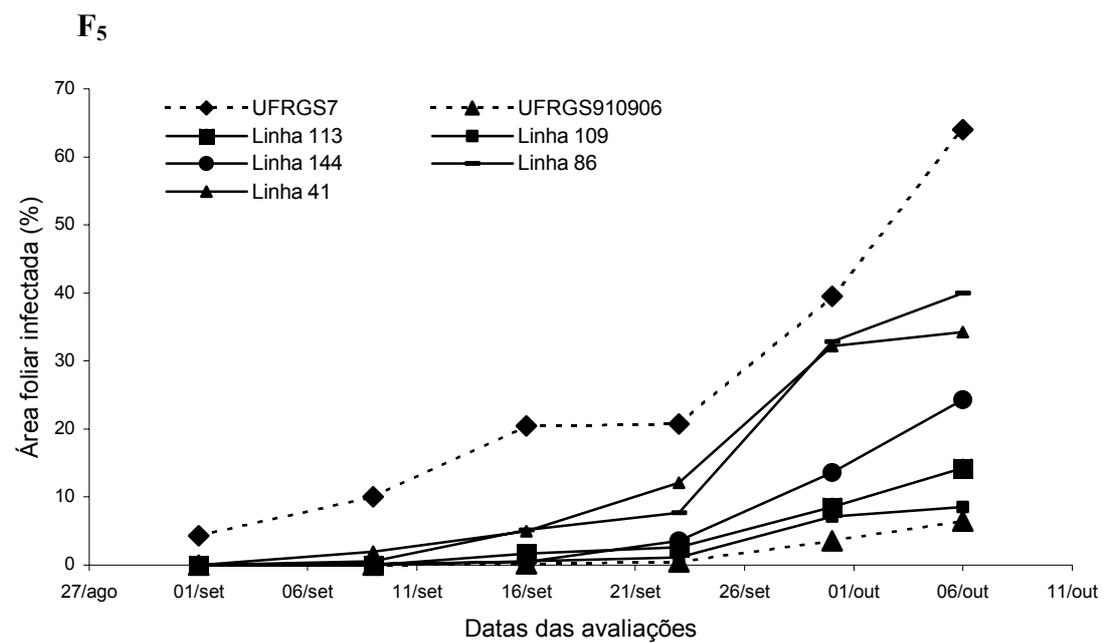


Figura 3.4. Curva do progresso da ferrugem da folha da aveia nos genótipos parentais e linhas das populações F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, avaliados na EEA, no ano de 2000. UFRGS. 2002.

Tabela 3.2. Variância fenotípica ( $V_P$ ), variância genética ( $V_G$ ) e variância de ambiente ( $V_E$ ) para a característica área foliar infectada da ferrugem da folha da aveia, avaliada nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002.

Genótipo	1998		1999		2000	
	$V_P$	$V_G$	$V_P$	$V_G$	$V_P$	$V_G$
UFRGS7 ( $P_1$ )	19,52*	-	3,97*	-	2,78*	-
UFRGS910906 ( $P_2$ )	22,67*	-	2,83*	-	0,12*	-
UFRGS922003 ( $P_3$ )	11,79*	-	-	-	-	-
$F_2(P_1 \times P_2)$	29,04**	7,9	-	-	-	-
$F_2(P_1 \times P_3)$	18,26**	2,6	-	-	-	-
$F_3$	-	-	4,43**	1,03	-	-
$F_4$	-	-	4,58**	1,18	-	-
$F_5$	-	-	-	-	34,84**	33,39
$F_6$	-	-	-	-	44,20**	42,75
$V_E$ cruzamento $P_1 \times P_2$	21,1		3,4		1,45	
$V_E$ cruzamento $P_1 \times P_3$	18,26		-		-	

\* entre plantas

\*\* entre linhas

de  $V_E$ , obtidas a partir da variância fenotípica dos genótipos parentais, foram de 21,1 para o cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 e de 18,26 para o cruzamento UFRGS7/UFRGS922003, evidenciando elevada porção do componente ambiental na expressão do caráter, no referido ano.

Em 1999, a variância ambiental apresentou um valor baixo (3,4), porém a severidade da doença foi também baixa, sendo que as populações segregantes apresentaram variâncias de 4,43 ( $F_3$ ) e 4,58 ( $F_4$ ).

No ano de 2000, a variância ambiental foi baixa (1,45), demonstrando

ser responsável por uma pequena porção da variância fenotípica total nas populações segregantes, as quais apresentaram variâncias fenotípicas de 34,84 ( $F_5$ ) e de 44,20 ( $F_6$ ), entre linhas. Tais estimativas, permitiram medir a porção ambiental e a porção genética, presentes na expressão do caráter de resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, nas populações segregantes desse estudo.

### **3.3.2.2. Distribuição de frequências da ASCPD:**

As distribuições de frequências dos genitores e das populações segregantes para o componente ASCPD das populações  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$  e  $F_6$ , nos três anos de avaliação estão representadas na Figura 3.5. Como já mencionado no início deste capítulo, a alta severidade da ferrugem em 1998, não permitiu uma separação clara entre os genótipos parentais quanto ao nível de resistência à ferrugem da folha. Porém, na  $F_2$  (Figura 3.5A) pôde-se observar a presença de variabilidade para o caráter.

Em 1999, a severidade foi baixa, o que fez com que a maioria dos indivíduos nas populações  $F_3$  e  $F_4$  se concentrassem à esquerda do gráfico, em virtude dos baixos valores de ASCPD ocorridos neste ano (Figuras 3.5B e 3.5C). Em contrapartida, no ano de 2000, foi possível distinguir o genótipo UFRGS7, o qual concentrou-se nos maiores valores de ASCPD, do genótipo UFRGS910906, o qual concentrou-se nos menores valores de ASCPD, sendo que as populações segregantes mostraram uma distribuição contínua para o caráter (Figuras 3.5D e 3.5E). Esses resultados reforçam os relatos de Thomé (1999) de valores de ASCPD intermediários para UFRGS910906. Esta distinção permite considerar a presença de diferentes níveis de resistência entre os genótipos parentais, e

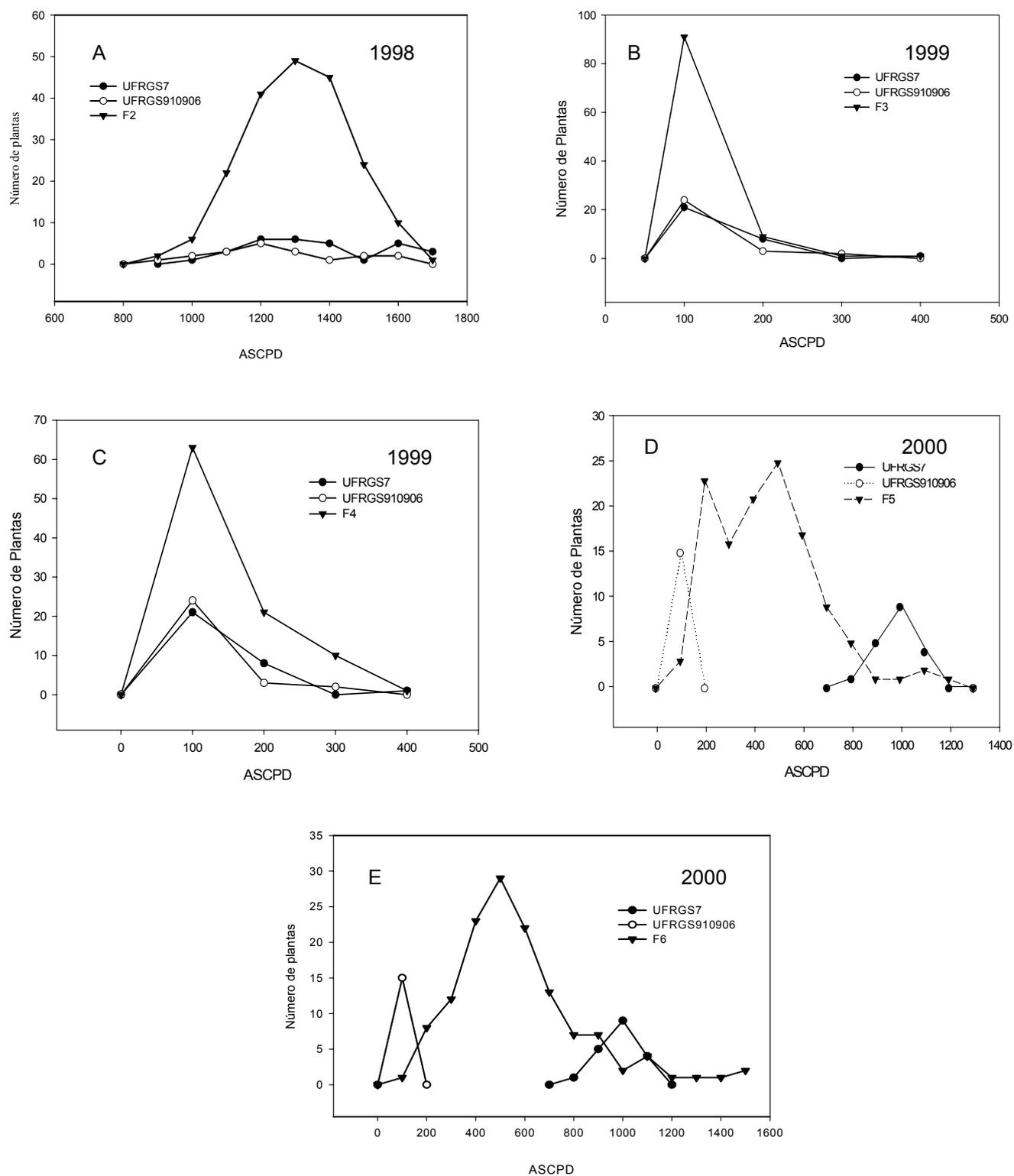


Figura 3.5. Distribuições de freqüências do caráter área sob a curva do progresso da doença (ASCPD) nos genótipos parentais e nas populações F<sub>2</sub> (A); F<sub>3</sub> (B); F<sub>4</sub> (C); F<sub>5</sub> (D) e F<sub>6</sub> (E) do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, avaliados a campo nos anos de 1998, 1999 e 2000, na EEA. UFRGS. 2002.

indica que a presença de vários níveis de resistência dentro das populações  $F_5$  e  $F_6$  é realmente devido a diferenças genéticas dos indivíduos parentais e não somente à variação do ambiente.

