

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

**CARACTERIZAÇÃO DA AGRESSIVIDADE DE RAÇAS DE *Puccinia triticina*
DETECTADAS NO BRASIL DE 2002 A 2012**

Nageli Pereira de Almeida
Bióloga/UPF

Dissertação apresentada como um dos requisitos
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia
Ênfase Fitopatologia

Porto Alegre (RS), Brasil
Maio de 2014

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.” (José de Alencar)

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida.

Aos meus pais Odilon e Liduina e irmãs Bruna e Luana pelo apoio e palavras de conforto quando foi necessário.

Ao meu namorado Douglas pelo amor, compreensão e incentivo para que meu objetivo fosse alcançado.

Ao meu orientador José Antônio Martinelli e minha Co-Orientadora Márcia Soares Chaves pela oportunidade, paciência e ensinamentos.

Aos funcionários da Embrapa Trigo, Marcos Copetti e Alceu Vicari, pelo apoio para a realização dos experimentos.

Ao professor Marcelo Pacheco pelo auxílio estatístico após a defesa desse trabalho.

À colega de laboratório Beatriz Gerarda pelo apoio e amizade. Beatriz obrigada pelas contribuições indispensáveis e auxílio estatístico que foram muito importantes para a conclusão desse trabalho.

Ao amigo Ismail Teodoro pelos conselhos, companhia, ajuda e momentos de descontração.

Aos colegas de Departamento que ficarão para sempre em meu coração, Larissa, Daniela, Leilane, Sara, Julie, Yulliet, Bruna, Camila, Gustavo, e Guilherme.

À UFRGS, ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, a todos os professores e funcionários que fizeram parte dessa trajetória e a CAPES pela concessão de uma bolsa de estudos.

CARACTERIZAÇÃO DA AGRESSIVIDADE DE RAÇAS DE *Puccinia triticina* DETECTADAS NO BRASIL DE 2002 A 2012¹

Autor: Nageli Pereira de Almeida

Orientador: José Antônio Martinelli

RESUMO

A ferrugem da folha do trigo, causada pelo fungo *Puccinia triticina* (*Pt*), é uma doença recorrente e de grande importância para o cultivo do trigo. São realizados anualmente levantamentos de raças do fungo nos países do Cone Sul da América do Sul. Nesses levantamentos foi possível evidenciar que algumas raças de *Pt* possuem predomínio em frequência, quando comparadas com as demais raças detectadas no mesmo período. No Brasil as raças MFT-MT (B55) e TFT-MT (B57) se destacaram pela prevalência no campo, nos últimos anos. Ambas as raças foram detectadas pela primeira vez no país em 2005, sendo que B55 prevaleceu nos levantamentos desde seu surgimento e a partir de 2011 a raça B57 passou a prevalecer. O presente trabalho buscou investigar a ocorrência de agressividade diferenciada entre raças de *P. triticina* detectadas no Brasil do ano de 2002 a 2012. Foram utilizadas nove (09) raças detectadas nos levantamentos realizados pela Embrapa Trigo (Passo Fundo, RS) a partir do ano de 2002: SPJ-RS (B50), MFT-CT/MFT-HT (B51), MHT-LS (B53), TFT-HT (B54), MFT-MT (B55), MFP-CT (B56), TFT-MT (B57), MDP-MR (B58) e MFT-MT+ (B59). Os parâmetros de agressividade mensurados nas plântulas em condições controladas, especialmente a luz e a temperatura, foram: o período latente, o tamanho de pústula, a esporulação e germinação de esporos. Os valores referentes à raça B55 foram repetidamente superiores às demais raças para os parâmetros tamanho de pústula, esporulação e germinação de esporos. A raça B57 se destacou sobre as demais por possuir o menor Período Latente do estudo. Essas duas raças podem ser consideradas raças agressivas.

¹ Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (78p.) Maio, 2014.

AGGRESSIVENESS CHARACTERIZATION OF RACES OF *Puccinia triticina* DETECTED IN BRAZIL FROM 2002 TO 2012¹

Author: Nageli Pereira de Almeida

Adviser: José Antônio Martinelli

ABSTRACT

Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina* (Pt) is a recurrent and very important disease for the cultivation of wheat. In the Southern Cone countries of South America surveys of races of the fungi are conducted annually. The data show that some races of Pt predominate in frequency when compared to other races detected in the same period. In Brazil, races MFT-MT (B55) and TFT-MT (B57) have been predominant in the crops in recent years. Both races were detected for the first time in the country in 2005. B55 prevailed until 2011, whereas the race B57 prevailed since then. This work aimed to investigate the occurrence of different levels of aggressiveness among nine races of *P. triticina* detected between 2002 and 2012 by Embrapa Trigo. Their races' codes are: SPJ-RS (B50), MFT-CT/MFT-HT (B51), MHT-LS (B53), TFT-HT (B54), MFT-MT (B55), MFP-TC (B56), TFT-MT (B57), MDP-MR (B58) and MFT-MT+ (B59). The aggressiveness parameters taken on seedlings inoculated under controlled conditions specially light and temperature were: latent period, pustule size, sporulation and spore germination. Values for the race B55 were repeatedly superior than those of the other races for the parameters pustule size, sporulation and spore germination. The race B57 stood out over the others by having the shortest latent period measured. These two races were considered more aggressive than the others.

¹ Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (78p.) May, 2014.

SUMÁRIO

| | Página |
|--|--------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 1 |
| 1.1 Objetivo Geral..... | 3 |
| 1.1.1 Objetivos Específicos..... | 3 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 4 |
| 2.1 Cultura do trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.)..... | 4 |
| 2.2 Ferrugem da Folha do Trigo..... | 5 |
| 2.3 Histórico sobre a Ferrugem da Folha do Trigo..... | 6 |
| 2.4 Morfologia e Ciclo da <i>Puccinia triticina</i> | 7 |
| 2.5 Epidemiologia e Disseminação..... | 9 |
| 2.6 Penetração e Desenvolvimento..... | 10 |
| 2.7 Sintomatologia..... | 12 |
| 2.8 Especificação Fisiológica de <i>Puccinia triticina</i> | 12 |
| 2.9 Frequências de raças..... | 16 |
| 2.10 Agressividade..... | 18 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 24 |
| 3.1 Material Biológico..... | 24 |
| 3.1.1 Patógeno..... | 24 |
| 3.1.2 Hospedeiro..... | 27 |
| 3.2 Inoculação, Variáveis Quantificadas e Réplicas Biológicas..... | 28 |
| 3.2.1 Período Latente..... | 28 |
| 3.2.2 Tamanho de Pústulas..... | 29 |
| 3.2.3 Esporulação..... | 29 |
| 3.2.4 Germinação de Esporos..... | 31 |
| 3.3 Análise Estatística..... | 32 |

| | Página |
|--|--------|
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 33 |
| 4.1 Período Latente..... | 33 |
| 4.2 Tamanho de pústula..... | 36 |
| 4.3 Esporulação..... | 37 |
| 4.4 Germinação de Esporos..... | 40 |
| 4.4.1 Análise de regressão da capacidade de germinação de esporos..... | 46 |
| 4.5 Correlações entre os caracteres quantitativos de agressividade..... | 52 |
| 5. CONCLUSÕES GERAIS..... | 67 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 69 |
| 7. APÊNDICES..... | 76 |

RELAÇÃO DE TABELAS

| | Página |
|---|--------|
| 1. Os quatro conjuntos originais de linhagens quase isogênicas de Thatcher para genes de resistência <i>Lr</i> específicos utilizados para determinação de raças na América do Norte e outros países e o quinto conjunto utilizado somente no Brasil..... | 15 |
| 2. Frequência da ocorrência das raças de <i>Puccinia triticina</i> estudadas no Brasil do ano de 2002 a 2012 e suas fórmulas de Virulência e Avirulência..... | 25 |
| 3. Comparação do período latente (em horas) de raças de <i>Puccinia triticina</i> em fase plântulas sob condições controladas..... | 33 |
| 4. Comparação do Tamanho de Pústula das nove raças de <i>Puccinia triticina</i> estudadas em fase de plântula 12 dias após a inoculação..... | 36 |
| 5. Comparação da produção de esporos por pústula das nove raças do patógeno <i>Puccinia triticina</i> em 12 e 20 dias após a inoculação..... | 38 |
| 6. Percentual de germinação de esporos de <i>Puccinia triticina</i> , nas condições de temperatura ótima (20°C) e alta (25°C), claro e escuro em 3h, 6h e 12h após a inoculação das placas..... | 41 |
| 7. Correlações entre os caracteres quantitativos de agressividade de raças de <i>Puccinia triticina</i> avaliadas em fase de plântulas de cultivar suscetível sob condições controladas..... | 53 |
| 8. Ranking das raças que apresentaram vantagens adaptativas em relação às demais raças testadas..... | 59 |

RELAÇÃO DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| 1. Representação esquemática do ciclo de vida da ferrugem da folha do trigo com o hospedeiro primário e alternativo..... | 8 |
| 2. Representação esquemática do processo infeccioso das ferrugens..... | 11 |
| 3. Plântula de trigo suscetível infectada por <i>Puccinia triticina</i> | 12 |
| 4. Série diferenciadora; Tipos de infecção de uma mesma raça de <i>Puccinia triticina</i> em linhagens isogênicas para genes <i>Lr</i> | 14 |
| 5. Coleção de raças de <i>Puccinia triticina</i> do Laboratório de Ferrugens dos Cereais da Embrapa Trigo..... | 26 |
| 6. Locais de amostragem de <i>Puccinia triticina</i> para os levantamentos de raças conduzidos pela Embrapa Trigo..... | 27 |
| 7. A- Experimento para avaliação da Esporulação de <i>Puccinia triticina</i> . B- Detalhe mostrando a retenção dos esporos produzidos pelas pústulas na base do cone..... | 30 |
| 8. Modelos ajustados pela análise de regressão linear para a germinação de esporos de <i>Puccinia triticina</i> em 3h, 6h e 12h após a inoculação das placas no claro e temperatura ótima(A), escuro e temperatura ótima (B), claro e temperatura alta (C) e escuro e temperatura alta (D)..... | 48 |
| 9. Uma característica quantitativa de patogenicidade pode ser representada como o resultado de um efeito do hospedeiro, um efeito do patógeno e a interação entre eles..... | 65 |

RELAÇÃO DE APÊNDICES

Página

1. Quadro da análise de variância do Período Latente de raças de *Puccinia triticina* em genótipo suscetível de trigo em estadio de plântula. Porto Alegre, RS, 2014..... 76
2. Quadro da análise de variância do comprimento de pustulas (diâmetro) de *Puccinia triticina* em genótipo suscetível de trigo em estadio de plântula. Porto Alegre, RS, 2014..... 76
3. Quadro da análise de variância da produção de esporos por pústula das nove raças do patógeno *Puccinia triticina* em 12 e 20 dias após a inoculação. Porto Alegre, RS, 2014..... 77
4. Quadro da análise de variância germinação de esporos de *Puccinia triticina*, nas condições de temperatura ótima (20°C) e alta (25°C), claro e escuro em 3h, 6h e 12h após a inoculação das placas. Porto Alegre, RS, 2014..... 78

1 INTRODUÇÃO

A ferrugem da folha do trigo é uma doença recorrente e de grande importância para a cultura desse cereal. Ela é causada pelo basidiomiceto *Puccinia triticina* Erikss., um patógeno biotrófico, altamente especializado que evoluiu juntamente com o seu hospedeiro. A evolução desse patógeno ocorre em resposta às mudanças sofridas por seus hospedeiros.

A implantação de novas cultivares, com novas combinações de resistência, em um amplo território cultivado, induz à mudança na estrutura da população do patógeno para que ele possa continuar se desenvolvendo. Isolados desse fungo possuem a capacidade de infectar diferencialmente genótipos de trigo, com genes de resistência específicos, que os caracterizam em raças fisiológicas.

Em levantamentos de raças realizados anualmente no Cone Sul da América do Sul, em países como: Brasil, Uruguai, Argentina, Bolívia, Paraguai e Chile observou-se que algumas raças possuem predomínio em frequência, quando comparadas com as outras raças detectadas no mesmo período. De acordo com os dados desses levantamentos, sabe-se que as raças prevalentes no Brasil possuem fórmulas de virulência semelhantes entre si. Além disso, não existem evidências de que a maior frequência de algumas raças seja resultado da seleção direcional provocada pela população do

hospedeiro, uma vez que as cultivares amplamente cultivadas são suscetíveis a raças prevalentes e não prevalentes. Isso indica que as raças predominantes possuem uma vantagem sobre as demais raças desses levantamentos e esta vantagem pode ser originada de uma melhor adaptação de algumas características de vida conhecido como a agressividade do patógeno.

