

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

MONIQUE MACULAN MOURA

**MAPEAMENTO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DO TRIGO
À GIBERELA E A NÍVEIS DE PRODUÇÃO DE DEOXYNIVALENOL,
POR DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO**

TESE

**PATO BRANCO
2018**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

MONIQUE MACULAN MOURA

**MAPEAMENTO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DO TRIGO
À GIBERELA E A NÍVEIS DE PRODUÇÃO DE DEOXYNIVALENOL,
POR DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO**

TESE

PATO BRANCO

2018

MONIQUE MACULAN MOURA

**MAPEAMENTO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DO TRIGO
À GIBERELA E A NÍVEIS DE PRODUÇÃO DE DEOXYNIVALENOL,
POR DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Benin
Coorientador: Prof. Dr. Ivan Schuster

PATO BRANCO

2018

M929p Moura, Monique Maculan.
Mapeamento de QTLs associados à resistência do trigo à giberela e a níveis de produção de deoxynivalenol, por desequilíbrio de ligação / Monique Maculan Moura. -- 2018.
Pato Branco. UTFPR, 2018
109 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Benin
Coorientador: Prof. Dr. Ivan Schuster
Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2018.
Bibliografia: f. 92 – 109.

1. *Gibberella Zeae*. 2. *Triticum aestivum* L. 3. SNP. 4. GWAS. 5. Micotoxina.
I. Benin, Giovani, orient. II. Schuster, Ivan, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 22. ed. 630

Ficha Catalográfica elaborada por
Maria Juçara Vieira da Silveira CRB-9/1359
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Tese

MAPEAMENTO DE QTLs ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA DO TRIGO À GIBERELA E A NÍVEIS DE PRODUÇÃO DE DEOXYNIVALENOL, POR DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO

por

Monique Maculan Moura

Tese apresentada às 13h30min do dia 23 de fevereiro de 2018 como requisito parcial para a obtenção do título de DOUTORA EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Produção Vegetal, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores e profissionais abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Giovani Benin

UTFPR
Orientador

Prof^a. Dra. Taciane Finatto

UTFPR

Prof^a. Dra. Glacy Jaqueline da Silva

UNIPAR

Prof. Dr. Volmir Sergio Marchioro

UFSM

Dr. Francisco de Assis Franco

COODETEC

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Moeses Andriago Danner

Coordenador do PPGAG

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa”

*Aos meus pais, Valdomiro Rodrigues de Moura e Raides Maculan Moura;
A minha irmã e meu cunhado, Crislaine Maculan Moura Anghinoni e João
Carlos Anghinoni,
Ao meu namorado Roberto Lazzari Júnior,
que estiveram sempre presentes e me apoiaram em todos os momentos.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Deus por permitir que eu concluísse esse trabalho, pela vida e pelas oportunidades.

Aos meus pais, Valdomiro e Raides, pelo amor, carinho, confiança e por me incentivarem a estudar, apesar dos desafios que passamos juntos.

À minha irmã, Crislaine, e meu cunhado, João Carlos, pelo amor, amizade e apoio, mesmo nas dificuldades.

Ao meu namorado Roberto e minha cunhada Fabiane, por abrirem o caminho, auxiliarem todos os momentos e por todas as palavras de carinho e apoio.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), pela oportunidade oferecida para a realização deste trabalho.

À Fundação Araucária e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro para a execução do projeto.

À Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola (COODETEC) pelo apoio para realização do trabalho, fornecimento de toda estrutura e equipe muito competente.

Ao Professor Giovani Benin, pela sua orientação, por toda disponibilidade e dedicação.

Ao Professor Ivan Schuster, por sua coorientação, exemplo, paciência e conhecimento transmitido.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, em especial àqueles que contribuíram de alguma forma para minha formação acadêmica e que contribuem para a qualidade do programa.

Aos funcionários da COODETEC e da UTFPR, pelo auxílio na condução dos experimentos e pela convivência.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Agronomia pelas horas de convívio e pela amizade.

À secretária Gisele, pela eficiência e por estar sempre disposta a ajudar.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para meu crescimento profissional e para a realização deste trabalho, deixo aqui meu sincero Muito Obrigado!

Tudo o que pedirdes com fé na oração, vós o alcançareis. (MATEUS, 21:22)

All that ye shall ask with faith in prayer, ye shall receive. (MATTHEW, 21:22)

RESUMO

MOURA, Monique Maculan. Mapeamento de QTLs associados à resistência do trigo à giberela e a níveis de produção de deoxynivalenol, por desequilíbrio de ligação. 2017. 109f. Tese – Programa de Pós-graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2018.

A giberela é uma das principais doenças que acometem a cultura do trigo, causando perdas de produtividade, além de possibilitar a produção da micotoxina deoxynivalenol, altamente prejudicial aos indivíduos que a ingerem. A seleção assistida por marcadores pode auxiliar estes programas a reduzir o tempo e os custos no desenvolvimento de novas cultivares resistentes à giberela, mas para ser eficiente é necessário conhecer a localização dos genes/QTLs associados à característica. O objetivo desta pesquisa foi identificar marcadores SNPs associados a genes/QTLs de resistência à giberela e produção de deoxynivalenol em um grupo de cultivares de trigo, para uso em SAM no melhoramento genético de trigo. Foram utilizadas 384 cultivares para avaliação da resistência à giberela. A genotipagem foi efetuada utilizando o chip com 35.000 marcadores SNPs. A estrutura populacional foi estimada pelo algoritmo Markov Chain Monte Carlo para o método de agrupamento Bayesiano generalizado. A análise de associação foi realizada utilizando o método de Modelos Lineares Mistos, com nível de significância de 0,001%, e, regressão múltipla *stepwise*, além de uma análise de correlação de Pearson. Os resultados demonstraram que a resistência de genótipos brasileiros de trigo à giberela não está relacionada à QTLs presentes nos cromossomos 3B, frequentemente associada ao gene *Fhb1*, mas à QTLs presentes nos cromossomos 1B, 4D e 7D que explicaram 13,6% da variação fenotípica. As análises de micotoxina deoxynivalenol identificaram SNPs associados a QTLs nos cromossomos 1A, 1B, 1D, 2D, 3D, 5D, 6D e 7B, com 65,7% de explicação fenotípica para produção de deoxynivalenol. Além disso, tanto as análises de correlação, quanto de associação sugerem controle genético distinto atuando na determinação das características.

Palavras-chave: *Gibberella zeae*, SNP, GWAS, *Triticum aestivum* L., micotoxina.

ABSTRACT

MOURA, Monique Maculan. Mapping of QTLs associated to wheat resistance to Fusarium head blight and levels of deoxynivalenol production, by linkage-disequilibrium. 2017. 109p. Thesis – Postgraduate Program in Agronomy (Concentration Area: Plant Production), Federal University of Technology - Paraná. PatoBranco, 2018.

Fusarium head blight is one of the main diseases that affects the wheat crop, causing losses of productivity, besides making possible the production of deoxynivalenol mycotoxin, highly harmful to the individuals that ingest it. The marker assisted selection can help these programs to reduce time and costs in development of new cultivars resistant to Fusarium head blight, but for a better efficiency, is required knowing the location of genes or QTLs associated to the trait. The objective of this research was to identify SNPs associated to genes/QTLs of resistance to Fusarium head blight and deoxynivalenol production in a wheat cultivars group, for use in MAS on wheat genetic breeding. Were used 384 cultivars to evaluate the Fusarium head blight resistance. Genotyping was using the chip with 35,000 SNPs markers. The population structure was estimate by the algorithm Marcov Chain Monte Carlo for the generalised Bayesian clustering method. The association analysis was performing using the Mixed Linear models method, with 0.001% of significance level, and, stepwise multiple regression, besides an analysis of Pearson's correlation. The results showed that the resistance of brazilian wheat genotypes to Fusarium head blight is not related to the QTLs on chromosome 3B, often associated to the Fhb1 gene, but to the QTLs present on chromosomes 1B, 4D and 7D whose explained 13.6% of phenotypic variation. The DON mycotoxin analysis identified nine significant SNPs associated to QTLs on chromosomes 1A, 1B, 1D, 2D, 3D, 5D, 6D and 7B with 65.7% of phenotypic explanation to deoxynivalenol production. In addition, both correlation and association analysis suggest distinct genetic control acting to determine the characteristics.

Keywords: *Gibberella zeae*, SNP, GWAS, *Triticum aestivum* L., mycotoxin.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-Ciclo biológico de <i>Gibberella zeae</i>	25
Figura 2-Estágio atual do mapeamento do gene Fhb1 no cromossomo 3BS de trigo.	30
Figura 3-(A) Distribuição das parcelas do campo experimental da Coodetec; (B) Organização e espaçamento praticado no experimento para avaliação de resistência a giberela, Cascavel-PR.....	41
Figura 4-(A) Corte de placa contendo esporos de <i>F. graminearum</i> para repicagem; (B) Placa de meio BDA colonizada por <i>F. graminearum</i> em corte para repicagem, Cascavel-PR.....	42
Figura 5-(A) Molhamento dos grãos de trigo sob colonização de <i>Fusarium graminearum</i> ; (B) Exposição diária das bandejas ao sol; (C) Grãos de trigo com formação de peritécios de <i>G. zeae</i> , Cascavel-PR.	42
Figura 6-(A) Grãos de trigo com peritécios de <i>G. zeae</i> ; (B) Inoculação por grãos de trigo giberelados no experimento para avaliação de resistência a giberela, Cascavel-PR.....	43
Figura 7-(A) Inoculação de esporos de <i>F. graminearum</i> por pulverização em plantas de trigo no estágio de florescimento; (B) Lavagem e (C) raspagem de placas colonizadas por <i>F. graminearum</i> para obtenção da suspensão de esporos, Cascavel-PR.....	43
Figura 8-(A) Câmara de Neubauer para contagem de esporos em microscópio óptico composto; (B) Esporos de <i>F. graminearum</i> , Cascavel-PR.	44
Figura 9-(A) Formação de neblina e distribuição das mangueiras de irrigação entre as parcelas do experimento; (B) Sistema de irrigação por aspersão da área experimental, Cascavel-PR.	44
Figura 10-Escala visual para avaliação de severidade (%) de giberela em trigo.	45
Figura 11-(A) Moinho “mr Coffee”; (B) teste de ELISA Veratox® para DON HS; (C) Grãos de trigo inteiros e após a moagem; (D) Pesagem de 10g de trigo moído em balança analítica; (E) Organização das amostras e repouso após agitação com água destilada, Cascavel-PR.	46

- Figura 12-(A) Filtragem das amostras; (B) Placa contendo os micropoços utilizados para as reações; (C) Reagentes utilizados para o teste: Conjugate Solution, Substrate Solution e Red Stop Solution; (D) Amostras controle correspondentes a 0ppm, 0,5ppm, 1ppm, 2ppm e 6 ppm, Cascavel-PR. 47
- Figura 13-(A) Descarte do líquido das amostras; (B) Retirada do excesso de água batendo-se contra um papel absorvente; (C) Lavagem das amostras com água destilada; (D) Placa contendo as amostras após o término das reações; (E) Equipamento utilizado para leitura dos resultados do teste de Elisa, Cascavel-PR.....48
- Figura 14-Distribuição da frequência de notas na classificação fenotípica dos genótipos de trigo para severidade de giberela com base no valor máximo obtido entre os experimentos de 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.52
- Figura 15-Número de genótipos de trigo observados por classe na avaliação do percentual de severidade de giberela nos anos de (A) 2015 e (B) 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....53
- Figura 16-Manhattan plot dos valores de significância das associações genômicas nos cromossomos de trigo para resistência à giberela com base: (A) na classificação fenotípica; (B) no ano de 2015; (C) no ano de 2016. A linha paralela ao eixo X corresponde ao limite $p\text{-value} < 0,001$. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....55
- Figura 17-Média dos haplótipos (GAA, GGA, AAA, GGG, GAG, AAG e AGA) considerando os marcadores significativos (AX-95177494, AX-94472422 e AX-95070228) na análise de regressão múltipla no experimento para avaliação de severidade de giberela em 2016. As barras paralelas ao eixo Y indicam o desvio padrão e as letras acima das colunas correspondem ao teste de Tukey. Genótipos com médias não ligadas pela mesma letra diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade de erro. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.63
- Figura 18-Distribuição da frequência dos fenótipos em cada haplótipo na avaliação do experimento do percentual de severidade de giberela em 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....64

- Figura 19-Distribuição da frequência dos genótipos de trigo observados por classe (0-1 e >1 ppm) na avaliação dos níveis de deoxynivalenol em (A) 2015 e (B) 2016, respectivamente. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....65
- Figura 20-Manhattan plot dos valores de significância das associações genômicas nos cromossomos de trigo para produção de micotoxina deoxynivalenol: (A) Ano de 2015; (B) Ano de 2016; (C) Com base na média entre os anos de avaliação; (D) Com base no valor máximo obtido entre os anos avaliados. A linha paralela ao eixo X corresponde ao limite $p\text{-value} < 0,001$. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....66
- Figura 21-Média fenotípica observada na avaliação dos alelos do marcador AX-94549868 para níveis de micotoxina deoxynivalenol (DON) em trigo no ano de 2015. As barras paralelas ao eixo Y indicam o desvio padrão. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....84
- Figura 22-Distribuição da frequência alélica em classes, referente aos níveis de deoxynivalenol encontrados no ano de 2015 para o marcador AX-94549868. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....85
- Figura 23-Média dos haplótipos (GAA, AAA, AGG, GAG, AGA, GGG, AAG e GGA) considerando os marcadores significativos (AX-94384118, AX-94627297 e AX-94656029) na análise de regressão múltipla no experimento para avaliação dos níveis de deoxynivalenol em 2016. As barras paralelas ao eixo Y indicam o desvio padrão e as letras logo acima das colunas correspondem ao teste de Tukey. Genótipos com médias ligadas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade de erro. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....86
- Figura 24-Distribuição da frequência dos fenótipos em cada haplótipo na avaliação do experimento de 2016 quanto a produção de micotoxina deoxynivalenol em trigo. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-Genótipos de trigo utilizados nos experimentos para análise de associação genômica para resistência à giberela nos anos de 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua).....	39
Tabela 2-Percentual de severidade de giberela e classificação fenotípica de cultivares de trigo comercialmente conhecidas, com base no valor máximo obtido entre os anos 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.	53
Tabela 3-Marcadores SNPs significativos ($-\text{Log}_{10}(p) > 3$) na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para resistência à giberela em trigo referente ao ano de 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.	56
Tabela 4-Sequência de pares de bases da região que contém os SNPs associados à resistência do trigo à giberela na safra de 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.	57
Tabela 5-Marcadores significativos na análise <i>stepwise</i> e porcentagem da variância fenotípica explicada pelos marcadores (R^2) para severidade de giberela na avaliação do ano de 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.	58
Tabela 6-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para resistência à giberela em trigo na safra de 2016, evidenciando <i>locus</i> , posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.	61
Tabela 7-Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis de deoxynivalenol em trigo no ano de 2015, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.	66
Tabela 8-Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis de deoxynivalenol em trigo no ano de 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua).....	68

Tabela 9-Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis médios de deoxynivalenol em trigo obtidos entre 2015 e 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua).....	69
Tabela 10-Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis máximos de deoxynivalenol em trigo obtidos entre 2015 e 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua).....	70
Tabela 11-Marcadores SNPS significativos na análise <i>stepwise</i> , porcentagem da variância fenotípica explicada pelos marcadores (R^2) e sequência de base da região que contém os SNPs associados para produção de micotoxina deoxynivalenol nos anos de 2015 e 2016, bem como para média e máxima obtida entre os anos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua).....	71
Tabela 12-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis de micotoxina deoxynivalenol produzida nos anos de 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.....	75
Tabela 13-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis médios de micotoxina deoxynivalenol produzida entre os anos 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)	76
Tabela 14-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis máximos de micotoxina deoxynivalenol produzida entre os anos 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco	

de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)	78
Tabela 15-Proteínas diferencialmente expressas identificadas por Zhang et al. (2013) associadas à resistência a giberela.	83
Tabela 16-Correlação de Pearson entre as variáveis: severidade de giberela (Giberela2015 e Giberela2016) e níveis de micotoxina deoxynivalenol (DON2015 e DON2016) avaliados nos experimentos dos anos de 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.	88

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Objetivos	19
1.1.1 Geral.....	19
1.1.2 Específicos	19
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Cultura do trigo.....	20
2.2 Giberela ou fusariose	21
2.2.1 Micotoxina deoxynivalenol.....	23
2.2.2 Ciclo da doença.....	24
2.2.3 Resistência do trigo à giberela	26
2.2.4 Controle genético da resistência à giberela em trigo.....	28
2.3 Marcadores moleculares e a seleção assistida	32
2.4 Desequilíbrio de ligação em plantas e o mapeamento por associação genômica ampla (GWAS)	35
3 MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1 Material genético e delineamento experimental	39
3.2 Avaliação de micotoxina deoxynivalenol	46
3.3 Genotipagem e análise dos dados	49
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
4.1 Estudos da avaliação de severidade de giberela nos anos 2015 e 2016	52
4.2 Estudos da avaliação dos níveis de deoxynivalenol nos anos 2015 e 2016	64
4.3 Correlação de Pearson	87
CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
6 CONCLUSÃO	91
6 REFERÊNCIAS	92

1 INTRODUÇÃO

O trigo se destaca pela sua importância para a economia global, por ser um dos três cereais mais cultivados no mundo (CONAB, 2017a). No Brasil é cultivado principalmente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (MAPA, 2015). É um alimento que faz parte da base da pirâmide energética, consistindo o ingrediente principal na fabricação de pães, massas e bolos. Todavia, o elevado custo de produção e as dificuldades na obtenção de cultivares com qualidade tecnológica definida, conforme exigências do mercado estão entre os principais fatores limitantes à cadeia produtiva do trigo brasileiro (EMBRAPA TRIGO, 2015).

Dentre os fatores que elevam os custos de produção, e podem causar grandes perdas na lavoura, são citadas as inúmeras doenças que atacam a cultura. Dentre elas, a giberela, também conhecida como fusariose, é uma das mais preocupantes doenças de espiga. Essa doença afeta a qualidade dos grãos, reduzindo o peso e prejudicando a aparência, além de possibilitar a produção de micotoxinas pelo fungo, que são prejudiciais ao homem e aos animais que deles se alimentam (INQUIMA, 2014). Esta doença, embora possam ser utilizadas diferentes formas de manejo, é de difícil controle, além do que, foi observado que a aplicação de fungicidas não garante a obtenção de níveis reduzidos de deoxynivalenol (DON) (BATURO-CIEŚNIEWSKA et al., 2012).

A micotoxina DON é a mais comumente encontrada em grãos de trigo contaminados por giberela e pode causar náusea, vômitos, diarreia, problemas gastrointestinais, depressão do sistema imunológico, lesões no coração, rins e até mesmo anorexia nos organismos que a ingerem (BENNETT & KLICH, 2003; TOMINAGA et al., 2016).

A obtenção de cultivares resistentes a esta doença e que apresentem baixos níveis de produção de DON tem sido foco dos programas de melhoramento genético de trigo do mundo todo. A herança quantitativa, inerente a esta característica, além da grande influência dos fatores ambientais no desenvolvimento da doença, tornam a seleção de plantas de interesse uma tarefa difícil e laboriosa. É a partir deste panorama que se percebe a necessidade de investir em técnicas mais aprimoradas e eficientes de melhoramento genético de trigo no Brasil.

A identificação de marcadores moleculares tem auxiliado os programas de melhoramento genético na obtenção de cultivares melhoradas. Existem diversos tipos de marcadores, porém os marcadores SNPs (*Single Nucleotide Polymorphis – Nucleotídio de Polimorfismo Único*) são encontrados em maior abundância no genoma e os resultados são rapidamente obtidos e comparados, apresentando, portanto, níveis de rendimento mais elevados. Assim, identificar marcadores SNPs associados a genes ou QTLs (*Quantitative Trait Loci*) de resistência à giberela pode oferecer maior eficiência aos programas de melhoramento genético de trigo através da prática de Seleção Assistida por Marcadores (SAM).

No entanto, para ter um programa de SAM eficiente é importante conhecer a localização dos genes ou QTLs associados às características de interesse. Uma estratégia para estudar a associação existente entre os genótipos de trigo e o fenótipo de resistência à giberela é efetuar o mapeamento dos QTLs através do desequilíbrio de ligação, avaliando-se a associação entre o marcador genético e o QTL. Em um grupo de indivíduos, se dois alelos de locos diferentes são encontrados juntos com frequência maior que aquela esperada com base no produto de suas frequências, infere-se que tais alelos estão em desequilíbrio de ligação. Assim, a ligação pode ser detectada e utilizada na seleção (RESENDE et al.;2013). Todavia, as informações sobre o mapeamento de genes e QTLs do trigo à resistência à giberela ainda são escassas, principalmente no germoplasma brasileiro, e a sua disponibilização contribuirá para a seleção de genótipos mais tolerantes a esta doença.

O objetivo deste trabalho foi identificar SNPs associados a genes/QTLs de resistência à *Gibberella zeae*, e a níveis de produção de micotoxina deoxynivalenol, em um grupo de cultivares de trigo que representam a base genética utilizada pelos programas brasileiros de melhoramento genético desde 1940, para uso em seleção assistida por marcadores moleculares, no melhoramento genético de trigo.

1.1 Objetivos

1.1.1 Geral

Identificar um conjunto de marcadores SNPs associados à resistência do trigo à giberela e a níveis de produção de micotoxina DON, por desequilíbrio de ligação.

1.1.2 Específicos

- a) Genotipar 384 cultivares/linhagens de trigo com 35 mil marcadores SNPs;
- b) Caracterizar 384 cultivares/linhagens de trigo para resistência à giberela e para níveis de produção de DON;
- c) Mapear genes/QTLs responsáveis pelas características avaliadas, através de desequilíbrio de ligação com os marcadores SNPs;
- d) Identificar um conjunto de marcadores SNPs úteis para uso em Seleção Assistida por Marcadores Moleculares, no melhoramento genético do trigo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do trigo

O trigo pertence ao Reino *Plantae*, classe *Equisetopsida*, subclasse *Magnoliidae*, super ordem *Lilianaes*, ordem *Poales*, família *Poaceae* e ao Gênero *Triticum* (TROPICOS, 2018). Presente há cerca de 10 mil anos na história da humanidade, o trigo hexaploide (*Triticum aestivum* L.) (AABBDD), originou-se do cruzamento do trigo tetraploide (*Triticum turgidum*) (AABB) com *Aegilops tauschii* (DD), formando a espécie mais cultivada que conhecemos hoje (DONG et al., 2012). É caracterizado como uma planta anual, hermafrodita, autógama, que apresenta baixa taxa de polinização cruzada em condições normais nos campos de cultivo (FEDERIZZI et al., 2005).

O trigo é uma gramínea do gênero *Triticum* e está entre as plantas mais cultivadas no mundo (ABITRIGO, 2015). A produção mundial de trigo em 2016 foi de cerca de 724 milhões de toneladas, com exportação de 155 milhões de toneladas oriundas, principalmente, da Argentina, Austrália, Canadá, União Europeia, Cazaquistão, Rússia, Ucrânia e Estados Unidos (FAO, 2017). No Brasil, a área de trigo plantada no ano de 2016 foi de 2.118,4 mil hectares, com produção de 6.726,8 mil toneladas e produtividade de 3.175kg ha^{-1} (CONAB, 2017b).

O Brasil consome, anualmente, 11,5 milhões de toneladas de trigo (ABITRIGO, 2017), utilizando-o como matéria-prima para a elaboração de alimentos consumidos diariamente, na forma de pães, biscoitos, bolos e massas, os quais fazem parte da base da pirâmide alimentar e cujo consumo é incentivado pelo Guia Alimentar da População Brasileira, sendo amplamente consumido e indicado à alimentação (SCHEUER et al., 2011).

No Brasil, as melhores condições de clima para o cultivo de trigo são encontradas nos três estados da região Sul do país, sendo que em 2017, 55% da área foi semeada no Paraná, 38% no Rio Grande do Sul e 5% em Santa Catarina. Apesar de o clima ser muito instável principalmente, em relação à precipitação pluviométrica e à temperatura (REIS et al., 1988; CONAB, 2017b).

As condições climáticas, onde predominam temperaturas altas e precipitações pluviais frequentes, favorecem o desenvolvimento de doenças,

principalmente aquelas causadas por fungos (FERNANDES & PICININI, 1999). Dentre as doenças do trigo provocadas por fungos destacam-se giberela, ferrugem da folha, ferrugem linear, mancha da gluma, mancha marrom, manchas foliares, oídio, brusone, podridão comum das raízes, mal-do-pé e carvão (REIS & CASA, 2007).

2.2 Giberela ou fusariose

A giberela do trigo (*Triticum aestivum*), causada pelo fungo *Gibberella zeae*, é uma doença tipicamente de infecção floral que pode provocar tanto danos quantitativos, com elevadas perdas econômicas, quanto qualitativos, seja pelos danos diretos ocasionados ao grão ou pela produção de micotoxinas pelo fungo (FÍGOLI et al, 2017; REIS et al., 2016; LEGRAND et al., 2017).

Existem mais de 70 espécies do gênero *Fusarium* presentes em diversas regiões do mundo (LESLIE & SUMMERELL, 2006). Dentre as diversas espécies de *Fusarium*, a principal espécie envolvida com a patogenicidade é *Fusarium graminearum* Schwabe (BAI e SHANER, 2004). O anamorfo (estágio assexual) do fungo que causa a giberela é *Fusarium graminearum* e o teleomorfo (estágio sexual) do fungo é *Gibberella zeae* (SCHMALE III, 2010).

A giberela ou fusariose da espiga tem a capacidade de destruir uma cultura de elevado potencial de rendimento de grãos, dentro de algumas semanas antes da colheita, causando perdas econômicas devido à reduzida qualidade das sementes (PINTO, 2008). Uma característica marcante da doença é a esporadicidade de ocorrência, sendo mais frequente naquelas regiões onde ocorrem períodos prolongados de chuva (mais que 72 horas) e temperaturas médias no período chuvoso maiores que 20°C após o início da floração (REIS et al., 2001).

As fontes de inóculo mais importantes para a infecção das espigas de trigo são os peritécios de *Gibberella zeae* formados sobre restos culturais. O fungo *G. zeae* é um parasita necrotrófico com habilidade de competição saprofítica. Por isso, os restos culturais de hospedeiros suscetíveis são as principais fontes de inóculo do patógeno (REIS, 1988; CASA, et al., 2004). Wenda-Piesik et al. (2017), verificou que a cultura antecessora ao trigo apresenta influência direta sobre a incidência da

doença e produção de DON, indicando um maior monitoramento quando o cultivo do trigo suceder o milho ou trigo.

Os sintomas da doença, além de outras partes da planta, podem ser facilmente reconhecidos em espigas jovens, quando suas espiguetas exibem anasarca seguida da destruição da clorofila e evolução da colonização do fungo, estas se apresentam despigmentadas, de coloração palha que contrastam com o verde normal das espiguetas sadias, mostrando-se brancas e arrepiadas (LIMA, 2003; REIS & CASA, 2007).

A giberela pode ocasionar danos diretos e indiretos (LIMA, 2004). De acordo com o autor, os danos diretos consistem no abortamento de flores ou da formação de grãos chochos, enrugados, ásperos, de coloração rósea a esbranquiçada. Os danos indiretos são causados por grãos infeccionados e seus derivados, podendo ser tóxicos para aqueles que o ingerem, em razão da presença de micotoxinas que, quando presentes, tornam os grãos menos palatáveis aos animais. Entretanto, somente a presença do grão giberelado não significa que há micotoxinas. Algumas toxinas, como a DON, podem induzir vômitos e espasmos musculares no homem e em animais não ruminantes, enquanto outras podem causar disfunção sexual reprodutiva, como a zearalenona.

Epidemias foram observadas em diversas regiões promovendo reduções da produtividade e da qualidade dos grãos. No Brasil, o patossistema tem sido estudado há mais de três décadas. Estudos indicam que a doença, que se apresentava na forma de epidemias leves e esporádicas, alcançou o *status* de principal doença nas regiões tritícolas brasileiras do Sul do país, onde causa, com frequência, impactos econômicos (TORRES, 2009). Na China, uma sucessão de epidemias de *Fusarium* atingiu mais de 7 milhões de ha de trigo, provocando perdas de mais de um milhão de toneladas (BAI e SHANER, 2004). Nos Estados Unidos McMullen et al. (2012) destacaram perdas de bilhões de dólares entre os anos 90 e 2000.

A indicação de diferentes formas de controle utilizadas simultaneamente para giberela tem ganhado destaque (DWEBA et al., 2017). Para o controle da doença podem ser aplicadas três estratégias de maneira integrada: resistência genética, cultivo de cultivares com maior número de genes que conferem resistência

à doença; manejo cultural, por meio de práticas como rotação de culturas, época e escalonamento da semeadura; e controle químico, pela aplicação de fungicidas (SANTANA et al., 2014).

O uso de fungicidas tem eficiência variável na proteção de sementes de trigo à *Fusarium graminearum*, sendo que tratamentos erradicantes não foram eficientes, o que pode indicar que sementes provenientes de campos com alta intensidade de giberela, mesmo tratadas com fungicidas, não devem ser utilizadas (BAUER et al., 2011).

Ao analisar o efeito da aplicação de fungicida para giberela em trigo, Baturo-Cieśniewska et al. (2012), observaram, através de análises moleculares, que mesmo nas plantas protegidas por fungicida foram encontrados níveis variáveis de micotoxinas. Bai e Shaner (2004) obtiveram resultados semelhantes, demonstrando que em determinados casos em que o tratamento com fungicida reduz a perda de produtividade, pode não reduzir a contaminação por DON a níveis mais baixos do que os tolerados para consumo humano.

2.2.1 Micotoxina deoxynivalenol

A micotoxina DON pode causar hemorragia e inflamação gastrointestinal, necrose de vários tecidos, com lesões até mesmo no coração e rins, bem como náusea, diarreia, depressão do sistema imunológico, vômito e até mesmo anorexia nos organismos que a ingerem (BENNETT & KLICH, 2003; SCUSSEL et al. 2011; TOMINAGA et al., 2016).

A Comissão Européia limitou a $750 \mu\text{gkg}^{-1}$ (EC, 2006) o nível máximo de DON tolerado para consumo. O USDA (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos) definiu que os níveis de DON não ultrapassem $1000 \mu\text{gkg}^{-1}$ para alimentos destinados a seres humanos e a instituição norte-americana FDA (*U.S. Food and Drug Administration*) determinou níveis de DON autorizados em rações para diversos animais (SCHMALE III, 2010).

No Brasil, a Resolução RDC 138/2017 alterou a RDC 07/2011 sobre os limites máximos tolerados para micotoxinas em alimentos (DOU, 2011; DOU, 2017). De acordo com a resolução vigente, o nível máximo de DON tolerado em grãos de

trigo para posterior processamento é de $3000 \mu\text{gkg}^{-1}$. Para trigo integral, trigo para quibe, farinha de trigo integral e farelo de trigo o limite é de $1250 \mu\text{gkg}^{-1}$. Já, para farinha de trigo, massas, crackers, biscoitos de água e sal, e produtos de panificação o máximo permitido é de $1000 \mu\text{gkg}^{-1}$.