A distribuição contínua dos dados nas populações segregantes, é uma indicação da presença de vários genes de pequeno efeito no controle do caráter resistência parcial à ferrugem da folha, no genótipo de aveia UFRGS910906.

### **3.3.2.3. Componentes de Médias:**

O modelo aditivo-dominante, testado através da estimativa do qui-quadrado, mostrou adequabilidade para explicar os efeitos gênicos envolvidos no controle genético da característica área foliar infectada, com  $P = 0,95$  tanto para as populações de 1999, como para as populações de 2000, ambas do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 (Tabela 3.3), indicando ausência de epistasia no controle da característica. Os efeitos genotípicos de  $\underline{d}$  foram negativos, indicando a contribuição do genótipo UFRGS910906 no sentido de diminuir a característica área foliar infectada. Os efeitos de aditividade foram importantes, tanto nas gerações iniciais, como nas avançadas. Entretanto, os efeitos de  $\underline{d}$  foram maiores e importantes.

A adequação de um modelo simples para o controle dessa resistência, sem presença de epistasia, indica que a seleção para essa característica pode ser facilitada, entretanto deverá ser realizada em gerações avançadas, devido ao efeito de dominância presente.

### **3.3.2.4. Estimativas de herdabilidade:**

As herdabilidades estimadas no sentido amplo, apresentaram valores

Tabela 3.3. Estimativas dos efeitos gênicos  $m$ ,  $a$  e  $d$  analisados pelo modelo aditivo-dominante para a característica área foliar infectada, testado para o cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. UFRGS, 2002.

Gerações	Médias	n <sup>o</sup> de plantas	Modelo	Estimativas
1999				
P <sub>1</sub>	2,4	30	m	3,41 ± 0,13
P <sub>2</sub>	1,4	30	a	1,28 ± 0,24
F <sub>3</sub>	1,6	1030	d	-6,83 ± 0,66
F <sub>4</sub>	2,7	950		
$\chi^2$				0,44
P				0,95
2000				
P <sub>1</sub>	26,51	20	m	14,62 ± 0,18
P <sub>2</sub>	1,78	15	a	12,78 ± 0,18
F <sub>5</sub>	12,04	644	d	-30,19 ± 4,79
F <sub>6</sub>	15,43	637		
$\chi^2$				0,29
P				0,95

baixos, estando entre 14% e 27% nas populações F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> e F<sub>4</sub> (Tabela 3.4). Thomé (1999) encontrou valores de médio a alto para as estimativas de herdabilidade no sentido amplo (0,43%, 0,82% e 0,91%), em três diferentes cruzamentos envolvendo resistência parcial à ferrugem da folha em aveia. Os baixos valores encontrados para  $h^2$  no sentido amplo, no presente trabalho, podem ser explicados pela alta influência ambiental ocorrida nos anos de 1998 e 1999, nos quais os valores de variância ambiental foram muito próximos aos valores das variâncias fenotípicas das referidas populações (ver Tabela 3.1).

Uma vez que a herdabilidade no sentido amplo é estimada em função das variâncias fenotípica e ambiental, a aproximação entre esses dois valores

Tabela 3.4. Estimativas de herdabilidade nos sentidos amplo ( $h^2_a$ ) e restrito ( $h^2_r$ ) para a característica área foliar infectada nos diferentes cruzamentos e gerações. UFRGS.2002.

Cruzamento	Populações	Fórmula	Estimativa de $h^2$
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>2</sub>	$VF_2 - VE / VF_2$	27%
UFRGS7/UFRGS922003	F <sub>2</sub>	$VF_2 - VE / VF_2$	14%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>3</sub>	$VF_3 - VE / VF_3$	23%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>4</sub>	$VF_4 - VE / VF_4$	25%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>5</sub>	$VF_5 - VE / VF_5$	94%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>6</sub>	$VF_6 - VE / VF_6$	95%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>5</sub>	$V_{EL} - V_{DL} / V_{EL}$	78%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>6</sub>	$V_{EL} - V_{DL} / V_{EL}$	80%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>2</sub> - F <sub>3</sub>	$Cov(F_2 \& F_3) / VarF_2$	11%
UFRGS7/UFRGS910906	F <sub>4</sub> - F <sub>5</sub>	$Cov(F_4 \& F_5) / VarF_4$	47%

VF = variância fenotípica; VE = variância ambiental; V<sub>EL</sub> = variância entre linhas; V<sub>DL</sub> = variância dentro da linha

resulta em baixa herdabilidade. Por outro lado, os valores estimados nas gerações F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub> foram altos para herdabilidade no sentido amplo, sendo 94% e 95%, respectivamente, mostrando o aumento da herdabilidade acompanhando o aumento da variância entre linhas nas populações.

Esses resultados indicam que a seleção para resistência parcial a ferrugem da folha da aveia pode ser mais efetiva em gerações avançadas em anos com alta influência do ambiente.

A herdabilidade estimada considerando a variância entre linhas (V<sub>EL</sub>) e a variância ponderada dentro das linhas (V<sub>DL</sub>) foi considerada aqui como de sentido restrito, em função de ser obtida em populações com alto grau de homozigose (F<sub>5</sub> e F<sub>6</sub>) e também por considerar um grande número de indivíduos na estimativa de suas variâncias (644 indivíduos para V<sub>DL</sub> em F<sub>5</sub> e 637 para F<sub>6</sub>). As estimativas obtidas dessa forma foram de 78% para F<sub>5</sub> e 80% para F<sub>6</sub>, sendo

considerados valores altos de herdabilidade.

Os resultados obtidos concordam com estudos realizados com *Avena sterilis* (Sztejnberg & Wahl, 1976), *A. byzantina* (Luke et al., 1975) e linhagens não adaptadas de *A. sativa* (Simons, 1975), os quais revelaram que resistência parcial à ferrugem da folha em aveia é de herdabilidade moderada a alta e de herança poligênica. Outros estudos também relatam estimativas de herdabilidade altas para resistência quantitativa, como por exemplo Kicherer et al. (2000), que estimou 73% de herdabilidade para resistência quantitativa à ferrugem da folha em cevada.

As estimativas de herdabilidade no sentido restrito calculadas através do teste pai-progênie apresentaram valores intermediários entre 11% ( $F_2 - F_3$ ) e 47% ( $F_4 - F_5$ ).

As estimativas de herdabilidade no sentido restrito obtidas nas gerações  $F_5$  e  $F_6$  (78 e 80%), pelo mesmo método, foram altas. A herdabilidade no sentido restrito é a mais importante do ponto de vista do melhoramento, e quanto maior for a sua estimativa maior será a possibilidade de se obter ganho genético através da seleção.

### 3.4. CONCLUSÕES

A linhagem UFRGS910906 apresenta resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, podendo ser utilizada no melhoramento para a transferência dessa característica para genótipos de interesse agrônômico.

O controle genético da resistência parcial à ferrugem da folha no

genótipo UFRGS910906 é dado por genes com efeitos aditivos e dominantes.

As estimativas de herdabilidade no sentido restrito, as quais foram de moderada à alta, demonstram que há possibilidade de ganho genético no melhoramento para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia.

A seleção de genótipos parcialmente resistentes deverá ser realizada preferencialmente em gerações avançadas.

## **CAPÍTULO IV**

### **Mapeamento molecular e identificação de locos relacionados à resistência parcial à ferrugem da folha em aveia**

#### **RESUMO**

Mapeamento molecular é uma estratégia promissora para o estudo e compreensão de características com controle genético complexo, tais como a resistência parcial à ferrugem da folha da aveia. Os objetivos do trabalho foram desenvolver mapas moleculares de populações segregantes do cruzamento UFRGS7 (suscetível) X UFRGS910906 (parcialmente resistente) e identificar QRLs (“quantitative resistance loci” ou locos de resistência quantitativa) associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia nestas populações. O DNA de 86 genótipos da população  $F_2$  e de 90 genótipos da população  $F_6$  foram utilizados para gerar marcadores do tipo AFLP. A construção dos mapas moleculares e a identificação de QRLs para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia foram feitas através dos programas computacionais Mapmaker, Mapmaker QTL e QTLCartographer. Quinhentos e cinquenta e sete marcadores da população  $F_2$  e 243 marcadores da população  $F_6$  foram identificados. O mapa  $F_2$  foi construído com duzentos e cinquenta marcadores, distribuídos em 37 grupos de ligação. O mapa  $F_6$  foi construído com 86 marcadores distribuídos em 17 grupos de ligação. Cinco QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia foram identificados na  $F_2$  e três QRLs na  $F_6$ . O QRL identificado na  $F_6$ , pelo marcador PaaMtt340 apresentou consistência em dois ambientes, sendo um marcador potencial para utilização em seleção assistida para a característica resistência parcial à ferrugem da folha da aveia.