A agressividade refere-se à variação quantitativa de patogenicidade em hospedeiros suscetíveis sem qualquer restrição relacionada com a especificidade e pode ser resultado de uma, ou da soma de características quantitativas, que são comumente medidas em sistemas planta-patógeno. Essas características do ciclo de vida do patógeno podem ser medidas através da eficiência de infecção, período de latência, esporulação, período infeccioso, tamanho de pústula, entre outras.

Recentemente descobriu-se que as características epidemiológicas de uma associação planta-parasita estão compartilhadas entre o hospedeiro e o parasita. Além disso, que o modelo gene-a-gene, baseado em resistência qualitativa, embora necessário, não é suficiente para explicar a estrutura da população do patógeno em agrossistemas. Fazendo-se necessário, então, mais estudos que investiguem o comportamento do patógeno, do hospedeiro e da interação entre eles durante a infecção.

Neste trabalho, portanto, levanta-se a hipótese de que a prevalência de algumas raças de *Puccinia triticina*, detectadas nos levantamentos realizados do ano de 2002 a 2012, pode estar relacionada com uma maior agressividade das mesmas.

1.1 Objetivo Geral

Investigar a ocorrência de agressividade diferenciada entre raças de *Puccinia triticina* em genótipo de trigo a elas suscetível.

1.1.1 Objetivos Específicos

1- Quantificar as características do ciclo de vida do patógeno: período de latência, tamanho de pústula e esporulação das raças de *P. triticina* em condições ótimas de temperatura e luminosidade.

Hipótese 1: Raças prevalentes de *P. triticina* têm vantagem adaptativa sobre as demais, apresentando menor período de latência, resultando em maior tamanho de pústula e maior taxa de esporulação.

2- Verificar os efeitos da luminosidade e temperatura na taxa e velocidade de germinação dos esporos e diferentes raças de *P. triticina*.

Hipótese 2: A luminosidade e temperatura têm influência sobre a germinação de esporos das raças de *P. triticina*, podendo afetar a prevalência de certas raças em relação às demais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura do trigo

O trigo (*Triticum aestivum*) é uma cultura de grande importância mundial. Seus grãos estão entre os mais consumidos no mundo, presentes (de forma direta ou indireta) na alimentação da maioria das pessoas e animais. Dentre todas as culturas alimentícias, o trigo corresponde a maior área plantada, representando em torno de 20% de toda a área cultivada no mundo (Mori & Ignaczac, 2011).

Tendo em vista o aumento populacional, o trigo, juntamente com o arroz e o milho, é considerado cereal estratégico para a segurança alimentar mundial. Porém, o trigo é o de maior importância econômica, em termos de volume de produção, comercialização e valor financeiro (USDA, 2010).

O Brasil não está entre os principais países tricultores e a produtividade média oscila significativamente entre anos, em todos os estados produtores. No país, a produção anual varia entre 5 e 6 milhões de toneladas, mas o consumo tem se mantido em torno de 10 milhões de toneladas, o que torna necessária a importação do cereal (Canziani & Guimarães, 2009). Um fator importante que limita a produção de trigo no Brasil é a incidência de doenças. Entre as doenças que acometem o trigo, destaca-se a ferrugem da folha do trigo.

2.2 Ferrugem da folha do trigo

A ferrugem da folha do trigo causada pelo fungo *Puccinia triticina* Erikss. é a ferrugem mais comum e amplamente distribuída das três ferrugens que acometem o trigo (Huerta-Espino *et al.*, 2011). Os agentes causais das ferrugens do trigo pertencem ao gênero *Puccinia*, família *Pucciniaceae*, ordem *Uredinales* e classe *Basidiomycetes* (Agrios, 2005). O nome da doença, ferrugem, deu-se devido à cor pardo-avermelhada dos uredosporos, os quais conferem às lesões aspecto ferruginoso (Chester, 1946).

Esse fungo tem a capacidade de sobreviver nas mesmas condições de ambiente que são favoráveis ao desenvolvimento do trigo. Os danos em rendimento dependem do estágio da planta, da severidade da doença, da suscetibilidade da cultivar, da virulência da raça fisiológica e das condições de ambiente (Roelfs *et al.*, 1992).

O patógeno causador da ferrugem é classificado como um parasita obrigatório, que tem evoluído com seu hospedeiro. Qualquer mudança na população predominante do hospedeiro vai resultar em mudanças na população do patógeno, para que o equilíbrio seja novamente estabelecido (Wahl *et al.*, 1984; Barbieri & Carvalho, 2001). Sua importância passou a ser relevante quando houve um aumento na frequência das epidemias e incidência nas regiões tritícolas. Os principais danos causados pela doença se refletem no rendimento, através da redução do número de grãos e do tamanho das espigas (Bolton *et al.*, 2008).

O ambiente favorável e uma área extensa cultivada com trigo suscetível permitem que o patógeno cause graves epidemias. As perdas em rendimento

de grãos podem chegar a 50% e são necessárias duas ou mais aplicações de fungicidas para o controle da doença (Germán *et al.*, 2007).

2.3 Histórico sobre a ferrugem da folha do trigo

As ferrugens do trigo e de outros cereais são conhecidas desde a antiguidade. Evidências do efeito das ferrugens sobre as culturas podem ser encontradas na Bíblia, na história de José do Egito, 1800 anos a.C. (Chaves, 2006).

Os romanos também foram afetados pelas ferrugens do trigo, assim como para outros acontecimentos inexplicáveis da época, os romanos criaram um deus, Robigus, o deus da ferrugem, o qual era glorificado na cerimônia chamada de Robigalia. Esta foi uma cerimônia religiosa praticada desde 700 a.C. até o declínio do Império Romano, e envolvia o sacrifício de animais de coloração avermelhada, tais como cães, raposas e vacas, na tentativa de acalmar a ira do Deus Robigus, de forma que as lavouras fossem poupadas (Chaves *et al.*, 2008; Carefoot & Sprott, 1967).

Aristóteles (384-322 a.C.) cita que ferrugens eram produzidas a partir de “vapores quentes” e menciona a ocorrência de epidemias e a devastação por elas causadas. Teofrasto relatou ainda que as ferrugens eram mais severas em cereais do que em legumes (Chaves, 2006).

Entretanto, por volta de 1815, De Candolle mostrou que a ferrugem da folha era causada por um fungo e o descreveu como *Uredo rubigo-vera* (Singh *et al.*, 2002). O patógeno sofreu uma série de mudanças de nome até 1956, quando Cummins e Caldwell (1956) sugeriram que ele se chamasse *Puccinia recondita*, nomenclatura muito utilizada e ainda encontrada na literatura.

Posteriormente, Savile (1989) baseando-se na morfologia e, mais tarde, Anikster *et al.* (1997), estudando a morfologia e a genética deste patógeno concluíram que *P. recondita* não é o causador da ferrugem da folha do trigo e este passou a ser chamado de *Puccinia triticina* (Singh *et al.*, 2002).

2.4 Morfologia e Ciclo da *Puccinia triticina*

O fungo *P. triticina* é macrocíclico e, por isso, produz cinco tipos de esporos distintos morfológicamente e funcionalmente durante seu ciclo de vida (Figura 1): uredosporos (únicos produzidos no ciclo assexual do patógeno); teliosporos (estruturas de resistência); basidiosporos (formados na germinação do teliosporo); picniosporos e aeciosporos (formados no hospedeiro secundário, que são dispersos pelo vento e infectam o trigo, completando o ciclo da ferrugem) (Kolmer, 2013). O agente causal da ferrugem da folha é considerado heteróico porque requer dois hospedeiros botanicamente distintos para completar o ciclo biológico (fase sexual e assexual). O trigo é o hospedeiro principal e os intermediários são aqueles nos quais se completa o ciclo sexual, que no caso de *P. triticina* é o *Thalictrum speciosissimum* ou *Isopyrum fumaroides* (Bolton *et al.*, 2008; Reis, 1991). Embora ambos os hospedeiros sejam necessários para completar o ciclo de vida completo, epidemias de ferrugem em trigo podem desenvolver-se rapidamente com esporos (uredosporos) produzidos em trigo, havendo autoinfecção (somente no ciclo assexuado) (Bolton *et al.*, 2008).

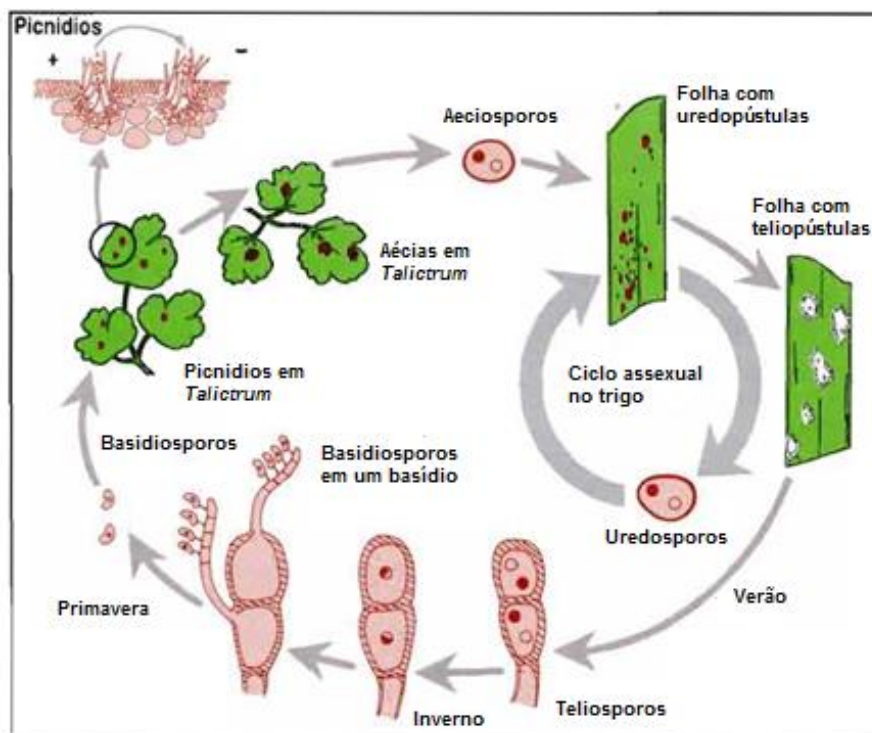


FIGURA 1. Representação esquemática do ciclo de vida da ferrugem da folha do trigo, envolvendo o hospedeiro primário e o alternativo. Fonte: Vickie Brewster- Royas del trigo. Porto Alegre, RS, 2014.

Os uredosporos, tipo de esporo que apresenta importância epidemiológica no Brasil, são dicarióticos, apresentam diâmetro de 15 a 30 μ m, tem forma subglobóide e cor pardo-avermelhada, com três a oito poros germinativos distribuídos em suas espessas paredes equinuladas. Além disso, são responsáveis por epidemias da doença em locais onde hospedeiros intermediários não estão presentes (Bolton *et al.*, 2008).

Uredosporos podem ser produzidos durante todo o ciclo do trigo. Quando o ciclo entra na maturação inicia a formação dos teliosporos. As teliopústulas são escuras, desenvolvem-se sob a epiderme das bainhas e, principalmente, no lado inferior das lâminas foliares e liberam os teliosporos. São do tamanho das urédias, pardo-lustrosas e revestidas pela epiderme.

Os teliosporos são em forma de clave ou achatados em seus ápices e requerem temperaturas baixas antes de germinar. Seus núcleos fundem-se

dando origem a um núcleo diploide. O qual, quando exposto a condições ambientais favoráveis, germina, dando origem a quatro basidiosporos haploides. Estes serão ejetados no ar, necessitando se depositar em hospedeiros alternativos (Reis, 1991; Bolton *et al.*, 2008; Kolmer, 2013), para dar continuidade ao ciclo.