Ao avaliar dados de análises de DON entre 2008 e 2015, em cultivares brasileiras de trigo, Mallmann et al. (2017) observaram que em média 30% das amostras apresentaram contaminação acima do permitido, sendo que no ano de 2014, 54% das amostras estavam acima do tolerado. Da mesma forma, Savi et al. (2016), observou que 35% das amostras de farinha e farelo de trigo não estavam em conformidade com a legislação brasileira. Na China, análises de DON entre os anos 2011 e 2013 em farinha de trigo identificaram que mais de 90%, de um total de 672 amostras, estavam contaminadas (LIU, et al., 2016).

A caracterização de mais de 70% das cultivares representativas do cultivo de trigo do sul do Brasil para níveis de deoxynivalenol realizada por Silva et al. (2015) verificou que 44% das cultivares apresentaram níveis de DON inferior a 773ppb, e, apenas 17% apresentaram níveis superiores ao permitido pela ANVISA. No estudo, os autores destacaram, ainda, o grande efeito da interação ambiental para o desenvolvimento desta doença e que mesmo com a aplicação de fungicida foram detectados níveis variáveis de DON.

É de extrema importância aplicar boas práticas agrícolas para reduzir a incidência da doença na planta, bem como desenvolvimento e utilização de cultivares resistentes e uso de fungicidas aplicados na parte aérea na fase de floração como estratégias de controle (SCUSSEL et al., 2011).

2.2.2 Ciclo da doença

A giberela é uma doença caracterizada pela ocorrência de uma série de eventos sucesivos e ordenados, sendo um processo monocíclico, constituído de cinco subprocessos básicos: sobrevivência, disseminação, infecção, colonização e reprodução do patógeno (DANELLI et al., 2011). O fungo *G. zae* pode sobreviver entre as estações de cultivo sob restos culturais, sendo definido como uma espécie saprófita (DEL PONTE et al., 2004).

São nos resíduos culturais que o fungo irá produzir os esporos assexuais, denominados de macroconídios, os quais serão disseminados pela ação do vento ou da chuva e, sob condições de calor e alta umidade o estágio sexual do fungo (*Gibberella zeae*) se desenvolve nos resíduos infectados (Figura 1). Peritécios negros se formam na superfície destes resíduos e liberam os esporos sexuais no ambiente, chamados de ascósporos, que podem se disseminar a longas distâncias através do vento (SCHAMALE et al., 2003). Segundo o autor, a infecção ocorre quando os ascósporos (e também macroconídios) se depositam sobre espigas suscetíveis de trigo.

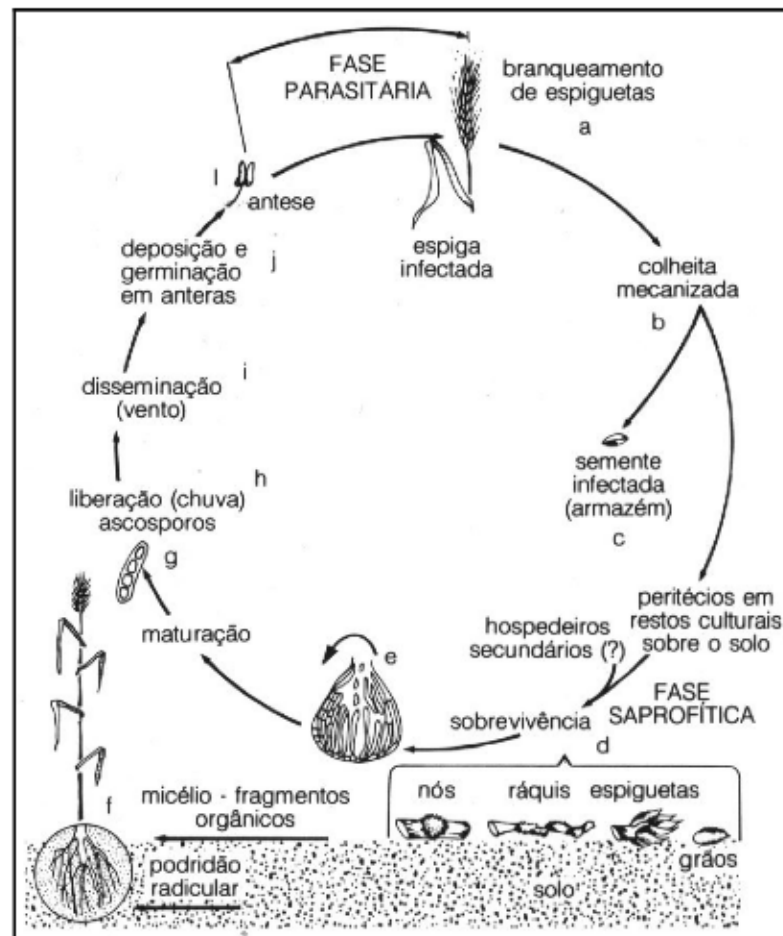


Figura 1-Ciclo biológico de *Gibberella zeae*.

Fonte: Reis (1985).

2.2.3 Resistência do trigo à giberela

Um dos principais focos dos programas de melhoramento genético é buscar soluções relacionadas à resistência varietal ou apenas tolerância às principais enfermidades que predominantemente causam perdas na produção nacional. Assim, identificação de genes de resistência a diferentes enfermidades ou mesmo marcadores moleculares que poderiam auxiliar em processos de seleção precoce de plantas com resistência devidamente incorporada, são importantes elementos destes esforços (BACALTCHUK et al., 2006).

Estudos verificaram que características morfológicas podem estar associadas com o desenvolvimento da doença, uma vez que genótipos que apresentam aristas, pedúnculo curto, espiga compacta e porte baixo são mais suscetíveis a doença. Ao oposto, genótipos de porte alto, sem aristas, com pedúnculo longo e espiga laxa apresentam uma incidência de giberela mais baixa (OSÓRIO et al., 1998; RUDD et al., 2001; ALVES et al., 2013b).

Em função da sua natureza, a resistência do trigo à giberela tem sido classificada em cinco tipos (STACK & MCMULLEN (1995), sendo considerado Tipo I: resistência à infecção inicial; Tipo II: resistência à disseminação do fungo na espiga; Tipo III: redução do acúmulo de DON não correlacionado com as resistências do tipo I e II; Tipo IV: resistência dos grãos à infecção (mesmo que a espiga esteja infectada); Tipo V: tolerância (menor perda de produtividade, mesmo com elevada infecção).

Destas, a mais bem estudada, a mais estável e a menos afetada por fatores não genéticos é a do tipo II (BAI, 1994). Em seguida, a resistência tipo I aparece como um alvo para aumentar o nível de resistência. Os demais tipos de resistência não estão claramente definidos, e não têm sido utilizados como alvo dos programas de melhoramento genético.

De acordo com Bai e Shaner (2004), plantas que apresentam apenas resistência tipo I ou resistência tipo II, podem parecer suscetíveis. Uma planta com resistência tipo I, mas pouca resistência ao tipo II pode parecer suscetível quando o inóculo é abundante. Nesse caso, pelo menos uma espigueta será infectada e os sintomas se espalharão subsequentemente para todas as demais espiguetas.

Entretanto, se uma planta tem resistência tipo II, mas não apresenta resistência tipo I, a infecção será limitada as espiguetas inicialmente infectadas.

Mesmo em coleções de trigo reconhecidas mundialmente, como é o caso da China, Japão e Estados Unidos, todas as fontes de resistência identificadas são oriundas da Ásia (Sumai 3, Ning 7840, Nobeokabozu), do Brasil (Frontana) e da Europa (Praa 8, Novokrunka) (GERVAIS et al., 2003).

No Brasil, Alves et al. (2013a) ao avaliarem as reações de resistência tipo I e tipo II à giberela, em 28 cultivares de trigo, verificaram que as cultivares Frontana, BRS 177, BRS 179, BRS Umbu, BRS Camboim, Abalone, Ônix, Pampeano e Fundacep 30 apresentaram menor severidade da doença e menor porcentagem de grãos giberelados, demonstrando serem fontes de resistência tipo I. As cultivares BRS Guamirim, CD 120, Ônix, Rubi, Fundacep 50, BRS 179, Pampeano, Abalone, CD 114, IPR 85, Safira, BRS Louro, CD 117, CDF 2002116, CD 115, BRS 177, CD 0529 e BRS Camboim apresentaram a menor área abaixo da curva de progresso da doença, demonstrando a presença da resistência do tipo II.

Considerando apenas a resistência tipo I, Alves et al. (2013b) em outro estudo, concluíram que as cultivares Frontana, BRS 177, Safira e BRS Timbaúva estiveram no grupo com menor média de severidade da doença, demonstrando serem boas fontes de resistência à Giberela. Na avaliação de grãos, as cultivares BRS 177, Onix, BRS Timbaúva, BRS Umbú, BRS Guamirim, Fundacep Raízes, Fundacep 50, CD 120 e CD 0526 estiveram no grupo com menor média de grãos giberelados.

Para a resistência do tipo II, a principal fonte utilizada por todos os grupos de pesquisa tem sido a cultivar chinesa Sumai 3, ou cultivares derivadas desta, como Ning 7840. Para a resistência do tipo I, a cultivar Frontana tem sido utilizada com frequência nos estudos de herança e mapeamento (BAI e SHANER, 2004).

A resistência a giberela apresentada pelas cultivares Ning 7840 e Sumai 3 são as mesmas. No entanto, Ning 7840 tem a vantagem de um maior potencial de rendimento de grãos, bem como resistência a outras doenças como ferrugens da folha e do colmo e ao míldio pulverulento (BAI e SHANER, 2004).

Diversos estudos tem evidenciado a resistência em Sumai 3 como uma das mais importantes fontes para uso em programas de melhoramento genético no

mundo (BASNET et al., 2011; HE et al., 2013). Niwa et al. (2014), estudaram a variação genética entre os acessos de Sumai 3 coletadas de seis países utilizando marcadores microssatélites. Foi evidenciado que existem variações genéticas em regiões específicas do QTL nos acessos estudados. Os resultados demonstram regiões cromossômicas únicas em Sumai 3-AUT e Sumai 3-JPN ('Sumai 3' da Áustria e Japão, respectivamente). A avaliação de campo indicou uma forte resistência à giberela em Sumai 3-AUT.

2.2.4 Controle genético da resistência à giberela em trigo

No melhoramento de espécies autógamas, tais como o trigo, um dos gargalos para o melhorista é distinguir a planta superior (homozigota - genótipo com a maior frequência de alelos favoráveis possíveis) na população (ISLEIB, 1999). Desta forma, qualquer mecanismo que auxilie a elevar a eficiência da seleção no processo de obtenção de novas cultivares é de primordial importância (HARTWIG et al., 2007). Para isto, o conhecimento do controle genético de determinada característica é essencial para obter sucesso no programa de melhoramento (BALDISSERA et al., 2014).

Os estudos do controle genético da resistência à giberela tem identificado de 2 a seis genes (KOLB et al., 2001). Outros estudos têm indicado que a resistência é herdada de forma quantitativa, envolvendo diversos locos em diversos cromossomos (ZHOU et al., 2003). Buerstmayr et al. (2013), efetuaram o mapeamento genético para resistência tipo II à giberela em uma população derivada de retrocruzamento, revelando dois QTLs altamente significativos nos cromossomos 3A e 6B.

Nos estudos de herança utilizando populações derivadas de Sumai 3 têm sido identificados dois genes (VAN GINKEL et al., 1996), três genes (YAO et al., 1997) ou mais de três genes (YU, 1982). Van Ginkel et al. (1996), utilizando uma população de Ning 7840 (derivada de Sumai 3) identificou também dois genes dominantes para a resistência do tipo II. Os cromossomos 3BS e 6BL têm sido relatados com mais frequência como sendo os locais onde se localizam os genes de resistência provenientes de Sumai 3.

Para a resistência do tipo I, derivada de Frontana, alguns estudos têm identificado 3 ou mais genes (SINGH et al., 1995), enquanto que outros tem identificado dois genes dominantes (VAN GINKEL et al., 1996).

Os diversos grupos que trabalham com o objetivo de mapear os locos de resistência do trigo à giberela têm encontrado marcadores ligados aos genes de resistência que apresentam alguma consistência entre as diversas populações estudadas. No grupo 3BS, Anderson et al. (2001) identificou o marcador microssatélite Xgwm533, que explicou 25% da variação fenotípica para a resistência à giberela, em uma população obtida a partir da linhagem ND2603 (derivada de Sumai 3). Nesta mesma região, Guo et al., (2003) identificaram o marcador microssatélite Xgwm369 e um marcador STS (SRTS.3B1), derivado de um marcador AFLP, associados com a resistência. Estes marcadores estão proximamente ligados ao marcador Xgwm533, e por estarem mais próximos ao gene de resistência, explicam até 50% da variação fenotípica (marcador STS). Zhou et al., (2003) avaliaram, na região do cromossomo 3BS, um conjunto de seis marcadores microssatélites em uma população obtida a partir de Ning 7840 (derivada de Sumai 3), cobrindo 16 cM do grupo de ligação, e identificaram que o gene de resistência está localizado entre os marcadores Xbarc75 e Xgwm533. Ao avaliarem uma região de cerca de 50 cM, em duas populações de trigo, uma derivada diretamente de Sumai 3, e outra obtida a partir de ND2603 (derivada de Sumai 3), Liu e Anderson (2003) também identificaram os marcadores Xgwm533 e Xbarc133 como os mais próximos ao gene de resistência.

Cuthbert et al. (2006), realizando mapeamento fino da região do cromossomo 3BS que contém o gene de resistência a giberela, mapearam 9 marcadores (microssatélites e STS) no intervalo de 10,63 cM entre os marcadores Xgwm533 e Xgwm493 (Figura 2), mapeando o loco Fhb1 (resistência à giberela) a 0,2 cM do marcador XSTS3B-80 e a 1,07 cM do marcador XSTS3B-142, em uma população derivada de Sumai 3. Em outra população, derivada de HC374, foram mapeados 7 marcadores no intervalo entre Xgwm533 e Xgwm493, e o loco Fhb1 ficou mapeado a 3,83 cM dos marcadores XSTS3B-163, XSTS3B-138, XSTS3B-80, e a 2,22 cM do marcador XSTS3B-66 (Figura 2).

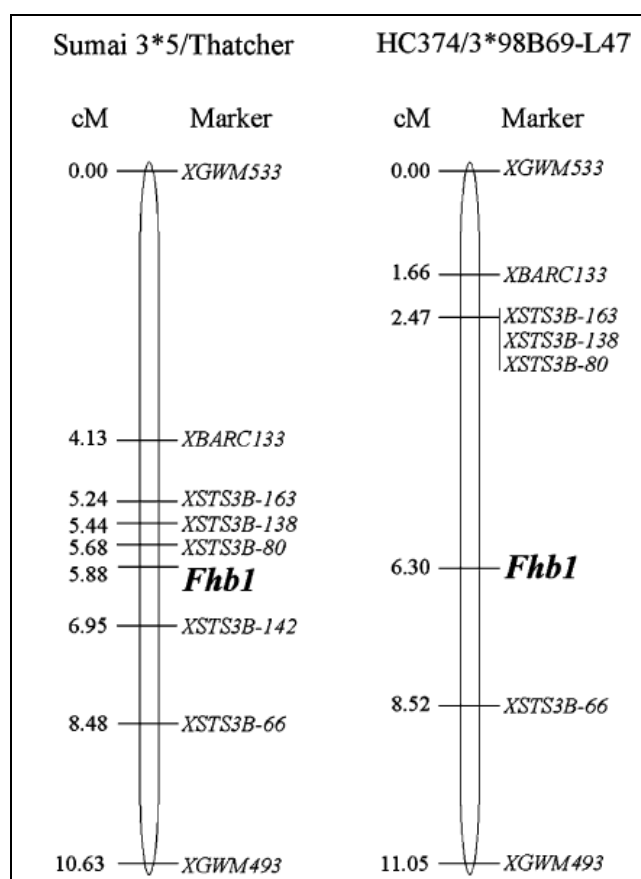


Figura 2-Estágio atual do mapeamento do gene *Fhb1* no cromossomo 3BS de trigo.

Fonte: Cuthbert et al. (2006).

O gene *Fhb1* (sinônimo de *Qfhs.ndsu-3BS*), proveniente de Sumai 3, tem sido validado em diversos 'backgrounds' genéticos. Seu efeito para resistência do tipo II tem sido relatado como variando em torno de 20% até mais de 50% da variação fenotípica para este tipo de resistência (PUMPHREY et al., 2007; LIU e ANDERSON, 2003; ZHOU et al., 2003), em função das diferentes populações e métodos de avaliação utilizados.

Os trabalhos de herança têm demonstrado que Sumai 3 possui 2 ou três genes de resistência à giberela. Alguns trabalhos têm identificado QTLs para resistência de Sumai 3 à giberela nos cromossomos 5A (marcadores *Xbarc117*, *Xgwm293*, *Xgwm304* e *Xwmc705*) e 6B (marcadores *Xbarc146*, *Xgwm508*, *Xgwm191*, *Xgwm608*, *Xgwm644*, *Xwmc397* e *Xwmc398*) (SOMERS et al., 2003;

YANG et al., 2003). Trabalhos de validação destes marcadores devem ser realizados para que sejam definidos os marcadores mais eficientes para um programa de seleção assistida por marcadores moleculares utilizando estes locos, cujo efeito parece ser aditivo ao gene *Fhb1* do cromossomo 3BS (CUTHBERT et al., 2006).

A cultivar Frontana também tem sido bastante utilizada como fonte de resistência à giberela, especialmente resistência do tipo I. Além disso, produz enzimas que degradam DON (resistência do tipo III). Os estudos de herança têm indicado que a resistência de Frontana é devida a 2 ou 3 genes de efeito aditivo. QTLs para resistência do tipo I têm sido identificados na cultivar Frontana, nos cromossomos 3A (entre os marcadores *Xgwm720* e *Xdupw227*) e 5A (entre os marcadores *Xgwm129* e *Xbarc197*) (STEINER et al., 2004). O QTL do cromossomo 3A explicou 16% da variação fenotípica para resistência do trigo à giberela, e o QTL do cromossomo 5A explicou 9%. Estes QTLs também precisam de mais trabalhos de validação, para que os marcadores possam ser utilizados em um programa de seleção assistida por marcadores moleculares para resistência à giberela.

Recentemente, Scherloski et al. (2015) divulgaram um estudo de validação de 19 marcadores microssatélites para resistência à giberela em uma população não estruturada com 96 acessos, sendo que os marcadores localizados nas regiões dos cromossomos 3B, 5A e 6B foram válidos para seleção quanto à resistência do trigo à giberela. De acordo com o trabalho, os marcadores *Wmc397*, *Xbarc180* e *Xbarc101* têm potencial para serem utilizados para a seleção assistida por marcadores moleculares, para resistência à giberela.

Outras fontes de resistência também contêm genes/QTLs para resistência à giberela, em outros cromossomos. Semagn et al. (2007) identificaram QTLs para resistência a giberela, com efeitos variando de 10 a 28%, nos cromossomos 1AL, 1BL e 6BS, em populações derivadas das cultivares Arina e NK93604. Estes QTLs também precisam ser ainda validados para que possam ser objeto de seleção assistida por marcadores moleculares.

Tem sido crescente os relatos de trabalhos utilizando SNPs para identificação de marcadores associados à resistência de trigo à giberela. Bernardo et al. (2011) analisaram 23 marcadores SNPs potenciais para uso em SAM com

associação ao gene Fhb1 em 71 linhagens puras recombinantes (Ning 7840/Clark BC7F7) dos quais, cinco explicaram de 45 a 54% da variação fenotípica. Recentemente, Arruda et al. (2016) também identificaram SNPs potenciais para uso em SAM no gene Fhb1 do cromossomo 3B, além de associações significativas nos cromossomos 4A, 6A, 7A, 1D, 4D e 7D em populações biparentais.

Os dados da literatura têm indicado que o gene Fhb1 confere um elevado nível de resistência do tipo II. Alguns outros QTLs presentes em Sumai 3 (nos cromossomos 5A e 6B) agem aditivamente sobre o gene Fhb1, podendo aumentar o nível de resistência. QTLs nos cromossomos 3A e 5A de Frontana conferem um bom nível de resistência do tipo I. Diversos trabalhos estão sendo publicados sobre genes/QTLs de resistência à giberela: Zhuang et al. (2013), Basnet et al. (2011) e Kugler et al. (2013). A grande maioria dos trabalhos divulgados relata a importância de Sumai 3 como fonte de resistência e evidenciam o gene Fhb1 como fundamental para identificação de marcadores moleculares.

2.3 Marcadores moleculares e a seleção assistida

A utilização de marcadores moleculares fundamenta-se na ligação gênica entre marcadores e locos que governam as características quantitativas de interesse. Todo QTL é na verdade uma associação genético-estatística entre uma região do genoma e um caractere, que possibilita a determinação do efeito da interação QTL por ambiente, da ocorrência de efeitos pleiotrópicos e/ou de ligação gênica (RESENDE et al., 2013).

Dentre as vantagens do uso de marcadores moleculares nos programas de melhoramento genético, Aguiar (2012) ressalta que o estudo da diversidade genética dentro dos bancos de germoplasma permite identificar acessos duplicados, avaliar o sistema de coleta e manutenção por meio da identificação de regiões geográficas de maior diversidade, bem como auxilia na escolha dos genitores. Além disso, viabiliza a caracterização de cultivares, híbridos ou linhagens para auxiliar na proteção de cultivares. Permite a avaliação da pureza genética de cultivares e de semente, é necessária para a construção de mapas genéticos e, ainda, permite a prática da SAM por meio da seleção indireta. O que auxiliou a introgressão de genes via

programa de retrocruzamento, piramidação de genes de interesse em uma única cultivar e seleção para características de interesse.

Dentro do genoma de uma espécie existem diversos tipos de variações alélicas que podem ser identificadas por marcadores moleculares. Estas variações podem ser classificadas em repetições “*in tandem*” em um loco particular (microssatélites - SSRs) (WEBER e MAY, 1989), em segmento de inserções/deleções (InDels) (OPHIR e GRAUR, 1997) e polimorfismos de nucleotídeo único (single nucleotide polymorphisms - SNPs) (WANG et al., 1998). Marcadores SNPs são utilizados para identificar mutações e polimorfismos baseados na posição de um único nucleotídeo, ou seja, mudança de uma única base em posição específica do genoma (FALEIRO, 2011). Os SNPs são o tipo mais frequente de variação encontrada no DNA. Em plantas a frequência habitual é de cerca de 1 SNP a cada 100-300 pb (BROOKES, 1999; GUPTA et al., 2001).

Diversos estudos (WANG et al., 2013; CHAO et al., 2009; SHAVRUKOV, 2014), tem utilizado a técnica com marcadores SNPs em trigo. Recentemente, Würschum et al. (2013), avaliaram a estrutura, diversidade genética e desequilíbrio de ligação de uma população elite de trigo de inverno com marcadores SNP e marcadores SSR. Os resultados mostraram que as avaliações são diferentes para cada um, chegando a haver diferenças de 5-10 cM na análise do desequilíbrio de ligação. Além disso, mostraram que é necessário utilizar um grande número de SNPs para obter uma cobertura total dos cromossomos. Concluíram que SNPs podem ser uma ferramenta valiosa para os programas de melhoramento do trigo.

Os métodos de detecção de sítios únicos são, potencialmente, mais fáceis de automatizar e de aplicar na análise genética em larga escala. Deste modo, a informação gerada sobre os SNPs pode ser, posteriormente, utilizada em vários níveis nas análises do DNA como: marcadores no mapeamento genético; material de estudo na identificação de SNPs funcionais e seu respectivo fenótipo; ferramenta para estudos populacionais, por comparação do genoma de indivíduos de diferentes populações (ZHANG e HEWITT, 2003). SNPs analisados com diferentes plataformas ou ensaios químicos podem ser comparados, uma prática que atualmente não é possível com marcadores SSRs, nos quais uma diferença no equipamento ou protocolo pode afetar a discriminação no tamanho do alelo. Com o

advento de plataformas de genotipagem para os marcadores SNPs com custo acessível e genotipagem em larga escala, tornou-se possível a identificação de regiões genômicas em plantas por meio do mapeamento por associação (XU et al., 2009).

Destacam-se entre estas plataformas, as plataformas da Illumina® e da Affymetrix®, que possuem capacidade de genotipar dezenas de milhares de SNPs simultaneamente. *Illumina BeadChips* são projetados para permitir uma ampla gama de aplicações agrogenômicas para acelerar e reforçar a investigação, avançar no desenvolvimento de métodos com alto valor de rastreio e permitir a rápida implantação destas aplicações (ILLUMINA, 2015).

A plataforma Axiom® Wheat desenvolvida pela empresa Affymetrix® tem como objetivo acelerar o melhoramento genético de cultivares de trigo modernos com uso de uma ferramenta de pesquisa de alta densidade, podendo incluir de 35.000 até 817.000 SNPs, dependendo do formato utilizado, no caso Axiom® Wheat HD Genotyping Array ou Axiom® Wheat Breeder's Genotyping Array, respectivamente. Uma grande vantagem é que a informação SNP está à disposição da comunidade de trigo em todo o mundo, uma vez que os marcadores sobre estas matrizes podem ser consultados no próprio site da CerealsDB (<<http://www.cerealsdb.uk.net/>>) (AFFYMETRIX, 2016).

De acordo com o banco de dados da CerealsDB (2017), que é uma plataforma digital gratuita criada por membros do Grupo de Genômica Funcional da Universidade de Bristol e financiada pelo Departamento de Agricultura dos EUA (USDA), existem 819.571 sequências de SNPs capturados atualmente sob o genoma do trigo. Winfield et al. (2015) realizou um estudo de validação com 475 acessos de trigo utilizando a plataforma de alta densidade de SNPs da Axiom® e seu trabalho vem sendo utilizado como base para pesquisas com trigo utilizando a plataforma da CerealsDB por toda comunidade científica. Para identificar a localização nos cromossomos, foram alinhadas as sondas dos 819.571 SNPs à 10.776.707 sequências de pesquisa do IWGSC (*International Wheat Genome Sequencing Consortium*). Ao todo, foi possível identificar a posição de 491.792 SNPs distribuídos entre os 21 cromossomos do trigo, sendo um total de 65.494 SNPs no cromossomo 1; 86.947 no cromossomo 2; 69.859 no cromossomo 3;

65.663 no cromossomo 4; 79.225 no cromossomo 5; 59.253 no cromossomo 6 e 65.351 no cromossomo 7.

A SAM consiste de dois passos principais: i) identificação de associações entre locos marcadores e QTLs e ii) uso dessas associações para o desenvolvimento de populações melhoradas (BULFIELD, 1997). O princípio da seleção assistida é a correlação genética entre a marca e os diferentes genes envolvidos no controle do caráter (RAMALHO e LAMBERT, 2004).

Alzate-Marin et al. (2005), Xu e Crouch (2008) e, Wu e Wang (2011) resumiram algumas vantagens de se utilizar a SAM. Dentre elas destaca-se o potencial de reunir características de interesse no mesmo genótipo mais precisamente, com menores perdas involuntárias e em menos ciclos de seleção; a economia de tempo em comparação com ensaios de campo complexos, além de eliminação da avaliação fenotípica pouco confiável associada ao campo, devido aos efeitos ambientais; mais eficiente em situações em que o fenótipo é de difícil mensuração ou de baixa herdabilidade; em retrocruzamentos permite reduzir a transferência de genes indesejáveis durante o processo de transferência de alelos de resistência a partir de material genético exótico; e permite a seleção de genótipos em fase de plântula.

Embora marcadores moleculares possam apresentar um custo mais baixo, o custo inicial de desenvolvimento pode ser muito alto, além de ser necessário o mapeamento de caracteres de interesse agrônomo de forma a maximizar a correlação genética. Este procedimento requer a construção de mapas de ligação genética com regiões de interesse saturadas de marcadores, o que pode ser demorado e de custo elevado (MELCHINGER et al., 2004).

2.4 Desequilíbrio de ligação em plantas e o mapeamento por associação genômica ampla (GWAS)

Em um grupo de indivíduos, se dois alelos de locos diferentes são encontrados juntos com frequência maior que aquela esperada com base no produto de suas frequências, infere-se que tais alelos estão em desequilíbrio de ligação (RESENDE et al. (2013). De acordo com a lei de equilíbrio de Hardy-Weinberg,

desequilíbrio de ligação é definido como qualquer desvio nas frequências alélicas esperadas sob cruzamentos ao acaso (SILVA, 2001).

A estratégia de análise de desequilíbrio de ligação baseia-se no desequilíbrio de ligação entre marcador e QTL na população inteira e não apenas dentro da família. Para que isso ocorra, marcador e QTL devem estar em ligação muito próxima. Nesse caso, a associação entre eles é uma propriedade da população inteira e persistirá por grande número de gerações. Métodos baseados em desequilíbrio de ligação associados a indivíduos não aparentados tem sido recomendado como ferramentas poderosas para produzir estimativas refinadas de localização de genes (RESENDE et al., 2013).

Os termos desequilíbrio de ligação e ligação genética são frequentemente confundidos. Embora relacionados, são termos distintos. A ligação genética refere-se à herança correlacionada de *loci* através da sua conexão física no cromossomo. Por outro lado, o desequilíbrio de ligação refere-se à correlação de alelos em uma população. O conflito entre os dois termos ocorre porque a ligação genética pode resultar em altos níveis de desequilíbrio de ligação (CASTRO e PEREIRA, 2008).

Algumas vantagens do mapeamento por associação sob o mapeamento de ligação foram listadas (ZHU et al., 2008): Maior resolução dos mapas; Disponibilidade de maior variabilidade genética para correlação entre marcador e característica e detecção de múltiplos alelos simultaneamente; Eliminação da necessidade de desenvolver grandes populações para mapeamento fino, o que diminui os custos e o tempo; Possibilidade de utilização de uma população de mapeamento por associação em estudos de várias características, enquanto cruzamentos biparentais, na maioria dos casos, podem ser usados para estudo de apenas uma característica; Viabilidade de empregar dados fenotípicos coletados há muitos anos.

A análise de GWAS pode ser realizada em quatro passos: a coleta de informação fenotípica, garantindo a consistência da informação; a genotipagem e verificação da qualidade das amostras e dos SNPs genotipados; a análise de associação entre os SNPs e a característica de interesse; e a replicação para identificar a associação em uma população independente (PEARSON et al., 2008).

Uma grande vantagem da análise GWAS em plantas é que geralmente usam um recurso permanente, ou seja, uma população de cultivares diversas que pode ser fenotipada para muitos caracteres e só precisa ser genotipada uma vez, podendo, posteriormente, gerar populações de mapeamento específicas para determinados caracteres ou QTLs específicos em diversas culturas (ATWELL et al., 2010).