#### **ABSTRACT**

Molecular mapping is a promising strategy for studying and understanding traits with complex genetic control, such as partial resistance to crown rust. The objectives of this research were to develop molecular maps of segregating populations from the cross UFRGS7 (susceptible) X UFRGS910906 (partially resistant) and to identify QRLs (quantitative resistance loci) associated to partial

resistance to crown rust in those populations. DNA of 86 genotypes of F<sub>2</sub> population and 90 genotypes of F<sub>6</sub> population were used for generate AFLP markers. The building of the molecular maps and identification of QRLs for partial resistance to crown rust were done by using the Mapmaker, MapmakerQTL and QTLCartographer programs. Five hundred fifty seven markers in F<sub>2</sub> population and 243 markers for F<sub>6</sub> were identified. The F<sub>2</sub> map was built up with 250 markers in 37 linkage groups. The F<sub>6</sub> map was built up with 86 markers in 17 linkage groups. Five QRLs was associated with partial resistance to crown rust on F<sub>2</sub> and three QTLs on F<sub>6</sub>. The QRL identified on F<sub>6</sub> through the PaaMtt340 marker show consistency across two environments, and appear as a potencial marker for use in assisted selection.

#### 4.1. INTRODUÇÃO

As ferrugens que atacam os cereais estão entre as moléstias mais prejudiciais, sendo que a ferrugem da folha da aveia, causada pelo fungo *Puccinia coronata* f. sp. *avenae*, resulta em grandes danos à cultura (Simons, 1985; Ohm & Shaner, 1992; Martinelli et al., 1994). Uma das formas de controle da moléstia é o uso de genótipos resistentes, sendo que a maioria das variedades em cultivo apresenta resistência qualitativa. Esse tipo de resistência exerce alta pressão de seleção sobre o patógeno, resultando na evolução das raças para a superação da resistência do hospedeiro, diminuindo assim, a durabilidade da resistência. Uma alternativa para aumentar a durabilidade da resistência é a utilização de resistência parcial (Luke et al., 1972; Wilcoxson, 1981; Johnson, 1984; Rooney et al., 1994; Wang et al., 1994), a qual caracteriza-se por sua complexidade, resultando da interação de diversos componentes: redução do número de lesões, aumento do período de latência, menor produção de esporos, menor tamanho de pústulas e progresso lento da moléstia, ou seja, menor taxa de desenvolvimento da ferrugem (Parlevliet, 1979).

Características quantitativas, são geralmente controladas por vários genes, cada qual dando uma contribuição positiva ou negativa para o valor fenotípico final da característica. Uma estratégia para o estudo e compreensão de características com controle complexo é o desenvolvimento de mapas moleculares, através da identificação de marcadores de DNA, os quais auxiliam o uso destas características no melhoramento de plantas (Young, 1996).

Mapas moleculares de aveia foram construídos a partir dos genomas diplóide e hexaplóide. Mapas relativos ao genoma diplóide A, foram desenvolvidos a partir dos cruzamentos *Avena hirtula* X *A. atlântica* (O'Donoghue et al., 1992; Van Deynze et al., 1995) e *A. strigosa* X *A. wiestii* (Rayapati et al., 1994; Kremer et al., 2001), ambos apresentando sete grupos de ligação distintos. Para o genoma da aveia hexaplóide, o primeiro mapa molecular foi obtido do cruzamento entre *Avena byzantina* cv. Kanota e *A. sativa* cv. Ogle (O'Donoghue et al., 1995). Novos mapas foram desenvolvidos, a partir de linhas recombinantes (RILs), dos cruzamentos "Clintand 64"/"IL865698"; (Jin et al., 2000), "Ogle"/"TAM 0-301" (Portyanco et al., 2001) e "Kanota"/"Marion" (Groh et al., 2001), todos utilizando o cruzamento original, "Kanota"/"Ogle", como referência. O mapa "Ogle"/"TAM 0-301" foi utilizado para associação de QTLs para sete características agrônômicas e duas características para qualidade de grãos (Hoffman et al., 2000).

O mapeamento e a identificação de marcadores moleculares pode auxiliar principalmente na avaliação de doenças com reações difíceis de serem interpretadas, devido a interações do genótipo com o ambiente e diferentes graus de virulência do patógeno (Young, 1996). Através do mapeamento é possível sinalizar a posição de QRLs ("quantitative resistance loci")

individualmente, determinar o tipo e a magnitude de efeitos gênicos e indicar qual parental possui o alelo positivo para cada QRL. Muitos trabalhos são relatados na literatura com mapeamento de QRLs, dos quais entre eles citamos resistência à brusone em cevada (Sato et al., 2001), resistência à ferrugem da folha em cevada (Kicherer et al., 2000; Qi, et al., 1999), resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em soja (Arahana et al., 2001), resistência à brusone em arroz (Guo-Liang et al., 1994), resistência ao vírus do nanismo amarelo da cevada (Jin et al., 1998) e resistência à *Puccinia polysora* em milho (Brunelli, et al., 2002). Para resistência à ferrugem da folha em aveia, foram identificados três QRLs para resistência parcial à doença em RILs do cruzamento entre “MN841801-1” (parcialmente resistente) e “Noble-2” (suscetível) (Chen et al., 2000).

O mapeamento da aveia cultivada hexaplóide é complicado devido ao tamanho de seu genoma e de sua natureza poliplóide ( $2n = 6X = 42$ ). Além de ser difícil a obtenção de uma cobertura completa do genoma, é também difícil resolver os grupos de ligação nos 21 cromossomos esperados. Acredita-se que parte dessa dificuldade seja devido a diferenças de translocação entre linhas parentais das populações de mapeamento (O' Donoghue, 2000).

Os objetivos do presente trabalho foram desenvolver mapas moleculares de populações segregantes de aveia do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, com auxílio de marcadores AFLP, e identificar QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha nestas populações.

## 4.2. MATERIAL E MÉTODOS

Populações  $F_2$  e  $F_6$ , do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, foram

mapeadas molecularmente com utilização de marcadores AFLP.

O mapa da população  $F_2$  foi desenvolvido com base no obtido anteriormente por Thomé (1999). No referido mapa, 1ug de DNA foi clivada com 5U da enzima *Pst I* e 5U da enzima *Mse I*. Para amplificação seletiva foram utilizadas 40 combinações de primers Pst/Mse, que geraram 314 marcadores. Destes, 108 marcadores foram integrados ao mapa inicial, distribuídos em 16 grupos de ligação. O DNA de 86 genótipos, na etapa de ligação do protocolo de AFLP, utilizado para o trabalho de Tomé (1999), foi também utilizado para o presente trabalho.

O mapa da população  $F_6$  foi desenvolvido com base em 90 indivíduos.

A partir da construção dos mapas  $F_2$  e  $F_6$ , os mesmos foram comparados, para verificar a sintenia existente entre as duas populações, e submetidos à análise para a identificação de marcadores de QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia.

#### **4.2.1. Mapeamento molecular da população $F_2$ :**

##### **4.2.1.1. Pré-amplificação:**

DNA ligado aos adaptadores foi pré-amplificado, para uma seleção inicial de fragmentos, em aparelho termociclador (Perkin Elmer) durante 20 ciclos, a 94 °C por 30", 56 °C por 1' e 72 °C por 1' em uma solução de 37,5 ng de P + A primer; 37,5 ng de M + C primer; 0,8 mM de dNTP; 1X tampão da Taq DNA polimerase; 1,5 mM de  $MgCl_2$ ; 1U de Taq DNA polimerase.

##### **4.2.1.2. Amplificação seletiva:**

Fragmentos amplificados na etapa anterior foram selecionados

novamente a partir da amplificação com 31 combinações de iniciadores (primers) *Pst*/*Mse*, contendo 3 nucleotídeos arbitrários adicionais (Tabela 4.1).

A reação de amplificação seletiva foi realizada em PCR, com ciclos de 94 °C por 60", 65 °C por 60" e 72 °C por 90", sendo que o passo de anelamento iniciou com 65°C e diminuiu 1 °C sucessivamente até atingir 56 °C, seguindo nessa temperatura por 23 ciclos. A solução utilizada foi a seguinte: 30ng de primer *Pst I*; 30 ng de primer *Mse I*; 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,8 mM de dNTP; 1X tampão da Taq DNA polimerase; 1 U de Taq DNA polimerase.

#### **4.2.1.3. Identificação dos marcadores:**

Fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida 5% (19:1 - acrilamida: bisacrilamida), a 80W, por aproximadamente 2 horas e 30 minutos, acompanhados de marcador pGEM (Promega) ou DNA Ladder 100pb (Gibco BRL). Para o tratamento das placas que suportam o gel, utilizaram-se os produtos "Bind Silane" e "Repel Silane" (Amershan). As etapas de fixação, coloração e revelação das bandas em gel seguiram o protocolo "Silver Sequence™" da "Promega Corporation" (1996). A análise visual das bandas foi realizada em mesa com luz fluorescente por dois leitores individualmente. A partir da identificação de polimorfismo entre os genótipos parentais, avaliou-se a presença ou ausência da banda polimórfica na progênie, composta por 86 indivíduos.

Para a nomenclatura dos marcadores utilizou-se a letra P, indicando o primer *Pst I*, seguido dos dois últimos nucleotídeos do iniciador (primer). Logo após utilizou-se a letra M, indicando o iniciador *Mse I*, seguido dos dois últimos nucleotídeos do iniciador.

Tabela 4.1. Combinações de primers Pst / Mse utilizadas para amplificação seletiva seguindo o protocolo de AFLP, para mapeamento das populações F<sub>2</sub> e F<sub>6</sub>. UFRGS. 2002.