A infecção causada por basidiosporos dará origem as pícias, que formam os picniosporos, os quais medem 2 a 3 μm (gameta masculino), e hifa receptiva (gameta feminino). Os picniosporos são liberados juntamente com um líquido exudado doce (néctar), que atrai insetos que o dispersam, além da chuva e orvalho. O fungo por ser heterotálico não origina picniosporo e hifas receptivas compatíveis, sendo necessária a dispersão desse esporo até uma hifa compatível (Bolton *et al.*, 2008). Quando os pares compatíveis se encontram ocorre a fusão dos gametas e a formação de um micélio dicariótico, que se expande através da folha e forma a aécia na face inferior da folha, diretamente abaixo da pícia no hospedeiro intermediário. Os aeciosporos, por sua vez, serão dispersos pelo vento podendo infectar o trigo. O ciclo se completa quando a infecção por aeciosporos origina uredosporos (Bolton *et al.*, 2008).

2.5 Epidemiologia e Disseminação

As epidemias de ferrugens do trigo, assim como outras doenças, são afetadas pelos três componentes do “triângulo da epidemia”: patógeno, hospedeiro e ambiente. Em regiões onde o inóculo de ferrugem está sempre presente e cultivares suscetíveis são semeadas, como no Continente Americano, o ambiente é o fator que mais influencia a ocorrência e a

severidade das epidemias (Chen, 2005). Além disso, por ser o patógeno um parasita biotrófico, e seus esporos serem disseminados pelo vento, ele sobrevive no intervalo entre os cultivos em plantas voluntárias de áreas próximas, que fornecem o substrato vivo necessário para a sua sobrevivência (Reis, 1991). Nas entressafras de trigo, os esporos de ferrugem são multiplicados nessas plantas e darão início a novas epidemias.

Uma única uredopústula pode produzir até 3000 esporos por dia e pode continuar a produzi-los por três semanas ou mais, conforme a disponibilidade de tecido foliar (Singh *et al.*, 2002).

A chuva é considerada, frequentemente, um fator promotor para a expansão da doença, porque o evento da chuva é seguido por um período estendido de umidade na folha, que é crítico para infecção da ferrugem (processo de germinação e penetração) (Niks *et al.*, 1986). Quando os esporos são provenientes de longas distâncias, cerca de 80 a 90% deles são depositados através de gotículas de chuva, que carregam os esporos presentes em camadas mais altas da atmosfera (Roelfs, 1985).

2.6 Penetração e Desenvolvimento

Após a deposição na folha, o uredosporo absorve água (orvalho ou chuva), incha e desenvolve um tubo germinativo sobre a superfície da folha. A geminação ocorre após 4 - 8h, a temperaturas de 15°C a 20°C, sob 100% de umidade e uma lâmina de água sobre a folha (Bacaltchuk *et al.*, 2006; Bolton *et al.*, 2008).

O tubo germinativo cresce ao longo da superfície da folha até alcançar o estômato ou até suas reservas se esgotarem (Dickinson, 1969). No estômato, o

tubo germinativo cessa sua elongação e o protoplasma flui em direção a ponta da hifa, a fim de formar um apressório sobre a abertura do estômato (Zangh *et al.*, 2003).

Após a penetração na câmara substomática, há a formação de uma vesícula subestomática, que origina as hifas infectivas. O citoplasma e os núcleos migram para a ponta dessa hifa, que entra em contato com uma célula do mesófilo. Após esse contato, um septo é formado para originar a célula mãe de haustório. O haustório é uma hifa infectiva especializada, que atua como uma estrutura de alimentação para o fungo. As hifas, posteriormente, diferenciam-se em tecido esporogênico, que dará origem aos uredosporos (Panstruga, 2003; Szabo & Bushnell, 2001; Bolton *et al.*, 2008). Na Figura 2 está a representação esquemática do processo infeccioso do patógeno.

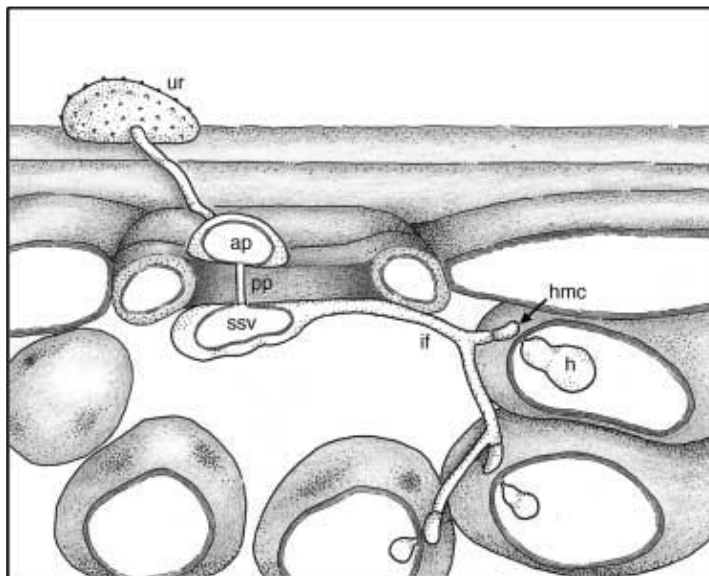


FIGURA 2. Representação esquemática do processo infeccioso das ferrugens Fonte: Leonard; Szabo, 2005. Porto Alegre, RS, 2014. Legenda da figura: Ur. uredosporo; ap. apressório, pp. grupo de penetração que passa pelo estômato entre as células guarda; ssv. vesícula sub estomacal; if. hifa infectiva; hmc. célula mãe de haustório; h. haustório.

2.7 Sintomatologia

A ferrugem da folha caracteriza-se por pústulas contendo massas de uredosporos de cor pardo-avermelhadas, as quais surgem pela ruptura da epiderme da folha e têm formato geralmente elíptico (Figura 3). Em alguns casos essas pústulas são circundadas por um halo clorótico.



FIGURA 3. Plântula de trigo suscetível infectada por *Puccinia triticina*. Fonte: Paulo Kurtz. Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, 2006.

Os sintomas distribuem-se aleatoriamente pela lâmina foliar e em anos de epidemias severas podem atingir qualquer parte verde da planta. No final do ciclo da cultura, quando a planta atinge a maturação e as condições de ambiente começam a ser desfavoráveis, as uredopústulas passam a produzir teliosporos no lugar dos uredosporos, os quais têm coloração negra devido à espessura das paredes de suas células (Samborski, 1985).

2.8 Especificação Fisiológica de *Puccinia triticina*

Isolados do patógeno podem se comportar de forma diferenciada no seu hospedeiro, permitindo a classificação em raças. Tradicionalmente, a

especialização fisiológica das ferrugens dos cereais tem sido avaliada por meio de testes de isolados em genótipos hospedeiros que diferem em resistência.

Os primeiros genótipos diferenciadores de trigo, para ferrugem da folha, foram coleções de cultivares e linhagens de trigo que apresentavam diferentes tipos de infecção em plântulas, para os isolados comumente encontrados (Mains & Jacson, 1926; Kolmer, 2013). Estes conjuntos diferenciais iniciais eram geneticamente indefinidos, já que não havia informações sobre os genes de resistência presentes nas variedades e linhagens utilizadas. Muitos dos primeiros genótipos diferenciadores possuíam mais de um gene de resistência e também tinham genes em comum, reduzindo a sua eficácia em distinguir as raças de ferrugem. Mais tarde, quando se adquiriu conhecimento sobre a genética da resistência à ferrugem em trigo, as cultivares e linhagens monogênicas passaram a ser utilizadas como diferenciais (Dick & Kerber, 1985; Samborski & Dick, 1976; Kolmer, 2013).

Atualmente as raças são comumente nomeadas por um código de letras que expressa a avirulência/ virulência a cada um dos genes Lr (do inglês *leaf rust*) que compõem uma série diferenciadora. O código Prt. (como é mundialmente conhecido) está descrito no Sistema Norte-americano de nomenclatura para *P. recondita* f. sp. *tritici* Eriks & E. Henn. D. M. Henderson e foi proposto por Long & Kolmer em 1989.

No Brasil, os estudos de caracterização das raças de *P. triticina* utilizam uma nomenclatura, em que as raças são, adicionalmente ao código Prt, nomeadas pela letra “B” (Brasil) seguida por um número que representa a ordem de surgimento e identificação da raça no país (ex.: B51 - foi a

quinquagésima primeira raça de *P. triticina* identificada no Brasil e diferenciada através do Sistema Norte-americano).

A identificação das raças é feita com base nas reações diferenciais que cada isolado produz sobre uma série diferencial, um conjunto padronizado de genótipos de trigo, os quais são específicos para *P. triticina* (Long & Kolmer, 1989). Exemplo de uma série diferencial e dos tipos de infecção possíveis de ocorrer em trigo está apresentado na Figura 4.

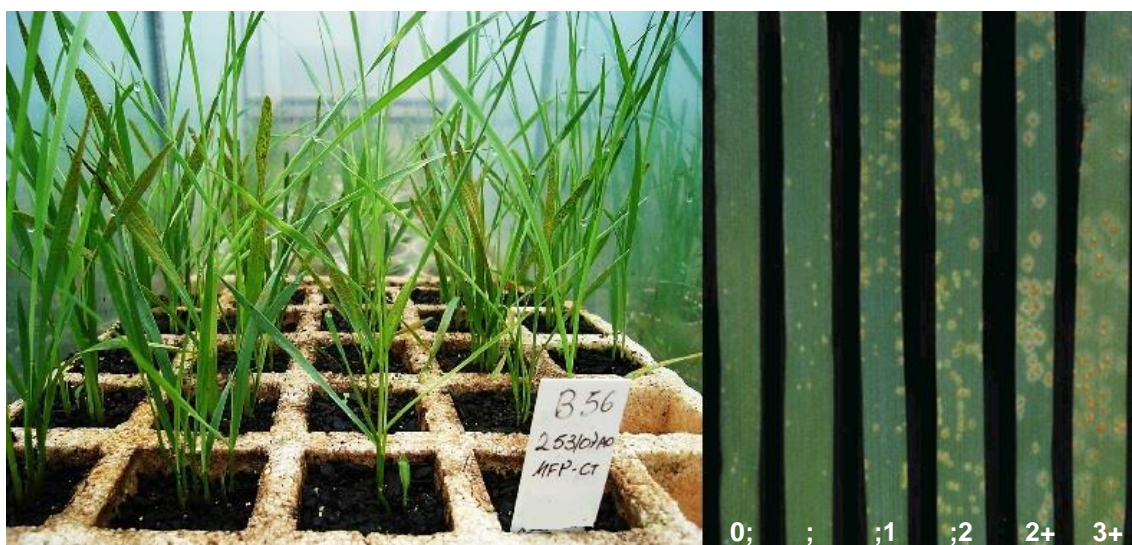


FIGURA 4. Série diferenciadora (esquerda); Tipos de infecção de uma mesma raça de *Puccinia triticina* em linhagens isogênicas para genes *Lr* (direita). Tipo de infecção 0; a 2 são considerados baixos e resistentes; tipos de infecção 3 ou 4 são considerados altos e suscetível. Fonte: Márcia Chaves (Embrapa Trigo) e James A. Kolmer (USDA-ARS). Porto Alegre, RS, 2014.

O Dr. Peter Dyck, do “*Cereal Research Centre*, pertencente ao instituto *Agriculture and Agri-Food*” do Canadá, desenvolveu uma série diferencial com 12 linhagens quase isogênicas, em germoplasma da cultivar Thatcher. Cada linhagem dessa série, possui um único e diferente gene de resistência *Lr*. Esta série é utilizada em quase todo o mundo, inclusive no Brasil. As diferenciais são classificadas para resistência ou suscetibilidade, conforme a reação descrita na Figura 4. Dezesesseis combinações são possíveis. Essas combinações são codificadas pelas letras do alfabeto de B até T, omitindo as

vogais (Tabela 1) (Huerta-Espino *et al.*, 2011). Posteriormente, um quarto conjunto de linhagens, com os genes *LrB*, *Lr10*, *Lr14a* e *Lr18*, foi adicionado ao conjunto norte-americano de diferenciais (adaptado de Long & Kolmer, 1989).