Quando o desequilíbrio de ligação decai em uma distância curta ao longo do cromossomo, o número de marcadores ao acaso necessários para encontrar associações significativas pode ser substancialmente grande (MALOSETTI et al., 2007). De modo geral, quando o desequilíbrio de ligação é pequeno na população, um grande número de marcadores será necessário para detectar uma associação, porém, tem-se o potencial de atingir um mapa com alta resolução. Inversamente, quando o desequilíbrio de ligação é grande na população em estudo, um número menor de marcadores será necessário para detectar associações. Entretanto, obviamente, o mapa terá uma resolução inferior (MORGANTE & SALAMINI, 2003).

Devido ao desequilíbrio de ligação limitado em populações naturais, a análise GWAS requer uma alta densidade de marcadores, o que só é possível hoje, devido à evolução das tecnologias de genotipagem e sequenciamento de alto desempenho (PHUNG et al, 2014). O advento dos SNPs em alta densidade permitiu a identificação de pequenos blocos haplotípicos por todo o genoma que podem ser significativamente correlacionados com as variações quantitativas dos caracteres de interesse (HINDORFF et al., 2009).

Com a disponibilidade em larga escala de informação de sequências e desenvolvimento de tecnologias com alto rendimento para genotipagem de SNPs, marcadores SNPs tem sido amplamente usados em estudos de mapeamento de QTLs por associação. Isso porque são abundantes nos genomas e, além disso, porque eles podem fornecer um mapa de alta resolução comparado àqueles obtidos com outros marcadores (JONES et al., 2007).

De acordo com Olazar (2013), estudos de associação podem ser divididos em duas categorias. Nos estudos baseados em famílias é realizada uma procura dos alelos que são transmitidos de pais para seus filhos afetados, com mais frequência do que seria esperado ao acaso. Já, nos estudos baseados na

população, são compostos de indivíduos afetados não relacionados (casos) e indivíduos saudáveis não relacionados (controles). Neste tipo de estudo se procura alelos cuja frequência entre os casos é diferente de sua frequência entre os controles. Descobrir um SNP associado poderia significar a causa direta do desenvolvimento de certa doença, mas pode significar apenas uma ligação genética ao SNP causal. Sendo necessária uma investigação mais aprofundada e um mapeamento fino das áreas em torno de SNPs associados.

A aplicação de análises e mapeamentos por associação em plantas ainda está em crescimento e alguns trabalhos utilizando esta técnica em trigo podem ser citados (HAO et al., 2012; LE GOUIS et al., 2012; ZHANG et al., 2013; KOLLERS et al., 2014; NARUOKA et al., 2015; MULETA et al., 2017; LOZADA et al., 2017; LI et al., 2017). Todavia, o emprego da técnica de mapeamento por associação utilizando marcadores SNPs em trigo para resistência à giberela e níveis de produção de DON é ainda mais restrito, onde raros trabalhos, como o de Arruda et. al (2016), podem ser citados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material genético e delineamento experimental

Foram utilizadas 384 cultivares/linhagens de trigo representativas de todas as cultivares desenvolvidas/utilizadas pelos programas de melhoramento genético brasileiros desde 1940 (Tabela 1). As sementes foram obtidas do banco de germoplasma da Coodetec e os ensaios de campo foram conduzidos em Cascavel-PR, nos anos de 2015 e 2016, no centro de pesquisa da Coodetec (Latitude S 24° 52' 56,9"; Longitude W 53° 32' 00,4" e altitude 690m).

Tabela 1-Genótipos de trigo utilizados nos experimentos para análise de associação genômica para resistência à giberela nos anos de 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)

ABALONE	CD 1148	CD 12807	CD 14531	CNT 6	OCEPAR 12-MAITACA
ALCOVER	CD 115	CD 12829	CD 14533	CNT 7	OCEPAR 13-ACAUÃ
ALTAR	CD 116	CD 12831	CD 14536	CNT 9	OCEPAR 14
AMETISTA	CD 117	CD 12880	CD 14545	COCORAQUE	OCEPAR 15
ANAHUAC	CD 118	CD 13027	CD 14556	COLONIAS	OCEPAR 16
AVANTE	CD 119	CD 13032	CD 14558	CONFIANÇA	OCEPAR 17
BANDEIRANTES	CD 120	CD 13064	CD 14560	EMBRAPA 21	OCEPAR 18
BR 34	CD 12047	CD 13124	CD 14562	EMBRAPA 42	OCEPAR 19
BR 37	CD 12048	CD 13126	CD 14563	ENCRUZILHADA	OCEPAR 20
BR 43	CD 12049	CD 13130	CD 14565	ESPORÃO	OCEPAR 21
BRS 120	CD 12056	CD 13165	CD 14571	ESTRELA ATRIA	OCEPAR 22
BRS 177	CD 12063	CD 13180	CD 14901	FPS NITRON	OCEPAR 6-FLAMINGO
BRS 179	CD 12075	CD 13181	CD 14902	FRONTANA	OCEPAR 7-BATUIRA
BRS 193	CD 12078	CD 13191	CD 14904	FUNDACEP 30	OCEPAR 8-MACUCO
BRS 207	CD 12086	CD 13203	CD 14905	FUNDACEP 37	OCEPAR 9-PERDIZ
BRS 208	CD 12096	CD 13217	CD 14906	FUNDACEP 40	ONIX
BRS 210	CD 121	CD 13244	CD 14907	FUNDACEP 50	PAMPEANO
BRS 220	CD 12126	CD 13290	CD 14908	FUNDACEP 52	PASUCO
BRS 229	CD 12129	CD 13322	CD 14909	FUNDACEP BRAVO	PAVÃO
BRS 254	CD 12143	CD 13326	CD 14911	FUNDACEP CAMPO REAL	QUARTZO
BRS 264	CD 12164	CD 13359	CD 14913	FUNDACEP CRISTALINO	RUBI
BRS 276	CD 12175	CD 13360	CD 14915	FUNDACEP HORIZONTE	SAFIRA
BRS 296	CD 12178	CD 13368	CD 14917	FUNDACEP NOVA ERA	SHANGAI 5
BRS 327	CD 12183	CD 14002	CD 14921	FUNDACEP RAÍZES	SONORA 63
BRS 328	CD 12184	CD 14048	CD 14922	IAC 375 PARINTINS	SONORA 64

Tabela 1 - Genótipos de trigo utilizados nos experimentos para análise de associação genômica para resistência à giberela nos anos de 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Conclusão)

BRS 329	CD 12192	CD 14052	CD 14924	IAC 5 MARINGÁ	SUPERA
BRS 331	CD 12199	CD 14134	CD 14926	IAN 10	SUZHOE #2
BRS 49	CD 122	CD 14151	CD 150	IAN 15	SUZHOE #6
BRS ALBATROZ	CD 12203	CD 14152	CD 151	IAPAR 1 MITACORÉ	SUZHOE #8
BRS ANGICO	CD 12213	CD 14156	CD 154	IAPAR 17 CAETÉ	T. BR 18-TERENA
BRS CAMBOATÁ	CD 12223	CD 14157	CD 1550	IAPAR 28 IGAPÓ	T. BR 30-CADIVEU
BRS CAMBOIM	CD 12224	CD 14173	CD 15901	IAPAR 3 ARACATU	TAURUM
BRS GUAMIRIM	CD 12228	CD 14204	CD 15902	IAPAR 30 PIRATA	TBIO ALVORADA
BRS LOURO	CD 12236	CD 14209	CD 15903	IAPAR 6 TAPEJARA	TBIO BANDEIRANTE
BRS PARDELA	CD 12240	CD 14225	CD 15904	IAPAR 78	TBIO IGUAÇU
BRS PARRUDO	CD 12251	CD 14226	CD 15905	IAS 54	TBIO ITAIPU
BRS SABIÁ	CD 12282	CD 14228	CD 15906	IAS 58	TBIO MESTRE
BRS TIMBAÚVA	CD 123	CD 14235	CD 15907	IAS 64	TBIO PIONEIRO
BRS UMBU	CD 12300	CD 14240	CD 15908	IPR 128	TBIO SELETO
CAMPEIRO	CD 12343	CD 14255	CD 15909	IPR 129	TBIO SINUELO
CANDEIAS	CD 12356	CD 14258	CD 15910	IPR 130	TBIO TIBAGI
CANINDE 11	CD 12361	CD 14277	CD 15911	IPR 136	TBIO TORUK
CANINDE 12	CD 12365	CD 14336	CD 15912	IPR 144	TEC FRONTALE
CANINDE 13	CD 12369	CD 14342	CD 15913	IPR 85	TEC TRIUNFO
CANINDE 3	CD 124	CD 14350	CD 15914	IPR KATUARA TM	TEC VELOCE
CD 101	CD 12400	CD 14362	CD 15915	ITAPUA 40	TEC VIGORE
CD 102	CD 12401	CD 14366	CD 15916	ITAPUA 45	TOPÁZIO
CD 103	CD 12417	CD 14383	CD 15917	ITAPUA 50	TRIGO BR 1
CD 104	CD 1252	CD 14387	CD 15918	ITAPUA 60	TRIGO BR 14
CD 105	CD 12601	CD 1440	CD 15919	ITAPUA 70	TRIGO BR 15
CD 106	CD 12603	CD 14401	CD 15920	JADEÍTE 11	TRIGO BR 2
CD 107	CD 12604	CD 14434	CD 15921	JANDAIA	TRIGO BR 23
CD 108	CD 12605	CD 14443	CD 15922	JF 90	TRIGO BR 27
CD 1082	CD 12611	CD 14451	CD 15923	JUPATECA 73	TRIGO BR 28
CD 1083	CD 12614	CD 14453	CD 15924	KOSORO	TRIGO BR 4
CD 109	CD 12618	CD 14455	CD 15925	LONDRINA	TRIGO BR 5
CD 110	CD 12625	CD 14478	CD 1805	MARFIM	TRIGO BR 7
CD 1104	CD 12629	CD 14486	CEP 14 TAPES	MGS1 ALIANÇA	TRIGO BR 8
CD 111	CD 12634	CD 14490	CEP 29	MIRANTE	TUCANO
CD 112	CD 12638	CD 14495	CEP 72 SULINO	MONCHO	TURQUESA
CD 113	CD 12662	CD 14506	CHINESE SPRING	NAMBU	VACARIA
CD 1135	CD 12664	CD 14517	CNT 1	NING 7840	VALENTE
CD 114	CD 12665	CD 14520	CNT 10	OCEPAR 10-GARÇA	VANGUARDA
CD 1144	CD 12666	CD 14526	CNT 5	OCEPAR 11-JURITI	VAQUEANO

Cada cultivar/linhagem foi semeada manualmente em uma linha de um metro de comprimento, compondo parcelas de 3 linhas (Figuras 3A e 3B), sendo que, em cada linha lateral, foi semeada uma cultivar/linhagem em estudo e na linha central de cada parcela semeada uma testemunha suscetível para monitoramento da inoculação e desenvolvimento da doença no campo experimental. A cultivar suscetível utilizada foi a CD 116. O espaçamento empregado entre linhas foi de 17 cm e entre as parcelas foi de 50 cm, para permitir a inserção dos canos de irrigação entre as parcelas. A adubação e o controle de pragas foram efetuados conforme as exigências técnicas para a cultura.

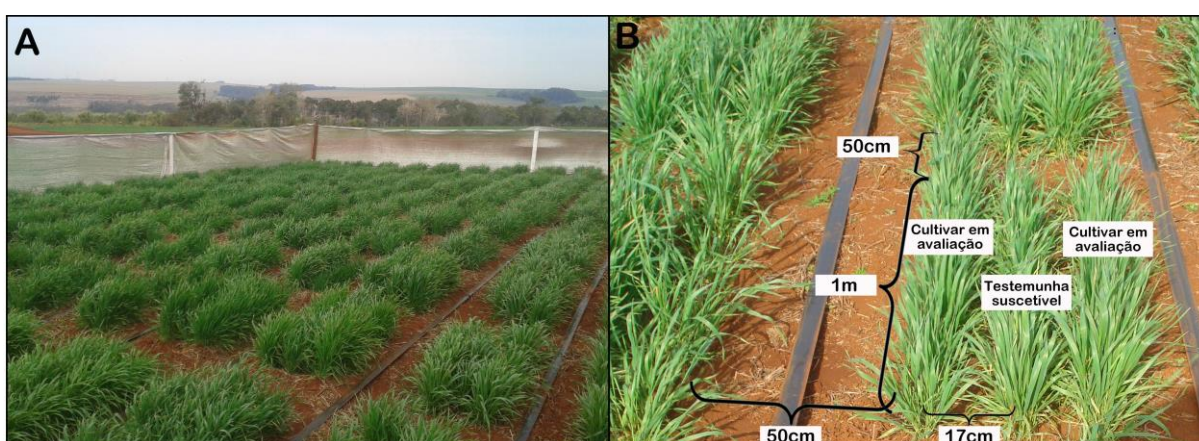


Figura 3-(A) Distribuição das parcelas do campo experimental da Coodetec; (B) Organização e espaçamento praticado no experimento para avaliação de resistência a giberela, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

O inóculo inicial foi obtido a partir de espigas infectadas no campo e mantido por transferências periódicas em meio ágar batata dextrose (BDA) (Figuras 4A e 4B). A produção de esporos em massa foi realizada em grãos de trigo, que foram autoclavados duas vezes antes de serem inoculados. Duas placas com pequenos fragmentos do fungo cultivado em meio de cultura BDA foram depositadas sobre os grãos de trigo autoclavados. Os grãos foram mantidos em câmara de crescimento a 24°C por 14 dias para colonização. Os grãos de trigo colonizados foram transferidos

para bandejas plásticas forradas com papel filtro e submetidas a molhamento e sol diariamente, pelo período aproximado de 4 meses (Figuras 5A, 5B e 5C).

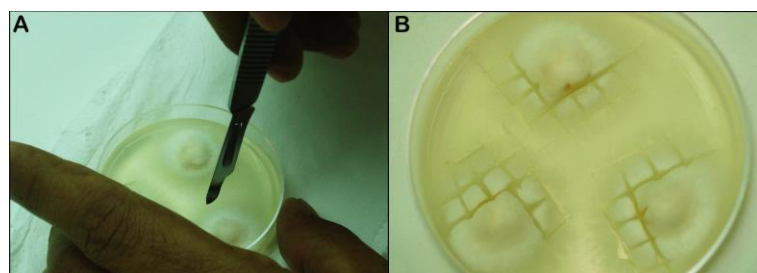


Figura 4-(A) Corte de placa contendo esporos de *F. graminearum* para repicagem; (B) Placa de meio BDA colonizada por *F. graminearum* em corte para repicagem, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.



Figura 5-(A) Molhamento dos grãos de trigo sob colonização de *Fusarium graminearum*; (B) Exposição diária das bandejas ao sol; (C) Grãos de trigo com formação de peritécios de *G. zeae*, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

Quando as primeiras plantas entraram no estágio de emborrachamento (Z4.3 da escala de Zadoks et al., 1974) realizou-se a primeira inoculação. Para isso,

os grãos de trigo colonizados com peritécios de *G. zeae* (Figura 6A) foram distribuídos entre as linhas externas de cada parcela (Figura 6B).



Figura 6-(A) Grãos de trigo com peritécios de *G. zeae*; (B) Inoculação por grãos de trigo giberelados no experimento para avaliação de resistência a giberela, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

Foi realizado o monitoramento do estágio das plantas de trigo para realizar a inoculação por pulverização (Figura 7A) quando cada parcela estivesse iniciando o florescimento (estádio Z5.0). Para preparo do inóculo, foi realizada a raspagem de placas com meio BDA ou Azuki colonizadas por *F. graminearum*. O micélio foi lavado com água destilada (Figura 7B) e auxílio de um pincel (Figura 7C).

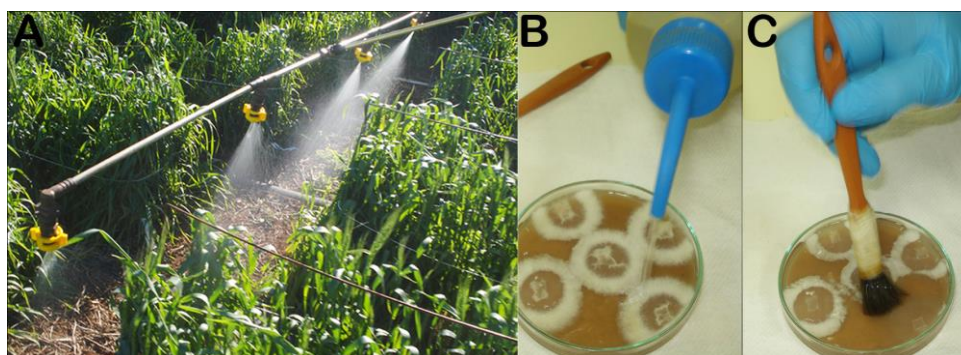


Figura 7-(A) Inoculação de esporos de *F. graminearum* por pulverização em plantas de trigo no estágio de florescimento; (B) Lavagem e (C) raspagem de placas colonizadas por *F. graminearum* para obtenção da suspensão de esporos, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

A concentração foi ajustada para 5×10^4 macroconídios por mL. A contagem foi realizada em microscópio óptico composto com o auxílio da Câmara de Neubauer (hematocitômetro) (Figuras 8A e 8B).

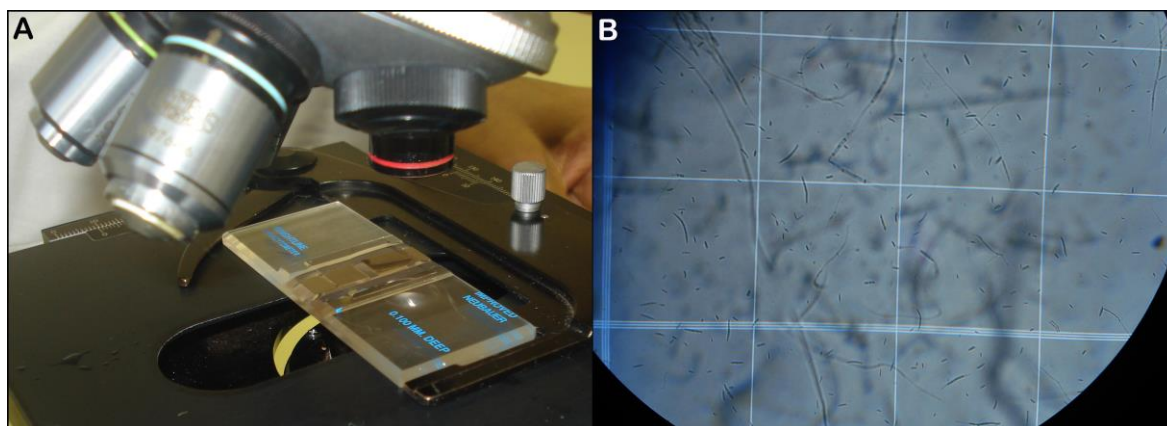


Figura 8-(A) Câmara de Neubauer para contagem de esporos em microscópio óptico composto; (B) Esporos de *F. graminearum*, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

No início do florescimento do trigo, a área experimental foi submetida ao molhamento de espigas com formação de neblina (Figura 9A) por 5 minutos consecutivos, a intervalos de 2 horas, sendo realizados 8 molhamentos por dia, em dias sem precipitação pluvial.

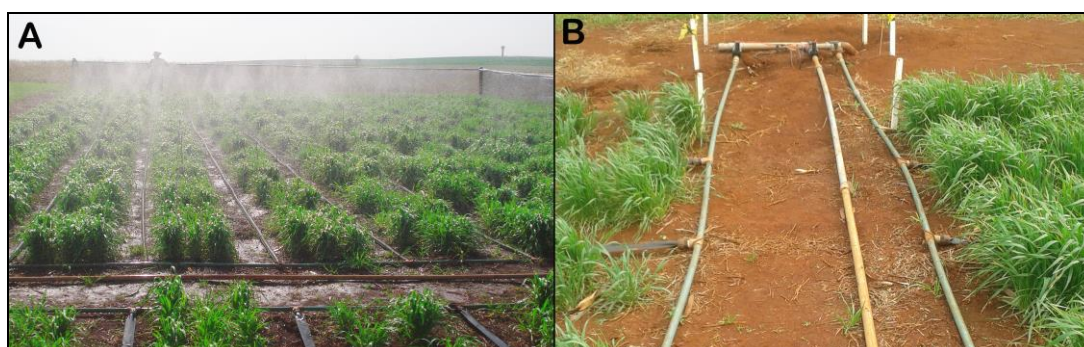


Figura 9-(A) Formação de neblina e distribuição das mangueiras de irrigação entre as parcelas do experimento; (B) Sistema de irrigação por aspersão da área experimental, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

O sistema artificial de molhamento de espigas foi por aspersão (Figura 9B), através de pressão provocada pela água dentro das mangueiras. As mangueiras possuíam orifícios de cerca de 2 mm de diâmetro, dessa forma, a água foi distribuída de maneira homogênea, mantendo elevado o molhamento das espigas.

A avaliação da severidade foi realizada em 20 espigas principais colhidas aleatoriamente, para cada ano de avaliação (2015 e 2016), no estágio Z8.5 (espiga verde com grãos em massa mole) da escala de crescimento de Zadoks, avaliando-se a (%) severidade conforme escala proposta por STACK e McMULLEN (1995) (Figura 10), modificada. Nesta escala foi acrescida a nota 3%, estabelecida quando apenas uma única espiguetas estava infectada.

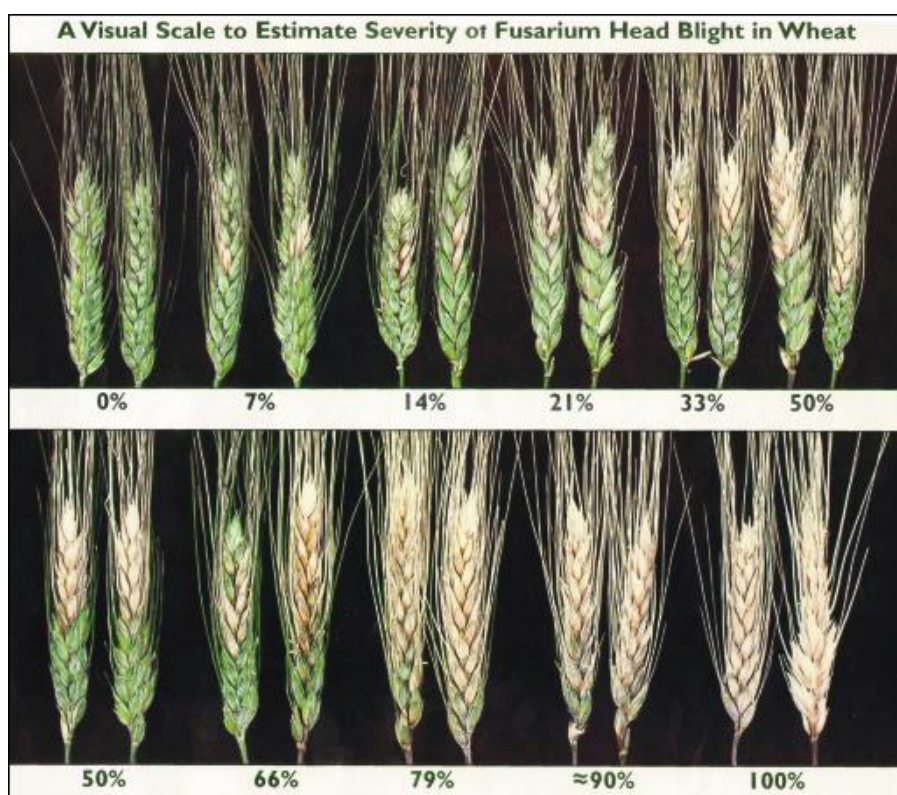


Figura 10-Escala visual para avaliação de severidade (%) de giberela em trigo.

Fonte: STACK & McMULLEN (1995).

3.2 Avaliação de micotoxina deoxynivalenol

Para análise de micotoxina foi utilizado o teste de ELISA Veratox® para DON HS a temperatura ambiente (Figura 11B). Para isto, 10 gramas de grãos de trigo coletados de cada parcela foram pesados (Figura 11D) e moídos utilizando o moinho “mr Coffee” (Figura 11A), sendo acondicionados em frasco tampado (Figura 11C) até o uso. Para cada amostra foi identificado um copo descartável de 500 mL, no qual a amostra foi depositada e adicionado 250 mL de água destilada (Figura 11E). Em seguida, utilizando um agitador mecânico, a amostra foi agitada vigorosamente por 3 minutos, deixando-se em repouso por mais 3 minutos.

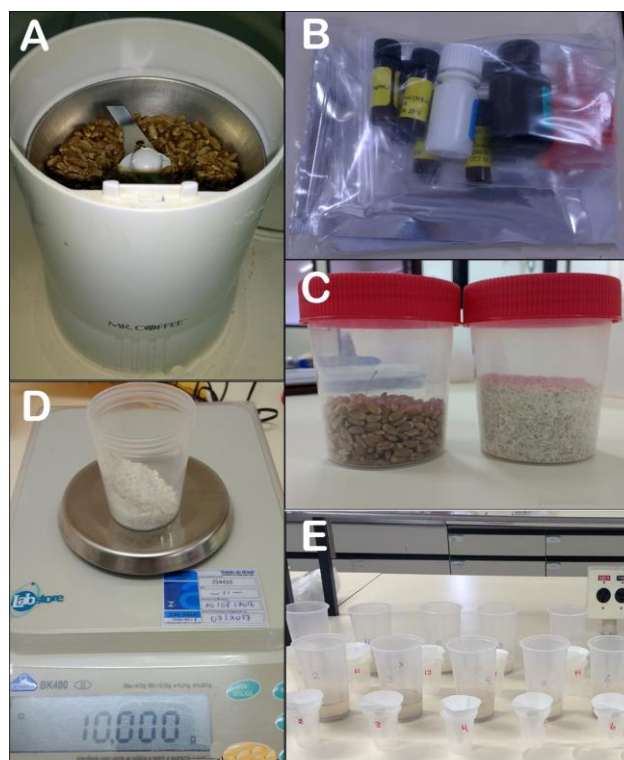


Figura 11-(A) Moinho “mr Coffee”; (B) teste de ELISA Veratox® para DON HS; (C) Grãos de trigo inteiros e após a moagem; (D) Pesagem de 10g de trigo moído em balança analítica; (E) Organização das amostras e repouso após agitação com água destilada, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

Com o auxílio de uma pipeta, 5 mL da amostra foi retirada e colocada em papel filtro qualitativo número 1, sobre um funil e um Becker (Figura 12A). Ao término da filtragem, placas contendo micropoços (Figura 12B) foram identificadas e 100 μ L da “conjugate solution” foi adicionado em cada micropoço. Em seguida, 100 μ L do filtrado das amostras foi depositado nos micropoços, bem como 100 μ L dos controles (Figura 12D) oriundos do conjunto. Os controles correspondiam a 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm e 6 ppm. Depois de adicionada cada amostra, foi pipetado 3 vezes para garantir a mistura. 100 μ L de cada amostra contendo a solução foram transferidos para uma nova placa com micropoços, sendo agitada manualmente por 30 segundos e incubada a temperatura ambiente por 10 minutos.

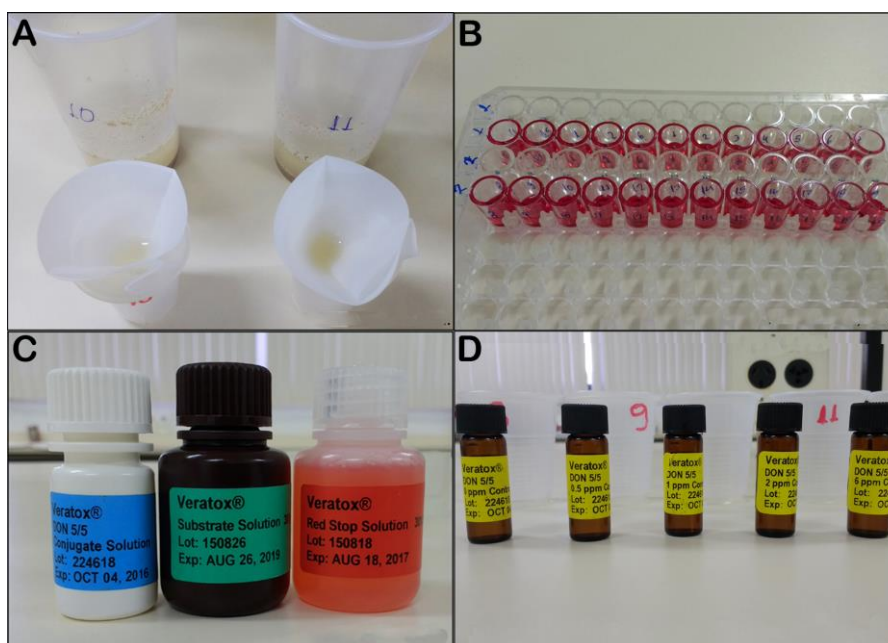


Figura 12-(A) Filtragem das amostras; (B) Placa contendo os micropoços utilizados para as reações; (C) Reagentes utilizados para o teste: Conjugate Solution, Substrate Solution e Red Stop Solution; (D) Amostras controle correspondentes a 0ppm, 0,5ppm, 1ppm, 2ppm e 6 ppm, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

Após o período de incubação o líquido foi descartado (Figura 13A), retirando-se o excesso de água e batendo-se os micropoços contra um papel absorvente (Figura 13B). Com o auxílio de uma micropipeta, os micropoços foram lavados com água destilada por 5 vezes (Figura 13C) e observado para que não ficasse resquícios de líquido. Na sequência, 100 μ L da “substrate solution” foi adicionado, sendo mantido em repouso por 10 minutos e agitado manualmente por 30 segundos. Por último, foi adicionado 100 μ L da “red stop solution”, realizando-se 3 pipetagens para garantir a mistura (Figura 13D). A leitura dos resultados foi efetuada na Leitora de ELISA “Athos 2010”, por meio do software ADAP com aplicação do filtro 620 nm (Figura 13E).