Geração	Primer Pst I	Primers Mse I
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ATT	M-CTT
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AAC	M-CCC
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ACC	M-CGG
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AGA	M-CAC
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ATT	M-CTC
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AGA	M-CTG
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AAT	M-CAG
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AAA	M-CAC
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ATG	M-CTC
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AAA	M-CGA
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AAC	M-CGA
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ATC	M-CCG
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-AAA	M-CTT
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ATT	M-CGA
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ATC	M-CGA
F <sub>2</sub> -F <sub>6</sub>	P-ATC	M-CAC
F <sub>2</sub>	P-AAA	M-CTG
F <sub>2</sub>	P-AAT	M-CTG
F <sub>2</sub>	P-AAT	M-CTT
F <sub>2</sub>	P-AAG	M-CTT
F <sub>2</sub>	P-ACC	M-CGA
F <sub>2</sub>	P-ACC	M-CCA
F <sub>2</sub>	P-AAT	M-CCA
F <sub>2</sub>	P-AGG	M-CAC
F <sub>2</sub>	P-ATT	M-CTG
F <sub>2</sub>	P-AAG	M-CCC
F <sub>2</sub>	P-AGC	M-CAC
F <sub>2</sub>	P-AAG	M-CCT
F <sub>2</sub>	P-AAG	M-CTC
F <sub>2</sub>	P-AGG	M-CTG
F <sub>2</sub>	P-ACT	M-CAT
F <sub>6</sub>	P-AAA	M-CTC
F <sub>6</sub>	P-ATC	M-CTC

#### 4.2.2. Mapeamento molecular da população F<sub>6</sub>

##### 4.2.2.1. Extração e quantificação de DNA:

Extração de DNA seguiu o protocolo descrito por Murray & Thompson (1980). O DNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro e posteriormente diluído para 250ng/ul.

#### **4.2.2.2. Restrição do DNA:**

A técnica de AFLP seguiu o protocolo descrito por Vos et al. (1995), com algumas adaptações. Duzentos e cinquenta nanogramas de DNA foram digeridas primeiramente com a enzima de corte freqüente, *Tru 9 I* (isosquisômero de *MseI*) (Promega) por duas horas a 60<sup>0</sup>C e posteriormente com a enzima *Pst I* (Gibco BRL), de corte raro, por duas horas a 37<sup>0</sup>C.

#### **4.2.2.3. Ligação dos adaptadores e ligação ao DNA:**

Adaptadores específicos “forward” e “reverse” (MA 1.1 e 1.2; PA 1.1 e 1.2) (Gibco BRL), foram anelados em 65<sup>0</sup>C por 10’, 37<sup>0</sup>C por 10’ e 25<sup>0</sup>C por 10’. Os adaptadores foram adicionados ao DNA digerido e ligados ao mesmo durante duas horas a temperatura ambiente, com auxílio da enzima T4 DNA ligase (Gibco BRL).

#### **4.2.2.4. Pré-amplificação, amplificação seletiva e identificação dos marcadores:**

Estes passos seguiram o mesmo procedimento descrito para a população F<sub>2</sub>, com exceção de que, na etapa de amplificação seletiva, foram utilizadas 18 combinações de iniciadores (Tabela 4.1), testadas em 90 indivíduos.

#### **4.2.3. Mapeamento comparativo entre as populações F<sub>2</sub> e F<sub>6</sub>:**

Os marcadores identificados em ambas populações foram comparados quanto ao iniciador, peso molecular e origem paterna do marcador, para verificar a sintonia presente após as várias gerações de recombinação.

#### **4.2.4. Análise morfológica da característica de resistência parcial à ferrugem da folha da aveia:**

Para identificar marcadores associados à QRLs de resistência parcial à ferrugem da folha nas populações do mapeamento, utilizou-se dados coletados em F<sub>2</sub> (1998), F<sub>4</sub> (1999) e F<sub>6</sub> (2000). Para isso, as populações foram avaliadas semanalmente (6 avaliações), em condições naturais, para a porcentagem de área foliar infectada, através da escala modificada de Cobb. Utilizou-se a média final de seis avaliações de cada planta para a população F<sub>2</sub>, e as médias de seis avaliações de 10 plantas por linha da população F<sub>4</sub> e de 7 plantas por linha da população F<sub>6</sub>.

Para a identificação de marcadores para QRLs na F<sub>2</sub>, utilizou-se as médias fenotípicas e os dados moleculares de cada indivíduo da própria população. Para a identificação de QRLs na população F<sub>6</sub>, utilizou-se as médias fenotípicas das populações F<sub>4</sub> e F<sub>6</sub>, com os dados moleculares das linhas F<sub>6</sub>.

#### **4.2.5. Análise estatística:**

Cada marcador identificado em cada população foi testado para a normalidade da segregação, pelo teste de qui-quadrado. Marcadores da população F<sub>2</sub> foram testados para a segregação 3:1, esperada para marcadores dominantes em populações F<sub>2</sub>. Marcadores da população F<sub>6</sub> foram testados para a segregação 1:1, esperada para marcadores dominantes em populações de linhas recombinantes F<sub>6</sub>.

O mapeamento de ambas populações foi realizado com utilização do programa Mapmaker EXP (Lander et al., 1987).

Como um mapa da população F<sub>2</sub> foi previamente construído (Thomé,

1999), utilizou-se a estratégia de indicar ao Mapmaker os 16 grupos determinados anteriormente e a partir daí integrar os novos marcadores, utilizando o comando “unassign”, com LOD 7,0 e nível máximo de recombinação 30. Os marcadores identificados foram submetidos à análise com o programa Mapmaker/EXP, versão 3.0b (Lander et al., 1987), para a sua distribuição em grupos de ligação.

O mapeamento da população  $F_6$  foi realizado em duas etapas, a primeira utilizando LOD 10 e máxima recombinação 30, formando os primeiros grupos, e a segunda agrupando os marcadores restantes com LOD 7,0 e máxima recombinação 30.

Para a representação gráfica dos grupos de ligação formados, de cada população, utilizou-se a versão McIntoch do programa Mapmaker/EXP.

Após o mapeamento, os marcadores integrados aos mapas  $F_2$  e  $F_6$  foram submetidos à análise de mapeamento de intervalo, para a identificação de marcadores associados à característica de resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, através do programa Mapmaker/QTL (Lander et al., 1987). Para o mapa  $F_6$  utilizou-se também o programa Win QTL Cartographer, versão 1.3 (Wang et al., 2002). Para identificar a presença de QTLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, utilizou-se os dados fenotípicos coletados em campo (porcentagem de área foliar infectada), das populações  $F_2$ ,  $F_4$  e  $F_6$ .

### 4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1. Mapeamento molecular da população $F_2$ :

A partir das 31 combinações de iniciadores (primers) utilizadas, foram identificados 243 marcadores, média de 7,8 por combinação de iniciadores testada. Do total de marcadores identificados, 35 apresentaram distorção de segregação pelo teste de qui-quadrado, representando 14,4 %. Este resultado aproxima-se de Portyanco et al. (2001), que obteve 13% de marcadores apresentando distorção de segregação em sua população de mapeamento.

Os 243 marcadores identificados neste trabalho foram acrescentados aos 314 identificados por Thomé (1999), totalizando 557 marcadores. Destes 557, 250 foram integrados ao mapa molecular (44,9%), através do programa computacional Mapmaker, sendo distribuídos em 37 grupos de ligação (Figura 4.1). Os grupos de ligação e o respectivo número de marcadores podem ser vistos na Tabela 4.2.

Os grupos de ligação foram formados por dois até 73 marcadores (média = 6,7 marcadores por grupo de ligação) e variaram em tamanho de 5.0 a 1014 cM, com média de 87 cM, em um mapa total de 3221,1 cM.

Ao mapa original, foram acrescentados 142 marcadores e 21 novos grupos de ligação. O grupo 1, com 73 marcadores e distância de 1014 cM expandiu em 894 cM o grupo 1 do mapa original, que era formado de 23 marcadores e 120 cM de extensão. O grupo 13, com 34 marcadores e distância de 798.4cM, expandiu em 788cM o grupo 6 original, que era formado por 4 marcadores inicialmente (10.4 cM).

O excesso de grupos de ligação encontrados (37), em relação ao número de cromossomos da aveia ( $n=21$ ) ocorreu, provavelmente, devido ao tamanho do genoma deste cereal, o qual necessita de um número excessivo de marcadores para resolvê-lo nos 21 grupos esperados.











Tabela 4.2. Grupos de ligação, número de marcadores, distância acumulada dos grupos de ligação e QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia no mapa F<sub>2</sub>, do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. UFRGS. 2002.

MAPA F <sub>2</sub>			
Grupo de Ligação	Número de Marcadores	Distância (cM)	QRLs
1	73	1014	4
2	13	222.7	-
3	4	23.2	-
4	4	28.3	-
5	6	76.8	-
6	5	41.3	-
7	4	40.6	-
8	5	73.3	-
9	13	105.4	-
10	6	27.3	-
11	3	5.0	-
12	4	77.9	-
13	34	798.4	1
14	6	53.6	-
15	4	6.3	-
16	3	18.1	-
17	3	9.1	-
18	3	23.1	-
19	6	94.9	-
20	3	46.7	-
21	3	22.8	-
22	4	24.6	-
23	3	17.2	-
24	4	32.3	-
25	3	12.9	-
26	3	47	-
27	4	17.9	-
28	3	23.8	-
29	3	17.6	-
30	4	59.4	-
31	3	85.3	-
32	2	13.6	-
33	2	19.1	-
34	2	8.8	-
35	2	6.4	-
36	2	13.7	-
37	2	12.7	-

O primeiro mapa da aveia hexaplóide construído (“Kanota” X “Ogle”), apesar de integrar um número razoável de marcadores (532), mapeou-os em 38 grupos de ligação (O’Donoghue, et al.,1995). Um segundo mapa construído

(“Ogle” X “TAM” 0-301) mapeou 426 marcadores em 34 grupos de ligação (Portyanco et al., 2001).