TABELA 1. Os quatro conjuntos originais de linhagens quase isogênicas de Thatcher para genes de resistência Lr específicos utilizados para determinação de raças na América do Norte e outros países e o quinto conjunto utilizado somente no Brasil. Porto Alegre, RS, 2014.

| Grupo Hospedeiro (GH) | Genes Lr | | | |
|-----------------------|----------|-----|-------|----|
| GH 1: | 1 | 2a | 2c | 3 |
| GH 2: | 9 | 16 | 24 | 26 |
| GH 3: | 3ka | 11 | 17 | 30 |
| GH 4: | 10 | 18 | 21 | 23 |
| GH 5: | 14a | 14b | ALD** | 20 |
| Código: | | | | |
| B | L | L | L | L |
| C | L | L | L | H |
| D | L | L | H | L |
| F | L | L | H | H |
| G | L | H | L | L |
| H | L | H | L | H |
| J | L | H | H | L |
| K | L | H | H | H |
| L | H | L | L | L |
| M | H | L | L | H |
| N | H | L | H | L |
| P | H | L | H | H |
| Q | H | H | L | L |
| R | H | H | L | H |
| S | H | H | H | L |
| T | H | H | H | H |

L tipo de infecção baixo (L→ LOW) H tipo de infecção alta (H→ High).* Grupo Hospedeiro de acordo com o descrito por Long & Kolmer em 1989. ** Cultivar Alondra (gene Lr26+)

A virulência de uma raça é codificada utilizando-se quatro letras, cada uma indicando sua virulência em um conjunto de quatro linhas (Huerta-Espino *et al.*, 2011). Por exemplo, para uma raça onde todas as diferenciais são

resistentes o código será BBB, para outra raça onde todas as diferenciais sejam suscetíveis, o código será TTT. Em alguns países como EUA, Canadá, México, Uruguai e Brasil, algumas outras diferenciais foram inseridas para a determinação das raças (Huerta-Espino et al., 2011). No Brasil, a série é composta por 20 linhagens quase isogênicas com dois grupos adicionais de genes de resistência *Lr* e o código da raça possui cinco letras (cinco grupos de quatro genes). O 4º e 5º grupos (adicionais) foram compostos por *Lr10*, *Lr18*, *Lr21* e *Lr23*; e *Lr14a*, *Lr14b*, *ALD* (*Lr26+* na cultivar Alondra) e *Lr20*, respectivamente (Chaves & Barcellos, 2006).

A identificação e caracterização de raças de *P. triticina*, ocorrentes nos locais em que causam epidemias, fornecem informações sobre prevalências, flutuações, ocorrência de novas combinações gênicas de virulência (novas raças) e efetividade de genes de resistência em uso ou ainda não incorporados em cultivares (Chaves & Barcellos, 2006).

No Brasil, os trabalhos de identificação de raças deste fungo iniciaram em 1972, através do levantamento de variantes fisiológicas no Sul do país. Até o presente momento são relatadas na bibliografia 59 raças de *P. triticina* identificadas no Brasil. A população de *P. triticina* é extremamente dinâmica, sendo frequente o surgimento de novas raças, as quais podem tornar-se importantes, devido à sua ampla disseminação e/ou pela superação da resistência de uma cultivar amplamente cultivada (Chaves et al., 2005).

2.9 Frequência de raças

Levantamentos de raças realizados no Cone Sul da América do Sul mostraram que, mesmo havendo o surgimento de novas raças, muitas vezes

mais virulentas que as já existentes, algumas raças apresentam maior frequência no ambiente que as demais.

Em 1997 e 1998, a raça MCG-MN/ MCH-MN (B35), que primeiramente foi detectada em 1989, possuía alta frequência no Chile e na Bolívia, enquanto raças mais recentes para a época, como LFG-MS/LFH-RS (B38), TBJ-RR/TBK-RR (B40), MFT-CS/MFK-CS (B42) apresentaram maior frequência no Brasil, enquanto a raça MCJ-MT/MCN-MT (B43) foi a mais frequente na Argentina. Nos anos seguintes, tornou-se generalizada a raça TBJ-RR/TBK-RR (B40) no Brasil e a MCJ-MT/MCN-MT(B48) no Uruguai, Bolívia, Chile e Paraguai. Em 1999, a raça MCJ-MT/MCN-MT (B48) foi detectada pela primeira vez já em alta frequência (33,8%) no Brasil. Esta raça foi importante na maioria dos países da região do Cone Sul da América do Sul nos anos seguintes, exceto em 2001, quando a TBJ-RR/TBK- (B40) foi prevalecente e a MCJ-MT/MCN-MT (B48) foi a segunda raça mais frequente no Brasil (Chaves *et al.*, 2005).

Nos levantamentos de raças de *P. triticina* realizados no Brasil, no período de 2000 a 2012, evidenciou-se que a prevalência de algumas raças continua ocorrendo. A raça MFT-MT (B55) teve sua primeira detecção em 2004, já ocorrendo em uma frequência considerada muito alta de 72,8% em 2005 (Reunião..., 2008). Mais recentemente, a raça TFT-MT (B57), detectada em 2005, passou a prevalecer no Brasil, segundo os dados parciais do levantamento de 2011 e 2012 (M. S. Chaves, comunicação pessoal). Essas raças prevalecentes não parecem possuir maior amplitude de virulência ou virulências mais complexas em relação às demais raças ocorrentes no mesmo período, o que poderia lhes conferir uma vantagem seletiva e adaptativa e justificaria sua prevalência (M. S. Chaves, comunicação pessoal). Da mesma

forma, não parece haver um favorecimento à maior frequência dessas raças em função da suscetibilidade das cultivares amplamente semeadas no Brasil, pois as variedades mais populares nos últimos anos não se diferenciam quanto à suscetibilidade às raças mais e menos frequentes (Chaves *et al.*, em preparação).

A prevalência de algumas raças pode ser explicada por vantagens adaptativas que essas raças desenvolvem sobre as outras, levando-as a aumentar sua população em relação às demais. Essa adaptação é conhecida por agressividade e vem sendo bastante estudada.

2.10 Agressividade

Originalmente, Van der Plank (1963) definiu a agressividade como o componente não-específico de patogenicidade. Mais tarde definiu como um componente quantitativo de patogenicidade que é, por definição, não específica em relação a genótipos hospedeiros. A última definição em uso é o de dicionários especializados, onde o termo "agressividade" é a capacidade relativa de um patógeno de planta colonizar e causar danos às plantas, sem distinção para os aspectos quantitativos e qualitativos (FBPP, 1973; Shurtleff & Averre, 1997 ; Holliday, 1998; Pariaud *et al.*, 2009a). Para esta dissertação a agressividade refere-se à variação quantitativa de patogenicidade em hospedeiros suscetíveis, sem qualquer restrição relacionada com a especificidade, assim como Lannou *et al.* 2012 utilizaram em seu trabalho.

Portanto, a agressividade é uma característica quantitativa da interação planta-patógeno, que está sob seleção em epidemias de campo (Villaréal & Lannou, 2000), e tem consequências para a evolução de patógenos virulentos

em novas cultivares (Cowger & Mundt, 2002). A agressividade é frequentemente identificada pelas características dos elementos quantitativos do ciclo de vida do patógeno, como a eficiência de infecção, o período de latência, a taxa de esporulação, o período infeccioso ou o tamanho da lesão. Para alguns agentes patogênicos, a capacidade de produção de toxinas também pode ser avaliada (Pariaud *et al.*, 2009a).

A eficiência da infecção é definida como a probabilidade de que um esporo depositado sobre a superfície receptora do hospedeiro possa produzir uma lesão na ausência de interações competitivas e defesa da planta. Por razões práticas, a eficiência da infecção pode ser medida indiretamente pela observação do número de lesões ou *flecks* cloróticos (sinais anteriores ao surgimento das lesões), por unidade de área foliar (Clifford & Clothier, 1974; Knott & Mundt, 1991).

O período de latência é o intervalo de tempo entre a infecção e o início da esporulação do patógeno. Ele determina a duração dos ciclos e, assim, controla grande parte da taxa de desenvolvimento da epidemia. A definição de período de latência é clara quando aplicada a uma única lesão. O período que vai desde a germinação do fungo até o aparecimento da primeira lesão é considerado período de latência (Shaner, 1980; Pariaud *et al.*, 2009a). Como *Puccinia triticina* provoca epidemias policíclicas, o período de latência é um fator determinante para a aptidão da infecção desse patógeno (Lehman & Shaner, 1997; Lannou *et al.*, 2012).

A taxa de esporulação é a quantidade de esporos produzidos por lesão e por unidade de tempo (Clifford & Clothier, 1974; Sache, 1997). A esporulação é expressa em produção de esporos por unidade de área foliar doente (Clifford &

Clothier, 1974) ou em relação ao tamanho da lesão (Miller *et al.*, 1998). Ela reflete a competência do patógeno em explorar os recursos do seu hospedeiro e convertê-los em esporos (Pariaud *et al.*, 2009b)

O tamanho da lesão é outra característica quantitativa que pode ser mensurada como um componente de agressividade (Kolmer & Leonard, 1986; Mundt *et al.*, 2002) e é, geralmente, definida como a área da superfície que produz os esporos. Para alguns agentes patogênicos, como *P. triticina*, o tamanho da lesão permanece localmente limitado, mas pode aumentar drasticamente em algumas espécies, tais como *Pythophtora infestans* (Mont.) De Bary e *Puccinia striiformis* Eriks. & Henn, para qual o crescimento da lesão é semi-sistêmico (Emge *et al.*, 1975). Nesse caso, o tamanho da lesão conta em grande parte para o desenvolvimento quantitativo de epidemias e a taxa de crescimento da lesão é um fator chave na competição patógeno e tecido hospedeiro disponível (Pariaud *et al.* 2009a).

Volin & Sharp (1973) investigaram se dez raças de *P. striiformis* diferenciavam-se em agressividade, através da comparação da porcentagem de germinação. Concluíram que duas raças foram mais agressivas do que oito outras raças estudadas, porque tiveram percentagens de germinação de uredosporos significativamente mais elevados em 5, 10, 15 e 20 °C. Resultados a 20 °C foram mais relevantes, porque 25% dos esporos das raças agressivas germinaram, enquanto que nenhum dos esporos das outras raças germinou. Priestly & Doling (1974) documentaram, utilizando a mensuração do comprimento de pústulas, a partir de um ponto de inoculação em folhas de trigo (uma variável correlacionada com a quantidade de produção de esporos), que

havia diferenças significativas na agressividade entre quatro isolados de *P. striiformis* de mesma raça.

Estudo realizado por Millus *et al.* (2006) sobre a ferrugem linear do trigo, causada por *Puccinia striiformis*. f. sp. *tritici*, buscou determinar se novos isolados com detecção a partir do ano 2000 eram mais agressivos e melhor adaptados a temperaturas mais quentes do que isolados mais antigos. Esses isolados mais recentes se expandiram no leste dos Estados Unidos, superando a prevalência dos antigos. Após a avaliação do período de latência em plântulas e germinação dos uredosporos, observou-se que esporos mais novos possuíam período de latência com 2 dias a menos que as demais raças e a germinação dos esporos foi o dobro, quando comparado com os isolados mais antigos. Concluindo, então, que os novos isolados são melhores adaptados e, conseqüentemente, mais agressivos em temperaturas mais quentes do que os isolados antigos. Essas adaptações podem ter contribuído para a gravidade da recente epidemia na região e para expansão geográfica da ferrugem linear.

Pariaud *et al.* (2009b) testaram 3 raças de *P. triticina*. Um dos patótipos, identificado como P1, estava sendo encontrado em alta frequência na cultivar amplamente cultivada Soissons. Os autores hipotetizaram que esse patótipo era mais agressivo do que outros, também virulentos na mesma cultivar, chamados de P2 e P3. Vários componentes de vida do patógeno foram mensurados em fase de planta adulta. Entre eles estavam período de latência, produção de esporos por pústula e por unidade de tecido esporulante, tamanho da urédia e tempo de vida da lesão. Independente do componente, P1 foi repetidamente mais agressivo que pelo menos um ou ambos os demais

patótipos, com diferenças de 5 para 51%. Concluíram, então, que as três raças apresentam diferentes perfis de agressividade.

É possível ainda encontrar na literatura, pesquisas que investigaram a agressividade em outros patógenos, além dos causadores de ferrugem. Um dos exemplos documentados é de uma população de *Phytophthora infestans* na Bacia de Columbia em Whashington e Oregon, nos Estados Unidos. A agressividade foi medida utilizando a área sob a curva de extensão da lesão (ASCEL), o período de incubação, período de latência, capacidade de esporulação, entre outros componentes, e foi possível verificar variação significativa entre os isolados testados. Miller *et al.* (1998) verificaram que os “novos” isolados apresentaram maiores taxas de expansão da lesão, capacidade de esporulação mais elevada e períodos de latência mais curtos, em comparação com os isolados “velhos”. Esse estudo possibilitou a conclusão de que a diferença em agressividade desses isolados levou a mudanças populacionais de *P. infestans*.