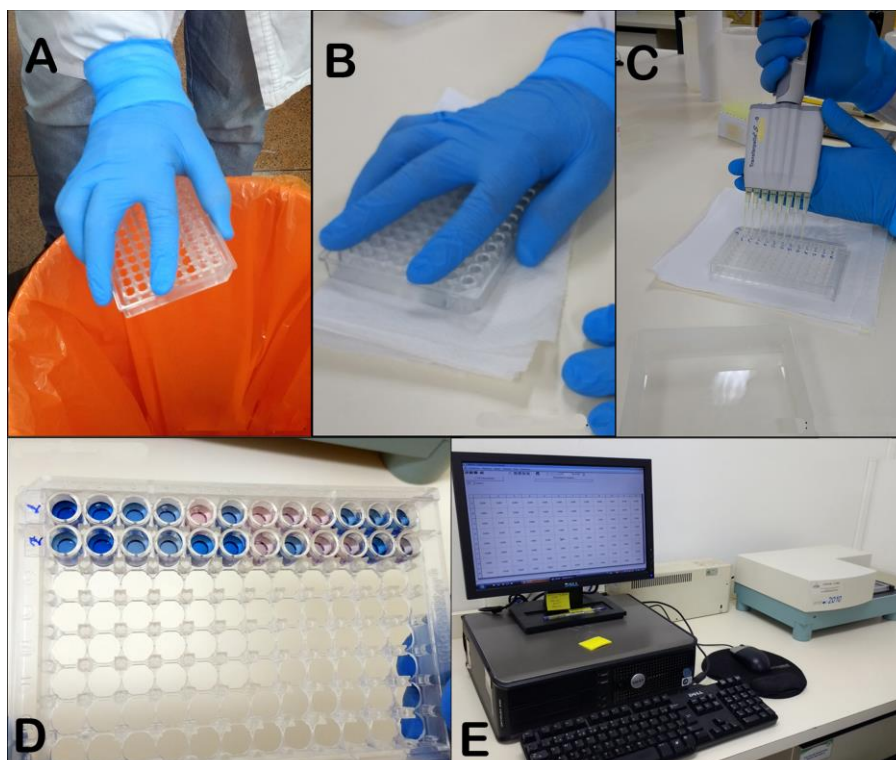


Figura 13-(A) Descarte do líquido das amostras; (B) Retirada do excesso de água batendo-se contra um papel absorvente; (C) Lavagem das amostras com água destilada; (D) Placa contendo as amostras após o término das reações; (E) Equipamento utilizado para leitura dos resultados do teste de Elisa, Cascavel-PR.

Fonte: Elaborado pela autora.

3.3 Genotipagem e análise dos dados

A genotipagem das 384 cultivares/linhagens de trigo foi realizada na Affymetrix (EUA) utilizando o 35K Axiom Wheat Genotyping Arrays. Para isso, foi extraído o DNA dos genótipos de trigo a partir de amostras de sementes das cultivares/linhagens, com base no protocolo descrito por McDONALD et al. (1994), com algumas modificações. Cerca de 50mg de sementes moídas foram colocados em tubos de microcentrífugas com 400 μ L de tampão de extração constituído de 50 μ M Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM EDTA (pH 8,0), 0,7M NaCl e 1% CTAB. Os tubos foram levados a um grinder ACS (ACS, Goiânia) e agitados na velocidade de 7 rpm, por um minuto. Em seguida, adicionaram-se mais 600 μ L de tampão de extração, homogeneizado em vortex por 30 segundos e centrifugado por 5 minutos à 14.500g. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de microcentrífuga novamente por 4 minutos.

As proteínas foram eliminadas pelo tratamento com 10 μ L de proteinase K (10 mg/mL), deixando em banho-Maria a 37°C por 30 minutos. Em seguida, foi adicionado 800 μ L de isopropanol gelado e deixado precipitar por 2 minutos e novamente centrifugado por 7 minutos à 14.500g. O sobrenadante foi descartado.

Para eliminação do RNA, foi acrescentado 300 μ L de TE contendo 40 μ g/ μ L de RNase A, deixando-se por 30 minutos em banho-Maria a 37°C. Em seguida, foram adicionados 800 μ L de isopropanol gelado e deixado precipitar por 2 minutos e novamente centrifugado por 7 minutos a 14.500g. O sobrenadante foi descartado e depois de seco o DNA foi ressuspendido em 300 μ L de TE.

A concentração do DNA foi estimada espectrofotometricamente por leitura de absorbância a 260 nm, sendo que cada unidade de absorbância corresponde à concentração de 50 μ g/mL de DNA fita dupla (SAMBROOK et al., 1989). A integridade do DNA foi determinada em gel de agarose 0,8%, fotografado sob luz ultravioleta em equipamento de fotodocumentação Viber Loumart (Marne-la-Vallé, Cedex 1- france).

A estrutura populacional foi estimada pelo algoritmo MCMC (Markov Chain Monte Carlo) para o método de agrupamento Bayesiano generalizado implementado

no software InStruct (GAO et al., 2007). Este método não assume Equilíbrio de Hardy-Weinberg para os marcadores, e as frequências genóticas esperadas são estimadas com base em taxas de endogamia ou autofecundação. As simulações usando o software InStruct foram realizadas para números de grupos (parâmetro K), variando de 2 a 10, sem informação prévia da população, e burn-in de 5.000 e 50.000 iterações. A melhor estimativa do número K de grupos foi determinada de acordo com o valor mais baixo de *Deviance Information Criterion* (DIC) entre os dez K simulados (GAO et al., 2007).

A análise de associação entre marcadores e a resistência do trigo à giberela, bem como para níveis de produção de deoxynivalenol, foi efetuada para cada ano de avaliação (2015 e 2016) por meio do método de Modelos Lineares Mistos (MLM), com auxílio do software TASSEL 5.0 (BRADBURY et al., 2007), com nível de significância de 0,001%, seguida pela análise de regressão múltipla *stepwise*, utilizando apenas os marcadores significativos na análise de MLM. A análise de regressão múltipla foi realizada para selecionar um conjunto de marcadores não redundantes entre os marcadores significativos na análise de MLM, e foi executada com auxílio do aplicativo computacional JMP (SAS, 1990), utilizando nível de significância de 5%, tanto para a entrada quanto para a saída de variáveis no modelo. A característica fenotípica foi considerada como variável dependente, enquanto que os dados genotípicos foram definidos como independentes.

O modelo MLM é representado por: $y = XB + Qv + lu + e$, onde y é o vetor dos valores fenotípicos; X é o vetor que representa os valores genotípicos de SNP; B é o vetor dos efeitos fixos dos genótipos; Q é a matriz estimada a partir da análise de estrutura da população; v é o vetor de efeitos fixos decorrentes das populações; l é matriz identidade; u é o vetor de efeitos aleatórios relacionados ao *background* genético; e e é o vetor de erros aleatórios. Para a análise, a característica fenotípica foi considerada como variável dependente, e os dados genotípicos foram definidos como independentes.

A análise de regressão múltipla *stepwise* foi baseada no seguinte modelo: $Y = a + b_1m_1 + b_2m_2 + \dots + b_jm_j + \dots + b_nm_n + d + e$, onde a variação da variável dependente (Y = média do genótipo para o atributo fenotípico) encontra-se associada a uma função linear para o conjunto de variáveis independentes m_j ,

representados pelos marcadores SNP. Além disso, no modelo encontram-se inseridos b_j , que representam os coeficientes de regressão parcial, relacionados de maneira empírica entre Y e m_j ; d é o desvio da regressão; e e é o erro aleatório.

Depois de identificados os SNPs significativos na análise de regressão múltipla, foi realizado um alinhamento local (BLASTn - *Basic Local Alignment Search Tool nucleotideo*) no banco de dados do Phytozome (versão 12.0) sob o genoma do trigo (espécie *Triticum aestivum*, versão 2.2) (IWGSC, 2014), com as sequências correspondentes aos SNPs associados a cada característica nos anos 2015 e 2016.

Por fim, foi efetuada uma análise de correlação de Pearson entre as variáveis severidade de giberela e produção de micotoxina deoxynivalenol, analisadas em 2015 e 2016, utilizando o software GENES (CRUZ, 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudos da avaliação de severidade de giberela nos anos 2015 e 2016

A metodologia utilizada para avaliação da severidade de giberela no trigo, pela observação da distribuição da frequência das notas entre os genótipos avaliados, foi eficiente em discriminar a reação das plantas a inoculação por *Fusarium graminearum* (Figura 14). Além disso, os genótipos foram distribuídos entre as diversas classes da escala proposta por STACK e McMULLEN (1995). Todavia, o percentual de severidade da doença não atingiu os valores mais altos da referida escala (Figura 15).

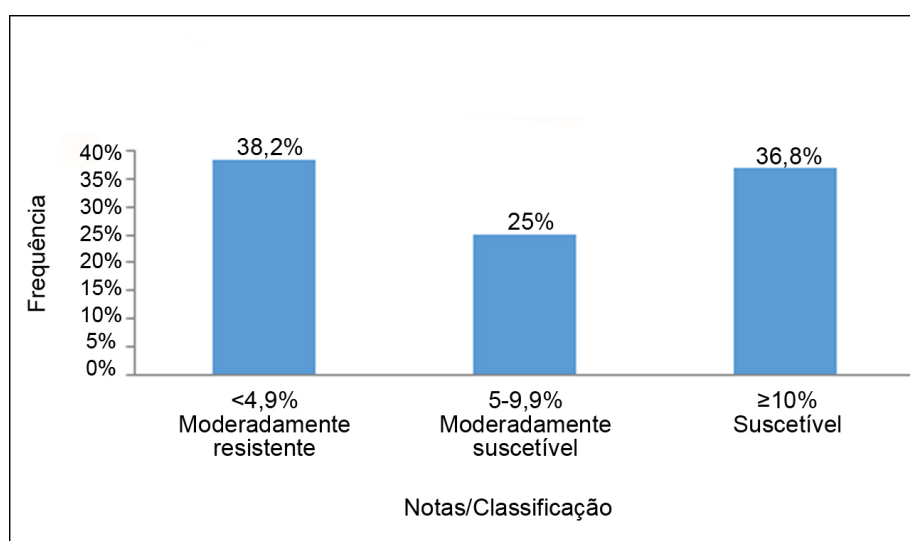


Figura 14-Distribuição da frequência de notas na classificação fenotípica dos genótipos de trigo para severidade de giberela com base no valor máximo obtido entre os experimentos de 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

A avaliação da severidade de giberela em espigas de trigo apresenta dificuldades em função da natureza da característica. Para Steiner et al. (2004), a avaliação para resistência a giberela consome tempo e é laboriosa e custosa devido a natureza quantitativa da resistência e porque a expressão do fenótipo é altamente influenciada por fatores ambientais.

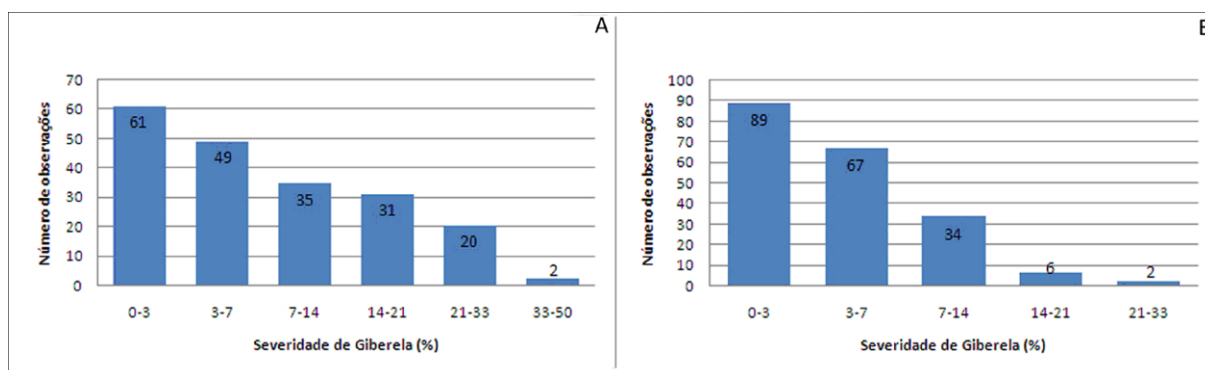


Figura 15-Número de genótipos de trigo observados por classe na avaliação do percentual de severidade de giberela nos anos de (A) 2015 e (B) 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Embora ocorra forte influência do ambiente para o desenvolvimento da doença, a classificação de cultivares comercialmente conhecidas, que foram incluídas neste trabalho, foi condizente com o esperado (Tabela 2).

Tabela 2-Percentual de severidade de giberela e classificação fenotípica de cultivares de trigo comercialmente conhecidas, com base no valor máximo obtido entre os anos 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Cultivar	Severidade de Giberela (%)	Classificação fenotípica
BRS 179	0	Moderadamente resistente
JF 90	0,6	Moderadamente resistente
Frontana	0,9	Moderadamente resistente
BRS 177	1	Moderadamente resistente
Ning 7840	3,9	Moderadamente resistente
CD 154	11,85	Suscetível
CD 116	16,11	Suscetível
CD 150	21,1	Suscetível
CD 105	31,05	Suscetível

Como exemplos podem ser citadas as cultivares CD 116, CD 154, CD 105 e CD 150, todas suscetíveis a giberela, apresentando elevada severidade da doença em nível de campo. Por outro lado, as cultivares comerciais classificadas como

moderadamente resistentes foram Frontana, Ning 7840, BRS 177, BRS 179 e JF 90, todas apresentaram baixa severidade nas avaliações. Portanto, o experimento pode ser considerado eficiente quanto à disseminação do fungo para avaliação da severidade de giberela.

Valores de severidade de giberela próximos de zero também foram observados por Alves et al. (2013a) para as cultivares BRS 179, BRS 177 e Frontana. Frontana é conhecida como uma das principais fontes de resistência oriunda do Brasil (GERVAIS et al., 2003). Já, a cultivar Ning 7840, além de apresentar resistência a múltiplas doenças, é popular por ser derivada de SUMAI 3, que é reconhecida mundialmente como principal fonte de resistência à giberela (BAI e SHANER, 2004).

Todas as cultivares relatadas como suscetíveis (CD 154, CD 116, CD 150 e CD 105) neste trabalho, condizem com a descrição mencionada no guia de produtos da empresa obtentora das mesmas (COODETEC, 2012). No estudo de Lima et al. (2006), a cultivar CD 105 também foi apontada como uma das mais afetadas pela doença.

Na análise de associação dos marcadores com o fenótipo, foram identificados SNPs significativos ($p < 0,001$) na avaliação obtida com base na classificação fenotípica (Figura 16A) e na avaliação do experimento do ano de 2016 (Figura 16C). Todavia, os SNPs encontrados com base na classificação fenotípica apresentaram valores de R^2 próximos de zero e foram desconsiderados da análise. Nas análises de associação de 2015 não foram identificados SNPs significativos (Figura 16B).

Ao todo, foram identificados 21 SNPs significativos na análise do ano de 2016, que estão distribuídos em 14 cromossomos (1B, 1D, 2B, 2D, 3A, 3B, 4B, 4D, 5A, 5B, 6A, 6D, 7A e 7D) (Tabela 3). O número de SNPs significativos por cromossomo variou de 1 a 2, com valores de R^2 entre 7,4 e 15,8%. As sequências de bases destes marcadores estão apresentadas na Tabela 4.

A fim de selecionar um grupo de marcadores mais significativos, diminuindo a redundância de informação das associações pela análise de Modelos Lineares Mistos, foi aplicada a análise de regressão múltipla (Tabela 5). De acordo com Schuster & Cruz (2008), em se tratando de regressão múltipla, em que o conjunto de

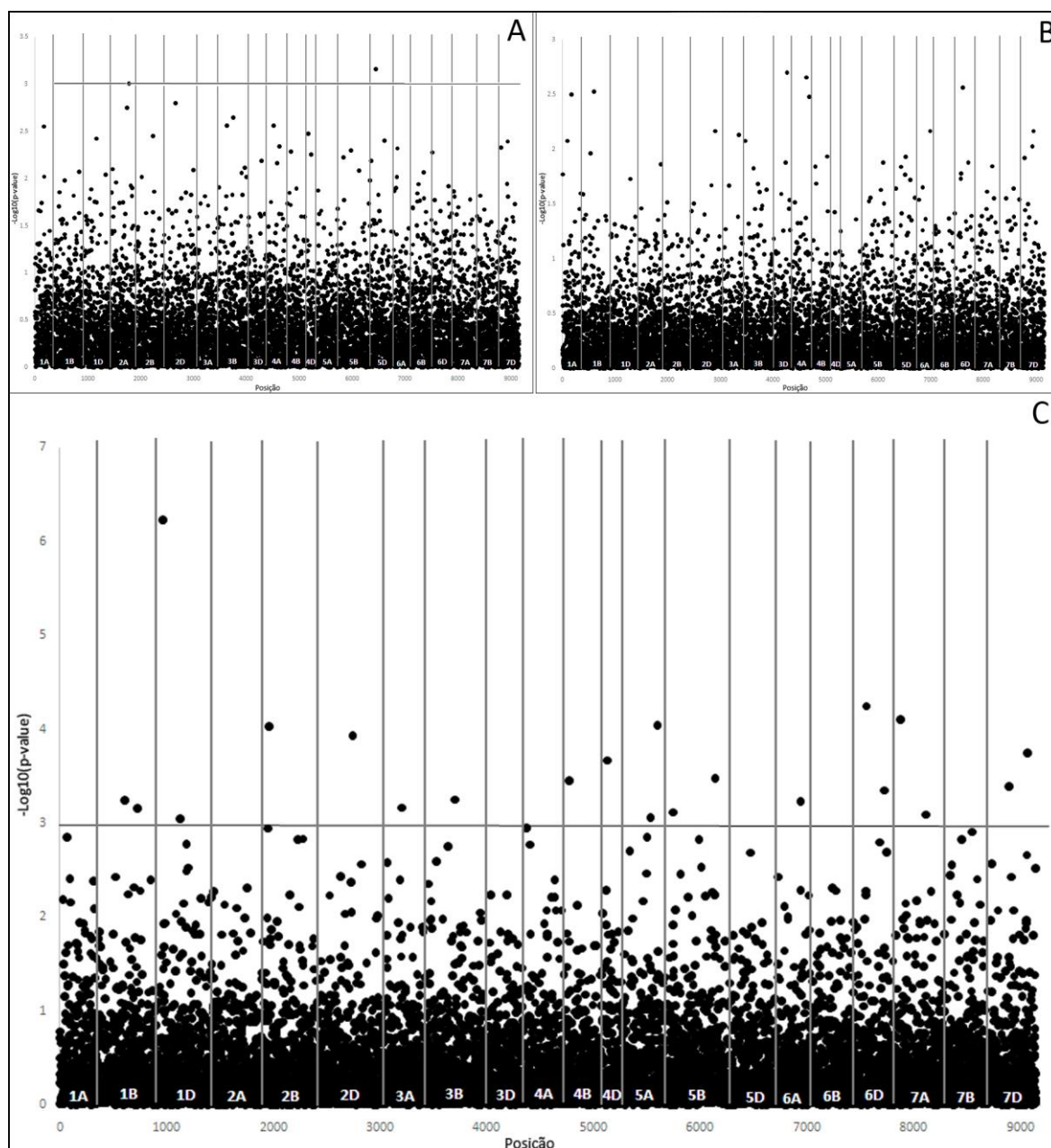


Figura 16-Manhattan plot dos valores de significância das associações genômicas nos cromossomos de trigo para resistência à giberela com base: (A) na classificação fenotípica; (B) no ano de 2015; (C) no ano de 2016. A linha paralela ao eixo X corresponde ao limite $p\text{-value} < 0,001$. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

“p” variáveis independentes são disponíveis, o modelo de regressão não precisa incluir necessariamente todas essas variáveis. Deve-se escolher o modelo que melhor explique a variação na variável dependente y, incluindo apenas variáveis

independentes que contribuam para a eficiência do modelo, expressa pela sua capacidade de prever y . O modelo mais adequado para explicar as variações na variável dependente é aquele que inclui todas as variáveis principais, associadas à variável dependente, sem incluir variáveis redundantes. Há diversos métodos que podem ser utilizados na escolha deste modelo e o *stepwise* é o mais frequentemente utilizado em análise de QTLs.

Tabela 3- Marcadores SNPs significativos ($-\text{Log}_{10}(p) > 3$) na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para resistência à giberela em trigo referente ao ano de 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Identificação SNP	Alelos	Cromossomos	Posição (cM)	$-\text{Log}_{10}(p)$	R^2
AX-95070228	A/G	1B	Desconhecida	3,25	7,9%
AX-94568125	C/T	1B	Desconhecida	3,17	7,7%
AX-94749619	C/G	1D	485	6,24	15,8%
AX-94434510	C/G	1D	Desconhecida	3,05	7,4%
AX-95165003	A/G	2B	539	4,04	10,0%
AX-95160643	G/T	2D	Desconhecida	3,94	9,7%
AX-94404276	C/T	3A	Desconhecida	3,17	7,7%
AX-95632731	A/G	3B	Desconhecida	3,25	8,0%
AX-94488043	C/T	4B	517	3,46	8,5%
AX-95177494	C/T	4D	1165	3,67	9,0%
AX-94473908	A/G	5A	Desconhecida	3,07	7,5%
AX-95115833	C/G	5A	Desconhecida	4,05	10,0%
AX-94806190	C/G	5B	515	3,12	7,6%
AX-94499822	A/G	5B	Desconhecida	3,49	8,5%
AX-94525900	C/T	6A	Desconhecida	3,24	7,9%
AX-95018710	C/G	6D	527	4,25	10,5%
AX-95121973	C/T	6D	Desconhecida	3,35	8,2%
AX-94850441	G/T	7A	379	4,11	10,2%
AX-94774662	G/T	7A	Desconhecida	3,10	7,5%
AX-94472422	A/C	7D	Desconhecida	3,40	8,3%
AX-94745923	C/T	7D	Desconhecida	3,75	9,2%

Tabela 4- Sequência de pares de bases da região que contém os SNPs associados à resistência do trigo à giberela na safra de 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Identificação do SNP	Sequências de bases	Cromossomo
AX-95070228	GGCATCACCACCAAACCTCGCTGCTCGGCAGCCTC[A/G]CTGGACTACAGCAAACAGCTGGCCATCAACTTGCT	1B
AX-94568125	GAATAAGGGGTACAGGAAAATCAGTCTCGGTTCAAG[C/T]TTTTCTTTTGGCACAATTGCATGGCCTTGATGG	1B
AX-94749619	TATGTACATGGCGATAGGAGAATGAATAGTTGGGC[C/G]AAGTCTGTAGCCAAACTGAGCAAGATCCAAGTCAT	1D
AX-94434510	TTGCTCTCTAGTAAGTTCTCATCTCACATGATATT[C/G]ACATCTCATGCAACTGTTTCTTGCTATGC	1D
AX-95165003	TTGATGTGGAGAACCTGCGTTCCAATATTGACATT[A/G]GGAAGAACTTGCAGTCATTGAAAAAGGAGCTGGTT	2B
AX-95160643	TTGAAATCCGAAAGGACAAGGGCACAGAATCGCC[G/T]AACTGAAGGACATGACACAGCTGACCGAAACTTTA	2D
AX-94404276	CTGTGTGCAGAAAGAAATACCTTGATCACAATGCT[C/T]GGCGTAGAAAAAGTCATCATCATGTAGGTTGACAT	3A
AX-95632731	AGCAGTCTTCTGTTTTGCTGCCGTGTTGAAAAGAT[A/G]AGAAAGGGTCCTATGGCCGACGAACACAAGGAACA	3B
AX-94488043	GGCACTTCTTCAGTTGCAAGTCGTCAGCATCAGCA[C/T]GGCCGGTACCACCCTAGCAGCAAGCTCGACTGAAG	4B
AX-95177494	GTCTGGTGTGTAATTGCATAGCTGGGAAATGAGC[C/T]ATTCTCTGAAGTTCCGTGAGTATCTGAGGAAATGA	4D
AX-94473908	ACAGCCCTGCCGGTGGTTATGAGGGCAAGCACCCCT[A/G]TCCTTAGTCCCTGCCTCCCTGGACCTAGACATAAC	5A
AX-95115833	CAATCTTCTGTTCTGGTGTCCAGTTTTTACTGCAT[C/G]TAGAACCAACTAGACTTGAAACTGTTATCCGCCAG	5A
AX-94806190	GCACGTGGAATATTATAAGGTGGAATGCCTACACG[C/G]TGTGCCTGACTTCAAATTGACTATTGGTGTAGTCA	5B
AX-94499822	ATTCATGATTCGTTTGGTGGTCACCCGTTGGAAA[A/G]TTCAACTCGATCCGGGGAGTGGTTCCCGGTGGTTT	5B
AX-94525900	ACTTTTGATTTTGGTGCCAATATGGATGGATTCAA[C/T]TGGGTGACCCTCTGTCAGGTATTGTTGTTTAGTTA	6A
AX-95018710	TATCAGGAGGCAAAGTGTACTTGTTCACAATGC[C/G]ACCGGTGCCAGCGTCACGGCGAAAGGCTCGTCGT	6D
AX-95121973	ATCGGCCATTAAACCAACTGTGTTGCTGAAAATT[C/T]CATCCATGACTTTTTCTATATCTTGACAATCTGTG	6D
AX-94850441	AAATTGCAAGGAATTCTTCTCAGGATAACTGGCAA[G/T]GGAAGGTCCGTGTCATATTGCTGGAGACCTTCAT	7A
AX-94774662	GTGATACCTAACCAAGAGGGTGGAGTACGCACT[G/T]CAATCCATCCATGGCATTGGCCGGGCACGCGCCCG	7A
AX-94472422	GAGGCCCTTCTGCCTCCTCTTGCTCTGCTCCGCTG[A/C]TCCCAAATGTGGCCGTCAACGCCATTGGTTCCGCTG	7D
AX-94745923	ATCCTTGGGAGTCCCAAGCTGCAGGCAGAATTATC[C/T]GCTCTTGTGTAGTACGAGTACATCACTACATCATG	7D

Deste modo, os 21 marcadores SNPs encontrados na análise de Modelos Lineares Mistos foram avaliados individualmente na análise de regressão múltipla *stepwise*, com base no seu efeito no modelo, selecionando-se apenas aqueles associados sem que houvesse redundância. Assim, foram identificados 3 marcadores, distribuídos nos cromossomos 1B, 4D e 7D, que juntos explicam 13,61% de toda variação fenotípica para severidade de giberela nos genótipos avaliados (Tabela 5). Este percentual corresponde ao esperado para marcadores associados a características quantitativas (QTLs).

Tabela 5-Marcadores significativos na análise *stepwise* e porcentagem da variância fenotípica explicada pelos marcadores (R^2) para severidade de giberela na avaliação do ano de 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Marcador	Cromossomo	Posição	* R^2
AX-95177494	4D	1165	4,95%
AX-94472422	7D	Desconhecida	10,67%
AX-95070228	1B	Desconhecida	13,61%

*Os valores de R^2 são cumulativos.

É muito importante a localização de QTLs presentes em cromossomos distintos, uma vez que, no melhoramento, um único QTL pode fornecer apenas resistência parcial e a piramidação de vários QTLs de resistência em uma cultivar pode fornecer maior proteção em casos de epidemias de giberela (FATIMA, 2016).

No presente estudo, os QTLs encontrados nos cromossomos 1B, 4D e 7D divergem do divulgado em diversos trabalhos sobre a importância da resistência à giberela estar relacionada a genes nos cromossomos 3B e 6B (ANDERSON et al., 2001; BUERSTMAYR et al., 2013; CUTHBERT et al., 2006; ZHOU et al., 2003). A análise de regressão múltipla para o ano de 2016, além de não identificar QTLs significativos para a resistência à giberela nestes cromossomos, demonstra grande participação do genoma D na determinação da resistência à giberela no germoplasma avaliado.

Ao avaliar linhagens de trigo, oriundas do cruzamento entre uma cultivar suscetível e outra resistente relacionando as resistências tipo I e tipo II, Yang et al. (2005), identificaram 7 QTLs para a resistência tipo I nos cromossomos 2D, 3A, 3B, 4D, 5A e 6B e, 4 QTLs para resistência ao tipo II nos cromossomos 2D, 3B, 6B e 7B, considerando análise de loco único. Já, considerando a análise de QTLs de dois locus, identificaram QTLs nos cromossomos 1D, 4A e 4D.

Assim como apresentado neste estudo, Semagn et al. (2007) não identificou QTLs nos cromossomos 3B e 6B, e da mesma forma, também identificou um QTL no cromossomo 1B, além de outros marcadores consistentes nos cromossomos 1A e 7A. Ao avaliar linhas de oito diferentes subpopulações de trigo com diferentes origens geográficas e *habitats*, no período de 2013 a 2015, Sorensen (2016), identificou 15 QTLs para resistência a giberela nos cromossomos 2A, 3A, 3B, 4A, 5A, 5B, 6A, 6B, 7A, 7B e 7D. Destes, um QTL no cromossomo 7D também foi encontrado neste trabalho. Além disso, foi evidenciada a ausência de marcadores significativos no cromossomo 3B (onde está presente o gene Fhb1).

Analisando linhagens através de um estudo GWAS com marcadores SNPs, Arruda et al. (2016), encontraram associações significativas ao avaliar severidade e incidência de giberela no trigo. Embora a severidade da doença tenha sido associada a um QTL presente no cromossomo 3B, a incidência apresentou associação com QTLs nos cromossomos 4A, 6A, 7A, 1D, 4D e 7D (os dois últimos também identificados neste experimento). Ainda, Mc Cartney et al. (2016), também apresentaram a importância de QTLs presentes nos cromossomos 4D e 7D atuando na determinação da resistência à giberela, além de QTLs localizados nos cromossomos 2D, 4A e 5B, sem encontrar associações nos cromossomos 3B e 6B.

Recentemente, Fatima (2016), identificou três QTLs de resistência mapeados nos cromossomos 4D, 4A e 5B. O QTL em 4D foi o mais consistente e explicou 13% da variação fenotípica. Do mesmo modo, um QTL presente no cromossomo 4D também foi identificado pela análise de regressão múltipla como um dos mais importantes para explicar a variação fenotípica neste experimento,

confirmando, mais uma vez, a importância deste genoma na determinação da característica.

Todavia, ao analisar cruzamentos entre Sumai 3 e genótipos suscetíveis a giberela Gilbert et al. (2000), relataram que o genoma D de Sumai 3 não contribuiu para a resistência. Por outro lado, Niwa et al. (2014), coletaram acessos de Sumai 3 oriundos de seis países distintos para avaliar a variação genética para resistência à giberela, e observaram variações apenas em QTLs dos cromossomos 5A e 2D. Isso indica que o gene Fhb1, presente no cromossomo 3B, nem sempre é o responsável pela resistência do trigo à giberela, e isso pode estar relacionado à origem dos isolados do fungo, e que QTLs nos genomas A e D também podem ser determinantes da resistência do trigo à giberela. Além disso, Scheeren et al. (2015), avaliaram 90 cultivares de trigo brasileiras, muitas delas também presentes neste trabalho, com diferentes níveis de resistência a giberela, quanto à presença ou ausência do gene Fhb1 e não encontraram este gene em nenhuma das cultivares avaliadas. Foi concluído que estas cultivares são portadoras de genes de resistência diferentes daquela proporcionada pelo gene Fhb1.

Portanto, trabalhos de mapeamento de genes e QTLs em populações que sejam representativas do germoplasma brasileiro de trigo, tal qual este estudo, são essenciais para o entendimento da estrutura genética da resistência do trigo a giberela no genoma de trigo em uso no Brasil.

Os resultados da comparação entre os cromossomos, onde foram identificados os marcadores significativos na análise *stepwise* (Tabelas 5), com os cromossomos apresentados pelo alinhamento no Phytozome (Tabela 6), demonstraram que as sequências de bases dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla estão inseridas em cromossomos diferentes dos encontrados no banco de dados do Phytozome.