Por outro lado, a extensão encontrada neste mapa abrangeu a quase totalidade da extensão do genoma estimado para a aveia, que é, segundo O’Donoghue et al. (1995), de aproximadamente 3000 cM. Contudo, mais marcadores são necessários para preencher os intervalos entre os já agrupados, para que seja possível a determinação precisa dos grupos de ligação e uma maior cobertura do genoma dessas populações.

#### **4.3.2. Mapeamento molecular da população F<sub>6</sub>:**

A partir das 18 combinações de iniciadores utilizadas, foram identificados 243 marcadores, uma média de 13,5 bandas polimórficas por combinação de iniciadores. Do total de bandas polimórficas identificadas, 60 apresentaram distorção de segregação pelo teste de qui-quadrado, representando 24,6 %. Destas, 22 segregaram em direção a UFRGS7 e 38 em direção a UFRGS910906. É possível que alguma porcentagem de heterozigose em F<sub>6</sub> tenha contribuído para uma segregação com maior distorção que a esperada.

Dos 243 marcadores identificados, 86 (35,3%) foram integrados ao mapa, estando distribuídos em 17 grupos de ligação, através do programa Mapmaker EXP (Figura 4.2). Os grupos de ligação e o respectivo número de marcadores podem ser vistos na Tabela 4.3. Os grupos de ligação apresentaram de dois a 22 marcadores (média = 5,4 marcadores por grupo de ligação) e variaram em tamanho de 22.1cM a 616.7cM com média de 117,3 cM, em uma extensão total do mapa construído de 1994,1 cM.







Tabela 4.3. Grupos de ligação, número de marcadores, distância acumulada dos grupos de ligação e QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia no mapa  $F_6$ , do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906. UFRGS. 2002.

MAPA $F_6$			
Grupo de Ligação	Número de Marcadores	Distância (cM)	QRLs
1	22	616.7	2
2	17	460.2	-
3	4	56.6	-
4	2	23.3	-
5	2	25.8	-
6	3	70.8	-
7	3	72	-
8	6	135.4	-
9	5	127	1
10	2	25.9	-
11	2	25.9	-
12	3	65.6	-
13	2	24.8	-
14	2	22.1	-
15	4	83,2	-
16	4	108.3	-
17	3	50.5	-

Os grupos que concentraram maior número de marcadores foram os grupos 1, com 22 marcadores e 616.7 cM de extensão e o grupo 2, com 17 marcadores e 460.1 cM de extensão. Os demais grupos apresentaram número de marcadores variando entre 2 e 6 marcadores.

#### 4.3.3. Mapeamento comparativo entre as populações $F_2$ e $F_6$ :

A partir de 16 combinações de iniciadores utilizadas para amplificação seletiva em ambas populações, foram identificados 164 marcadores na população  $F_2$  e 225 na  $F_6$ . Destes, cinquenta e um (22,7%) estiveram presentes em ambas populações (Tabela 4.2). Dos 51 marcadores comuns às duas populações, 23 mantiveram-se integrados aos dois mapas ( $F_2$  e  $F_6$ ). Sete marcadores mapeados no grupo de ligação 1 na população  $F_2$ , apareceram

Tabela 4.4 . Marcadores comuns identificados nas populações F<sub>2</sub> e F<sub>6</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906 e os respectivos grupos de ligação a que foram integrados. UFRGS. 2002.

Marcador	Grupo de ligação no mapa F <sub>2</sub>	Grupo de Ligação no mapa F <sub>6</sub>
PaaMga51	1	9
PttMtc285	1	2
PttMga487	1	2
PttMtt352	1	1
PgaMac168	1	2
PgaMac37	1	2
PccMgg195	1	3
PacMga548	1	2
PacMcc191	1	2
PttMtc285	1	2
PttMga208	-	2
PgaMac133	-	2
PatMag573	-	2
PtgMtc466	-	2
PtcMac346	-	2
PtcMac339	-	2
PtcMga245	9	7
PtcMcg397	9	6
PacMcc349	-	6
PttMtc156	13	-
PttMga626	13	1
PttMtt180	13	2
PgaMac99	13	-
PgaMac140	13	-
PccMgg176	13	-
PacMcc289	13	-
PtgMtc339	15	1
PgaMtg177	19	1
PacMga394	19	15
PatMag460	26	1
PgaMtg205	31	1
PacMga589	33	-
PttMtc240	34	10
PacMga368	35	4
PatMag373	36	8
PaaMac575	37	1
PccMgg222	-	3
PaaMtt174	-	4
PgaMtg189	-	6
PacMcc235	-	6
PaaMtt278	-	13
PaaMtt281	-	13
PacMga351	-	16
PtcMcg182	-	16
PaaMtt239	-	17
PttMtc183	-	-
PttMtc162	-	-
PaaMac186	-	-
PaaMac104	-	-
PtcMac361	-	-
PaaMtt183	-	-

mapeados no grupo de ligação 2 do mapa  $F_6$ , indicando que estes podem ser o mesmo grupo. Os demais marcadores comuns aos dois grupos mapearam geralmente em grupos de ligação pequenos, os quais provavelmente estariam unidos em grupos maiores se um maior número de marcadores tivesse sido mapeado, oferecendo uma maior cobertura do genoma dessas populações.

Entre os 51 marcadores comuns às duas populações, seis mapearam somente em  $F_2$ , 16 mapearam somente em  $F_6$  e seis marcadores não foram integrados em nenhum dos dois mapas.

O número de marcadores identificados e mapeados na população  $F_6$  foi bem menor que na  $F_2$ , resultando em uma cobertura menor do genoma dessa população, contribuindo para que marcadores identificados em  $F_2$  não fossem identificados em  $F_6$ . Além disso, as plantas da população  $F_2$  foram submetidas a um grande número de recombinações, ao longo do avanço de gerações, até atingir a geração  $F_6$ . Sucessivos ciclos de recombinação, provavelmente, fizeram com que marcadores identificados originalmente em  $F_2$ , fossem perdidos em  $F_6$ , resultantes de quebras de ligação.

Outro fator que pode ter interferido para que marcadores mapeados em  $F_6$  não estivessem mapeados em  $F_2$ , é o erro de estimativa do peso molecular dos marcadores, fazendo com que marcadores diferentes sejam identificados como o mesmo marcador, devido ao peso molecular aproximado das bandas no gel. Esse problema pode ser minimizado pela integração de marcadores de microssatélites, em ambos os mapas, os quais possuem um número menor de alelos por gel, facilitando a identificação correta dos alelos em diferentes populações.

#### 4.3.4. Identificação de QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia na população F<sub>2</sub>:

Cinco QRLs foram identificados na população F<sub>2</sub>. Quatro destes, estão integrados no grupo de ligação número 1 e um no grupo de ligação número 13 (Tabela 4.5).

O primeiro QRL identificado (grupo1) localizou-se na região do marcador PcaMgc383 a 0.0 cM de distância do mesmo, explicando 12,5 % da variação. Os valores de aditividade e dominância foram de -0,332 e de 0,793, respectivamente. Esse QRL apresentou-se em repulsão ao caráter de interesse, ou seja, ausência da banda em indivíduos com menor área foliar infectada e presença em indivíduos com maior área foliar infectada.

O segundo QRL localizou-se próximo ao marcador PcgMag318, com 2.0 cM de distância, com aditividade de -0,390 e com dominância de 0,721, explicando 16,8% da variação e apresentando-se também em repulsão ao caráter de interesse.

Tabela 4.5. “Quantitative resistance loci” (QRLs) identificados na população F<sub>2</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, UFRGS, 2002.

QRLs	Marcador (posição em cM) <sup>1</sup>	Grupo de Ligação	Aditividade	Dominância	Varição (%)	LOD <sup>2</sup>
1	PcaMgc383 (0.0)	1	-0,332	0,793	12,5	2,5
2	PcgMag318 (2.0)	1	-0,390	0,721	16,8	2,7
3	PgtMat358 (0.0)	1	-0,455	0,782	19,5	4,0
4	PgcMac285 (14.3)	1	-1,198	-0,153	27,6	2,2
5	PttMga626 (8.0)	13	-0,455	1,904	38,2	3,4

<sup>1</sup> posição do marcador em relação ao QRL

<sup>2</sup> log da taxa de probabilidade de haver ou não haver um QRL em um ponto particular

O terceiro QRL localizou-se a 0.0 cM de distância do marcador PgtMat358. A aditividade foi de -0,455 e a dominância de 0,782. Esse QRL explica 19,5% da variação e apresenta-se em repulsão ao caráter de interesse.

O quarto QRL localizou-se a 14.3 cM do marcador PgcMac285, sendo a aditividade de -1,198 e a dominância de -0,153. O QRL está ligado em repulsão ao caráter de interesse e explica 27,6% da variação.

O quinto QRL, identificado no grupo de ligação 13, localizou-se próximo ao marcador PttMga626, a uma distância de 8.0 cM. A aditividade apresentou valor de -0,455 e a dominância de 1,904. Esse QRL explicou 38,2% da variação e, ao contrário dos demais identificados na  $F_2$ , apresentou-se em associação ao caráter de interesse, ou seja, ocorre a presença da banda em indivíduos com menor área foliar infectada e ausência em indivíduos com maior área foliar infectada.