Ainda, muitos autores avaliam os caracteres quantitativos da epidemia (caracteres de agressividade) para estudar a resistência quantitativa de plantas hospedeiras. Alguns exemplos de estudos que investigaram a resistência a ferrugem da folha são encontrados em Chaves *et al.* (2004), Wesp *et al.* (2008) e Azzimottill *et al.* (2013). Essa resistência caracteriza-se por uma redução na taxa de desenvolvimento da doença, através da combinação dos componentes que a condicionam, como redução na frequência de infecção, menor comprimento de lesões, períodos de latência mais longos, menores taxas de produção de esporos e menor período infeccioso (Whal *et al.*, 1980). A maioria desses estudos, no entanto, considera apenas alguns isolados e não permite a

inferência de conclusões ao nível de população de uma área. Por outro lado, relativamente poucos estudos examinaram a consequência que os aspectos quantitativos da interação patógeno-hospedeiro representam nas populações de patógenos (Pariaud *et al.*, 2009a).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram realizados em dois locais, na Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, onde os esporos de *Puccinia triticina* foram multiplicados e na Faculdade de Agronomia da UFRGS, Porto Alegre, RS, onde as características do ciclo de vida do patógeno foram mensuradas.

3.1 Material Biológico

3.1.1 Patógeno

As raças do patógeno foram SPJ-RS (B50), MFT-CT/ MFT-HT (B51), MHT-LS (B53), TFT-HT (B54), MFT-MT (B55), MFP-CT (B56), TFT-MT (B57), MDP-MR (B58) e MFT-MT+(B59) (Tabela 2). Essas raças tiveram detecção no Brasil a partir do ano de 2002, ficando excluída somente a raça B52, devido à indisponibilidade de inóculo em quantidade suficiente para a utilização nos experimentos. Os esporos foram oriundos da coleção de raças dos fungos causadores de ferrugens do trigo, mantida pelo Laboratório de Ferrugens dos Cereais da Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS (Figura 5).

TABELA 2. Frequência (%) da ocorrência das raças de *Puccinia triticina* estudadas no Brasil do ano de 2002 a 2012, isolamento e suas fórmulas de Virulência e Avirulência.* Passo Fundo, RS, 2014.

| Cod Prt | Cod B | Ano de Detecção | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 |
|---------|-------|-----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|------|-------|------|
| SPJ-RS | B50 | 2002 | 4,9 | 7,22 | 5,22 | 3,92 | 12,04 | 0,94 | | | 0,3 | | |
| MFT-CT | B51 | 2002 | 7,65 | 13,77 | 20,87 | 3,01 | 2,62 | 2,35 | 4,7 | 15,4 | 0,3 | 0,57 | 2,99 |
| MHT-LS | B53 | 2003 | | 10,61 | | | | | 0,7 | | | | |
| TFT-HT | B54 | 2004 | | | 18,70 | 0,60 | 2,09 | 1,42 | 1,3 | 1,2 | 0,7 | | 1,50 |
| MFT-MT | B55 | 2004 | | | 12,17 | 74,69 | 66,49 | 73,12 | 75,2 | 49,4 | 48,4 | 5,38 | 3,59 |
| MFP-CT | B56 | 2005 | | | | 0,60 | 5,24 | 1,42 | 0,7 | 2,5 | 1,6 | 1,41 | 0,3 |
| TFT-MT | B57 | 2005 | | | | 1,51 | | 5,90 | 12,1 | 9,9 | 35,5 | 80,45 | 88 |
| MDP-MR | B58 | 2007 | | | | | | 3,07 | | 2,5 | | | |
| MFT-MT+ | B59 | 2007 | | | | | | 0,94 | | 9,9 | 12,8 | 6,8 | 3 |

| Fórmulas de Virulência e Avirulência | | | | |
|--------------------------------------|------------|--------------------------|--|--|
| | Isolamento | Genes <i>Lr</i> efetivos | Genes <i>Lr</i> não efetivos | |
| SPJ-RS | B50 | 381/02B | <i>Lr3, Lr16, Lr3ka, Lr30, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr2a, Lr2c, Lr9, Lr24, Lr26, Lr11, Lr17, Lr10, Lr18, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20</i> |
| MFT-CT | B51 | 499/09B | <i>Lr2a, Lr2c, Lr9, Lr16, Lr10, Lr18, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr3, Lr24, Lr26, Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20</i> |
| MHT-LS | B53 | 497/03A | <i>Lr2a, Lr2c, Lr9, Lr24, Lr18, Lr21, Lr23, Lr20</i> | <i>Lr1, Lr3, Lr16, Lr26, Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30, Lr10, Lr14a, Lr14b</i> |
| TFT-HT | B54 | 719/10AO | <i>Lr9, Lr16, Lr10, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr2a, Lr2c, Lr3, Lr24, Lr26, Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30, Lr18, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20</i> |
| MFT-MT | B55 | 353/09AO | <i>Lr2a, Lr2c, Lr9, Lr16, Lr18, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr3, Lr24, Lr26, Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30, Lr10, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20</i> |
| MFP-CT | B56 | 253/07AO | <i>Lr2a, Lr2c, Lr9, Lr16, Lr11, Lr10, Lr18, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr3, Lr24, Lr26, Lr3ka, Lr17, Lr30, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20</i> |
| TFT-MT | B57 | 771/11AO | <i>Lr9, Lr16, Lr18, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr2a, Lr2c, Lr3, Lr24, Lr26, Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30, Lr10, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20</i> |
| MDP-MR | B58 | 602/07A | <i>Lr2a, Lr2c, Lr9, Lr16, Lr26, Lr11, Lr18, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr3, Lr24, Lr17, Lr30, Lr3ka, Lr10, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20</i> |
| MFT-MT+ | B59 | 443/09AO | <i>Lr2a, Lr2c, Lr9, Lr16, Lr18, Lr21</i> | <i>Lr1, Lr3, Lr24, Lr26, Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30, Lr10, Lr23, Lr14a, Lr14b, Lr20, +</i> |

*Tabela com dados dos levantamentos de raças realizados na Embrapa Trigo (Chaves, M.S., em preparação). + Existem outros genes ainda não conhecidos.



FIGURA 5. Coleção de raças de *Puccinia triticina* do Laboratório de Ferrugens dos Cereais da Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS. Fonte: Nageli Almeida. Porto Alegre, RS, 2014.

As raças desta coleção são provenientes das principais regiões tritícolas do Brasil, cujas amostras são coletadas e enviadas à Embrapa Trigo anualmente, por meio de uma rede de pesquisa colaborativa (Figura 6). Previamente à execução dos experimentos, três ciclos de multiplicação de uredosporos, de cada raça, foram feitos para obtenção de esporos frescos, maximizando a uniformidade em relação a sua viabilidade. Nas inoculações foram utilizados sempre esporos frescos (no máximo 15 dias após a coleta).



FIGURA 6. Locais de amostragem de *Puccinia triticina* para os levantamentos de raças conduzidos pela Embrapa Trigo (Passo Fundo, RS) Fonte: Google Maps. Porto Alegre, RS, 2014.

3.1.2 Hospedeiro

As inoculações foram realizadas sobre a cultivar de trigo Morocco, suscetível a todas as raças de *P. triticina* testadas. Esta cultivar foi semeada em potes plásticos, com capacidade de 30 ml, contendo solo e vermiculita (8:2) e mantidos em sala climatizada com temperatura controlada de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ e foto-período de 12h. A densidade de plantio foi de aproximadamente oito sementes por pote, fazendo-se o desbaste, quando necessário, para o número de plantas desejado. Quando os coleótilos atingiram 1 cm de altura, foi realizada uma rega com 20 ml de solução aquosa do redutor de crescimento hidrazida maleica ($0,25 \text{ g.L}^{-1}$), em cada copo, para prevenir o aparecimento das folhas secundárias (Roelfs *et al.*, 1992; Pariaud *et al.*, 2009b).

3.2 Inoculação, variáveis quantificadas e réplicas biológicas

A inoculação foi realizada com suspensão de esporos frescos, de cada raça de *P. triticina*, em óleo mineral (para melhor adesão dos esporos nas folhas) ou água destilada (para os experimentos em placas de *Petri*), sendo o método ajustado de acordo com a variável quantificada. Foram avaliados o período latente, o comprimento das pústulas, a produção de esporos por pústula e a germinação de esporos. Esses estudos foram replicados duas vezes para confirmação do resultado.

3.2.1 Período Latente

Para a avaliação do período latente, as plântulas da cultivar Morocco foram inoculadas, aos 10 dias após a semeadura, com aproximadamente 0,8 mg de esporos de cada raça, diluídos em 1 ml de óleo mineral Sortrol. A suspensão foi aspergida na primeira folha totalmente expandida, através de um atomizador com pressão gerada por ar comprimido. A incubação das plântulas foi feita a 20 °C em câmara úmida, no escuro, por 18 horas. Após o período de incubação, as plântulas foram transferidas novamente para câmara de crescimento, até o aparecimento dos sintomas.

O período latente foi acompanhado a partir do quinto dia após a inoculação, que correspondeu ao aparecimento dos primeiros sinais visíveis de infecção, as manchas cloróticas chamadas de “*flecks*”. As plântulas foram observadas com auxílio de uma lupa manual, com um aumento de 20 vezes, em intervalos de uma hora durante dois dias até o aparecimento da pústula. O período latente foi medido em número de horas após a inoculação até a primeira pústula visivelmente romper a epiderme foliar (Knott & Mundt, 1991). O experimento teve delineamento experimental completamente casualizado,

com 10 repetições, sendo cada unidade experimental constituída por um pote com cinco plântulas. O delineamento de tratamento foi monofatorial (raça), com nove níveis.

3.2.2 Tamanho de Pústula

Neste experimento foi utilizado o material vegetal inoculado proveniente do experimento de período latente, descrito anteriormente. Doze dias após a inoculação, os sintomas estavam totalmente desenvolvidos e as folhas com as uredopústulas foram coletadas, prensadas em papel absorvente e acondicionadas em temperatura de -4°C para secagem e armazenamento. As pústulas dessas folhas foram mensuradas utilizando microscópio estereoscópico Leica MZ-12 com lente ocular graduada. Para cada raça mediu-se o comprimento de 100 pústulas (em μm), sob aumento de 25 vezes. O experimento teve delineamento completamente casualizado, com 100 repetições, sendo que cada pústula constituiu uma unidade experimental. O delineamento de tratamento foi monofatorial (raça), com nove níveis.

3.2.3 Esporulação

As plântulas foram inoculadas, da mesma forma descrita no item 3.2.1 e aos 5 dias após a inoculação, quando nenhuma pústula havia rompido a epiderme, foram envolvidas em papel celofane em forma de cone ajustado e fixado na base das plântulas (Figura 7), com a finalidade de reter os esporos produzidos.

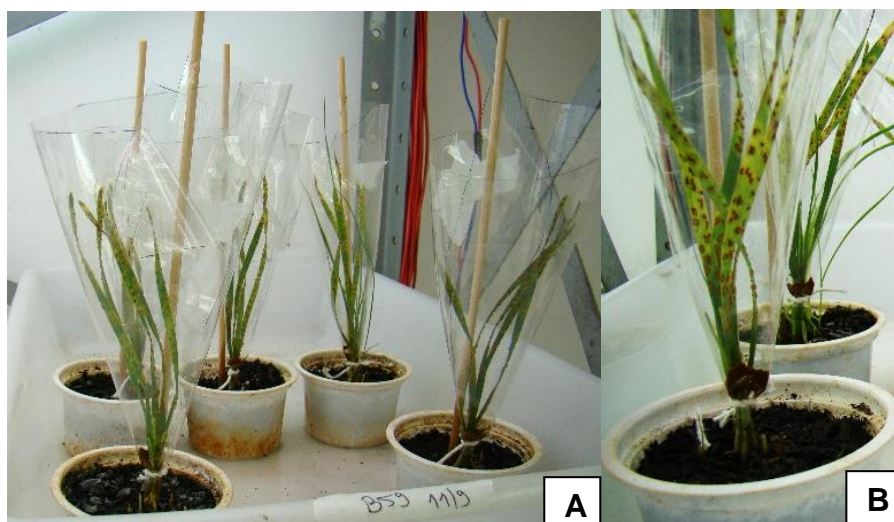


FIGURA 7. A) Experimento para avaliação da Esporulação de *Puccinia triticina*. B) Detalhe mostrando a retenção dos esporos produzidos pelas pústulas na base do cone. Faculdade de Agronomia da UFRGS. Porto Alegre, 2013

O experimento era composto por dez potes, cada pote foi envolvido por um cone, em 12 dias após a inoculação, foram coletados os cones de cinco potes, contendo folhas e esporos e depois de 20 dias da inoculação foram coletados os cones restantes. As folhas e os esporos foram transferidos para tubos falcon, com capacidade de 10 ml, contendo Lactofenol, que, por sua vez, foram colocados em agitador orbital vortex por 5 min, para retirada completa dos esporos das pústulas. Foi quantificada a produção de esporos por pústula, em 12 e em 20 dias após a inoculação, e a taxa de produção de esporos por pústula por dia neste intervalo de tempo. Estimou-se o número de esporos presentes nos 10 ml da suspensão, de cada tubo, utilizando-se uma Câmara de Neubauer.