Embora os QTLs identificados tenham sido alinhados em cromossomos distintos no banco de dados do Phytozome, a função do transcrito de cada sequência se manteve a mesma (Tabela 6). Como exemplo, pode ser citado o alinhamento do marcador AX-95177494, em que a função “Membrane Protein of ER Body 2” foi encontrada para três *locus* em diferentes cromossomos (7D, 7A e

3D). Realizar este tipo de alinhamento pode ser um indicativo da função destas sequências para a resistência do trigo à giberela. No entanto, para confirmar a função dos genes encontrados na população sob análise, são necessárias outras ferramentas de biotecnologia que sejam voltadas à compreensão da transcrição destes genes além do simples alinhamento com o banco de dados.

Tabela 6-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para resistência à giberela em trigo na safra de 2016, evidenciando *locus*, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Marcador	Locus	Posição	Função do gene
	Traes_7DS_8374B3432	ta_iwgsc_7ds_v1_3888230:3110..5735 forward	Membrane
AX-95177494	Traes_7AS_AAC60B5EA	ta_iwgsc_7as_v1_4251876:15969..20068 reverse	Protein of ER
	Traes_3DL_5CF784E2A	ta_iwgsc_3dl_v1_6927455:1..3363 reverse	Body 2
			B3 DNA
AX-94472422	Traes_4AL_445A910EB	ta_iwgsc_4al_v2_7121729:14225..14878 reverse	binding domain (B3)
	Traes_4DS_0A0EE806A	ta_iwgsc_4ds_v1_2277857:11106..16332 forward	
AX-95070228	Traes_4DS_0A0EE806A	ta_iwgsc_4ds_v1_2277857:11106..16332 forward	Não identificado
	Traes_5BL_ECD97BE50	ta_iwgsc_5bl_v1_10826508:6603..8140 forward	

Para relacionar as funções das proteínas identificadas no banco de dados do Phytozome à infecção por giberela, dados da literatura foram coletados. Assim, de acordo com Yamasaki et al. (2004), o domínio de ligação da B3 (Tabela 6) é compartilhado entre vários fatores de transcrição específicos de plantas, incluindo tanto fatores envolvidos na transcrição regulada por auxina, quanto regulada por ácido abscísico. Zhou et al. (2006), utilizando análises proteômicas, visando a compreensão do mecanismo molecular de interação entre *Fusarium graminearum* e *Triticum aestivum*, encontraram um total de 41 proteínas diferencialmente reguladas devido à infecção por *F. Graminearum*. Dentre elas foi identificado a proteína B3, reconhecida como uma proteína ribossomal envolvida na síntese proteica juntamente com B2, não havendo mais detalhamentos sobre sua função.

Não foi encontrado na literatura relatos da função da proteína *Body 2* (proteína de membrana do retículo endoplasmático (ER)), sobre a resistência do trigo à giberela. No entanto, segundo Herman e Larkins (1999), proteínas ER *Body* no endosperma do milho (*Zea mays*) e do arroz (*Oryza sativa*) são responsáveis pela acumulação de proteínas de armazenamento de sementes. Em trigo, Rosenberg et al. (1993) menciona a importância das proteínas ER *Body* para o armazenamento de gliadina (responsável pela extensibilidade do glúten).

Embora estudos mais aprofundados acerca das sequências transcritas sejam necessários, a identificação das possíveis funções das regiões que contêm os SNPs associados viabilizam a compreensão dos mecanismos e processos ativados na planta em resposta a infecção por giberela.

Finalmente, uma análise interessante em estudos de associação genômica é a avaliação de haplótipos. Estudos deste cunho tem se tornado cada vez mais frequente em estudos de associação genômica. Arruda et al. (2016), também aplicou a avaliação dos haplótipos obtidos em seu trabalho e mostrou a importância deste na apresentação de resultados detalhados, nos quais pôde identificar a frequência de alelos favoráveis e desfavoráveis para os marcadores encontrados.

Segundo Freitas et al. (2009), teoricamente, cada haplótipo é um conjunto de pares de bases identificadas a partir de um gene devidamente sequenciado. A diversidade nucleotídica determina a diversidade haplotípica e a existência de sítios polimórficos determinaria a existência de diferentes haplótipos. Para tal, foi realizado um estudo de comparação da média dos haplótipos, considerando apenas os SNPs significativos na análise de regressão múltipla na avaliação de severidade de giberela em 2016.

O haplótipo GAA apresentou a menor média (2,4%) de severidade de giberela (Figura 17). Em seguida, as menores médias foram dos haplótipos GGA e AAA, com valores 4,18 e 4,19%, respectivamente. Por outro lado, o haplótipo AGA foi o mais sensível a infecção por giberela, com severidade de 8,08%.

Os resultados deste estudo indicam que ao efetuar seleção para o haplótipo GAA, a tendência é que se obtenham linhagens com menor percentual de severidade de giberela, enquanto que a seleção para o haplótipo AGA

converge para a obtenção de materiais mais suscetíveis, podendo-se, neste caso, efetuar seleção contra o genótipo em questão.

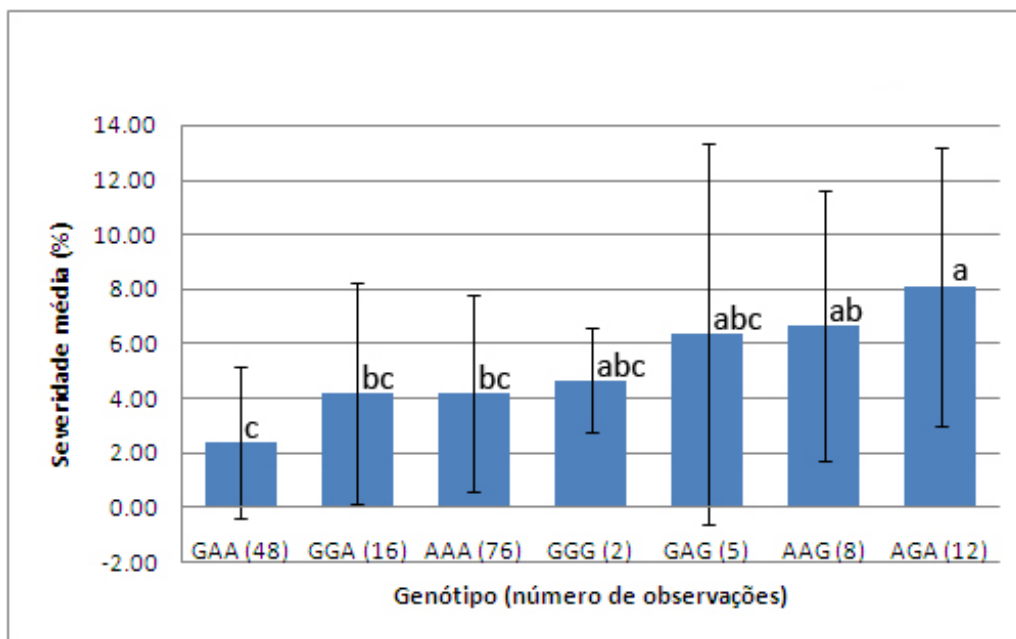


Figura 17-Média dos haplótipos (GAA, GGA, AAA, GGG, GAG, AAG e AGA) considerando os marcadores significativos (AX-95177494, AX-94472422 e AX-95070228) na análise de regressão múltipla no experimento para avaliação de severidade de giberela em 2016. As barras paralelas ao eixo Y indicam o desvio padrão e as letras acima das colunas correspondem ao teste de Tukey. Genótipos com médias não ligadas pela mesma letra diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade de erro. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Considerando os haplótipos apresentados na Figura 17, foi verificada a distribuição da frequência dos fenótipos em cada haplótipo. Os resultados desta distribuição estão apresentados na Figura 18. Os haplótipos GAA e GGA demonstraram maior frequência de genótipos com severidade menor que 2%, confirmando a superioridade destes haplótipos em relação aos demais para obtenção de linhagens resistentes. Além disso, a maioria dos genótipos com haplótipo GAA apresentaram severidade menor que 4%, caracterizando a influência deste haplótipo na contribuição de resistências moderadas.

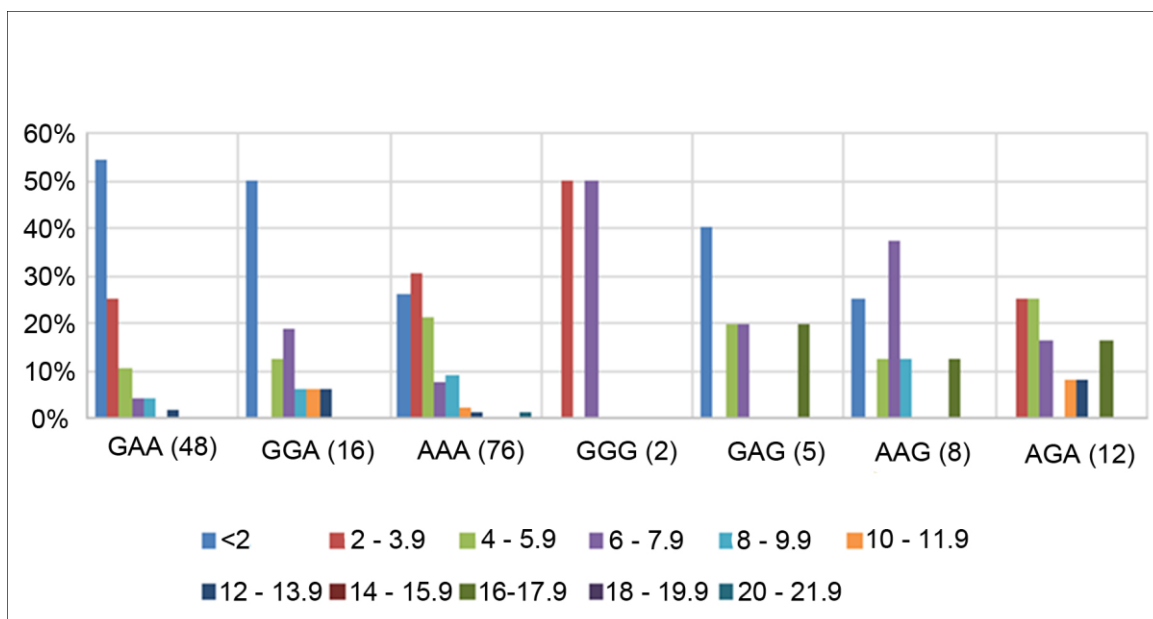


Figura 18-Distribuição da frequência dos fenótipos em cada haplótipo na avaliação do experimento do percentual de severidade de giberela em 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Os demais haplótipos demonstraram uma maior variação nos fenótipos. Contudo, estas variações estão concentradas em severidades acima de 2 ou 4%, não sendo indicados para seleção quando a intenção é aumentar os níveis de resistência à giberela.

4.2 Estudos da avaliação dos níveis de deoxynivalenol nos anos 2015 e 2016

Na Figura 19 estão representados os resultados encontrados quanto à classificação dos genótipos para os níveis de micotoxina deoxynivalenol em trigo nas avaliações realizadas nos anos de 2015 e 2016. Em 2015, 81% das cultivares e linhagens atingiram níveis de DON maiores que 1ppm (Figura 19A), e em 2016, 70% (Figura 19B). No estudo de Silva et al. (2015), que abrangeu 18 genótipos representativos do germoplasma em uso na região Sul do país, apenas 17% das cultivares de trigo avaliadas quanto aos níveis de DON apresentaram valores mais altos que o tolerado para consumo humano e animal. Os menores níveis de

contaminação por DON obtidos por Silva et al. (2015), em comparação aos observados neste trabalho, se devem à aplicação de fungicida e a utilização de cultivares adaptadas, com bom nível de tolerância à giberela.

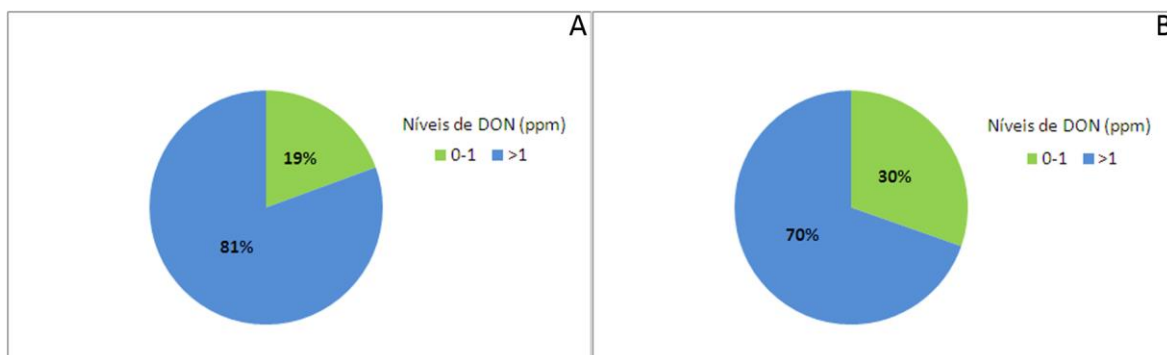


Figura 19-Distribuição da frequência dos genótipos de trigo observados por classe (0-1 e >1 ppm) na avaliação dos níveis de deoxynivalenol em (A) 2015 e (B) 2016, respectivamente. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Ao analisar o efeito da aplicação de fungicida para controle de giberela em trigo, Baturó-Cieśniewska et al. (2012), observaram, através de análises moleculares, que mesmo nas plantas protegidas por fungicida, foram encontrados níveis variáveis de micotoxinas. Bai e Shaner (2004), obtiveram resultados semelhantes, demonstrando que ainda que o tratamento com fungicida reduza a perda de produtividade, pode não reduzir a contaminação por DON a níveis mais baixos do que os tolerados para consumo humano.

Assim como efetuado para severidade, foram realizadas análises de associação genômica considerando os dados dos anos individualmente (2015 e 2016), bem como dos níveis máximos e médios de micotoxina DON encontrados entre os dois anos de avaliação. A análise de Modelos Lineares Mistos identificou SNPs significativos (descritos nas Tabelas 7, 8, 9 e 10) em todos os conjuntos de dados avaliados (Figuras 20A, 20B, 20C e 20D).

No experimento do ano de 2015 (Figura 20A e Tabela 7), foram identificados cinco SNPs significativos associados à QTLs presentes nos cromossomos 2B, 3A, 3B, 5D e 7D. O percentual de explicação fenotípico para estes marcadores variou entre 7,3 e 9,7%.

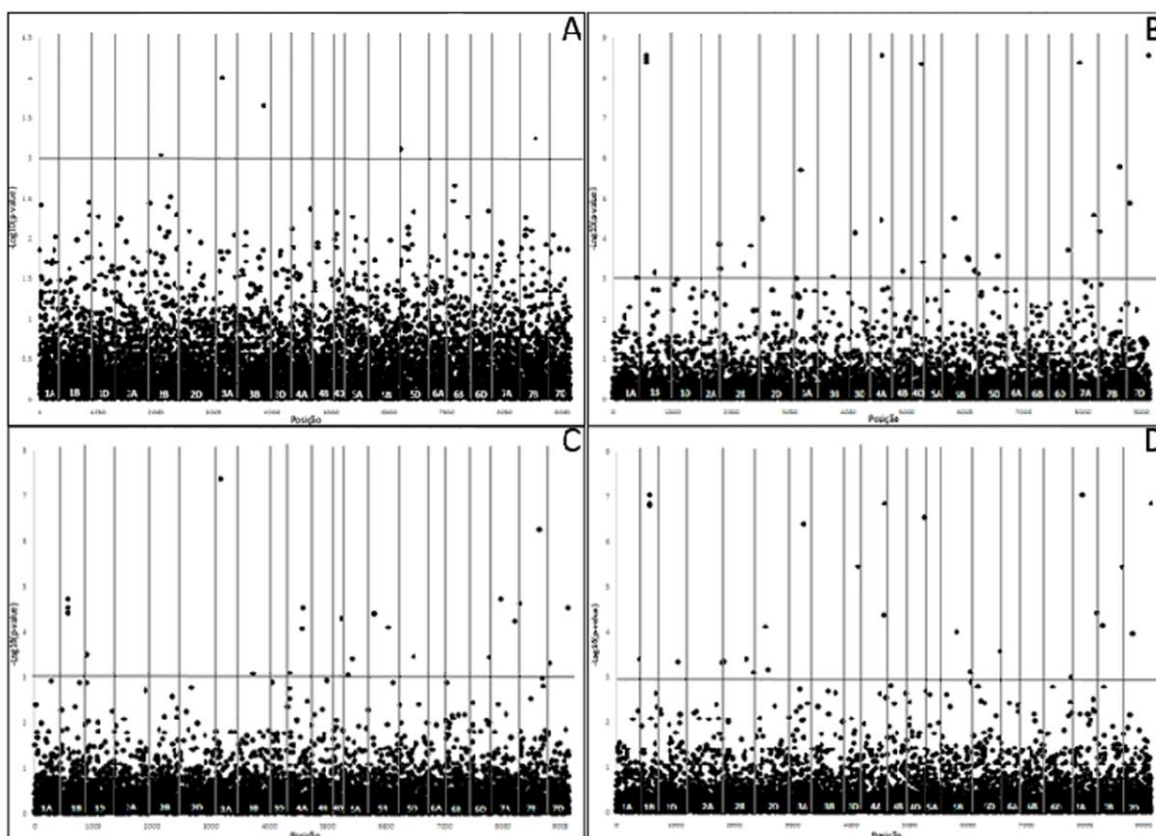


Figura 20-Manhattan plot dos valores de significância das associações genômicas nos cromossomos de trigo para produção de micotoxina deoxynivalenol: (A) Ano de 2015; (B) Ano de 2016; (C) Com base na média entre os anos de avaliação; (D) Com base no valor máximo obtido entre os anos avaliados. A linha paralela ao eixo X corresponde ao limite $p\text{-value} < 0,001$. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Tabela 7-Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis de deoxynivalenol em trigo no ano de 2015, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Marcador	Alelos	Cromossomos	Posição (cM)	$-\text{Log}_{10}(p)$	R^2
AX-94549868	C/T	2B	Desconhecida	3,04	7,3%
AX-94481898	C/T	3A	Desconhecida	4,00	9,7%
AX-94429236	A/C	3B	Desconhecida	3,66	8,8%
AX-94580748	A/G	5D	153,84	3,11	7,5%
AX-94390743	A/G	7B	Desconhecida	3,25	7,8%

A análise do experimento referente ao ano de 2016 (Figura 20B e Tabela 8) apresentou o maior percentual de explicação fenotípica encontrado neste estudo pelas análises de MLM, chegando a atingir 22,3% de explicação. Ao todo, foram encontrados 31 SNPs ligados a 17 QTLs nos cromossomos 1A, 1B, 2A, 2B, 2D, 3A, 3B, 3D, 4A, 4B, 4D, 5B, 5D, 6D, 7A, 7B e 7D. Os cromossomos com maior número de marcadores associados ao mesmo QTL foram 1B e 5B, com 4 e 5 SNPs em cada cromossomo, respectivamente.

Com base na média entre os anos 2015 e 2016 (Figura 20C e Tabela 9), foram encontrados 21 SNPs associados à QTLs distribuídos em 13 cromossomos (1B, 1D, 3A, 3B, 4A, 4D, 5A, 5B, 5D, 6D, 7A, 7B e 7D). O percentual de explicação fenotípica para produção de DON destes marcadores variou entre 7,4 e 18,9%.

Por fim, com base nos níveis máximos de DON entre os anos 2015 e 2016 (Figura 20D e Tabela 10), foram verificados 25 SNPs ligados a 16 QTLs nos cromossomos 1A, 1B, 1D, 2A, 2B, 2D, 3A, 3D, 4A, 4D, 5B, 5D, 6D, 7A, 7B e 7D. O percentual de explicação fenotípico destes marcadores variou entre 7,6 e 17,9%.

Marcadores significativos associados à produção de DON foram identificados em todos os genomas do trigo. Porém, em uma análise mais ampla, foi verificado que em todos os conjuntos de dados haviam SNPs ligados à QTLs nos cromossomos 3A e 5D, demonstrando a importância destes relacionados à produção dos níveis de DON. Ainda, o SNP presente no cromossomo 3A apresentou elevada explicação fenotípica em todas as avaliações.

Além disso, os cromossomos 1B, 4A, 4D, 5B, 6D, 7A e 7D foram encontrados em pelo menos três (DON2016, DONMÁXIMO, DONMÉDIO), dos quatro conjuntos de dados avaliados. Todavia, os SNPs presentes nos cromossomos 1B, 3A, 4A, 4D, 7A e 7B demonstraram os maiores percentuais de explicação fenotípica em todos os conjuntos de dados. Finalmente, o experimento do ano de 2016 merece maior destaque por apresentar o maior percentual de explicação fenotípica (22,3%) encontrado neste estudo.

Tabela 8-Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis de deoxynivalenol em trigo no ano de 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)

Marcador	Alelos	Cromossomos	Posição (cM)	$-\text{Log}_{10}(p)$	R^2
AX-94687295	C/T	1A	Desconhecida	3,02	7,3%
AX-94772883	C/T	1B	827,08	8,57	22,3%
AX-94986625	C/T	1B	827,08	8,49	22,0%
AX-94659573	C/T	1B	827,08	8,40	21,8%
AX-94941647	C/T	1B	Desconhecida	3,17	7,7%
AX-94656029	C/T	2A	Desconhecida	3,88	9,5%
AX-94583896	C/T	2B	Desconhecida	3,83	9,4%
AX-94485495	A/C	2B	Desconhecida	3,35	8,2%
AX-94477554	C/T	2B	111,69	3,26	7,9%
AX-94553654	A/G	2D	556,88	4,49	11,1%
AX-94522362	C/T	3A	Desconhecida	5,72	14,4%
AX-94500529	C/T	3B	Desconhecida	3,06	7,4%
AX-95629896	A/G	3D	Desconhecida	4,14	10,2%
AX-94684724	A/G	4A	Desconhecida	8,57	22,3%
AX-95222583	A/C	4A	Desconhecida	4,46	11,0%
AX-94398361	G/T	4B	Desconhecida	3,20	7,8%
AX-94742461	A/T	4D	Desconhecida	8,36	21,6%
AX-95235178	G/T	4D	Desconhecida	3,42	8,3%
AX-94855957	C/G	5B	708,70	4,50	11,1%
AX-95252995	C/G	5B	231,11	3,58	8,7%
AX-94386712	A/G	5B	Desconhecida	3,54	8,6%
AX-94656624	C/T	5B	Desconhecida	3,49	8,5%
AX-94627297	A/G	5B	Desconhecida	3,21	7,8%
AX-94903488	C/G	5D	Desconhecida	3,58	8,7%
AX-95130119	C/G	5D	83,03	3,14	7,6%
AX-95244987	C/T	6D	Desconhecida	3,71	9,1%
AX-94464653	A/G	7A	827,08	8,40	21,8%
AX-94564454	A/G	7A	Desconhecida	4,61	11,4%
AX-94679214	A/G	7B	Desconhecida	5,81	14,6%
AX-94384118	A/G	7B	260,30	4,17	10,3%
AX-94382946	C/G	7D	827,08	4,87	12,1%
AX-94495320	C/G	Desconhecida	827,08	8,57	22,3%

Tabela 9-Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis médios de deoxynivalenol em trigo obtidos entre 2015 e 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)

Marcador	Alelos	Cromossomos	Posição (cM)	$-\text{Log}_{10}(p)$	R^2
AX-94659573	C/T	1B	827,08	4,72	11,7%
AX-94772883	C/T	1B	827,08	4,56	11,2%
AX-94986625	C/T	1B	827,08	4,42	10,9%
AX-94462045	A/T	1D	234,56	3,52	8,6%
AX-94522362	C/T	3A	Desconhecida	7,38	18,9%
AX-94500529	C/T	3B	Desconhecida	3,10	7,5%
AX-94684724	A/G	4A	Desconhecida	4,56	11,2%
AX-95222583	A/C	4A	Desconhecida	4,08	10,0%
AX-95116004	C/T	4A	260,30	3,11	7,5%
AX-94742461	A/T	4D	Desconhecida	4,30	10,6%
AX-94472664	A/G	5A	Desconhecida	3,41	8,3%
AX-94855848	C/T	5A	568,27	3,06	7,4%
AX-94855957	C/G	5B	708,70	4,40	10,8%
AX-94656624	C/T	5B	Desconhecida	4,12	10,1%
AX-95207390	A/G	5D	Desconhecida	3,47	8,4%
AX-95244987	C/T	6D	Desconhecida	3,45	8,4%
AX-94464653	A/G	7A	827,08	4,72	11,7%
AX-94564454	A/G	7A	Desconhecida	4,25	10,5%
AX-94679214	A/G	7B	Desconhecida	6,27	15,8%
AX-94384118	A/G	7B	260,30	4,63	11,4%
AX-94382946	C/G	7D	827,08	3,32	8,1%
AX-94495320	C/G	Desconhecida	827,08	4,56	11,2%

Arruda et al. (2016), detectaram um SNP com efeito significativo na região do gene *Fhb1* no braço curto do cromossomo 3B para produção de DON. Somers et al. (2003), ao caracterizar fontes alternativas de resistência a giberela, identificaram QTLs que controlam o acúmulo de DON nos cromossomos 2D, 3B e 4B. As associações com os cromossomos relatados acima corroboram com os resultados obtidos neste estudo.

Tabela 10- Marcadores significativos na análise de associação genômica por Modelos Lineares Mistos para níveis máximos de deoxynivalenol em trigo obtidos entre 2015 e 2016, com a identificação dos alelos, cromossomos, posição (cM), valor $-\text{Log}_{10}(p)$ e R^2 . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)

Marcador	Alelos	Cromossomos	Posição (cM)	$-\text{Log}_{10}(p)$	R^2
AX-94687295	C/T	1A	Desconhecida	3,39	8,2%
AX-94659573	C/T	1B	827,08	7,04	17,9%
AX-94772883	C/T	1B	827,08	6,86	17,4%
AX-94986625	C/T	1B	827,08	6,80	17,3%
AX-94753200	A/G	1D	1196,39	3,34	8,1%
AX-94656029	C/T	2A	Desconhecida	3,32	8,1%
AX-94485495	A/C	2B	Desconhecida	3,40	8,3%
AX-94477554	C/T	2B	111,69	3,34	8,1%
AX-94583896	C/T	2B	Desconhecida	3,12	7,6%
AX-94553654	A/G	2D	556,88	4,13	10,1%
AX-94621641	A/G	2D	673,05	3,18	7,7%
AX-94522362	C/T	3A	Desconhecida	6,40	16,2%
AX-95629896	A/G	3D	Desconhecida	5,45	13,6%
AX-94684724	A/G	4A	Desconhecida	6,86	17,4%
AX-95222583	A/C	4A	Desconhecida	4,37	10,8%
AX-94742461	A/T	4D	Desconhecida	6,56	16,6%
AX-94855957	C/G	5B	708,70	4,00	9,8%
AX-94386712	A/G	5B	Desconhecida	3,13	7,6%
AX-94903488	C/G	5D	Desconhecida	3,59	8,8%
AX-95244987	C/T	6D	Desconhecida	3,00	7,3%
AX-94464653	A/G	7A	827,08	7,04	17,9%
AX-94564454	A/G	7A	Desconhecida	4,42	10,9%
AX-94679214	A/G	7B	Desconhecida	5,44	13,6%
AX-94384118	A/G	7B	260,30	4,16	10,2%
AX-94382946	C/G	7D	827,08	3,96	9,7%
AX-94495320	C/G	Desconhecida	827,08	6,86	17,4%

Com o intuito de diminuir a redundância de informação das associações detectadas pela análise de MLM, os marcadores SNPs foram submetidos à análise de regressão múltipla *stepwise* e os resultados estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11-Marcadores SNPS significativos na análise *stepwise*, porcentagem da variância fenotípica explicada pelos marcadores (R^2) e sequência de base da região que contém os SNPs associados para produção de micotoxina deoxynivalenol nos anos de 2015 e 2016, bem como para média e máxima obtida entre os anos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)

SNPs significativos a 5% na análise de regressão múltipla - níveis de deoxynivalenol em 2015				
Marcador	Cromossomo	Posição	R^2	Sequência de bases
AX-94549868	2B	Desconhecida	3,01%	CGTTAAGGGAAGTATGCCACTTTCGTTATGTTTG[C/T]CCCCTATAATAAGAAATAAATGTTGTGAACCTCGC
SNPs significativos a 10% na análise de regressão múltipla - níveis de deoxynivalenol em 2016				
Marcador	Cromossomo	Posição	* R^2	Sequência de bases
AX-94384118	7B	260,3	3,91%	CTAAGGAGAAGCTACAATCTTCAGAAGTGGAGATC[A/G]ACAGTCTCCAAAGGAGGCTCGAAGATGCCGCAATT
AX-94627297	5B	Desconhecida	7,79%	CTCCTAATATCTTGTCTTGCCTGCATGGTTGCTTC[A/G]GTAGCCCAGACACTTTACAGTCTGGGCCACGCATC
AX-94656029	2A	Desconhecida	14,02%	TTGCATAGAAGTTGCCATGTATCCAAGTCTAGTCA[C/T]GCAAGTTAATGTCTCGTGCATCAGGAACAACATA
SNPs significativos a 5% na análise de regressão múltipla - níveis médios de deoxynivalenol				
Marcador	Cromossomo	Posição	* R^2	Sequência de bases
AX-94522362	3A	Desconhecida	20,90%	GCCCGATGCTTACTCCCAGCTCCTAGAACTACTGT[C/T]TCGGGTACCCATGCCTGGTTTCTGGGGCAAGCGCC
AX-94855848	5A	568,3	28,50%	AAGTACGCAGGAACAGTGACGACGGCGTCATTGAT[C/T]TTCTTGCCAAGGTATGCCTCAGCAGTCTCCTTCAT
AX-94384118	7B	260,3	34,20%	CTAAGGAGAAGCTACAATCTTCAGAAGTGGAGATC[A/G]ACAGTCTCCAAAGGAGGCTCGAAGATGCCGCAATT
AX-94659573	1B	827,1	38,20%	TCTGGTACCGTTTCAGCAGCCATCTCCTCTGGTAT[C/T]ATTTTCAGCAAACATTTACCATCGTTGTCACTGATT
AX-94679214	7B	Desconhecida	41,00%	GCAAGCTGAGGGCAAACAAGTGGGAGATGTACGT[C/A/G]GCGGATCCCCGAACCACAACAAGAACATCGCCGCC
AX-95244987	6D	Desconhecida	43,10%	TGCCGAGTAGGGCCTCGATTGACATCCATGGCTTC[C/T]AGGAGCATTGGATCGATCTCATCCCGTCGGCCCCG
AX-94472664	5A	Desconhecida	44,90%	ATTCAGAAAACACTGCAGCTCATACTGCAAAACAT[A/G]TCTCTGGGTAATCAGAAAACACTGAAATGGCCACACC

*Os valores de R^2 apresentados por marcador são cumulativos.