A presença de vários QRLs num mesmo grupo de ligação como, neste caso, no grupo 1, pode ser uma indicação de que QRLs podem organizar-se na forma de blocos gênicos.

No mapa desenvolvido por Thomé (1999), foi identificado um QRL, próximo ao marcador PcgMcg192, o qual explicou 13% da variação fenotípica e apresentou-se ligado em repulsão à característica. Em nosso mapa, apesar de este marcador ter apresentado significância pela análise do MapmakerQTL, o mesmo não foi indicado como associado a um QTL de interesse pela análise.

Até o momento, o único relato existente na literatura com identificação de QRLs para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, é o trabalho de Chen et al. (2000). Nesse trabalho, três QRLs associados à característica foram identificados em populações do cruzamento entre as variedades americanas

“MN841801-1” (parcialmente resistente) e “Noble” (suscetível), em condições de campo, explicando juntos 27% da variação. Dos três, dois foram também identificados em casa de vegetação.

#### 4.3.5. Identificação de QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia na população F<sub>6</sub>:

Três QRLs foram identificados na população de mapeamento F<sub>6</sub>, sendo que um destes (PaaMtt340) foi detectado em duas gerações, ou seja, com dados morfológicos das populações F<sub>6</sub> e F<sub>4</sub> (Tabela 4.6).

Tabela 4.6. “Quantitative resistance loci” (QRLs) identificados na população F<sub>6</sub> do cruzamento UFRGS7/UFRGS910906, associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia. UFRGS, 2002.

QRLs	Marcador (posição em cM) <sup>1</sup>	Grupo de Ligação	Aditividade	Dominância	Variação (%)	LOD <sup>2</sup>
F <sub>6</sub>						
1	PtgMtc322 (12,0)	1	0,965	-1,577	26,5	2,24
F <sub>4</sub>						
2	PgaMtg213 (14,8)	1	1,519	-1,257	39,3	2,50
F <sub>4</sub> e F <sub>6</sub>						
3	PaaMtt340 (16,8)	9	0,439	-1,046	38,1	2,56

<sup>1</sup> posição do marcador em relação ao QRL

<sup>2</sup> log da taxa de probabilidade de haver ou não haver um QRL em um ponto particular

Nenhum dos cinco QRLs identificados em F<sub>2</sub> foram identificados em F<sub>6</sub>. Isto deve-se principalmente à natureza efêmera dos QTLs, que quando de pequeno efeito, a expressão varia em diferentes ambientes. Como discutido no capítulo II, as condições de ambiente foram muito diferentes entre os anos, o que

interferiu na expressão da resistência parcial. Além disso, é possível que durante as sucessivas gerações de recombinação, tenham ocorrido quebras de ligação, as quais tenham impedido a identificação dos QRLs de  $F_2$  para  $F_6$ .

O primeiro QRL identificado na população  $F_6$ , localizou-se no grupo de ligação número 1, próximo ao marcador PtgMtc322, com LOD de 2.24, estando a 12 cM de distância, com aditividade de 0,965 e com dominância de -1,577. Esse QRL explicou 26,5 % da variação e apresentou-se em associação ao caráter de interesse, menor área foliar infectada.

O segundo QRL identificado na população  $F_6$ , localizou-se no grupo de ligação número 1, próximo ao marcador PgaMtg213, com LOD de 2.50, estando a 14,8 cM de distância, com aditividade de 1,519 e com dominância de -1,257. Esse QRL explicou 39,3% da variação e apresentou-se em associação ao caráter de interesse, menor área foliar infectada. Esse QRL foi identificado quando utilizou-se os dados fenotípicos da população  $F_4$ , e não foi identificado quando utilizou-se os dados fenotípicos da própria  $F_6$ . Provavelmente, à interação com o ambiente mascarou a expressão desse QRL em  $F_6$  ou ocorreu a perda do marcador em função de quebra de ligação de uma geração para a outra.

O terceiro QRL foi identificado no grupo de ligação número 9, localizando-se próximo ao marcador PaaMtt340, com LOD de 2.56, estando a 16.8 cM de distância, com aditividade de 0,439 e com dominância de -1,046. Esse QRL explicou 38 % da variação e também apresentou-se em associação ao caráter de interesse. Esse QRL, foi também identificado quando os dados moleculares da população  $F_6$  foram analisados com os dados fenotípicos da população  $F_4$ , obtidos no ano anterior (1999).

O fato de o QRL ligado ao marcador PaaMtt340 ter sido identificado nas populações F<sub>4</sub> (1999) e F<sub>6</sub> (2000), indica que este QRL apresenta boa consistência, uma vez que foi identificado em dois ambientes diferentes e com diferença de duas gerações de recombinação. Como relatado anteriormente, os anos de coleta dos dados fenotípicos das populações F<sub>4</sub> (1999) e F<sub>6</sub> (2000) foram muito diferentes entre si quanto à severidade da ferrugem, devido à alta influência do ambiente sobre a doença. A consistência entre anos, combinada a um efeito razoável sobre a expressão da resistência (38 %) e a ligação em associação ao caráter de interesse, torna o marcador PaaMtt340 potencial para utilização em seleção assistida por marcadores em programas de melhoramento para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, em genótipos brasileiros. Entretanto, é necessário que mais estudos sejam feitos para a validação do efeito deste QRL. Devido à influência do ambiente sobre a expressão dos QRLs em geral, é importante que os genótipos sejam testados em vários ambientes, para testar a consistência dos QRLs.

As estimativas de herdabilidade para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, obtidas no estudo de controle genético dessa resistência, foram altas em gerações avançadas. Os resultados moleculares indicaram QRLs explicando maior porcentagem de variação fenotípica em gerações avançadas (26,5%, 38% e 39,3%). Nesse sentido, mapas moleculares em linhas recombinantes podem apresentar-se mais eficientes na busca de QRLs de maior consistência e de maior efeito, sendo mais úteis ao melhoramento. Além disso, facilitam os testes para validação dos QRLs em diferentes ambientes, por ser uma população permanente, permitindo também a utilização de repetições.

#### 4.4. CONCLUSÕES

QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha da aveia foram identificados na geração  $F_2$  e na geração  $F_6$ .

Os QRLs para resistência parcial à ferrugem da folha da aveia podem estar em associação ou em repulsão ao caráter resistência parcial à ferrugem da folha da aveia.

O QRL identificado através do marcador PaaMtt340 apresentou consistência em diferentes ambientes e é um marcador potencial para utilização em seleção assistida por marcadores.

## CAPÍTULO V

### Conclusões

O presente trabalho comprovou que existe diferença entre os genótipos UFRGS7 e UFRGS910906 quanto ao progresso da ferrugem da folha, indicando a presença de resistência parcial à ferrugem da folha da aveia no genótipo UFRGS910906. O ambiente exerce influência sobre a expressão da resistência parcial, podendo mascarar os diferentes níveis dessa resistência, em anos de alta severidade da ferrugem. Nesse contexto, é importante distinguir a porção genética e a porção ambiental da variação fenotípica total da característica. A porção genética que contribuiu para a presença de diferentes níveis de resistência parcial à ferrugem da folha da aveia foi evidenciada neste trabalho. As avaliações realizadas em três anos, com índices diferentes de severidade, comprovou a presença de variação genética, através dos resultados das populações  $F_5$  e  $F_6$ . O modelo aditivo-dominante, testado para as populações segregantes evidenciaram efeitos de aditividade e dominância. As estimativas de herdabilidade no sentido restrito mostraram valores altos para as gerações avançadas ( $F_5$  e  $F_6$ ), evidenciando uma porção alta de variação genética para a característica em questão. Esses resultados foram corroborados através da identificação de QRLs associados à resistência parcial à ferrugem da folha em populações segregantes de aveia. Tendo sido comprovada a presença de

variabilidade genética nas populações estudadas, pode-se afirmar que a linhagem UFRGS910906 apresenta resistência parcial à ferrugem da folha da aveia, podendo ser utilizada no melhoramento para transferência da característica em genótipos de interesse agrônomo, com possibilidade de ganho genético, devido às estimativas de herdabilidade no sentido restrito, as quais foram de moderada à alta. O QRL identificado através do marcador PaaMtt340 apresentou consistência em diferentes ambientes e é um marcador potencial para utilização em seleção assistida por marcadores, no programa de melhoramento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. **Plant Pathology**: Environmental effects on infectious plant disease development. 3. ed. New York: Academic Press, 1988. p.147- 164.

ALLARD, R.W. **Principles of Plant Breeding**. New York: J. Willey, 1960. 485p.

ALMEIDA, J. L. Recent Brazilian Oat Production. In: SOUTH AMERICAN OATS CONGRESS, 3., 1997, La Estanzuela, **Proceedings...** La Estanzuela: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 1997, p. 17-20.

ARAHANA, V. S. et al. Identification of QTLs for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 1, p. 180-188, 2001.

BARCELLOS, A. L.; MORAES-FERNANDES, M.I.B.; ROELFS, A. Ferrugem da folha do trigo (*Puccinia recondita*): durabilidade da resistência. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 101-117, 1997.

BEER, S.C. et al. **Associations between molecular markers and quantitative traits in an oat germplasm pool**: Can we infer linkages? University of South Dakota, 1985. Disponível em: < <http://probe.nalusda.gov:8000/otherdocs/jqtl/jqtl1997-01/>>. Acesso em: agosto de 1985.

BERGAMASCHI, H.; GUADAGNIN, M. R. **Agroclima da Estação Experimental Agronômica/UFRGS**. Porto Alegre: Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS, 1990. 60p.

BERGER, R. D.; LUKE, H. H. Spatial and temporal spread of crown rust. **Phytopathology**, St. Paul, v.69, p. 1199-1201, 1979.