Em seguida foram contadas as pústulas presentes nas folhas coletadas, utilizando microscópio estereoscópico Leica MZ-12.

O número de esporos por pústula foi determinado através da divisão do número de esporos nos 10 ml de suspensão, pelo número de pústulas nas folhas das quais os esporos foram retirados.

A taxa de produção de esporos por pústula, por dia, foi feita através da diferença do número de esporos produzidos por pústula em 20 dias pelo número de esporos em 12 dias e esse valor foi dividido pelo número de dias que compreenderam esse período (8 dias). O delineamento experimental foi completamente casualizado, com cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por um pote contendo cinco folhas. O delineamento de tratamento foi um fatorial 9x2 (raça x tempo).

3.2.4 Germinação de Esporos

Uma pequena alíquota (aproximadamente 0,0020g) de esporos, foi suspensa em 3 ml de água deionizada com espalhante adesivo (Tween[®] 80), na proporção de 0,1 ml para cada 100 ml de água. A suspensão foi aspergida sobre placas *de Petri* contendo meio de cultura ágar-água 0,2%, através de válvulas *spray* acoplados a frascos de plástico PET com capacidade para 10 ml. As placas inoculadas foram incubadas em câmara de crescimento BOD na temperatura considerada como ótima (20°C) e alta (25°C) para germinação de *P. triticina* (Singh *et al.*, 2002). Em ambas as temperaturas, a germinação de esporos foi avaliada nos regimes de luminosidade claro e escuro, sendo que, para o primeiro, as luzes da BOD foram mantidas acesas e, para o segundo, desligadas, com as placas envolvidas em papel alumínio.

Em cada situação (temperatura x luminosidade), a germinação dos esporos foi paralisada em 3, 6 e 12h após a inoculação, pela aspensão de formaldeído mín. 37% (Merk) em cada placa. Foram considerados como germinados os esporos que apresentaram tubo germinativo com comprimento igual ou superior ao tamanho do esporo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada placa uma

unidade experimental. Foi observado 500 esporos/ placa, sendo quantificado o percentual de esporos germinados. O delineamento de tratamento consistiu em um fatorial 9x2x2x3 (raça x temperatura x luminosidade x tempo).

3.3 Análise Estatística

Os dados obtidos nos ensaios foram submetidos à análise da variância (ANOVA), e a discriminação da variação entre os tratamentos foi feita pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro (fatores qualitativos) e para determinar a associação entre duas variáveis foi utilizada a análise de regressão (dados quantitativos) através do software SAS. As demais análises foram feitas utilizando o software SISVAR 5.3 (Ferreira, 2011) e os gráficos foram gerados pelo programa SigmaPlot. Todos os experimentos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para os dados que não atenderam ao pressuposto de normalidade realizou-se transformação do tipo logarítmica ($\log_{10}(x)$) (Esporulação) e raiz quadrada (Tamanho de Pústula). Realizou-se a análise conjunta das duas réplicas biológicas de cada experimento, após constatada a homogeneidade de variâncias dos erros.

Para as análises de correlação entre os caracteres quantitativos de agressividade estudados nesse trabalho foi utilizada a análise estatística descritiva através do coeficiente de correlação de Pearson pelo software GraphPad Prism 5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Período Latente

Houve diferença significativa entre as raças quanto ao período latente ($P < F = 0,0001$). O período latente médio das raças estudadas variou de 125,5 a 135 horas após a inoculação (hai) conforme a Tabela 3.

TABELA 3. Comparação do período latente (em horas após a inoculação, h.a.i.) de raças de *Puccinia triticina* em fase plântulas sob condições controladas. Dados referentes a médias de dois experimentos. Porto Alegre, RS, 2014.

| Raça | Período latente (h.a.i)* |
|---------------|--------------------------|
| B53 | 135,0 a |
| B51 | 130,5 b |
| B50 | 129,5 c |
| B55 | 129,5 c |
| B56 | 129,0 c |
| B59 | 129,0 c |
| B54 | 128,3 d |
| B58 | 127,8 d |
| B57 | 125,5 e |
| CV (%) | 0,71 |

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente segundo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$)

A raça que mostrou o menor período latente foi B57 com 125,5 horas. A raça B53 apresentou maior período latente, com 135 horas para apresentar as primeiras pústulas abertas. Menores períodos latentes podem estar conferindo vantagens adaptativas, pois raças que apresentam essa característica têm esporos liberados precocemente em relação às demais. Quanto menor o período latente, maior o número de gerações produzidas durante a estação de

um cultivo. Embora essa diferença pareça ser pequena (9,5 horas entre o maior e o menor período latência observados), ao se fazer uma analogia com o período da epidemia de ferrugem, que geralmente duram de 30 até 60 dias (dependendo do ano e da genética do genótipo), considerando o PL isoladamente, a raça B57, com menor período de latência observado, teria 11,47 ciclos de infecção. Já a raça com maior período de latência (B53) teria 10,66 ciclos, 0,81 ciclos de infecção a menos.

Lehman & Shaner (1996) simularam epidemias de ferrugem da folha do trigo e verificaram que a doença progride mais rapidamente nos genótipos com períodos de latência mais curtos, do que em genótipos com períodos latentes mais longos e intermediários. Além disso, em estudo realizado por Millus *et al.* (2006) onde compararam raças antigas e raças recentes de *P. striiformis*, na fase de planta adulta, as raças recentes possuíram período de latência menor em dois dias, em relação a raças mais antigas. Os autores concluíram que essas diferenças, mesmos parecendo pequenas, podem ter contribuído para a gravidade das epidemias recentes na região leste dos Estados Unidos e para a expansão geográfica da ferrugem linear, indicando que essas raças eram mais agressivas que as antigas.

Recentemente, van den Berg *et al.* (2012) demonstraram que altos níveis de autoinfecções em uma lavoura, ao nível de folha, podem facilitar a seleção de mutantes com menor período de latência. Para ferrugem da folha de trigo, a autoinfecção permite uma saturação rápida das folhas infectadas com novas lesões (Lannou *et al.*, 2008), o que pode favorecer as raças que possuem um período latente mais curto, mesmo que a diferença entre as demais raças do ambiente seja pequena (Pariaud *et al.*, 2012). Em contrapartida, quanto maior o período de latência, menos agressivo é considerado o patógeno, que conta

com menos tempo para a esporulação e, assim, menos esporos gerarão ciclos secundários na lavoura (menor número de gerações produzidas durante a estação) e as mesmas implicações estarão envolvidas nos ciclos secundários (Bergamin Filho & Amorim, 1996).

Observando as fórmulas de virulência das raças apresentadas na Tabela 2 (página 24), é possível notar que as raças B51, B55 e B57 se assemelham geneticamente podendo indicar que uma raça deu origem a outra. Por exemplo, a raça B51 composta pelos genes *Lr* efetivos de trigo, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr16*, *Lr10*, *Lr18*, *Lr21* foi uma raça que teve surgimento em 2002, apresentou alta frequência nos levantamentos de raças, apresentando queda somente em 2005, quando a raça B55 passou a prevalecer. A raça B55 pode ter surgido a partir da raça B51, devido sua composição genética apresentar semelhança na presença dos genes *Lr* efetivos, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr16*, *Lr18*, *Lr21* diferenciando-se apenas pela ausência de efetividade do gene *Lr10*. Já a raça B57 possui composição genética semelhante a B55 e B51 composta pela efetividade dos genes *Lr9*, *Lr16*, *Lr18*, *Lr21* adquirindo virulência aos genes *Lr2a* e *Lr2c*. No entanto, surgindo em 2005, com dois genes a mais vencidos que B55 e três a mais que B51 somente passou a prevalecer nos levantamentos em 2011.

O menor período de latência de B57 pode ser um dos fatores que contribuíram para a vantagem dessa raça sobre as demais nos levantamentos (Tabela 2). Podendo ser considerado um fator de agressividade em plântula mas, esses dados deveriam ser confirmados em planta adulta pois, segundo o presente estudo a vantagem é menos que um ciclo de infecção e, em anos menos favoráveis, com epidemias curtas, o menor período de latência não conferiria quase vantagem. Ainda, as raças que apresentaram período latentes mais longos como é o caso de B53, B56 e B58, também possuem baixa

frequência nos levantamentos indicando que o período de latência pode estar influenciando sua ocorrência no campo.

4.2 Tamanho de pústula

Houve diferença significativa entre as raças quanto ao tamanho de pústulas ($P > F = 0,0001$). As raças B55, B56 e B58 apresentaram os maiores tamanhos de pústulas com, 1012,09 μm , 1038,13 μm e 1011,94 μm de comprimento respectivamente. A raça B51 apresentou o menor comprimento com 627,16 μm de diâmetro (Tabela 4).

TABELA 4. Comparação do Tamanho de Pústula (μm) das nove raças de *Puccinia triticina* estudadas em fase de plântula 12 dias após a inoculação. Dados referentes a médias de dois experimentos. Porto Alegre, RS, 2014.

| Raça | Tamanho de Pústula (μm)* |
|---------------|---------------------------------------|
| B56 | 1038,13 a |
| B55 | 1012,09 a |
| B58 | 1011,94 a |
| B54 | 918,20 b |
| B59 | 899,57 b |
| B57 | 865,98 b |
| B53 | 820,89 c |
| B50 | 718,63 d |
| B51 | 627,16 e |
| CV (%) | 18,59 |

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente segundo teste de Scott-Knott $P < 0,05$). Dados transformados em $\sqrt{x+1}$.

O tamanho da lesão conta em grande parte para o desenvolvimento quantitativo de epidemias e a taxa de crescimento da lesão é um fator chave na competição entre o patógeno e tecido hospedeiro disponível (Pariaud *et al.*, 2009b). A medição do tamanho da lesão a partir do ponto de inoculação para quatro isolados de *P. striiformis* determinou diferenças de agressividade entre eles (Priestley & Doling, 1974). *P. striiformis* é um patógeno que possui um crescimento semissistêmico no sentido das nervuras das folhas, fazendo com

que este componente da vida do patógeno seja importante para a taxa de progresso da epidemia.

Os dados observados nesse experimento sugerem que as raças B56, B55 e B58 possuem uma capacidade superior para crescimento nos tecidos do hospedeiro, em relação às demais. A B55 é uma raça que desde sua detecção (2005) apresentou alta frequência, devido sua superação a genes efetivos do hospedeiro. O maior tamanho de pústula dessa raça, somado ao moderado período de latência, deve ter auxiliado ao seu rápido aumento de frequência (Tabela 2). Embora o tamanho de pústula não seja determinante por si só, ele está associado a produção de esporos por pústula, como descrito por Priestley & Doling (1974).

4.3 Esporulação

Houve diferença significativa entre as raças de *P. triticina* quanto a produção de esporos por pústula, na fase de plântulas ($P > F = 0,0001$).