Tabela 11-Marcadores SNPS significativos na análise *stepwise*, porcentagem da variância fenotípica explicada pelos marcadores (R^2) e sequência de base da região que contém os SNPs associados para produção de micotoxina deoxynivalenol nos anos de 2015 e 2016, bem como para média e máxima obtida entre os anos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Conclusão)

SNPs significativos a 5% na análise de regressão múltipla - níveis máximos de deoxynivalenol				
Marcador	Cromossomo	Posição	* R^2	Sequência de bases
AX-94753200	1D	1196,4	30,20%	GACGCCGCGCCAACAAGTACACGCCGATAGACCC[A/G]GAGATGGATGTCGGGATCGGGCTGAGGTACGACTG
AX-95629896	3D	Desconhecida	42,90%	AAAATGCTATGAAGGCATTGCAAGCAATCCAGAAT[A/G]TCGTCCACAGCCACACCAACAACACCTAGCTCTGT
AX-95629522	1B	Desconhecida	51,70%	TCTGACACGTCAACAAAGCGTGGCTCCATATCCTT[A/C]CGCACAATGATCAGGGAAGACCAGCTTCCGCCGGA
AX-94687295	1A	Desconhecida	56,70%	AGAGAGATATGGGTCATGATTGACTACATTAACAG[C/T]GCCCTTAGCAACAACCTGAGAGAGCAATTGCGCAA
AX-94384118	7B	260,3	59,40%	CTAAGGAGAAGCTACAATCTTCAGAAGTGGAGATC[A/G]ACAGTCTCCAAAGGAGGCTCGAAGATGCCGCAATT
AX-94903488	5D	Desconhecida	61,90%	GACTTGCTCGACGAGGGTTGCCTTCTCAACCTTGT[C/G]AACTTCCCCCTTGGTCACGACGCGGGTGCAGGCTA
AX-95244987	6D	Desconhecida	63,50%	TGCCGAGTAGGGCCTCGATTGACATCCATGGCTTC[C/T]AGGAGCATTGGATCGATCTCATCCCCTCGGCCCGG
AX-94553654	2D	556,9	64,80%	CAGACCATTAGACGATTGATGCGGATAATATGGAC[A/G]AGGAAAAAGACAGAAAACAACGGAAGGCGCCCAA
AX-94679214	7B	Desconhecida	65,70%	GCAAGCTGAGGGCAAACAAGTGGGAGATGTACGTC[A/G]GCGGATCCCCGAACCACAACAAGAACATCGCCGCC

*Os valores de R^2 apresentados por marcador são cumulativos.

No experimento do ano de 2015, apenas um marcador (AX-94549868) estava associado a característica de acúmulo de DON em trigo, apresentando 3,01% de explicação fenotípica, localizado no cromossomo 2B. Já, na avaliação do experimento referente ao ano de 2016, foram identificados três SNPs associados a QTLs presentes nos cromossomos 7B, 5B e 2A. Juntos, estes marcadores respondem por 14,02% da variação fenotípica desta característica.

Nas análises dos níveis médios e máximos de produção de micotoxina DON entre os anos 2015 e 2016 foi verificado um número ainda maior de marcadores significativos em relação às análises individuais de cada ano. Isto é esperado, uma vez que a análise considerando o potencial máximo de infecção do fungo se aproxima com maior acurácia da real suscetibilidade da planta à doença, evidenciando assim, a possibilidade de um maior conjunto de marcadores SNPs estarem associados à característica.

Com base na média obtida entre os anos (Tabela 11), sete marcadores associados à produção de DON foram identificados sem redundância. Juntos, estes marcadores explicaram 44,9% da variação fenotípica para a característica e estão distribuídos entre os cromossomos 1B, 3A, 5A, 6D e 7B. Já, para o valor máximo obtido entre os anos, foram observados nove marcadores SNPs significativos associados à QTLs presentes nos cromossomos 1A, 1B, 1D, 2D, 3D, 5D, 6D e 7B, com um total de 65,7% de explicação fenotípica para a característica. Os marcadores significativos obtidos neste estudo são de extrema relevância, uma vez que não foram encontrados outros trabalhos que abrangeram uma população representativa do germoplasma de trigo brasileiro. Ainda, é importante ressaltar que os percentuais de explicação encontrados são elevados para a característica, e podem ser efetivos, quando utilizados como ferramenta de seleção assistida por marcadores.

Além dos trabalhos citados anteriormente, os quais relataram QTLs associados à produção de DON presentes nos cromossomos 2D, 3B e 4B (ARRUDA et al., 2016; SOMERS et al., 2003), pode-se também citar a análise realizada por Semagn (2007), que identificou dois QTLs presentes nos cromossomos 1A e 2A para o teor de DON, explicando 27,9 e 26,7% da variação fenotípica, respectivamente.

Ainda é pouco frequente relatos de pesquisas utilizando populações representativas e de interesse ao melhoramento genético brasileiro. A importância desta pesquisa no campo da genética molecular quanto à identificação de marcadores para produção de DON em trigo é evidente. Até o momento, este parece ser o único estudo de associação genômica ampla por desequilíbrio de ligação utilizando marcadores SNPs em uma população representativa do germoplasma de trigo brasileiro para resistência a giberela e acúmulo de DON, simultaneamente.

O resultado do BLAST está apresentado nas Tabelas 12, 13 e 14. As sequências alinhadas foram identificadas em cromossomos diferentes dos localizados neste trabalho. Contudo, da mesma forma como encontrado para severidade de giberela, estavam relacionadas à mesma função protéica, independente da sua posição nos cromossomos. As funções destas proteínas, encontradas na literatura, estão descritas abaixo.

Segundo Caparrós-Martín et al. (2013), a superfamília haloácida de hidrolase tipo desalogenase (HAD) é um grande grupo de proteínas com diversas especificidades de substrato, cujos membros, apesar do nome da família, estão envolvidos não apenas na clivagem enzimática por substituição nucleofílica de ligações carbono-halogênio, mas também numa variedade de atividades enzimáticas hidrolíticas incluindo as reações de fosfatase (CO-P), fosfatase (C-P) e fosfoglucomutase (hidrólise de CO-P e transferência de fosforilo intramolecular).

Em um estudo para identificação de proteínas características de fungos infectantes de cereais, Sperschneider et al. (2013), observaram que *Fusarium graminearum* apresentou fosforilcolina fosfatase secretada, característica dos patógenos hematófilos e necrotróficos dos cereais, que tem sido associada à decomposição da membrana da célula hospedeira em bactérias. Apresentou também a proteína HAD associada às reações do patógeno em cereais. Além disso, foi apresentado um BLAST no NCBI, e a análise da árvore filogenética revelou combinações fortes baseadas em sequências para bactérias, muitas das quais são patogênicas em plantas.

Tabela 12-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis de micotoxina deoxynivalenol produzida nos anos de 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Alinhamento local das sequências flanqueadoras de 2015			
Marcador	Locus	Posição	Função do gene
AX-94549868	Traes_3DL_BFACAD173	ta_iwgsc_3dl_v1_6872570:218..979 reverse	HALOACID DEHALOGENASE-LIKE HYDROLASE
	Traes_3B_8262A4C67	ta_iwgsc_3b_v1_10664131:1391..9259 forward	Pyridoxal phosphatase / Vitamin B6-phosphate
	Traes_3AL_8EAE58688	ta_iwgsc_3al_v1_4255547:1279..3128 reverse	phosphatase
Alinhamento local das sequências flanqueadoras de 2016			
Marcador	Locus	Posição	Função do gene
AX-94384118	Traes_3AS_1D269F7BC	ta_iwgsc_3as_v1_2339460:16..1605 reverse	KIP1-like protein (KIP1)
	Traes_3DS_0ADF3D732	ta_iwgsc_3ds_v1_2603085:4383..8806 forward	
	Traes_3B_6AEC6490A1	ta_iwgsc_3b_v1_10717134:2759..4697 reverse	
	Traes_3B_6AEC6490A	ta_iwgsc_3b_v1_10408586:9379..11317 forward	
AX-94627297	Não informado	Não informado	Não informado
AX-94656029	Não informado	Não informado	Não informado

Tabela 13-Alinhamento local da sequência de pares de bases flangeadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis médios de micotoxina deoxynivalenol produzida entre os anos 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)

Alinhamento local das sequências flangeadoras com base na média entre os anos			
Marcador	Locus	Posição	Função do gene
AX-94522362	Traes_7AL_FBBF513C5.2 Traes_7DL_A41C14646.1	ta_iwgsc_7al_v1_4486847:28..2777 forward ta_iwgsc_7dl_v1_3350147:199..3358 forward	39S RIBOSOMAL PROTEIN L19, MITOCHONDRIAL
AX-94384118	Traes_3AS_1D269F7BC.1 Traes_3DS_0ADF3D732.2 Traes_3B_6AEC6490A1.2 Traes_3B_6AEC6490A.2 Traes_3AS_4477663FD.1	ta_iwgsc_3as_v1_2339460:16..1605 reverse ta_iwgsc_3ds_v1_2603085:4383..8806 forward ta_iwgsc_3b_v1_10717134:2759..4697 reverse ta_iwgsc_3b_v1_10408586:9379..11317 forward ta_iwgsc_3as_v1_3374775:1193..2443 forward	KIP1-like protein (KIP1)
AX-94659573	Traes_7AL_09C024A66.1 Traes_7DL_286C2C80B.1 Traes_7BL_F01C92FC7.1 Traes_3AS_F0F2DEC00.1 Traes_3DS_E2E90E670.2 Traes_3B_2DDFD0929.1	ta_iwgsc_7al_v1_4492417:383..2766 forward ta_iwgsc_7dl_v1_3325890:15295..17516 reverse ta_iwgsc_7bl_v1_6687052:11789..14546 reverse ta_iwgsc_3as_v1_3376626:21..2357 forward ta_iwgsc_3ds_v1_2596771:126..2358 forward ta_iwgsc_3b_v1_10751852:2445..4500 forward	PPR repeat (PPR)
AX-94679214	Traes_3B_2CA046057.1 Traes_3AS_C73BA8338.1 Traes_5DS_95E437E9D.1 Traes_5BS_321AF7B69.1 Traes_5AS_BA2CB25AB1.5	ta_iwgsc_3b_v1_10444779:5104..9391 forward ta_iwgsc_3as_v1_3413352:10..1268 forward ta_iwgsc_5ds_v1_2621102:791..4796 forward ta_iwgsc_5bs_v1_2289270:6947..8801 forward ta_iwgsc_5as_v1_1523187:874..4089 reverse	PROTEIN TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 14-RELATED
AX-95244987	Não informado	Não informado	Não informado
AX-94472664	Não informado	Não informado	Não informado

Tabela 13-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis médios de micotoxina deoxynivalenol produzida entre os anos 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Conclusão)

	Traes_6BS_804DA0429.2	ta_iwgsc_6bs_v1_3022680:145..2998 forward	
	Traes_6AS_236AF32FD.1	ta_iwgsc_6as_v1_4428697:3..3565 forward	
	Traes_6DS_A593093E1.2	ta_iwgsc_6ds_v1_976402:695..4101 reverse	
	Traes_7DL_988A0B630.1	ta_iwgsc_7dl_v1_3332001:5..1710 forward	
	Traes_7BL_39A1FD370.1	ta_iwgsc_7bl_v1_4653300:1..208 reverse	
	Traes_5BL_A939C0E65.1	ta_iwgsc_5bl_v1_10924434:20629..21358 reverse	
	Traes_4DL_FFD4866F3.1	ta_iwgsc_4dl_v3_14470543:1..2787 forward	
	Traes_4BL_4D370C9FA1.1	ta_iwgsc_4bl_v1_6998159:582..2288 reverse	
	Traes_4BL_4D370C9FA.1	ta_iwgsc_4bl_v1_6985344:8235..9941 reverse	
	Traes_4AS_B978C93FA.1	ta_iwgsc_4as_v2_6015113:4544..6999 reverse	
	Traes_4DS_6F137DAAB.1	ta_iwgsc_4ds_v1_2267117:1..692 reverse	
	Traes_3B_B67388A96.1	ta_iwgsc_3b_v1_10760092:3466..4814 forward	
	Traes_3B_3E73F9D951.1	ta_iwgsc_3b_v1_10482980:1..694 reverse	
AX-94855848	Traes_7DS_40ABAB54D.1	ta_iwgsc_7ds_v1_3874411:1..4273 reverse	HEAT SHOCK PROTEIN 70KDA
	Traes_4BL_B288394D4.1	ta_iwgsc_4bl_v1_7035784:1..939 forward	
	Traes_2BL_5D3D7D3C6.1	ta_iwgsc_2bl_v1_7949532:9032..10639 reverse	
	Traes_5DL_834E4B05E.1	ta_iwgsc_5dl_v1_4500498:2299..5542 forward	
	Traes_5AL_629EDDFC3.2	ta_iwgsc_5al_v1_2809029:11..4501 forward	
	Traes_4BL_EA4B13E3E.3	ta_iwgsc_4bl_v1_7012905:9903..14403 reverse	
	Traes_4AS_894CED0DA.1	ta_iwgsc_4as_v2_5951750:1408..4016 reverse	
	Traes_2DL_EB7115604.1	ta_iwgsc_2dl_v1_9862789:1409..7727 forward	
	Traes_2AL_C80262A4C.1	ta_iwgsc_2al_v1_6365847:368..3430 forward	
	Traes_1BL_EFDDA2877.1	ta_iwgsc_1bl_v1_3907956:6478..7420 reverse	
	Traes_1AL_14F65F66D.1	ta_iwgsc_1al_v2_3894307:826..14266 forward	
	Traes_4DL_3D9786B06.1	ta_iwgsc_4dl_v3_14354305:1739..6575 reverse	
	Traes_3DL_B3ADCA9AD.1	ta_iwgsc_3dl_v1_3929753:800..3245 forward	
	Traes_3B_70AFEB672.1	ta_iwgsc_3b_v1_10755810:10660..14922 reverse	
	Traes_6DL_7662129AC.1	ta_iwgsc_6dl_v1_3324907:1786..5987 reverse	

Tabela 14-Alinhamento local da sequência de pares de bases flanqueadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis máximos de micotoxina deoxynivalenol produzida entre os anos 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Continua)

Alinhamento local das sequências flanqueadoras com base na máxima entre os anos			
Marcador	Locus	Posição	Função do gene
AX-94753200	Traes_7DS_6A9DE4CB5.2 Traes_4AL_82AB2E772.2 Traes_4AL_4C3B1561B.1 Traes_7AS_ECCE470AF.1 Traes_7DS_969DF809C.1 Traes_7AS_BD45B6DF6.1 Traes_7DS_971969F5A.1 Traes_7DS_E373FDD65.1 Traes_4AL_450759DB9.1 Traes_6AS_AC24F31A6.1 Traes_2BL_B38832294.2 Traes_6DS_7088F2B17.1 Traes_6DS_204661A07.1 Traes_6DS_7088F2B171.1 Traes_6DS_B8F70E63B.1 Traes_6AS_375237984.1	ta_iwgsc_7ds_v1_3964530:1..2665 forward ta_iwgsc_4al_v2_7121598:1216..5023 reverse ta_iwgsc_4al_v2_7017502:61..4869 reverse ta_iwgsc_7as_v1_4190877:1276..3389 forward ta_iwgsc_7ds_v1_3969240:3582..5374 forward ta_iwgsc_7as_v1_4249477:1..2042 forward ta_iwgsc_7ds_v1_3881670:161..3460 reverse ta_iwgsc_7ds_v1_3847374:1609..3449 reverse ta_iwgsc_4al_v2_7149029:7124..11093 forward ta_iwgsc_6as_v1_4428760:4833..8051 forward ta_iwgsc_2bl_v1_8061878:13294..17468 reverse ta_iwgsc_6ds_v1_2104251:13494..16394 reverse ta_iwgsc_6ds_v1_2099591:11967..14894 reverse ta_iwgsc_6ds_v1_2086787:11262..14162 reverse ta_iwgsc_6ds_v1_2084308:2671..5535 forward ta_iwgsc_6as_v1_4351307:4307..7474 forward	Sucrose 1-fructosyltransferase /sucrose degradation III (sucrose invertase)
AX-95629896	Não informado	Não informado	Não informado
AX-95629522	Traes_3AL_91BE453AD.1 Traes_3DL_DA04B5E16.2 Traes_3B_3CB194067.1	ta_iwgsc_3al_v1_4447662:1068..3321 reverse ta_iwgsc_3dl_v1_6936823:248..2382 forward ta_iwgsc_3b_v1_7764584:3762..6292 reverse	Não informado
AX-94687295	Traes_1DL_37B18BED3.1	ta_iwgsc_1dl_v1_2268608:5..4597 reverse	Não informado

Tabela 14-Alinhamento local da sequência de pares de bases flangeadoras dos SNPs significativos na análise de regressão múltipla para níveis máximos de micotoxina deoxynivalenol produzida entre os anos 2015 e 2016, evidenciando locus, posição e função dos genes encontrados no banco de dados do Phytozome. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017. (Conclusão)

AX-94384118	Traes_3AS_1D269F7BC.1 Traes_3DS_0ADF3D732.2 Traes_3B_6AEC6490A1.2 Traes_3B_6AEC6490A.2 Traes_3AS_4477663FD.1	ta_iwgsc_3as_v1_2339460:16..1605 reverse ta_iwgsc_3ds_v1_2603085:4383..8806 forward ta_iwgsc_3b_v1_10717134:2759..4697 reverse ta_iwgsc_3b_v1_10408586:9379..11317 forward ta_iwgsc_3as_v1_3374775:1193..2443 forward	KIP1-like protein (KIP1)
AX-94903488	Traes_6DS_00BE14814.1 Traes_6AS_1D812AB96.1 Traes_1BS_2738E657F.1 Traes_6DS_AA14DE460.1 Traes_1AS_2CEE031FB.1 Traes_1DS_7833DAAB5.1	ta_iwgsc_6ds_v1_1797376:459..2750 reverse ta_iwgsc_6as_v1_4406542:1311..3369 reverse ta_iwgsc_1bs_v1_3466924:2821..5025 forward ta_iwgsc_6ds_v1_2074435:814..2195 reverse ta_iwgsc_1as_v1_3293262:2166..4396 forward ta_iwgsc_1ds_v1_1899626:4678..6918 reverse	RAG1-ACTIVATING PROTEIN 1
AX-95244987	Não informado	Não informado	Não informado
AX-94553654	Traes_1DL_7773A9BFB.2	ta_iwgsc_1dl_v1_2259755:12..12453 forward	Myb-like DNA-binding domain
AX-94679214	Traes_3B_2CA046057.1 Traes_3AS_C73BA8338.1 Traes_5DS_95E437E9D.1 Traes_5BS_321AF7B69.1 Traes_5AS_BA2CB25AB1.5	ta_iwgsc_3b_v1_10444779:5104..9391 forward ta_iwgsc_3as_v1_3413352:10..1268 forward ta_iwgsc_5ds_v1_2621102:791..4796 forward ta_iwgsc_5bs_v1_2289270:6947..8801 forward ta_iwgsc_5as_v1_1523187:874..4089 reverse	PROTEIN TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 14-RELATED

Relatos da função da Piridoxal fosfatase/Vitamina B6 fosfato fosfatase, relacionados com a infecção de *F. graminearum* e/ou produção de DON em trigo, não foram encontrados na literatura. Todavia, em uma pesquisa com *Arabidopsis thaliana*, Boycheva (2014), demonstrou que a vitamina B6 na forma de Piridoxal 5'-Fosfato (PLP) é necessária como cofator para mais de 140 reações enzimáticas. Uma série de rotas biossintéticas específicas de plantas, tanto primárias como do metabolismo secundário, envolvem uma ou várias etapas catalisadas por um PLP dependente. Entre estes estão o metabolismo do amido, a biossíntese de glucosinolatos, bem como biossíntese e degradação do etileno e da auxina. Além disso, atua como antioxidante, podendo ser induzida por estresse oxidativo ou calor.

Embora ainda não tenha sido identificado o gene responsável pela ativação da proteína KIP1 em trigo, Ahamed et al. (2001), em uma pesquisa com zearalenona, uma toxina também produzida por *F. graminearum*, demonstrou que a toxina pode estimular o crescimento de carcinoma de mama humano, comprovando que a zearalenona funcionou como um agente antiapoptótico. O tratamento de células com zearalenona induziu o trânsito do ciclo celular após aumentos na expressão do RNAm, estimulando uma cascata de sinalização de proteínas quinase ativadas, incluindo a regulação negativa de p27KIP-1. Como o patógeno *Fusarium graminearum* é o agente responsável tanto pela produção da micotoxina zearalenona, quanto de deoxynivalenol, é possível que apresentem os mesmos QTLs atuando na ativação de proteínas relacionadas a infecção da doença.

Zhiponova (2006), ao avaliar a expressão gênica com o propósito de coletar informações sobre o mecanismo molecular da tolerância à seca do trigo, utilizando uma ferramenta de Blast, identificaram, dentre outras, a presença da proteína ribossomal L19 (também identificada neste estudo) na condição de estresse, que está associada a síntese de proteína, mais especificamente do plastídio, e é oriunda da espécie *Oryza sativa*. Outras funcionalidades desta proteína, relacionadas a giberela em trigo, não foram encontradas.

As HSPs (*Heat-shock proteins* – Proteínas de Choque Térmico) são proteínas de estresse, altamente conservadas e presentes em todas as células de

todos os organismos (LI e SRIVASTAVA, 2004). Blumenthal et al. (1998), avaliou a presença de *Heat-Shock Protein 70* e alterações da qualidade da massa resultantes do stress térmico durante o enchimento de grãos no trigo. Neste estudo, foi verificado que a quantidade de HSP 70 aumentou significativamente sob condições de estresse por temperaturas mais elevadas e que a massa dos grãos maduros foi reduzida. As características relacionadas a presença das HSP 70, no estudo em questão, são semelhantes aos efeitos da giberela nos grãos infectados, indicando que esta proteína pode interferir de modo similar para o caso de grãos de trigo giberelados. É importante notar que o fungo tende a se desenvolver mais rapidamente sob condições de temperatura elevadas em relação a condição ideal de cultivo do trigo, bem como elevada umidade, podendo, portanto, ativar as proteínas de choque térmico.

Ao avaliar o mecanismo bioquímico do albinismo em trigo de primavera, através da investigação do padrão da expressão de proteínas do cloroplasto, Hou et al. (2009), observaram homologia de um fragmento diferencialmente expresso com a conhecida *Heat shock 70 kDa protein*. Coincidentemente, um dos sintomas de giberela em trigo é a despigmentação das espigas, evidenciando a possibilidade desta proteína também atuar sob a condição de infecção por giberela.

Com relação à proteína *pentatricopeptide repeat* (PPR), Geddy e Brown (2007), avaliando *Arabidopsis thaliana* e *Brassica rapa*, observaram que os genes que codificam proteínas PPR não são conservados em genomas de plantas e a localização destes é altamente variável. Além disso, o estudo aponta que esses genes se assemelham, em vários aspectos, a outra família de genes de resistência à doenças.

Genes específicos da superfamília *Trichome Birefringence - Like* podem estar relacionados a reação das plantas a doenças. Proteínas desta família foram identificadas interferindo no processo de acetilação de xilano (hemicelulose mais abundante na natureza) em arroz (GAO, et al. 2017) e *Arabidopsis* (BISCHOFF et al., 2010; ZHU et al., 2014). Embora não tenha sido encontrado estudos pertinentes a função da *Protein Trichome Birefringence - Like 14* em trigo, Nühse (2012), constatou a importância da parede celular em resposta ao ataque de patógenos e parasitas. Com um exoesqueleto mecanicamente forte e com multi-camadas, a

parede celular não só permite que as plantas cresçam, mas também as protejam de tais ataques. De acordo com o autor, falhas na biossíntese da parede celular leva a uma maior resistência aos patógenos. Mudanças sutis na composição de polissacarídeos podem ser fatores de susceptibilidade.

Outra proteína em destaque é a fructosiltransferase, que sintetiza frutanos (polímeros de frutose) que são estocados nos vacúolos celulares, servindo como armazenamento de reservas. Além da função de reserva, trabalhos sugerem que os frutanos conferem às plantas resistência à seca e/ou tolerância ao frio (TREVISAN & CARVALHO, 2011; KAWAKAMI & YOSHIDA, 2002). Além disso, Van der Nest et al. (2015), sugeriram uma associação entre invertases e uma estratégia ecológica, uma vez que os fungos dependem dessas enzimas para obter acesso a planta e usar a sacarose derivada delas.

Identificada em seis diferentes locos no alinhamento do Phytozome, a proteína *RAG1-Activating*, foi analisada por Bandillo et al. (2015), influenciando os níveis de proteína e óleo em sementes de soja, possivelmente por esta família de proteínas estar envolvida na atividade de transporte da sacarose. Em soja, também foi observado que a ativação do gene *RAG1* favorece a resistência da planta ao pulgão devido ao efeito antibiótico do gene pela promoção de aminoácidos específicos, reduzindo a sobrevivência, o crescimento e a fecundidade do agente invasor (CHIOZZA et al., 2010). Em trigo, não foram encontrados trabalhos que avaliaram a função desta proteína.

Finalmente, a proteína Myb, alinhada à apenas um *locus* no banco de dados do Phytozome, pertencem a uma grande família de fatores de transcrição e são funcionalmente diversificadas, sendo representadas em todos os eucariotos. Membros dessa família desempenham papéis importantes no desenvolvimento de plantas, metabolismo e respostas a estresses bióticos e abióticos (LIU et al., 2011). De acordo com o autor, no trigo, poucas proteínas Myb foram estudadas em detalhe, sendo apontado sua importância sobre o desenvolvimento da cor da semente, tolerância a salinidade e à seca, bem como resistência a fungos patogênicos.

Zhang et al. (2013), ao caracterizar proteínas diferencialmente expressas entre genótipos que contrastavam em alelos de *Fhb1*, identificaram proteínas

induzidas ou aumentadas que foram associadas à resistência a giberela. As proteínas identificadas na pesquisa de Zhang et al. (2013) estão listadas na Tabela 15 e, comparativamente ao alinhamento local realizado neste estudo, foram identificadas proteínas diferencialmente expressas. Os autores observaram que estas proteínas estão relacionadas com a defesa a penetração de fungos, fotossíntese, metabolismo energético e desintoxicação.

Tabela 15-Proteínas diferencialmente expressas identificadas por Zhang et al. (2013) associadas à resistência a giberela.

Description/Function	
Rossmann-fold NAD(P)(+)-binding proteins*	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic
Rossmann-fold NAD(P)(+)-binding proteins*	Oxygen-evolving enhancer protein 2*
Photosystem II oxygen-envolving enhancer protein 1*	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic
Aspartic proteinase (Triticum aestivum)	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic
Photosystem II oxygen-envolving enhancer protein 1*	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic
Aspartic proteinase (Triticum aestivum)	Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic
Photosystem II oxygen-envolving enhancer protein 1*	Single-stranded nucleic acid protein
Rossmann-fold NAD(P)(+)-binding proteins*	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit
Rossmann-fold NAD(P)(+)-binding proteins	Single-stranded nucleic acid protein
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase small subunit
Phenylcoumaran benzylic ether reductase (PCBER) like*	Nucleoside diphosphate kinase Group I (NDPK_I)-like*
Oxygen-evolving enhancer protein 2, chloroplastic	WD40 domain*
Manganese superoxide dismutase	Beta-cyanoalanine synthase
Superoxide dismutase	Chitinase 1
Superoxide dismutase	Cu/Zn superoxide dismutase
Nucleoside diphosphate kinase Group I (NDPK_I)-like*	Pathogenesis-related protein 10
Ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco), small subunit*	Nucleoside diphosphate kinase Group I (NDPK_I)-like*
Ribulose bisphosphate carboxylase (EC4.1.1.39)small chain precursor	Cu/Zn superoxide dismutase
Pathogenesis-related protein 4	Cu/Zn superoxide dismutase
Pathogenesis-related protein 4	Actin depolymerisation factor/cofilin - like*
20 kDa chaperonin, chloroplastic-like*	

*indicates that matched sequence was found in the EST and its function was the same as indicated by BLAST search.

Por análise de mutação, silenciamento de genes e sobreexpressão transgênica, Rawat et al. (2016), identificou um novo tipo de gene de resistência vegetal que pode conferir resistência à doenças ocasionadas por espécies de *Fusarium*. Os pesquisadores demonstraram que a proteína *pore-forming toxin-like*

(PFT) é ativada pelo gene *Fhb1*, que confere resistência a giberela. Esta proteína codifica uma lectina quimérica com dois domínios de aglutinação e um domínio de toxina ETX/MTX2.

Por fim, foi efetuada a análise dos haplótipos significativos na análise de regressão múltipla. Como no ano de 2015 somente um marcador foi associado, foi realizada apenas uma análise das médias fenotípicas apresentadas por cada alelo (Figura 21). Os genótipos que continham o alelo A para o marcador AX-94549868 apresentaram média do nível de DON de 2,44ppm. Já, a média fenotípica apresentada pelos genótipos que continham o alelo G para o mesmo marcador foi 2,35ppm. Portanto, não houve diferença na média fenotípica dos genótipos sobre os alelos avaliados e o marcador não foi eficiente em diferenciar os genótipos com níveis de DON permitidos daqueles com níveis mais elevados que o autorizado.

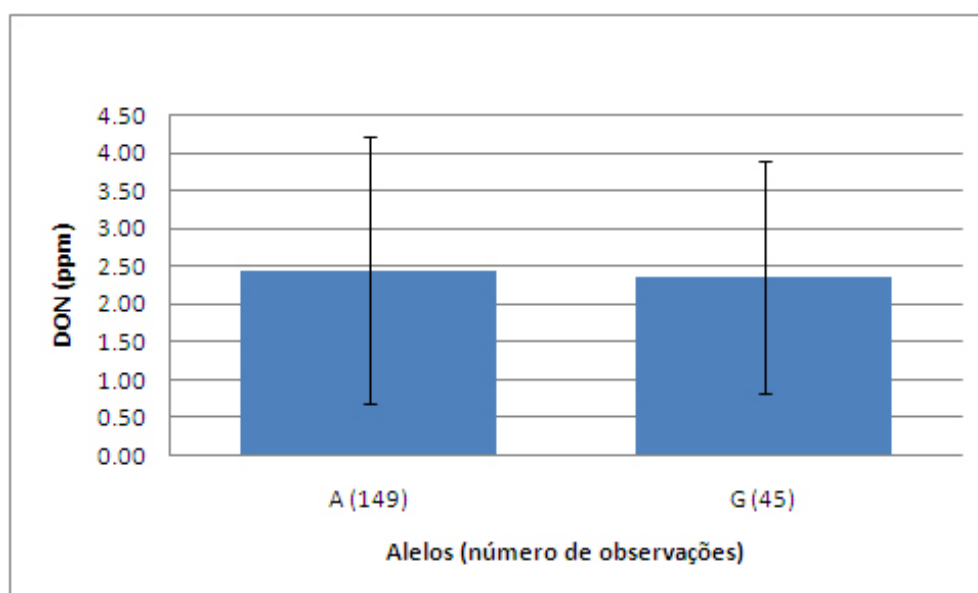


Figura 21-Média fenotípica observada na avaliação dos alelos do marcador AX-94549868 para níveis de micotoxina deoxynivalenol (DON) em trigo no ano de 2015. As barras paralelas ao eixo Y indicam o desvio padrão. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Na distribuição da frequência dos alelos em classes (Figura 22), a maior parte dos genótipos, tanto os que continham o alelo G (53%), quanto os que apresentaram o alelo A (46%), demonstraram níveis de DON mais baixos que

2ppm. Como muitos dos genótipos utilizados neste trabalho são cultivares comerciais representativas do germoplasma de trigo do Brasil, isto indica um sinal positivo quanto aos esforços dos programas de melhoramento em selecionar genótipos mais tolerantes à giberela. Fato também observado por Silva et al. (2015), conforme mencionado anteriormente.