BJARKO, M. E.; LINE, R. F. Quantitative Determination of the Gene Action of Leaf Resistance in Four Cultivars of Wheat, *Triticum aestivum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n. 4, p. 451-456, 1988.

BONMAN, J.M. Durable resistance to rice blast disease environmental influences. **Euphytica**, Wageningen, v. 63, n. 1-2, p. 115-123, 1992.

BRIÈRE, S. C.; KUSHALAPPA, A. C. Evaluation of components of

resistance in oat breedings lines and cultivars to crown rust (*Puccinia coronata* f. sp. *Avenae*) under controlled environmental conditions. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontário, v. 17, n.4, p. 319-324, 1995.

BRUNELLI, K. R.; SILVA, H. P.; CAMARGO, L. E. A. Mapeamento de genes de resistência quantitativa a *Puccinia polysora* em milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 2, p. 134-140, 2002.

CARVALHO, F. I. F. et al. Potencial genético da aveia, como produtora de grãos, no Sul do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 71-82, 1987.

CARVALHO, F. I. F.; FEDERIZZI, L. C. Evolução da cultura da aveia no sul do Brasil. **Trigo e Soja**, Porto Alegre, p.16-19, 1989.

CHAVES, M.S.; MATINELLI, J.A. Avaliação de alguns componentes de resistência à ferrugem da folha em genótipos de aveia. In: REUNIÃO DA COMISSÃO SUL BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 17., 1997, Passo Fundo. **Resultados Experimentais**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 1997. p. 283-85.

CHAVES, M.S.; MARTINELLI, J. A.; FEDERIZZI, L.C. Expressão da resistência quantitativa em alguns genótipos de aveia sob condições de campo. In: REUNIÃO DA COMISSÃO DE PESQUISA DE AVEIA, 18., 1998, Londrina. **Resumos...** Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 1998. p.297-299.

CHAVES, M.S. et al. Resistência quantitativa à ferrugem da folha (*Puccinia coronata* Cda. f. sp. *avenae* Fraser & Led. ) em genótipos de aveia branca (*Avenae sativa* L.): I – Caracterização da reação em condições de campo. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 21., 2001, Lages. **Resultados Experimentais**. Lages: UDESC, 2001, p.42-43.

CHEN, R. et al. Quantitative trait loci (QTLs) for partial resistance to crown rust in oats. In: INTERNATIONAL OAT CONFERENCE, 6., 2000, Canterbury. **Proceedings...** Canterbury: Lincoln University, 2000, p.129-132.

CHONG, J.; SEAMAN, W. L. Incidence and virulence of *Puccinia coronata* f. sp. *avenae* in Canada in 1993. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontário, v.16, n. 4, p.335-340, 1994.

COFFMAN, F. A. **Oats and oat improvement** . Wisconsin: American Society of Agronomy, 1961, 650p.

COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA. **Recomendações Técnicas para a Cultura da Aveia**, Porto Alegre, 2000. 69p.

CRUZ, R.P.; FEDERIZZI, L.C.; MILACH, S.C.K. Crown rust severity and its effects on oat panicle characters. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 543-551, 1999.

DAS, M. K. et al. Inheritance of Slow-Rusting Resistance to Leaf Rust in Wheat. **Crop Science**, Madison, v. 32, n. 6, p. 1452-1456, 1992.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília: EMBRAPA-CNPS, 1999. 412p.

FEDERIZZI, L. C. et al. Estabilidade do rendimento de grãos de aveia: efeito do uso de fungicidas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.28, p.465-472, 1993.

FEDERIZZI, L. C.; STUTHMAN, D. Porque genes maiores para resistência a ferrugem da folha tem pouca durabilidade no Brasil. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 18., 1998, Londrina. **Resumos...** Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 1998, p. 1-2.

FEDERIZZI, L. C. Global and mega – regional breeding perspectives: Latin América. In:INTERNATIONAL OAT CONFERENCE, 6., 2000, Canterbury. **Proceedings...** Canterbury: Lincoln University, 2000, p.178-185.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEM, 1995. 220p.

FLOR, H. H. The complementary gene systems in flax rust. **Advances in Genetic**, New York, v. 8, p. 29-54. 1956.

FORCELINI, C. A. Controle integrado da ferrugem da folha da aveia. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 20., 2000, Pelotas. **Resultados Experimentais**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2000, p. 165-171.

FORCELINI, C. A. Moléstias de aveia e seu controle. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 22., 2002, Passo Fundo. **Resultados Experimentais**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2002, p. 72-80.

FORSBERG, R. A.; SHANDS, H.L. Oat Breeding. **Critical Science Review**, Boca Raton, v. 5, p.167-207, 1986.

GARCIA, L. et al. Efeito de diferentes concentrações de farelo de aveia sobre o nível sérico de colesterol de homens e mulheres. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 22., 2002, Passo Fundo. **Resultados Experimentais**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2002, p. 548-549.

GERMÁN, S. Breeding for durable resistance to wheat leaf rust: an overview. In: SOUTH AMERICAN OATS CONGRESS, 3., 1997, La Estanzuela. **Proceedings...** La Estanzuela: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 1997, p. 93-104.

GROH, S. et al. Comparative AFLP mapping in two hexaploid oat populations.

**Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, n. 6-7, p. 876-884, 2001.

HEATH, M. C. Signalling between pathogenic rust fungi and resistant or susceptible host plants. **Annals of Botany**, London, v. 80, n. 6, p.713-20, 1997.

HOFFMAN, D. L. et al. QTL analysis and map update for the oat cross "Ogle" X "Tam 0-301". In:INTERNATIONAL OAT CONFERENCE, 6., 2000, Canterbury. **Proceedings...** Canterbury: Lincoln University, 2000, p.133-137.

HOLLAND, J. B. et al. QTLs and epistasis associated with vernalization response in oat. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 4, p. 1306-1316, 1997.

JEGER, M J.; VILJANEN-ROLLINSON, S. L. H. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, n. 2, p. 32-40, 2001.

JIN, H. et al. Identification of quantitative trait loci for tolerance at barley yellow dwarf virus in oat. **Phytopathology**, St. Paul, v.88, n. 5, p. 410-415, 1998.

JIN, H. et al. Combined AFLP and RFLP mapping in two hexaploid oat recombinant inbred populations. **Genome**, Ottawa, v. 43, n. 1, p. 94-101, 2000.

JOHNSON, D. A.; WILCOXSON, R. D. Inheritance of slow rusting of barley infected with *Puccinia hordei* and selection of latent period and number of uredia. **Phytopathology**, St. Paul, v. 69, p. 145-151, 1979.

JOHNSON, R. A critical analysis of durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 22, p. 309-30, 1984.

JOHNSON, R. Classical plant breeding for durable resistance to diseases. **Journal of Plant Pathology**, London, v. 82, n. 1, p. 3-7, 2000.

KIANIAN, S. F. et al. Association of a major groat oil content QTL and an acetyl-Coa carboxylase gene in oat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 98, n. 6-7, p. 884-894, 1999.

KICHERER, S. et al. Localising QTLs for leaf rust resistance and agronomic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 6, p. 881-888, 2000.

KREMER, C. A.; LEE, M.; HOLLAND, J. B. A restriction fragment length polymorphism based linkage map of a diploid *Avena* recombinant inbred line population. **Genome**, Ottawa, v. 44, n. 2, p. 192-204, 2001.

LANDER, E. S. et al. Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics**, Ottawa, v.1, p.174-181, 1987.

LEE, S. J.; PENNER, G. A. The conversion of RFLP markers to allele specific

linked to QTLs governing malting quality in barley. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 3, n. 6, p. 457-62, 1997.

LEE, T. S.; SHANER, G. Oligogenic inheritance of length of latent period in six slow leaf-rusting wheat cultivars. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, p. 636-643, 1985.

LEONARD, K. J. Oat lines with effective adult plant resistance to crown rust. **Plant Disease**, St. Paul, v. 86, n. 6, p. 593-598, 2002.

LITT, M.; LUTY, J. A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **American Journal Human Genetics**, Chicago, v. 44, p. 398-401, 1989.

LIU, K. et al. Dietary lipids, sugar, fiber, and mortality from coronary heart disease. **Atherosclerosis**, Limerick, v. 2, p. 221-227, 1982.

LUKE, H.H.; CHAPMAN, W.H.; BARNETT, R. D. Horizontal resistance of red rustproof oats to crown rust. **Phytopathology**, St. Paul, v. 62, p. 414-417, 1972.

LUKE, H. H.; BARNETT, R. D.; PFAHLER, P. L. Inheritance of horizontal resistance to crown rust in oats. **Phytopathology**, St. Paul, v. 65, p. 631-32, 1975.

MARTINELLI, J. A.; FEDERIZZI, L.C. Redução da quantidade e qualidade de grãos de aveia pela doença da ferrugem da folha. In: REUNIÃO DA COMISSÃO SULBRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 14., 1994, Porto Alegre. **Resultados Experimentais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1994.

MARTINELLI, J. A. ; FEDERIZZI, L. C. ; BENNEDETI, A. C. Redução do rendimento de grãos de aveia em função da severidade da ferrugem da folha. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.20, n. 2, p. 116-118, 1994.

MARTINELLI, J. A. et al. Análise da virulência de alguns isolados de *Puccinia coronata avenae* no Sul do Brasil. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 18., 1998, Londrina. **Resumos...** Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 1998, p. 17-19.

MARTINELLI, J. A.; BUSS, A. Comportamento de populações heterogêneas de aveia frente à ferrugem da folha nas condições do sul do Brasil. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 19., 1999, Porto Alegre. **Resultados Experimentais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1999, p. 118-120.