As raças não se diferenciaram em produção de esporos após doze dias da inoculação. Já em 20 dias, somente a raça B53 apresentou produção inferior que as demais raças (Tabela 5). O fato de B53 não ter apresentado uma produção de esporos mais elevada em vinte dias como ocorreu com as demais raças, pode indicar que esta raça possui um declínio na produção após doze dias, visto que o fato se repetiu nas duas réplicas realizadas. A menor produção de esporos da raça B53, somado ao fato de ser a raça com maior número de genes de resistência efetivos, deve ter contribuído para a sua baixa frequência (Tabela 2). Analisando a Tabela 2 reforça-se a ideia que a constituição genética da raças, quanto ao genes de avirulência efetivos e não efetivos, é fator preponderante para sua frequência. Porém, a frequência das

raças deve ser influenciada pelos caracteres adaptativos analisados neste trabalho.

Ao se comparar o resultado do tamanho de pústula (Tabela 4) com os de esporulação (Tabela 5), observou-se que as raças com maior tamanho de pústulas, B56, B55 e B58 apresentaram grande capacidade de produção de esporos, embora essa diferença não tenha sido detectada como significativa, ao nível de 5% de probabilidade. O oposto foi encontrado por Pariaud *et al.* (2009b), onde verificaram que o patótipo de *P. triticina* que possuía o menor tamanho de pústulas produzia grande quantidade de esporos, provavelmente como forma de compensação.

TABELA 5. Comparação da produção de esporos por pústula das nove raças do patógeno *Puccinia triticina* em 12 e 20 dias após a inoculação. Dados referentes a médias de dois experimentos. Porto Alegre, RS, 2014.

| Raça | 12 dias* | 20 dias | Taxa (esporos/dia) |
|--------------|-----------------|----------------|---------------------------|
| B55 | 5075,70 a | 14738,02 a | 736,90 a |
| B56 | 4980,41 a | 13749,08 a | 687,45 a |
| B51 | 3997,24 a | 12714,66 a | 635,73 a |
| B58 | 4922,92 a | 13584,68 a | 679,23 a |
| B59 | 4687,83 a | 12896,30 a | 644,82 a |
| B54 | 5200,95 a | 13007,02 a | 650,35 a |
| B50 | 5802,79 a | 12239,42 a | 611,97 b |
| B57 | 6012,80 a | 11033,72 a | 551,69 b |
| B53 | 4716,34 a | 4776,97 b | 238,85 c |
| CV(%) | 1,69 | | |

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente, segundo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Dados transformados em $\log(x)$.

A comparação entre os dias de coleta mostrou que em 20 dias após a inoculação a produção de esporos foi superior para a maioria das raças. A única exceção foi para B53, que não apresentou diferenças na produção de esporos entre as duas coletas.

O cálculo da taxa de esporos produzidos, por pústula, ao dia, evidenciou que as raças podem ser divididas em três grupos no que se refere à produção de esporos. As raças, B55, B56, B51, B58, B59 e B54 apresentaram os

maiores valores. No segundo grupo, classificaram-se as raças B50 e B57 e no terceiro grupo, somente a raça B53. Usando uma metodologia um pouco diferente da utilizada neste trabalho, Pariaud *et al.* (2009b) através da pesagem de esporos de *P. triticina* diferenciaram três patótipos quanto a produção de esporos por pústula, observando que um dos patótipos produzia mais esporos que os outros dois. Os autores indicaram que esta poderia ser uma característica de agressividade. Por outro lado, a raça B57 pertence ao grupo intermediário e foi a de maior frequência, indicando que a constituição genética da raça, quanto aos genes de avirulência (Tabela 2) deva mesmo ser o fator mais importante na determinação da dinâmica das raças.

Da mesma forma, Millus *et al.* (2006), ao estudar raças de *P. striiformis*, descreveram que o período latente e a produção de esporos são considerados como as variáveis mais importantes para quantificar tanto a agressividade como a resistência quantitativa em trigo. Verificaram ainda que isolados com menores períodos de latência e maior produção de esporos são considerados mais agressivos que os isolados com períodos latentes maiores e menor produção de esporos. No presente trabalho, das raças testadas somente a raça B51 apresentou algo semelhante ao descrito por Millus *et al.* (2006), curto período de latência e alta produção de esporos por pústula. Além disso, apesar desta raça possuir sete genes *Lr* efetivos conhecidos, apareceu em todos os anos estudados nos levantamentos de raças, embora em frequências relativamente baixas entre 2005 e 2012 (Tabela 2). Desta forma, apesar de características adaptativas favoráveis, os dados indicam que a interação entre a genética de resistência do hospedeiro e de avirulência do patógeno é mais importante que a adaptação fisiológica da raça. Mas essa maior adaptação pode contribuir para a manutenção da raça no ambiente, uma vez que a raça

B51 esteve sempre presente nos levantamentos, entre 2002 e 2012. Além de que, as raças de maior frequência no período foram B51, B55 e B57, sendo que provavelmente as últimas duas raças descendem de B51, conforme descrito anteriormente.

4.4 Germinação de Esporos

A análise da variância da germinação de esporos revelou efeitos significativos tanto para a interação quádrupla Raça x Luminosidade x Horas x Temperatura quanto para os efeitos simples desses fatores ($P > F = 0,00001$).

As discriminações de variação entre tratamentos foram: Raças dentro da interação tripla (Temperatura x Luminosidade x Horas); Temperatura dentro da interação tripla (Luminosidade, Horas e Raças); Horas dentro da interação tripla (Temperatura X Luminosidade x Raças); Luz dentro da interação tripla (Temperatura x Raça x Horas). Para fatores qualitativos foi realizado o teste de médias Scott-Knott (Tabela 6). Para o fator quantitativo, os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial (Figura 8), sendo realizados os cálculos do ponto máximo e mínimo da germinação para as raças que se ajustaram em equações quadráticas. Equações onde o termo quadrático “c” da função foi maior que zero ($c > 0$) apresentaram ponto mínimo de germinação, enquanto que as equações onde “c” foi menor que zero ($c < 0$) apresentaram o ponto máximo.

Para o desdobramento de raças dentro da interação Temperatura x Luminosidade x Horas (Tabela 6), a comparação entre percentual de germinação das raças estudadas, considerando a situação envolvendo temperatura ótima no CLARO, mostrou que em três horas a raça B55 foi a que apresentou maior percentual de germinação, com 77,06%. Em seis horas os

maiores percentuais de germinação foram de B55, B56, B58 e B59, com 81,48%, 88,16%, 76,80%, 82,48% e 80,66% respectivamente. Em doze horas as raças B54, B55, B56 e B58 apresentaram maiores percentuais, com 80,00%, 81,24%, 86,74% e 79,66%, respectivamente.

TABELA 6. Percentual de germinação de esporos de *Puccinia triticina*, nas condições de temperatura ótima (20°C) e alta (25°C), claro e escuro em 3h, 6h e 12h após a inoculação das placas. Dados referentes a médias de dois experimentos. Porto Alegre, RS, 2014.

| | | Germinação de esporos (%) | | | | | |
|------------------|------|---------------------------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Temp. | Raça | Claro | | | Escuro | | |
| | | 3h* | 6h | 12h | 3h | 6h | 12h |
| Ótima (20 °C) | B50 | 55,16caB | 75,88baB | 76,12baA | 84,08 baA | 84,36 aaA | 87,08 aaA |
| | B51 | 66,84baB | 74,48baA | 73,44baA | 90,74 aaA | 82,66 aaA | 85,32 aaA |
| | B53 | 67,54baB | 79,42baA | 75,62baA | 90,52 aaA | 86,32 aaA | 86,10 aaA |
| | B54 | 57,62caB | 75,84baA | 80,00aaA | 89,94 aaA | 86,68 aaA | 82,54 baA |
| | B55 | 77,06aaA | 81,48aaA | 81,24aaA | 90,14 aaA | 89,48 aaA | 88,62 aaA |
| | B56 | 64,16baA | 88,16aaA | 86,74aaA | 82,50 baA | 86,66 aaA | 88,52 aaA |
| | B57 | 57,80caA | 76,80baA | 67,36caA | 70,44 caA | 70,34 baA | 75,44 baA |
| | B58 | 62,10caB | 82,48aaA | 79,66aaA | 83,44 baA | 80,56 aaA | 82,14 baA |
| | B59 | 67,78baA | 80,66aaA | 68,58caA | 77,54 caA | 84,54 aaA | 82,06 baA |
| Alta (25 °C) | B50 | 28,98cbA | 34,62cbA | 20,30dbB | 44,68 bbA | 46,58 bbA | 67,64 baA |
| | B51 | 36,28bbA | 30,62dbA | 60,54abA | 18,70 cbA | 21,86 cbA | 65,58 baA |
| | B53 | 29,72cbA | 15,90ebB | 42,78bbA | 43,84 bbA | 37,34 cbA | 48,52 cbA |
| | B54 | 24,98cbB | 17,04ebB | 30,84cbB | 70,80 aaA | 61,04 abA | 74,86 aaA |
| | B55 | 39,22abB | 41,08bbA | 58,30abA | 66,78 abA | 59,54 abA | 72,16 aaA |
| | B56 | 27,54cbB | 21,28ebB | 53,68abA | 67,98 aaA | 47,76 bbA | 66,22 bbA |
| | B57 | 22,86cbB | 18,44ebB | 25,00dbB | 48,00 bbA | 56,06 aaA | 67,20 baA |
| | B58 | 35,50bbB | 44,10bbA | 28,96cbB | 68,58 aaA | 60,10 abA | 52,56 cbA |
| | B59 | 68,48aaA | 55,80abA | 57,80aaA | 64,30 aaA | 64,44 aaA | 66,52 baA |
| CV (%) | | 13,27 | | | | | |

* Médias seguidas pela mesma letra não se diferem estatisticamente segundo o teste de Scott-Knott P< 0,05). Letras minúsculas indicam comparações entre raças, letras minúsculas em negrito indicam comparações entre temperaturas e letras maiúsculas indicam comparações entre condições de luminosidade.

A comparação entre percentual de germinação das raças estudadas, considerando a situação envolvendo temperatura ótima no ESCURO, demonstrou que em três horas os melhores percentuais de germinação foram de B51, B53, B54 e B55 com 90,74%, 90,52%, 89,94% e 90,14% respectivamente; em seis horas, a raça B57 foi inferior às demais e apresentou percentual de 70,34%; em doze horas as raças B50, B51, B53, B55, B56 apresentaram maiores percentuais de germinação. As demais raças não se diferenciaram entre si (Tabela 6).

O percentual de germinação das raças estudadas, considerando a situação envolvendo temperatura alta no CLARO, mostrou que: em três horas, as raças B55 e B59 apresentaram os maiores percentuais, com 39,22% e 68,48% respectivamente; em seis horas, a raça B59 apresentou maior percentual de germinação, 55,80%; em doze horas, as raças B51, B55, B56 e B59 apresentaram os maiores percentuais de germinação de 60,54%, 58,30%, 53,67% e 57,80% respectivamente. As raças B50 e B57 apresentaram os menores percentuais com 20,30% e 25% nessa situação (Tabela 6).

As raças se diferenciam quanto à germinação para as diferentes condições de ambiente a que foram expostas. A variável de germinação poderia ser comparada com a esporulação, pois, teoricamente, quanto maior for o número de esporos germinados na superfície das folhas (e que a maioria desses esporos encontrem um estômato), maior seria a quantidade de pústulas formadas e, conseqüentemente, haveria uma maior produção de esporos por área foliar.

Ao analisar a germinação de esporos, na condição de temperatura alta associada ao escuro, verificou-se que, em três horas, as raças B54, B55, B56, B58 e B59 apresentaram os maiores percentuais de germinação, com 70,80%,

66,78%, 67,98%, 68,58% e 64,30%, respectivamente; em seis horas, as raças com maiores percentuais de germinação foram B54, B55, B57, B58 e B59 com 61,04%, 59,54%, 56,06%, 60,10% e 64,44% respectivamente; e, em doze horas, as raças B54 e B55 apresentaram maiores percentuais de germinação, com 74,56% e 72,16% respectivamente. As raças B53 e B58 apresentaram os menores percentuais com 48,52% e 52,56% (Tabela 6).

É interessante notar que, na comparação de raças, a raça B57, de maior frequência em 2011 e 2012 (Tabela 2) quase sempre esteve no grupo inferior, ou no intermediário, de germinação de esporos, tanto em temperatura ótima como temperatura alta, no claro ou no escuro, em qualquer tempo de avaliação. A exceção ocorreu apenas para a condição de temperatura alta, no escuro, em 6 horas (Tabela 6). Os dados novamente indicam que a constituição genética da raça e da população do hospedeiro, deve o fator preponderante para determinar a frequência das raças de *P. triticina*, na condições do sul do Brasil.