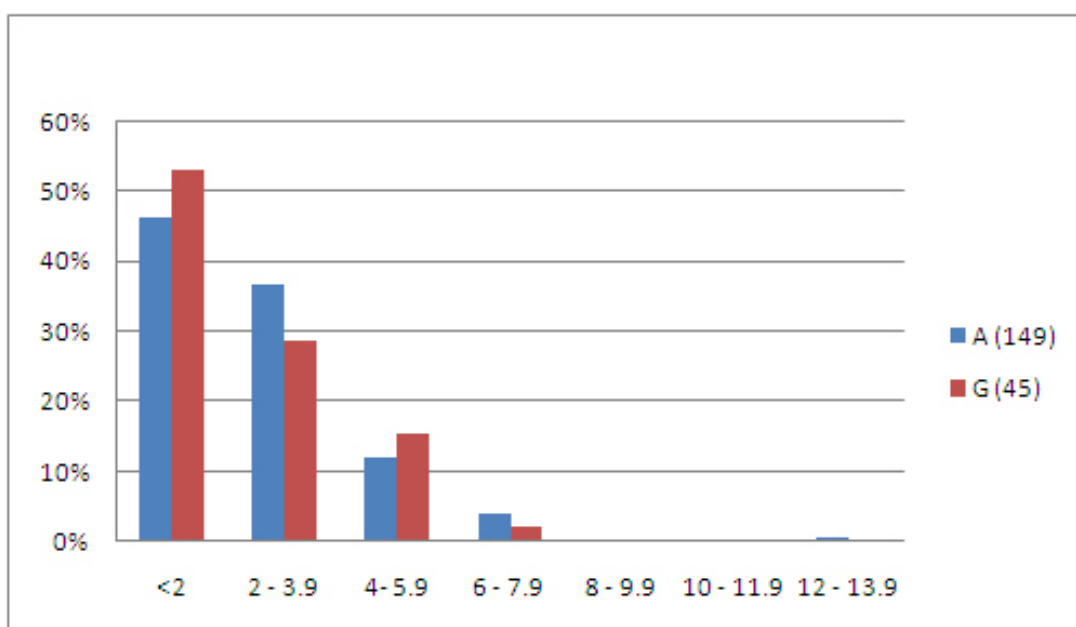


Figura 22-Distribuição da frequência alélica em classes, referente aos níveis de deoxynivalenol encontrados no ano de 2015 para o marcador AX-94549868. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Nas Figuras 23 e 24, estão demonstrados os haplótipos obtidos pelos marcadores significativos na análise de regressão múltipla no ano de 2016. Não foi observada (Figura 23) diferença significativa entre as médias obtidas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. Isto indica que os marcadores encontrados não diferem na obtenção de ganhos com a seleção. O uso de um ou outro marcador será indiferente para a seleção de plantas com níveis de produção de DON mais baixos.

Todavia, foi verificado pela Figura 24, que o haplótipo GGA apresentou maior frequência de genótipos com níveis elevados de produção de micotoxina DON que os demais, não sendo recomendado para seleção quando a intenção é

diminuir os níveis de DON. Por outro lado, o haplótipo GAA apresentou a menor frequência de fenótipos com níveis elevados de DON e a maior frequência de fenótipos com níveis de DON abaixo de 1ppm, evidenciando a importância deste haplótipo em determinar níveis reduzidos de DON.

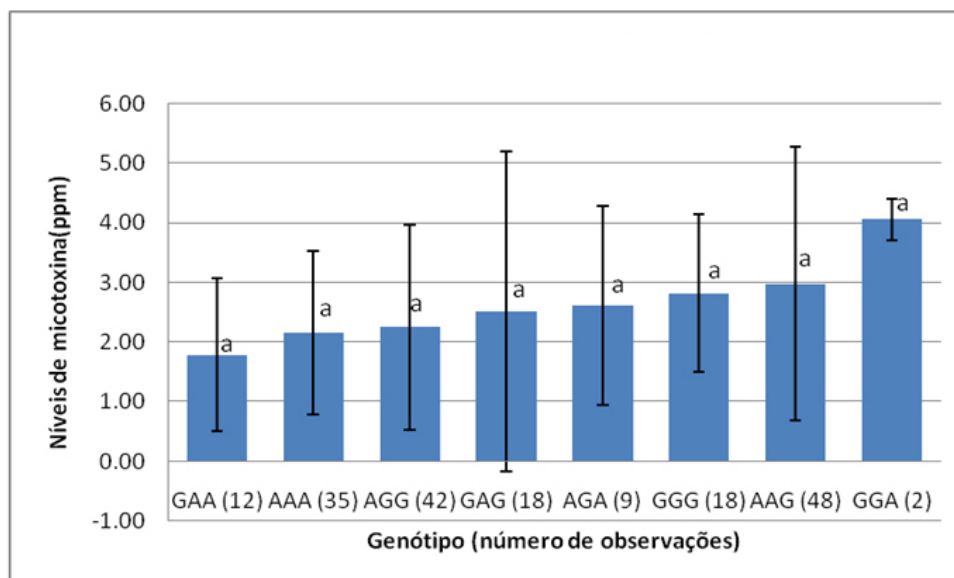


Figura 23-Média dos haplótipos (GAA, AAA, AGG, GAG, AGA, GGG, AAG e GGA) considerando os marcadores significativos (AX-94384118, AX-94627297 e AX-94656029) na análise de regressão múltipla no experimento para avaliação dos níveis de deoxynivalenol em 2016. As barras paralelas ao eixo Y indicam o desvio padrão e as letras logo acima das colunas correspondem ao teste de Tukey. Genótipos com médias ligadas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade de erro. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

O tratamento químico da doença, pelo uso de fungicidas, apresenta baixa eficiência, tanto pela dificuldade de determinar o momento exato da aplicação, quanto pela baixa eficiência apresentada. Além disso, aumenta os custos de produção. Além da dificuldade de controle da doença em nível de campo, é importante ressaltar que os níveis de DON encontrados em alimentos como pães podem aumentar em virtude do processo de fermentação e permanecer no produto

final (SIMSEK et al., 2012). Logo, o modo mais seguro e econômico para se produzir trigo livre de giberela, e da contaminação com DON, é a utilização de cultivares resistentes, reforçando a necessidade de ferramentas de biotecnologia que possam auxiliar os programas de melhoramento genético de trigo na obtenção destas cultivares.

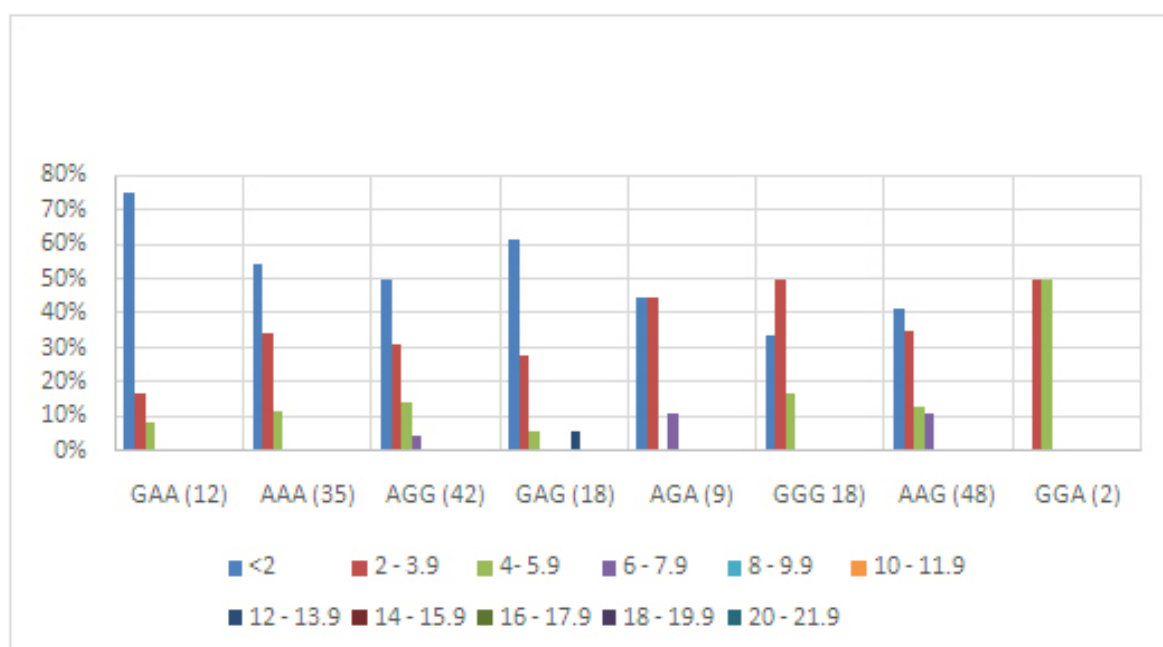


Figura 24-Distribuição da frequência dos fenótipos em cada haplótipo na avaliação do experimento de 2016 quanto a produção de micotoxina deoxynivalenol em trigo. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

4.3 Correlação de Pearson

A magnitude das correlações obtidas variou entre 0,04 e 0,45, sendo todas positivas (Tabela 16). Embora o valor de correlação mais alto verificado no conjunto de dados avaliados tenha sido 0,45, deve-se considerar o número de observações pelas quais foram obtidas as médias para avaliação (180 indivíduos) e a significância das correlações entre giberela 2015 e giberela 2016 (significativo a 1% de probabilidade de erro), bem como entre DON 2015 e DON 2016 (significativo a 5% de probabilidade de erro) (SCHUSTER e CRUZ, 2008). Portanto, estes valores são representativos e devem ser considerados.

Tabela 16-Correlação de Pearson entre as variáveis: severidade de giberela (Giberela2015 e Giberela2016) e níveis de micotoxina deoxynivalenol (DON2015 e DON2016) avaliados nos experimentos dos anos de 2015 e 2016. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2017.

Variáveis	Giberela2015	Giberela2016	DON2015	DON2016
Giberela2015	-			
Giberela2016	0,45**	-		
DON2015	0,05 ^{ns}	0,13 ^{ns}	-	
DON2016	0,13 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,16*	-

** * : Significativo a 1% e 5% de probabilidade de erro pelo teste t, respectivamente.

^{ns}: Efeito não significativo pelo teste t.

A correlação observada entre giberela 2015 e giberela 2016, bem como entre DON 2015 e DON 2016, além de confirmar a eficiência da classificação dos genótipos, mesmo ocorrendo em anos distintos, sob forte influência ambiental, indica que existem QTLs comuns sendo expressos nos dois anos. Esses resultados corroboram com a análise de associação genômica, na qual também foram identificados QTLs em cromossomos comuns nos dois anos de avaliação. A correlação entre DON 2015 e DON 2016 (0,16*), também demonstra que existem QTLs sendo expressos nos dois anos de avaliação, mesmo com condições ambientais diferentes durante o período de avaliação.

De acordo com Coimbra et al. (2000), compreender a associação entre caracteres é fundamental ao melhorista, pois um caráter pode ser responsável pela expressão de outro. Neste estudo, foi verificado que a característica severidade de giberela não está relacionada aos níveis de micotoxina DON ou vice-versa. Segundo Cruz et al. (2004), a ausência de correlação indica a existência de mecanismos fisiológicos distintos atuando na determinação dos caracteres envolvidos. Ou seja, neste caso, a ausência de correlação entre severidade de giberela e níveis de DON nos dois anos indica que estas características apresentam controle genético distinto.

Desjardins et al. (1996), isolaram mutantes de *F. graminearum* interrompendo a síntese da enzima trichodiene (*gen Tri5*), envolvida na biosíntese de tricoteceno. Os isolados mutantes foram patogênicos ao trigo, embora não produziram qualquer toxina. Portanto, mesmo tendo sido interrompida a via de produção de DON, a patogenicidade do fungo ao trigo não foi alterada, evidenciando mais intrinsecamente a indicação de controle genético diferente entre a produção de micotoxina DON e a severidade da doença.

Bai et al. (2001), em um experimento controlado em casa de vegetação, avaliaram uma coleção internacional, constituída por 116 linhagens de trigo, quanto a resistência à giberela e concentração de DON no grão. Estes autores observaram que os coeficientes de correlação foram significativos entre os índices de sintoma da giberela, qualidade das sementes e níveis de DON, indicando que a porcentagem de espiguetas e grãos contaminados podem prever os níveis de DON no grão, sugerindo que a seleção visual pode conduzir a seleção de genótipos mais resistentes e com baixos níveis de DON nos grãos. Entretanto, os autores salientam que sintomas visuais nem sempre podem ser associados a altos níveis de DON, especialmente para as cultivares com resistência moderada tipo II.

Somers et al. (2003), buscando identificar QTLs controlando a resistência a giberela e acúmulo de DON, observaram que os QTLs presentes nos cromossomos 2D e 5A atuam no controle da acumulação de DON, independentemente da resistência a giberela, já o QTL presente no cromossomo 3B foi coincidente tanto para resistência a giberela quanto para acumulação dos níveis de DON. Semagn (2007) identificou um QTL importante para resistência a giberela no cromossomo 1A, que coincidiu com um QTL para conteúdo de DON. Neste estudo, os QTLs relacionados à resistência do trigo à giberela, na análise de regressão múltipla, foram diferentes dos QTLs que atuam para a produção de DON.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente estudo representam um grande avanço aos programas de melhoramento genético de trigo brasileiros e demais programas que utilizam germoplasma com base genética semelhante à utilizada. A identificação de marcadores associados à severidade de giberela em cromossomos diferentes do 3B confirma que a determinação da resistência pode estar vinculada a outros genes. Além disso, os marcadores envolvidos com níveis de produção de DON, que explicaram 65% de toda variação fenotípica eleva a capacidade de obtenção de cultivares resistentes que possam ser disponibilizadas no mercado, reduzindo o tempo e custos para obtenção.

O fato de haver QTLs agindo separadamente na determinação da severidade da doença e acúmulo de DON possibilita a aquisição de ganhos em cultivares que apresentam apenas uma ou outra característica, assim como evidencia a necessidade de investimento em programas que destinem seus esforços a obter cultivares com níveis de contaminação por micotoxina DON reduzidos. Todavia, vale ressaltar que os programas de melhoramento interessados em utilizar os marcadores identificados neste trabalho realizem um estudo de validação na população onde desejam aplicá-los, aumentando as chances de sucesso em seus programas.

A disponibilização destes marcadores aos programas de melhoramento genético promoverá, além do avanço na obtenção de cultivares tecnologicamente definidas às exigências do mercado, maior segurança alimentar a humanos e animais que ingerem alimentos derivados de trigo, bem como sustentabilidade ambiental por reduzir a necessidade de aplicação de fungicidas para controle da doença.

6 CONCLUSÃO

Os SNPs significativos para resistência do trigo à giberela por desequilíbrio de ligação foram encontrados apenas no experimento do ano de 2016, sendo associados à QTLs presentes nos cromossomos 1B, 4D e 7D, com 13% de explicação fenotípica.

Nove marcadores SNPs significativos foram encontrados nos cromossomos 1A, 1B, 1D, 2D, 3D, 5D, 6D e 7B, com 65,7% de explicação fenotípica para níveis de produção de micotoxina deoxynivalenol em trigo.

Não houve correlação significativa entre severidade de giberela e produção de micotoxina DON, indicando que o controle genético entre as características avaliadas é distinto.

Os marcadores identificados neste trabalho podem ser utilizados para seleção assistida por marcadores moleculares visando à obtenção de plantas mais resistentes a giberela.

6 REFERÊNCIAS

- ABITRIGO - Associação Brasileira da Indústria do Trigo. **O que é o trigo**. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/index.php?mpg=02.00.00> Acesso em: 17, jul, 2015.
- ABITRIGO - Associação Brasileira da Indústria do Trigo. **Consumo mundial de trigo**. Disponível em: http://abitrigo.com.br/associados/arquivos/06.cons_trigo.pdf Acesso em: 04, abril, 2017.
- AFFYMETRIX ®. **Axiom® Wheat Genotyping Arrays**. Disponível em: http://www.affymetrix.com/catalog/prod850001/AFFY/Axiom%26%23174%3B-Wheat-Genotyping-Arrays#1_1 Acesso em: 19, jan, 2016.
- AGUIAR, M.S. Marcadores moleculares como ferramenta no melhoramento genético de plantas. **Anais: I Ciclo de Palestras sobre o Uso de Marcadores Moleculares na Pesquisa Agropecuária**. ISBN 978-85-7035-131-9. Ana Veruska Cruz da Silva, editora técnica. Brasília, DF: Embrapa, p.10-14, 2012.
- AHAMED, S.; FOSTER, J.S.; BUKOVSKY, A.; WIMALASENA, J. Signal transduction through the ras/Erk pathway is essential for the mycoestrogen zearalenone-induced cell-cycle progression in MCF-7 cells. **Molecular Carcinogenesis**, v.30, p.88-98, 2001.
- ALVES, R.H.; NORA, T.D.; FRANCO, F.A.; COSTA, A.C.T.; STANGARLIN, J.R. Reação de Resistência tipo I e tipo II a Giberela em cultivares de trigo. **Summa Phytopathologica**, v.39, n.3, p.167-171, 2013a.
- ALVES, R.H.; NORA, T.D.; FRANCO, F.A.; COSTA, A.C.T.; STANGARLIN, J.R. Reação de resistência tipo I à Giberela em cultivares de trigo. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v.39, n.2, p.97-101, 2013b.
- ALZATE-MARIN, A.L.; CERVIGNI, G.D.L.; MOREIRA, M.A., BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia brasileira**, v.30, n.4, p.333 - 342, 2005.
- ANDERSON, J.A; STACK, R.W.; LIU,S.; WALDRON, B.L.; FJELD, A.D.; COYNE, C.; MORENO-SEVILLA, B.; MITCHELL FETCH, J.; SONG, Q.J.; CREAGAN, P.B.; FROHBERG, R.C. DNA marker for Fusarium head blight resistance QTL in two wheat populations. **Theoretical and Applied Genetics**, v.102, p.1164-1168, 2001.

- ARRUDA, M.P.; BROWN,P.; BROWN-GUEDIRA, G.; KRILL, A.M.; THURBER, C.; MERRILL, K.R.; FORESMAN, B.J.; KOLB, F.L. Genome-Wide Association Mapping of Fusarium Head Blight Resistance in Wheat using Genotyping-by-Sequencing. **The Plant Genome**, v.9, n.1, p.1-14, 2016.
- ATWELL, S.; HUANG, Y.S.; VILHJÁLMSSON, B.J.; WILLEMS, G.; HORTON, M.; LI, Y.; MENG, D.; PLATT, A.; TARONE, A.M.; HU, T.T.; JIANG, R.; MULIYATI, N.W.; ZHANG, X.; AMER, M.A.; BAXTER, I.; BRACHI, B.; CHORY, J.; DEAN, C.; DEBIEU, M.; DE MEAUX, J.; ECKER, J.R.; FAURE, N.; KNISKERN, J.M.; JONES, J.D.G.; MICHAEL, T.; NEMRI, A.; ROUX, F.; SALT, D.E.; TANG, C.; TODESCO, M.; TRAW, M.B.; WEIGEL, D.; MARJORAM, P.; BOREVITZ, J.O.; BERGELSON, J.; NORDBORG, M. Genome-Wide Association Study of 107 Phenotypes in *Arabidopsis Thaliana* Inbred Lines. **Nature**, v.465, n.7298, p.627-631, 2010.
- BAI. G.H.; PLATTNER, R.; DESJARDINS, A.; KOLB, F.; Resistance to Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. **Plant Breeding**, v.120, p.1-6, 2001.
- BAI. G.H.; SHANER, G. Management an resistance in wheat and barley to Fusarium head blight. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.135-161, 2004.
- BACALTCHUK, B.; CHAVES, M.S.; LIMA, M.I.P.M.; COSTAMILAN, L.M.; MACIEL, J.L.N.; SALVADORI, J.R.; GAMBATTO, A. **Características e cuidados com algumas doenças do trigo**. ISSN 1518-6512. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 11p. HTML. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 64). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do64.pdf Acesso em: 24, ago, 2016.
- BALDISSERA, J.N.C.; Valentini, G.; COAN, M.M.D.; GUIDOLIN, A.F.; COIMBRA, J.L.M. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamias. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.13, n.2, p.181-189, 2014.
- BANDILLO, N.; JARQUIN, D.; SONG, Q.; NELSON, R.; CREGAN, P.; SPECHT, J.; LORENZ, A. A population structure and genome-wide association analysis on the USDA soybean germplasm collection. **Plant Genome**, v.8, n.3, p.1-13, 2015.
- BASNET, B. R.; GLOVER, K.D.; IBRAHIM, A.M.H.; YEN, Y.; CHAO, S. A QTL on chromosome 2DS of 'Sumai 3' increases susceptibility to *Fusarium* head blight in wheat. **Euphytica**, v.186, n.1, p.91-101, 2011.

- BATURO-CIEŚNIEWSKA, A.; LUKANOWSKI, A.; KOLENDA, M. Effect of fungicide application on Wheat Head Blight, occurrence of *Fusarium* spp. and mycotoxin production. **Plant Breeding and Seed Science**, v.63, p.29-8, 2012.
- BAUER, H.F.; SANTANA, M., POLTI, P., PONTE, E.M.D. Avaliação do efeito de fungicidas em tratamento protetor e erradicante de sementes para o controle de *Fusarium graminearum* de diferentes quimiotipos. **Salão de Iniciação Científica**. Porto Alegre: UFRGS, 2011. Disponível em: http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/48629/Poster_11539.pdf?sequence=2 Acesso em: 25, jul, 2015.
- BENNET, J.W.; KLICH, M. Mycotoxins. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.16, n.3, p.497-516, 2003.
- BERNARDO, A.N.; MA, H.; ZHANG, D.; BAI, G. Single nucleotide polymorphism in wheat chromosome region harboring *Fhb1* for *Fusarium* head blight resistance. **Molecular Breeding**, v.29, n.2, p.477-488, 2011.
- BISCHOFF, V.; NITA, S.; NEUMETZLER, L.; SCHINDELASCH, D.; URBAIN, A.; ESHED, R.; PERSSON, S.; DELMER, D.; SCHEIBLE, W.R. Trichome Birefringence and its homolog at5g01360 encode plant-specific duf231 proteins required for cellulose biosynthesis in arabidopsis. **Plant Physiology**, v.153, n.2, p.590-602, 2010.
- BLUMENTHAL, C.; STONE, P.J.; GRAS, P.W.; BEKES, F.; CLARKE, B.; BARLOW, E.W.R.; APPELS, R.; WRIGLEY, C.W. Heat-Shock Protein 70 and Dough-Quality Changes Resulting from Heat Stress During Grain Filling in Wheat. **Cereal Chemistry**, v.75, n.1, p.43-50, 1998.
- BOYCHEVA, S. Regulation of vitamin B6 biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. 242p. **Thèse de doctorat** : Univ. Genève, no.Sc.4696, 2014.
- BRADBURY, P.J., ZHANG, Z., KROON, D.E., CASSTEVENS, T.M., RAMDOSS, Y., BUCKLER, E.S. TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples. **Bioinformatics**, v.23, p.2633-2635, 2007.
- BROOKES, A.J. The essence of SNPs. **Gene**, v.243, n.2, p.177-186, 1999.
- BUERSTMAYR, M.; ALIMARI, A.; STEINER, B.; BUERSTMAYR, H. Genetic mapping of QTL for resistance to *Fusarium* head blight spread (type 2 resistance) in a *Triticum dicoccoides* × *Triticum durum* backcross-derived population. **Theoretical and Applied Genetics**, v.126, n.11, p.2825-2834, 2013.

- BULFIELD, G. Strategies for the future. **Poultry Science**, v.76, p.1071-1074, 1997.
- CAPARRÓS-MARTÍN, J.A.; MCCARTHY-SUÁREZ, I.; CULIÁÑEZ-MACIÀ, F.A. HAD hydrolase function unveiled by substrate screening: enzymatic characterization of *Arabidopsis thaliana* subclass I phosphosugar phosphatase AtSgpp. **Planta**, v.237, n.4, p.943-954, 2013.
- CASA, R.T.; REIS, E.M.; BLUM, M.M.C.; BOGO, A.; SCHEER, O.; ZANATA, T. Danos causados pela infecção de *Gibberella zeae* em trigo. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.289-293, 2004.
- CASTRO, C.M.; PEREIRA, A.S. **Mapeamento por associação em plantas: conceitos básicos e perspectivas de uso no melhoramento de batata**. ISSN 1516-8840. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 30p., 2008.
- CEREALSDB. **Wheat 820K and 35K Axiom® Arrays**. Disponível em: http://www.cerealsdb.uk.net/cerealgenomics/CerealsDB/axiom_download.php
Acesso em: 24, maio, 2017 às 18h05min.
- CHAO, S.; ZHANG, W.; AKHUNOV, E.; SHERMAN, J.; MA, Y.; LUO, M.C.; DUBCOVSKY, J. Analysis of gene-derived SNP marker polymorphism in US wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Molecular Breeding**, v.23, n.1, p.23-33, Jan, 2009.
- CHIOZZA, M.; O'NEAL, M.E.; MacINTOSH, G.C. Constitutive and induced differential accumulation of amino acid in leaves of susceptible and resistant soybean plants in response to the soybean *aphid* (hemiptera: *aphididae*). **Environmental Entomology**, v.39, n.3, p.856-864, 2010.
- COIMBRA, J.L.M.; GUIDOLIN, A.F.; CARVALHO, F.I.F.; AZEVEDO, R. Correlações Canônicas: II - Análise do rendimento de grãos de feijão e seus componentes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.1, p.31-35, 2000.
- COODETEC – Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola. **Guia de Produtos Brasil e Paraguai – Cultivares de Trigo**. p.1-4, 2012. Disponível em: http://www.coodetec.com.br/downloads/Guia_de_produtos_Trigo.pdf Acesso em: 05, abril, 2017.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **A cultura do trigo**. Brasília: Conab, ISBN: 978-85-62223-09-9, 218p., 2017a.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Séries Históricas de Área Plantada, Produtividade e Produção, Relativas às Safras 1976/77 a 2015/16 de Grãos**.

Disponível

em:

http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&ordem=produto&Pagina_objcmisc_onteudos=3 Acesso em: 04, abril, 2017b.

CRUZ, C.D. **Programa Genes – Biometria**. Viçosa: UFV, 382p., 2006.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3ª Ed. Viçosa: UFV, p.171-193, 2004.

CUTHBERT P. A.; SOMERS, D.J.; THOMAS, J.; CLOUTIER, S.; BRULÉ-BABEL, A. Fine mapping Fhb1, a major gene controlling fusarium head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v.112, p.1465-1472, 2006.

DANELLI, A.L.D.; CAMERA, J.; CERBARO, L. Ciclo da doença em trigo. **Seminário sobre giberela em cereais de inverno: coletânea de trabalhos** / organizador Erlei Melo Reis. Passo Fundo: Berthier, p.31-41, 2011.

DEL PONTE, E.M.; FERNANDES, J.M.C.; PIEROBOM, C.R.; BERGSTROM, G.C. Giberela do trigo – aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.587-605, 2004.

DESJARDINS, A.E.; PROCTOR, R.H.; BAI, G.; McCORMICK, S.P.; SHANER, G.; BUECHLEY, G.; HOHN, T.M. Reduced virulence of trichothecene-nonproducing mutants of *Gibberella zeae* in wheat field tests. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v.9, n.9, p.775-781, 1996.

DONG, L.; HUO, N.; WANG, Y.; DEAL, K.; LUO, M.C.; WANG, D.; ANDERSON, O.D.; GU, Y.Q. Exploring the diploid wheat ancestral A genome through sequence comparison at the high-molecular-weight glutenin locus region. **Molecular Genetics Genomics**, v.287, n.11-12, p.855-866, 2012.

DOU – Diário Oficial da União. **Resolução - RDC nº7, de 18 de fevereiro de 2011**. Seção1, ISSN 1677-7042, nº46, p.66-67, quarta-feira, 9 de março de 2011.

DOU – Diário Oficial da União. **Resolução - RDC nº138, de 08 de fevereiro de 2017**. Seção1, p.45, 9 de fevereiro de 2017.

DWEBBA, C.C.; FIGLAN, S.; SHIMELIS, H.A.; MOTAUNG, T.E.; SYDENHAM, S.; MWADZINGENI, L.; TSILO, T.J. Fusarium head blight of wheat: Pathogenesis and control strategies. **Crop Protection**, v.91, p.114-122, 2017.