MARTINELLI, J. A. Major diseases on oats in South America. In: INTERNATIONAL OAT CONFERENCE, 6., 2000, Canterbury. **Proceedings...** Canterbury: Lincoln University, 2000, p.277-283.

MATHER, K.; JINKS, J. L. **Introdução à Genética Biométrica**. Ribeirão Preto:

Sociedade Brasileira de Genética, 1984, 242 p.

MCDANIEL, M. E. Just how miserable can the rust diseases make oats (and oat breeders) in high-rust áreas? In: INTERNATIONAL OAT CONFERENCE, 6., 2000, Canterbury. **Proceedings...** Canterbury: Lincoln University, 2000, p.290-291.

MELLOS, G. O. et al. Componentes de resistência parcial à ferrugem da folha em aveia: três anos de avaliações. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 18., 1998, Londrina. **Resumos...** Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 1998, p. 3-5.

MILACH, S. C. K.; CRUZ, R. P. Piramidização de genes de resistência às ferrugens em cereais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, p. 685-689, 1997.

MOHAN, M. et al. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 3, n. 2, p. 87-103, 1997.

MULLIS, K.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. **Methods Enzymologicals**, v. 55, p. 335-350, 1987.

MURRAY, M.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high-molecular-weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, New York, v. 8, p. 4321-4325, 1980.

MURPHY, J. P.; JELLEN, E. N. Relationships among cultivated hexaploid oat and its progenitor species. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 20., 2000, Pelotas. **Resultados Experimentais**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2000, p. 16-32.

O'DONOUGHUE, L. S. et al. An RFLP-based linkage map of oats based on a cross between two diploid taxa (*Avena atlantica* X *A. hirtula*). **Genome**, Ottawa, v. 35, n. 5, p.765-771, 1992.

O'DONOUGHUE, L. S. et al. A molecular linkage map of cultivated oat. **Genome**, Ottawa, v. 38, n. 2, p. 368-80, 1995.

O'DONOUGHUE, L. S. Molecular markers as tools to characterize and use genetic resources in oat. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 20., 2000, Pelotas. **Resultados Experimentais**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2000, p. 2-15.

OHM, H. W.; SHANER, G. E. Breeding oats for resistance to diseases. In: MARSHALL, H. G.; SORRELS, M. E. (co-eds.) **Oat Science and Technology**. Madison: Inc. Publishers, 1992. p. 657-690.

PARLEVIET, J. E. Partial resistance of barley to leaf rust. *Puccinia hordey*, III. The inheritance of the host plant effect on latent period in four cultivars. **Euphytica**, Wageningen, v. 25, p. 241-248, 1976.

PARLEVLIET, J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 17, p. 203-22, 1979.

PARLEVLIET, J. E. et al. Level of partial resistance to leaf rust, *Puccinia hordei*, in west-european barley and how to select for it. **Euphytica**, Wageningen, v. 29, p.1-8, 1980.

PARLEVLIET, J. E. Present concepts in breeding for disease resistance private. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30., 1997, Poços de Caldas. **Palestras**. Poços de Caldas: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 1997, p. 7-15.

PETERSON, D. M. Improving oat for food, feed, and industrial uses. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 22., 2002, Passo Fundo. **Resultados Experimentais**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2002, p. 39-44.

PETERSON, R. F.; CAMPBELL, A. B.; HANNAH, A. E. A diagramatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. **Canadian Journal of Research Section**, Ottawa, v.26, p. 496-500, 1948.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Eficácia de fungicidas no controle da ferrugem da folha da aveia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, p. 74-78, 1994.

PORTYANCO, V. A.; HOFFMAN, M. L.; HOLLAND, J. B. A linkage map of hexaploid oat based on grass anchor DNA clones and its relationship to other oat maps. **Genome**, Ottawa, v. 44, n. 2, p. 249-265, 2001.

PRABHU, A. S.; MORAIS, O. P. Resistência estável às doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.1, p. 239-273, 1993.

PRETORIUS, Z. A. Effects of growth stage and temperature on components of resistance to leaf rust in wheat genotypes with Lr26. **Plant Disease**, St. Paul, v. 74, n. 9, p. 631-35, 1990.

PULLINEN, T. Oats: world status in food markets. In: INTERNATIONAL OAT CONFERENCE, 6., 2000, Canterbury. **Proceedings...** Canterbury: Lincoln University, 2000. 5-9.

QI, X. et al. Isolate-specific QTLs for partial resistance to *Puccinia hordei* in barley. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 99, n. 5, p. 877-884, 1999.

RAMALHO, M.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. **Genética na Agropecuária**. 3. ed., São Paulo: Globo, 1994, 359 p.

RAYAPATI, P. J. et al. A linkage map of diploid *Avena* based on RFLP loci and a locus conferring resistance to nine isolates *Puccinia coronata* var. *Avenae*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, n. 7-8, p. 831-837, 1994.

REDDY, B. S. Colon cancer: future directions. In: G.V. VAHOUNY; D. KRITCHEVSKY (Ed.), **Dietary Fiber**. [S.L.] : Plenum Press, 1986, p. 543-552.

ROONEY, W. L.; RINES, H.W.; PHILLIPS, R. L. Identification of RFLP markers linked to crown rust resistance genes Pc 91 and Pc 92 in oat. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 4, p. 940-44, 1994.

SATO, K. ; INUKAI, T.; HAYES, P. M. QTL analysis of resistance to the rice blast pathogen in barley (*Hordeum vulgare*). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.102, n. 6-7, p. 916-920, 2001.

SAVI, V.; MARTINELLI, J. A.; FEDERIZZI, L. C. Variação da severidade da ferrugem da folha em linhas recombinantes F<sub>7</sub> de aveia. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, 20., 2000, Pelotas. **Resultados Experimentais**. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2000, p. 162-164.

SCHAFFER, J. F.; ROELFS, A. P. Estimated relation between numbers of urediniospores of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* and rates of occurrence of virulence. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, n. 7, p. 749-50, 1985.

SKOVMAND, B. et al. Inheritance of slow rusting to stem rust in wheat. **Euphytica**, Wageningen, v. 27, p. 95-107, 1978.

SHANER, G. Growth of uredinia of *Puccinia recondita* in leaves of slow- and fast-rusting wheat cultivars. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, p. 931-935, 1983.

SHANER, G. Breeding for partial resistance in oat to rusts. In: INTERNATIONAL OAT CONFERENCE, 5., 1996, Saskatoon. **Proceedings...** Saskatoon: University of Saskatchewan, 1996. p. 307-313.

SIMONS, M. D. Heritability of field resistance to the oat crown rust fungus. **Phytopathology**, St. Paul, v.65, p. 324-328, 1975.

SIMONS, M. D. **Crown rust**. In: A. P. ROELFS; , W. R. BUSHELL (Ed.). New York: Academic Press, 1985. p. 132-172.

SINGH, H.; RAO, M.V. Area under the disease progress curve: its reliability as a measure of slow-rusting resistance. **Plant Breeding**, Berlin, v. 103, n. 4, p. 319-323, 1989.

SZTEJNBERG, A.; WAHL, I. Mechanisms and stability of slow stem rusting resistance in *Avena sterilis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 66, p. 74-80, 1976.

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

THOMÉ, G. C. H. et al. Tamanho de pústula: um componente importante da

resistência parcial à ferrugem da folha em aveia. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 262-64, 1997b.

THOMÉ, G. C. H. **Genética e análise molecular da resistência parcial à ferrugem da folha em aveia**. 1999. 126f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia. Porto Alegre

USDA. **Oats area, yield, and production**. Disponível em: <<http://www.usda.gov>> Acesso em: dezembro de 2001.

VALE, F. X. R.; PARLEVLIT, J. E.; ZAMBOLIM, L. Concepts in plant disease resistance. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 577-589, 2001.

VAN DEYNZE, A. E. et al. Molecular-genetic maps for group 1 chromosomes fo *Triticeae* species and their relation to chromosomes in rice and oat. **Genome**, Ottawa, v. 38, p. 45-59, 1995.

VICENTE, M. C.; TANKSLEY, S. D. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. **Genetics**, Chapel Hill, v. 134, n. 2, p. 585-596, 1993.

VOS, P. et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, New York, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.

WANG, S.; BASTEN, C. J.; ZENG, Z. B. **Windows QTL Cartographer**, versão 1.30, 2002. Disponível em <<http://STATGEN.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>> Acesso em: maio de 2002.

WANG, G. L. et al. RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. **Genetics**, Chapel Hill, v. 136, n. 4, p. 1421-1434, 1994.

WEAVER, S. H. International trade of oats. In: SOUTH AMERICAN OATS CONGRESS, 3., 1997, La Estanzuela. **Proceedings...** La Estanzuela: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, 1997. p. 7-16.

WILCOXSON, R. D.; SKOVMAND, B.; ATIF, A. H. Evaluation of wheat cultivars for ability to retard development of stem rust. **Annual Applied Biology**, Warwick, v. 80, p. 275-281, 1975.

WILCOXSON, R. D. Genetics of slow rusting in cereals. **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, n. 9, p. 989-993, 1981.

WILLIAMS, J. G. et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, New York, v. 18, p. 6531-6535, 1990.

YOUNG, N. D. QTL mapping and quantitative disease resistance in plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 34, p. 479-501, 1996.

ZHOU, X.; JELLEN, E. N.; MURPHY, J. P. Progenitor germoplasm of domesticated hexaploid oat. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 1208-1214, 1999.

ZIMMER, D. E., SCHAFER, J. F.; PATTERSON, F. L. Mutation for virulence in *Puccinia coronata*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 53, p. 171-76, 1963.