- EMBRAPA TRIGO. **Melhoramento genético de trigo para o Brasil 2012-2016.** Disponível em: <https://www.embrapa.br/trigo/busca-de-projetos/-projeto/202427/melhoramento-genetico-de-trigo-para-o-brasil-2012-2016> Acesso em: 21, jul, 2015.
- EUROPEAN COMMISSION. COMMISSION REGULATION (EC) n°1881 of 19 december 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Union.** L364, p.5-24, 2006.
- FALEIRO, F.G. Princípio científico e análises genéticas utilizando marcadores moleculares. In: FALEIRO, F.G.; ANDRADE, S.R.M.; REIS JUNIOR, F.B. (Eds). **Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária.** Planaltina: Embrapa Cerrados, cap.2, p.31-54, 2011.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food Outlook - Biannual report on global food markets.** Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-l5703E.pdf> Acesso em: 18, agosto, 2017.
- FATIMA, N. Identification and deployment of QTL for fusarium head blight resistance in U.S. hard winter wheat. 106p. **Master's thesis.** Kansas State University, Manhattan, 2016.
- FEDERIZZI, L.C.; SCHEEREN, P.L.; NETO, J.F.B.; MILACH, S.C.K.; PACHECO, M.T. **Melhoramento de trigo: classificação botânica.** In BORÉM, A (ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. 2ed. Viçosa, MG: UFV, p.660-662, 2005.
- FERNANDES, J.M.C.; PICININI, E.C. **Controlando as doenças de trigo na hora certa.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1999. 3p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 22). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co22.htm> Acesso em: 24, ago, 2016.
- FÍGOLI, C.B.; ROJO, R.; GASONI, L.A.; KIKOT, G.; LEGUIZAMÓN, M.; GAMBA, R.R.; BOSCH, A.; ALCONADA, T.M. Characterization of Fusarium graminearum isolates recovered from wheat samples from Argentina by Fourier transform infrared spectroscopy: Phenotypic diversity and detection of specific markers of aggressiveness. **International Journal of Food Microbiology**, v.244, p.36-42, 2017.
- FREITAS, S.; MORALES, A.C.; LAVAGNINI, T.C.; BAGGIO, M.V.O significado da expressão "haplótipo" em estudos populacionais. Um estudo de caso com

- Chrysoperla externa* (Hexapoda: Neuroptera: Chrysopidae). **Resumos do 55º Congresso Brasileiro de Genética**. ISBN 978-85-89109-06-2, p.358, set, 2009.
- GAO, H.; WILLIAMSON, S.; BUSTAMANTE, C.D. A Markov Chain Monte Carlo approach for joint inference of population structure and inbreeding rates from multilocus genotype data. **Genetics**, v.176, n.3, p.1635-1651, 2007.
- GAO, Y.; HE, C.; ZHANG, D.; LIU, X.; XU, Z.; TIAN, Y.; LIU, X.H.; ZANG, S.; PAULY, M.; ZHOU, Y.; ZHANG, B. Two Trichome Birefringence-Like Proteins mediate xylan acetylation, which is essential for leaf blight resistance in rice. **Plant Physiology**, v.173, n.1, p.470-481, 2017.
- GARCIA, J.R.D. *Fusarium graminearum* em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.): detecção, efeitos e controle. 78p. **Tese (Doutorado)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.
- GEDDY, R.; BROWN, G. Genes encoding pentatricopeptide repeat (PPR) proteins are not conserved in location in plant genomes and may be subject to diversifying selection. **BMC Genomics**, v.8, n.130, p.1-13, 2007.
- GERVAIS, L.; DEDRYVER, F.; MORLAIS, J.Y.; BODUSSEAU, V.; NEGRE, S.; BILOUS, M.; GROOS, C.; TROTTELET, M. Mapping of quantitative trait loci field resistance to *Fusarium* head blight in a European winter wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v.106, p.961-970, 2003.
- GILBERT, J.; PROCUNIER, J.D.; AUNG T. Influence of the D genome in conferring resistance to *Fusarium* head blight in spring wheat. **Euphytica**, v.114, p.181-186, 2000.
- GUO P.G.; BAI, G.H.; SHANER, G.E. AFLP and STS tagging of a major QTL for *Fusarium* head blight resistance in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v.106, p.1011-1017, 2003.
- GUPTA, P.K.; ROY, J.K.; PRASAD, M. Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants. **Current Science**, v.80, n.4, p.4524-535, 2001.
- HAO, C.; WANG, Y.; HOU, J.; FEUILLET, C.; BALFOURIER, F.; ZHANG, X. Association mapping and haplotype analysis of a 3.1-Mb genomic region involved in *Fusarium* head blight resistance on wheat chromosome 3BS. **PlosOne**, v.7, n.10, e46444, 2012.

- HARTWIG, I.; CARVALHO, F.I.; OLIVEIRA, A.C.; VIEIRA, E.A.; BERTAN, I.; SILVA, J.A.G.; BUSATO, C.C.; SILVEIRA, G.; FONSECA, D.A.R.; TERRES, L.R. Estimativa do tamanho de populações segregantes de trigo hexaplóide para avaliação de caracteres quantitativos. **Revista Ceres**, v.54, n.312, p.139-152, 2007.
- HE, X.; SINGH, P.K.; SCHLANG, N.; DUVEILLER, E.; DREISIGACKER, S.; PAYNE, T.; HE, Z. Characterization of Chinese wheat germplasm for resistance to Fusarium head blight at CIMMYT, Mexico. **Euphytica**, v.195, n.3, p.383-395, 2013.
- HERMAN, E.M.; LARKINS, B.A. Protein storage bodies and vacuoles. **Plant Cell**, v.11, p.601–613, 1999.
- HINDORFF, L.A.; SETHUPATHY, P.; JUNKINS, H.A.; RAMOS, E.M.; MEHTA, J.P.; COLLINS, F.S.; MANOLIO, T.A. Potential Etiologic and Functional Implications of Genome-Wide Association Loci for Human Diseases and Traits. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.106, n.23, p.9362-9367, 2009.
- HOU, D.Y.; XU, H.; DU, G.Y.; LIN, J.T.; DUAN, M.; GUO, A.G. Proteome analysis of chloroplast proteins in stage albinism line of winter wheat (*Triticum aestivum*) FA85. **BMB Reports**, v.42, n.7, p.450-455, 2009.
- ILLUMINA. **Pooled resources. Reduced costs. Great results.** Disponível em: <http://www.illumina.com/applications/agriculture/consortia.html> Acesso em: 27, jul, 2015.
- INQUIMA – Tecnologia em Aplicação. **Causa, consequências e controle da Giberela e Brusone nas culturas de trigo.** Publicado em: 02, outubro, 2014. Disponível em: <http://inquima.eco.br/empresa/causa-consequencias-e-controle-da-brusone-nas-culturas-de-trigo/> Acesso em: 21, jul, 2015.
- ISLEIB, T.G. Recovery of superior homozygous progeny from biparental crosses and backcrosses. **Crop Science**, v.39, p.558-563, 1999.
- IWGSC – International Wheat Genome Sequencing Consortium. A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome., **Science**, New York, N.Y., v.345, n.6194, p.1251788, 2014.
- JMP[®], Version 3.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1990.
- JONES, E.S.; SULLIVAN, H.; BHATTRAMAKKI, D.; SMITH, J.S.C. A comparison of simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism marker technologies

- for the genotypic analysis of maize (*Zea mays* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v.115, p.361-371, 2007.
- KAWAKAMI, A.; YOSHIDA, M. Molecular Characterization of Sucrose: Sucrose 1-Fructosyltransferase and Sucrose: Fructan 6-Fructosyltransferase Associated with Fructan Accumulation in Winter Wheat during Cold Hardening. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.66, n.11, p.2297-2305, 2002.
- KOLB, F.L.; BAI, G.H.; MUEHLBAUER, G.J.; ANDERSON, J.A.; SMITH, K.P.; FEDAK, G. Host plant resistance for Fusarium head blight: Mapping and manipulation with molecular markers. **Crop Science**, v.41, p.611-619, 2001.
- KOLLERS, S. et al. Genome-wide association mapping of tan spot resistance (*Pyrenophora tritici-repentis*) in European winter wheat. **Molecular breeding**, v.34, n.2, p.363-371, 2014.
- KUGLER, K.G.; SIEGWART, G.; NUSSBAUMER, T.; AMETZ, C.; SPANNAGL, M.; STEINER, B.; LEMMENS, M.; MAYER, K.F.X.; BUERSTMAYR, H.; SCHWEIGER, W. Quantitative trait loci-dependent analysis of a gene co-expression network associated with Fusarium head blight resistance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). **BMC Genomics**, v.14, n.728, p.15, 2013.
- LE GOUIS, J.; BORDES, J. ; RAVEL, C. ; HEUMEZ, E. ; FAURE, S. ; PRAUD, S. ; GALIC, N. ; REMOUE, C. ; BALFOURIER, F. ; ALLARD, V. ; ROUSSET, M. Genome-wide association analysis to identify chromosomal regions determining components of earliness in wheat. **Theoretical and applied genetics**, v.124, n.3, p.597-611, 2012.
- LEGRAND, F.; PICOT, A.; COBO-DÍAZ, J.F.; CHEN, W.; FLOCH, G.L. Challenges facing the biological control strategies for the management of Fusarium Head Blight of cereals caused by *F. graminearum*. **Biological Control**, v.113, p.26-38, 2017.
- LESLIE, J.F.; SUMMERELL, B.A. **The Fusarium laboratory manual**. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., 388p., 2006.
- LI, Z.; SRIVASTAVA, P. Heat-Shock Proteins. **Current Protocols in Immunology**, v.58, appendix 1, 2004.
- LI, G.; BAI, G.; CARVER, B. F.; ELLIOTT, N. C.; BENNETT, R. S.; WU, Y.; HUNGER, R.; BONMAN, J. M.; XU, X. Genome-wide association study reveals genetic architecture of coleoptile length in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v.130, n.2, p.391-401, 2017.

- LIMA, M.I.P.M. Estádios de suscetibilidade de espigas de trigo a giberela. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.296, 2003. Suplemento.
- LIMA, M.I.P.M. Giberela ou brusone? **Orientações Para a Identificação Correta Dessas Enfermidades Em Trigo e em Cevada**. Passo Fundo: Embrapa Trigo. 56p., 2004. Documentos Online, 40. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do40.htm Acesso em: 26, jul, 2015.
- LIMA, M.I.P.M.; SÓ E SILVA, M.; CAIERÃO, E.; SCHEREEN, P.L.; DEL DUCA, L. de J. A.; NASCIMENTO JÚNIOR, A. do; PIRES, J.L. **Avaliação de giberela em genótipos de trigo do Ensaio Estadual de Cultivares, na região de Passo Fundo, em 2005**. ISSN 1518-6512. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 7p. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 66). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do66.htm Acesso em: 05, abril, 2017.
- LIU, S.; ANDERSON, A. Marker assisted evaluation of Fusarium head blight resistant wheat germplasm. **Crop Science**, v.43, p.760-766, 2003.
- LIU, H., ZHOU, X., DONG, N.; LIU, X.; ZHANG, H.; ZHANG, Z. Expression of a wheat MYB gene in transgenic tobacco enhances resistance to *Ralstonia solanacearum*, and to drought and salt stresses. **Functional & Integrative Genomics**, v.11, p.431-443, 2011.
- LOZADA, D.N.; MASON, R.E.; BABAR, M.A.; CARVER, B.F.; GUEDIRA, G.B.; MERRILL, K.; ARGUELLO, M.N.; ACUNA, A.; VIEIRA, L.; HOLDER, A.; ADDISON, C.; MOON, D.E.; MILLER, R.G.; DREISIGACKER, S. Association mapping reveals loci associated with multiple traits that affect grain yield and adaptation in soft winter wheat. **Euphytica**, p.213-222, 2017.
- MALLMANN, C.A.; DILKIN, P.; MALLMANN, A.O.; OLIVEIRA, M.S.; ADANIYA, Z.N.C.; TONINI, C. **Tropical Plant Pathology**, v.42, n.3, p.146-152, 2017.
- MALOSETTI, M.; VAN DER LINDEN, C.G.; VOSMAN, B.; VAN EEUWIJK, F.A. A mixed-model approach to association mapping using pedigree information with an illustration of resistance to *Phytophthora infestans* in potato. **Genetics Society of America**, Pittsburgh, v. 175, p.879-889, 2007.
- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Trigo**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/trigo> Acesso em: 20, jul, 2015.

- MCCARTNEY, C.A.; BRÛLÉ-BABEL, A.L.; FEDAK, G.; MARTIN, R.A.; MCCALLUM, B.D.; GILBERT, J.; HIEBERT, C.W.; POZNIAK, C.J. Fusarium Head Blight Resistance QTL in the Spring Wheat Cross Kenyon/86ISMN 2137. **Frontiers in Microbiology**, v.7, n.1542, p.1-11, 2016.
- McDONALD, M.D.; ELLIOT, L.J.; SWEENEY, P.A. DNA extraction from dry seeds for RAPD analyses in varietal identification studies. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.22, n.1, p.171-176, 1994.
- MCMULLEN, M.; BERGSTROM, G.; DILL-MACKY, R.; SHANER, G. A. Unified Effort to Fight an Enemy of Wheat and Barley: Fusarium Head Blight. **Plant Disease**, v.96, n.12, p.1712-1728, 2012.
- MELCHINGER, A.E.; UTZ, H.F.; SCHON, C.C. QTL analyses of complex traits with cross validation, bootstrapping and other biometric methods. **Euphytica**, Wageningen, v.137, n.1, p.1-11, 2004.
- MORGANTE, M.; SALAMINI, F. From plant genomics to breeding practice. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v.14, p.214-219, 2003.
- MULETA, K.T.; BULLI, P.; RYNEARSON, S.; CHEN, X.; PUMPHREY, M. Loci associated with resistance to stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in a core collection of spring wheat (*Triticum aestivum*). **PLoS One**, v.12, n.6, e0179087, 2017.
- NARUOKA, Y.; GARLAND-CAMPBELL, K.A.; CARTER, A.H. Genome-wide association mapping for stripe rust (*Puccinia striiformis* F. sp. *tritici*) in US Pacific Northwest winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v.128, n.6, p.1083-1101, 2015.
- NIWA, S.; KUBO, K.; LEWIS, J.; KIKUCHI, R.; ALAGU, M.; BAN, T. Variations for Fusarium head blight resistance associated with genomic diversity in different sources of the resistant wheat cultivar 'Sumai 3'. **Breed Science**, v.64, n.1, p.90-96, 2014.
- NÜHSE, T.S. Cell wall integrity signaling and innate immunity in plants. **Frontiers in Plant Science**, v.3, p. 280, 2012.
- OLAZAR, M.R.R. Uma metodologia para a descoberta de marcadores genéticos em estudos de associação. 133p. **Tese de doutorado** - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

- OPHIR, R.; GRAUR, D. Patterns and rates of indel evolution in processed pseudogenes from humans and murids. **Gene**, v.205, p.191-202, 1997.
- OSÓRIO, E.A., PIEROBOM, C.R., LUZZARDI, G.C.; FRANCO, L.B. Correlação de suscetibilidade à giberela com caracteres da planta de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.2, n.2, p.111-114, 1998.
- PEARSON, T.A.; MANOLIO, T.A. How to interpret a genome-wide association study. **JAMA**, v.299, p.1335-1344, 2008.
- PHUNG, N.T.P.; MAI, C.D.; MOURNET, P.; FROUIN, J.; DROC, G.; TA, N.K.; JOUANNIC, S.; LÊ, L.T.; DO, V.N.; GANTET, P.; COURTOIS, B. Characterization of a Panel of Vietnamese Rice Varieties Using DArT and SNP Markers for Association Mapping Purposes. **BMC Plant Biology**, v.14, p.371, 2014.
- PINTO, V.E.F.; TERMINIELLO, L.A.; BASILICO, J.C.; RITIENI, A. Natural occurrence of nivalenol and mycotoxigenic potential of *Fusarium graminearum* strains in wheat affected by head blight in Argentina. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.39, n.1, p.157-162, 2008.
- PUMPHREY, M.O.; BERNARDO, R.; ANDERSON, J. Validating the Fhb1 QTL for Fusarium head blight resistance in near-isogenic wheat lines developed from breeding populations. **Crop Science**, v.47, p.200-206, 2007.
- RAMALHO, M.A.P.; LAMBERT, E.S. Biometria e o melhoramento de plantas na era da genômica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.3, n.2, p.221-242, 2004.
- RAWAT, N.; PUMPHREY, M.O.; LIU, S.; ZHANG, X.; TIWARI, V.K.; ANDO, K.; TRICK, H.N.; BOCKUS, W.W.; AKHUNOV, E.; ANDERSON, J.A.; GILL, B.S. Wheat *Fhb1* encodes a chimeric lectin with agglutinin domains and a pore-forming toxin-like domain conferring resistance to Fusarium head blight. **Nature Genetics**, v.48, p.1576-1580, 2016.
- REIS, E.M. **Doenças do trigo III – Fusariose**. São Paulo, 1ªed, 28p., 1985.
- REIS, E.M. **Doenças do trigo III – Giberela**. 2ªed revisada e ampliada, 13p., 1988.
- REIS, E.M.; MEDEIROS, C.A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Londrina: ES Comunicação S/C. 96p., 2001.
- REIS, E.M.; CASA R.T. **Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle**. 2ªed. Lages: Graphel, 176p. 2007.

- REIS, E.M.; BOARETO, C.; DANELLI, A.L.D.; ZOLDAN, S.M. Anthesis, the infectious process and disease progress curves for fusarium head blight in wheat. **Summa phytopathologica**, v.42, n.2, p.134-139, 2016.
- RESENDE, M.D.V.; SILVA, F.F.; RESENDE-JUNIOR, M.F.R. Genética de Associação (GWS). In: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. **Biotechnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, p.119-150, 2013.
- ROSENBERG, N.; SHIMONI, Y.; ALTSCHULER, Y.; LEVANONY, H.; VOLOKITA, M.; GALILI, G. Wheat (*Triticum aestivum* L.) [gamma]-Gliadin Accumulates in Dense Protein Bodies within the Endoplasmic Reticulum of Yeast. **Plant Physiology**, v.102, n.1, p.61-69, 1993.
- RUDD, J.C.; HORSLEY, R.D.; MCKENDRY, A.L.; ELIAS, E.M. Host plant resistance genes for Fusarium head blight: I. Sources mechanisms and utility in conventional breeding systems. **Crop Science**, v.41, p.620-627, 2001.
- SAMBROOCK, J., FRITSCH, E.F., MANIATIS, T. **Molecular cloning a laboratory manual**, 2nd Ed. New York, Cold Spring Harbor Laboratory Press, v.3, p.21, 1989.
- SANTANA, F.M.; LAU, D.; CARGNIN, A.; SEIXAS, C.D.S.; SCHIPANSKI, C.A.; FEKSA, H.; WESP, C.; BLUM, M.; BASSOI, M.C. **Eficiência de fungicidas para o controle de giberela em trigo: resultados dos ensaios cooperativos - safra 2012**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 10p., 2014. Comunicado técnico online, 336. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co336.htm Acesso em: 27, jul, 2015.
- SAVI, G.D.; PIACENTINI, K.C.; TIBOLA, C.S.; SANTOS, K., MARIA, G.S.; SCUSSEL, V.M. Deoxynivalenol in the wheat milling process and wheat-based products and daily intake estimates for the Southern Brazilian population. **Food Control.**, v.62, p.231-236, 2016.
- SCHERLOSKI, A.; MONTECELLI, T.D.N.; MIORANZA, F.; LAZZARI, F.; POLO, L.R.T.; SCHUSTER, I. Validação de marcadores moleculares para resistência à giberela em genótipos brasileiros de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.1, p.63-72, 2015.
- SCHEUER, P.M., FRANCISCO, A., MIRANDA, M.Z., LIMBERGER, V.M. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, ISSN 1517-859, Campina Grande, v.13, n.2, p.211-222, 2011.

- SCHMALE III, D.G.; BERGSTROM, G.C., 2003 Giberela ou Fusariose. Portuguese translation by PONTE, E.M.D., 2006. **The Plant Health Instructor**. DOI: 10.1094/PHI-I-2006-0925-01. Revisado em 2010. Disponível em: <https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/FusariumPort.aspx> Acesso em: 28, fev, 2018.
- SCHUSTER, I.; CRUZ, C.D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamento controlados**. 2ªed. Viçosa, 568p., 2008.
- SCUSSEL, V.M.; BEBER, M.; TONON, K.M. Efeitos da infecção por Fusarium/Gibberella na qualidade e segurança de grãos, farinhas e produtos derivados. **Seminários sobre Giberela em cereais de inverno: coletânea de trabalhos/organizador Erlei Melo Reis**. Cap.10, Passo Fundo: Berthier, p.131-175, 2011.
- SCHEEREN, P.L.; FERNANDES, J.M.C.; CAIERÃO, E.; CONSOLI, L.; LIMA, M.I.P.; SANTANA, F.M.; BONATO, A.L.V.; NICHOLSON, P.; UAUY, C. **Caracterização de cultivares brasileiras de trigo quanto à presença do gene Fhb1, responsável por resistência à giberela**. 9ª Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (RCBPTT), p.1-4, 2015.
- SEMAGN, K.; SKINNES, H.; BJORNSTAD, A.; MAROY, A.G.; TARKEGNER, Y. Quantitative trait loci controlling Fusarium head blight resistance and low deoxynivalenol content in hexaploid wheat population from 'Arina' and NK93604. **Crop Science**, v.47, p.294-303, 2007.
- SHAVRUKOV, Y.; SUCHECKI, R.; ELIBY, S.; ABUGALIEVA, A. KENEBAYEV, S.; LANGRIDGE, P. Application of next-generation sequencing technology to study genetic diversity and identify unique SNP markers in bread wheat from Kazakhstan. **BMC plant biology**, v.14, n.1, p.258, 2014.
- SILVA, H.D. Aspectos Biométricos na detecção de QTLs ("*Quantitative Trait Loci*") em espécies cultivadas. 130p. **Tese de Doutorado** - ESALQ/USP, Piracicaba, 2001.
- SILVA, C.L.; BENIN, G.; ROSA, A.C.; BECHE, E.; BORNHOFEN, E.; CAPELIN, M.A. Monitoring levels of deoxynivalenol in wheat flour of Brazilian varieties. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.75, n.1, p.2-7, 2015.
- SIMSEK, S.; BURGESS, K.; WHITNEY, K.L.; GU, Y.; QIAN, S.Y. Analysis of Deoxynivalenol and Deoxynivalenol-3-glucoside in wheat. **Food Control**, v.26, n.2, p.287-292, 2012.

- SINGH, R.P.; MA, H.; RAJARAM, S. Genetic analysis of resistance to scab in spring wheat cultivar Frontana. **Plant Disease**, v.79, p.238-240, 1995.
- SOMERS, D.J.; FEDAK, G.; SAVARD, M. Molecular mapping of novel genes controlling Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol accumulation in spring wheat. **Genome**, v.46, p.555-564, 2003.
- SORENSEN, E.S. Identification and validation of SNP markers for Fusarium head blight resistance in wheat. 130p. **Master's Thesis** - Norwegian University of Life Sciences, Norwegian, 2016.
- SPERSCHNEIDER, J.; GARDINER, D.M.; TAYLOR, J.M.; HANE, J.K.; SINGH, K.B.; MANNERS, J.M. A comparative hidden Markov model analysis pipeline identifies proteins characteristic of cereal-infecting fungi. **BMC Genomics**, v.14, n.1, p.1-23, 2013.
- STACK, R.W.; MCMULLEN, M.P. **A visual scale to estimate severity of fusarium head blight in wheat**. Fargo: North Dakota State University– Extension Service, p.1095, 1995.
- STEINER, B.; LEMMENS, M.; GRISSER, M.; SCHOLZ, U.; SCHONDELMAIE, J.; BUERTMAYR, H. Molecular mapping of resistance to Fusarium head blight in the spring wheat cultivar Frontana. **Theoretical Applied Genetics**, v.109, p.215-224, 2004.
- TOMINAGA, M.; MOMONAKA, Y.; YOKOSE, C.; TADAISHI, M.; SHIMIZU, M.; YAMANE, T.; OISHI, Y.; KOBAYASHI-HATTORI, K. Anorexic action of deoxynivalenol in hypothalamus and intestine. **Toxicon**, v.118, p.54-60, 2016.
- TORRES, G.A.M.; SANTANA, F.M.; FERNANDES, J.M.C.; SÓ E SILVA, M. **Doenças da espiga causam perda de rendimento em trigo nos estados do Paraná, São Paulo e Mato Grosso do Sul, em 2009**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. 10 p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado técnico online, 255). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co255.htm Acesso em: 24, jul, 2015.
- TREVISAN, F.; CARVALHO, M.A.M. **Frutanos: origem e papel ecológico em plantas superiores**. Instituto de Botânica. São Paulo, agosto de 2011, p.1-11. Disponível em: http://www.biodiversidade.pgibt.ibot.sp.gov.br/Web/pdf/Frutanos_Flavio_Trevisan.pdf Acesso em: 06, out, 2017.

- TROPICOS.ORG. Missouri Botanical Garden. *Triticum aestivum* L. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Name/25510034> Acesso em: 22, Feb, 2018.
- VAN DER NEST, M.A.; STEENKAMP, E.T.; MCTAGGART, A.R.; TROLLIP, C.; GODLONTON, T.; SAUERMAN, E.; ROODT, D.; NAIDOO, K.; COETZEE, M.P.A.; WILKEN, P.M.; WINGFIELD, M.J.; WINGFIELD, B.D. Saprophytic and pathogenic fungi in the Ceratocystidaceae differ in their ability to metabolize plant-derived sucrose. **BMC Evolutionary Biology**, v.15, n.273, p.20, 2015.
- VAN GINKEL, M.; VAN DER SHAAR, W.; ZHUPING, Y.; RAJARAM, S. Inheritance of resistance to scab in two wheat cultivars from Brazil and China. **Plant Disease**, v.80, p.863-867, 1996.
- WANG, A.; LI, T.; SUN, F.; LAN, G.; GU, S. Evaluation of wheat tolerance to high selenium fertilization and its associated SNP markers in common wheat. **Selenium in the Environment and Human Health**, p.96, 2013.
- WANG, D.G.; FAN, J.B.; SIAO, C.J.; BERNO, A.; YOUNG, P.; SAPOLSKY, R.; GHANDOUR, G.; PERKINS, N.; WINCHESTER, E.; SPENCER, J.; KRUGLYAK, L.; STEIN, L.; HSIE, L.; TOPALOGLOU, T.; HUBBELL, E.; ROBINSON, E.; MITTMANN, M.; MORRIS, MS.; SHEN, N.; KILBURN, D.; RIOUX, J.; NUSBAUM, C.; ROZEN, S.; HUDSON, T.J.; LIPSHUTZ, R.; CHEE, M.; LANDER, ES. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. **Science**, v.80, p.1077-1082, 1998.
- WEBER, J.P.; MAY, P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **American Journal of Human Genetics**, v.44, p.338-396, 1989.
- WENDA-PIESIK, A.; LEMAŃCZYK, G.; TWARUŻEK, M.; BŁAJET-KOSICKA, A.; KAZEK, M.; GRAJEWSKI, J. *Fusarium* head blight incidence and detection of *Fusarium* toxins in wheat in relation to agronomic factors. **European Journal of Plant Pathology**, v.149, n.3, p.515-531, 2017.
- WINFIELD, M.O.; ALLEN, A.M.; BURRIDGE, A.J.; BARKER, G.L.; BENBOW, H.R.; WILKINSON, P.A.; COGHILL, J.; WATERFALL, C.; DAVASSI, A.; SCOPES, G.; PIRANI, A.; WEBSTER, T.; BREW, F.; BLOOR, C.; KING, J.; WEST, C.; GRIFFITHS, S.; KING, I.; BENTLEY, A.R.; EDWARDS, K.J. High-density SNP

genotyping array for hexaploid wheat and its secondary and tertiary gene pool. **Plant Biotechnology Journal**, p.1195-1206, 2015.

WU, L.; WANG, C. Application of molecular marker assisted selection in gene pyramiding and selection of new cultivars. **Journal of Northeast Agricultural University**, v.18, n.1, p.79-84, 2011.

WÜRSCHUM, T.; LANGER, S.M.; LONGIN, C.F.H.; KORZUN, V.; AKHUNOV, EBMEYER, E.; SCHACHSCHNEIDER, R.; SCHACHT, J.; KAZMAN, E.; REIF, J.C. Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.126, n.6, p1477-1486, 2013.

XU, Y.; CROUCH, J. Marker-Assisted Selection in Plant Breeding: from publications to practice. **Crop Science**, v.48, n.2, p.391-407, 2008.

XU, Y.; SKINNER, D.J.; WU, H.; PALACIOS-ROJAS, N.; ARAUS, J.L; YAN, J.; GAO, S.; WARBURTON, M.L.; CROUCH, J.H. Advances in maize genomics and their value for enhancing genetic gains from breeding. **International Journal of Plant Genomics**, Philadelphia, v.2009, p.1-30, 2009.

YAMASAKI, K.; KIGAWA, T.; INOUE, M.; TATENO, M.; YAMASAKI, T.; YABUKI, T.; AOKI, M.; SEKI, E.; MATSUDA, T.; TOMO, Y.; HAYAMI, N.; TERADA, T.; SHIROUZU, M.; OSANAI, T.; TANAKA, A.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K.; YOKOYAMA, S. Solution Structure of the B3 DNA Binding Domain of the Arabidopsis Cold-Responsive Transcription Factor RAV1. **The Plant Cell**, v.16, n.12, p.3448-3459, 2004.

YANG, Z.P.; GILBERT, J.; SOMERS, D.J.; FEDAK, G.; PROCUNIER, J.D.; MCKENZIE, I.H. Marker assisted selection of Fusarium head blight resistance genes in two double haploid population of wheat. **Molecular Breeding**, v.12, p.309-317, 2003.

YANG, Z.P.; GILBERT, J.; SOMERS, D.J.; FEDAK, G. Genetic characterization of QTL associated with resistance to Fusarium head blight in a double haploid spring wheat population. **Genome**, v.48, p.1-11, 2005.

YAO, J.; GE, Y.; WANG, S.; YAO, G.; ZHOU, C.; QIAN, C. Chromosomal location of genes for scab resistance in heat cultivar Sumai 3. **Acta Sinica**, v.23, p.450-453, 1997.

- YU, Y.J. Monosomic analysis for scab resistance and yield components in the wheat cultivar Sumai 3. **Cereal Research Communications**, v.10, p.185-189,1982.
- ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Research**, Oxford, v. 14, p. 415-421, 1974.
- ZHANG, D.X.; HEWITT, G.M. Molecular DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. **Molecular Ecology**, v.12, n.3, p.563-584, 2003.
- ZHANG, K.; WANG, J.; ZHANG, L.; RONG,C.; ZHAO, F.; PENG, T.; LI, H.; CHENG, D.; LIU, X.; QIN, H.; ZHANG, A.; TONG, Y.; WANG, D. Association analysis of genomic loci important for grain weight control in elite common wheat varieties cultivated with variable water and fertiliser supply. **PloS One**, v.8, n.3, e57853, 2013.
- ZHANG, X.; FU, J.; HIROMASA, Y.; PAN, H.; BAI, G. Differentially Expressed Proteins Associated with Fusarium Head Blight Resistance in Wheat. **PloS One**, v.8, n.12, e82079, 2013.
- ZHOU, W.C.; KOLB, F.L.; BAI, G.H.; DOMIER, L.L.; BOZE, L.K.; SMITH, N.J. Validation of major QTL for scab resistance with SSR markers and use of marker assisted selection in wheat. **Plant Breeding**, v.122, p.40-46, 2003.
- ZHOU, W.; EUDES, F.; LAROCHE, A. Identification of differentially regulated proteins in response to a compatible interaction between the pathogen *Fusarium graminearum* and its host, *Triticum aestivum*. **Proteomics**, v.6, p.4599-4609, 2006.
- ZHU, C.G.; BUCKLER, M.; YU, E.S. Status and prospects of association mapping in plants. **The plant genome**, v.1, p.5-5, 2008.
- ZHU, X.F.; SUN,Y.; ZHANG, B.C.; MANSOORI, N.; WAN, J.X.; LIU, Y.; WANG, Z.W.; SHI,Y. Z.; ZHOU, Y.H.; ZHENG, S.J. Trichome Birefringence-like27 affects aluminum sensitivity by modulating the o-acetylation of xyloglucan and aluminum-binding capacity in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.166, n.1, p.181-189, 2014.
- ZHUANG, Y.; GALA, A.; YEN, Y. Identification of Functional Genic Components of Major Fusarium Head Blight Resistance Quantitative Trait Loci in Wheat Cultivar Sumai 3. **Aps Journals**, v.26, n.4, p.442-450, 2013.
- ZHIPONOVA, M.K. The Effect of Stress Factors on Gene Expression in Higher Plants. 95p. **PhD Thesis** - University of Szeged, Szeged, 2006.