Nas situações envolvendo temperaturas alta e ótima no CLARO, em três e doze horas, à temperatura ótima correspondeu percentual de germinação superior, contribuindo para germinação dos esporos da maioria das raças, com exceção apenas da raça B59, que não apresentou diferença para as temperaturas testadas. Em seis horas, a temperatura ótima favoreceu a germinação dos esporos para todas as raças (Tabela 6).

Para as situações envolvendo temperaturas alta e ótima, no ESCURO, o percentual de germinação, em três horas e a temperatura ótima, foi superior para as raças B50, B51, B53, B55 e B57. Para as demais raças não houve diferença entre as temperaturas. Em seis horas, a temperatura ótima favoreceu a maioria das raças, com exceção da raça B57 e B59, que não se

diferenciaram para as duas temperaturas. Já em doze horas, a temperatura alta contribuiu na germinação dos esporos somente para as raças B53, B56 e B58 (Tabela 6).

Considerando o fator luminosidade, tanto na temperatura alta quanto na ótima, na presença de luz (tratamento CLARO) foram observadas as menores taxas de germinação, mostrando ser uma condição que reduz o percentual de germinação, quando comparada ao tratamento ESCURO (Tabela 6). Buck *et al.* (2010) investigaram a germinação de fungos causadores de ferrugens expostos a diferentes iluminações e constataram que a emissão do tubo germinativo de *Puccinia triticina* é inibida pela luz. Seus dados ainda sugeriram que a exposição dos urediniósporos do fungo à luz forte pode inativar seus esporos em superfícies de plantas e/ou no ambiente. O fator ESCURO para germinação dos esporos é relatado como sendo uma condição ótima (Panwar *et al.*, 2012). No presente estudo verificou-se que houve uma redução na porcentagem de germinação no claro, em relação ao escuro, mas não se observou inibição da germinação.

Em três horas, o percentual de germinação, envolvendo as situações de claro e escuro, na temperatura ÓTIMA mostrou que para as raças B50, B51, B53, B54 e B58, o ESCURO permite maior germinação de esporos. Em seis horas somente a raça B50 apresentou germinação inferior no claro, comparado com a condição de escuro. Já em doze horas não houve diferença significativa entre as raças (Tabela 6).

O percentual de germinação envolvendo a situação: claro e escuro, na temperatura ALTA apresentou maior germinação no escuro em três horas para as raças B54, B55, B56, B57 e B58, em seis horas para as raças B53, B54, B56 e B57 e em doze horas para B50, B54, B57 e B58. Para as demais raças

não houve diferença entre o fator luminosidade nos tempos estudados (Tabela 6). A germinação dos esporos mostrou-se altamente dependente do ambiente ao qual foram expostos. Os dados indicam que a germinação de esporos em temperatura alta (25°C), tanto no claro como no escuro, é reduzida. O fato de a temperatura influenciar o desenvolvimento do patógeno, bem como a expressão da resistência do hospedeiro já é bem conhecido (Pariaud *et al.*, 2009a). Bolton *et al.* (2008) descreveram que a faixa de temperatura para germinação dos esporos está entre 15 a 25°C e que a temperatura ótima para desenvolvimento do fungo fica em torno dos 20°C (Panwar *et al.*, 2012), corroborando com o que foi observado neste estudo, onde para algumas raças, submetidas a 20°C, a germinação ficou próxima aos 80%.

Este fato já foi relatado por Millus *et al.* (2006) e Miller *et al.* (1998) nos Estados Unidos, onde alguns patótipos de *Puccinia striiformis* adaptados à temperaturas mais elevadas, foram disseminados para regiões mais quentes onde não havia relatos da doença. Neste estudo, as raças B55 e B54 apresentaram a capacidade de germinação em temperaturas mais altas no escuro. Além disso, essas raças possuem fórmulas de virulência semelhantes tendo a raça B54 virulência a dois genes a mais que B55 (Tabela 2). Em contrapartida, a raça B55 é mais prevalente que B54 mostrando que a adaptação para temperaturas mais altas, pode não ser um fator relevante no Brasil para este patógeno.

4.4.1 Análise de regressão da capacidade de germinação dos esporos

A análise de regressão polinomial da germinação de esporos no intervalo de 3h a 12h após a inoculação é apresentada na Figura 8.

A condição de temperatura ótima no claro não apresentou ajustamento significativo de nenhum dos modelos testados (linear e quadrático) para a raça B51 (linear $P>F= 0,2134$; quadrática $P>F= 0,1708$) e para raça B55 (linear $P>F= 0,2473$; quadrática $P>F= 0,2769$).

O modelo quadrático foi o que apresentou melhor ajustamento para as demais raças nesta situação: B50 ($P>F=0,0001$ e $R^2_a=0,54$), com ponto de máximo do percentual de germinação de 83,08%, em 9 horas após a inoculação (hai); B53 ($P>F=0,0131$ e $R^2_a=0,22$), com ponto máximo de germinação de 82,30%, em 8 hai; B54 ($P>F=0,0001$ e $R^2_a=0,53$), com ponto máximo de germinação 83%, em 10 hai; B56 ($P>F=0,0001$ e $R^2_a=0,58$), com ponto máximo de germinação de 96%, em 9 hai; B57 ($P>F=0,0017$ e $R^2_a=0,33$), com ponto máximo de germinação de 81%, em 8 hai; B58 ($P>F= 0,0001$ e $R^2_a=0,54$), com ponto máximo de germinação de 89%, em 8 hai; e B59 ($P>F=0,0001$ e $R^2_a=0,31$), com ponto máximo de germinação de 82,6%, em 7 hai.

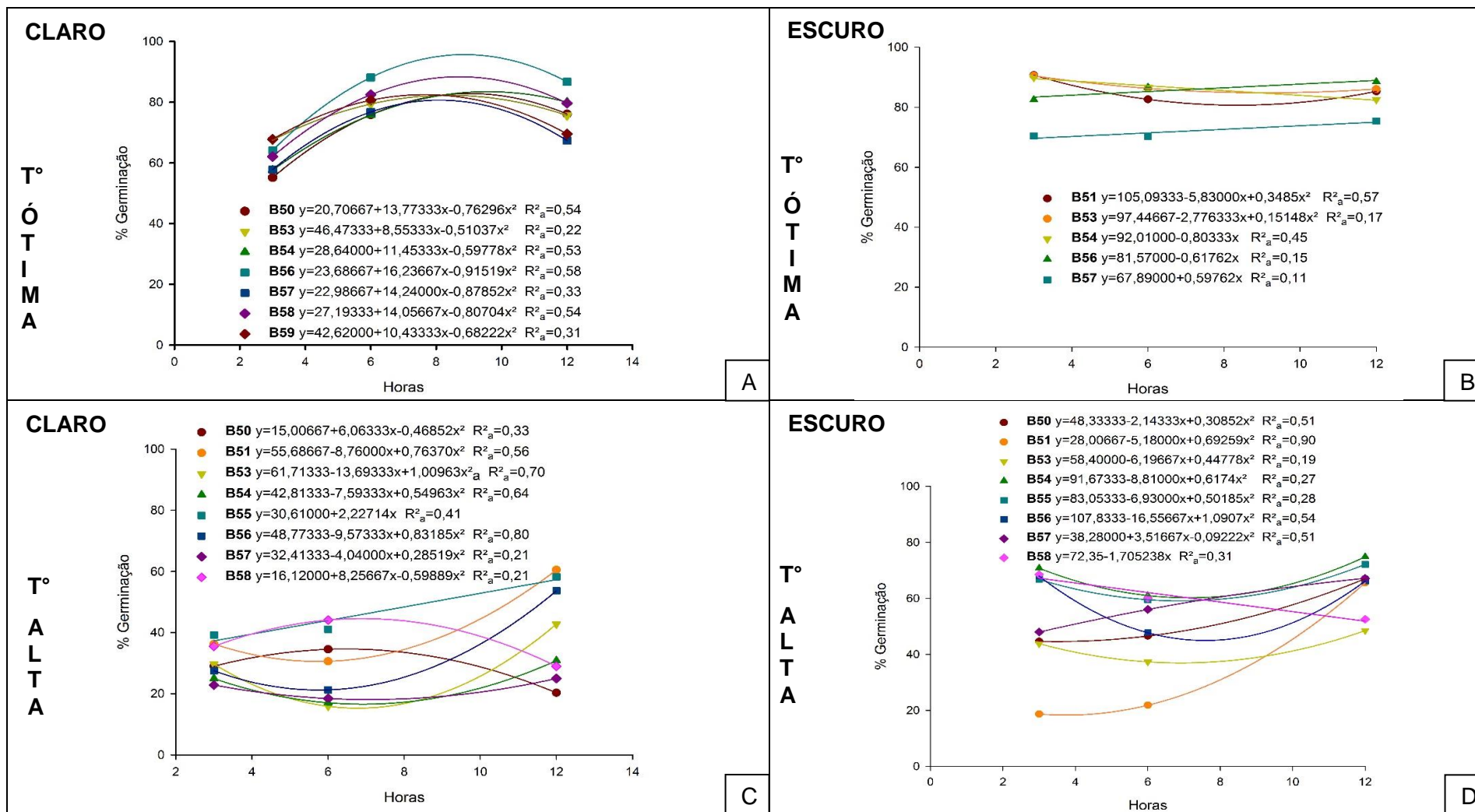


FIGURA 8. Modelos ajustados pela análise de regressão linear para a germinação de esporos de *Puccinia triticina* em 3h, 6h e 12h após a inoculação das placas no claro e temperatura ótima (A), escuro e temperatura ótima (B), claro e temperatura alta (C) e escuro e temperatura alta (D). Dados referentes a médias de dois experimentos. Porto Alegre, RS, 2014. Legenda: R^2_a Coeficiente de determinação ajustado.

Na condição de temperatura ótima e no escuro, para mesmo intervalo de tempo, não houve ajustamento significativo de nenhum dos modelos testados (linear e quadrático) para as raças B50, B55, B58 e B59. Para as raças B54, B56 e B57 o ajustamento foi linear ($P > F$ 0,0001 e $R^2_a=0,45$; $P > F$ 0,0176 e $R^2_a=0,15$; $P > F$ 0,0401 e $R^2_a=0,11$, respectivamente). Para as raças B51 ($P > F=$ 0,0001 e $R^2_a=0,57$) e B53 ($P > F$ 0,0285 e $R^2_a=0,17$) houve ajustamento quadrático da regressão entre o tempo e a germinação de esporos. Para a raça B51 foi observado que o ponto mínimo de germinação de 80% ocorreu em 8 hai, enquanto que para a raça B53 o ponto mínimo de germinação de esporos foi 85%, em 9 hai.

Na condição de temperatura alta, no claro, houve ajustamento significativo do modelo quadrático para as raças: B50 ($P > F=0,0017$ e $R^2_a=0,33$), com ponto máximo de germinação de 34%, em 6 hai; B51 ($P > F=0,0001$ e $R^2_a=0,56$), com ponto mínimo de germinação de 30%, em 6 hai; B53 ($P > F=$ 0,0001 e $R^2_a=0,70$), com ponto mínimo de germinação de 15,31, em 7 hai; B54 ($P > F=0,0001$ e $R^2_a=0,64$), com ponto mínimo de germinação de 16%, em 7 hai; B56 ($P > F=0,0001$ e $R^2_a=0,80$), com ponto mínimo de germinação de 21%, em 6 hai; B57 ($P > F$ 0,0156 e $R^2_a=0,21$), com ponto mínimo de germinação de 18%, em 7 hai; e B58 ($P > F=$ 0,0149 e $R^2_a=0,21$), com ponto máximo de germinação de 44,54%, em 7 hai. Houve ajustamento do modelo linear de regressão para a raça B55 ($P > F=$ 0,0001 e $R^2_a=0,41$), enquanto que nenhum modelo se ajustou para a raça B59 (regressão linear: $P > F=$ 0,1380; regressão quadrática: $P > F=$ 0,0955).

Na condição de temperatura alta, no escuro, houve ajustamento significativo do modelo quadrático para as raças: B50 ($P > F=0,0001$ e

$R^2_a=0,51$), com ponto mínimo de germinação de 44,51%, em 4 hai; B51 ($P>F=0,0001$ e $R^2_a=0,90$), com ponto mínimo de germinação de 18,28%, em 4 hai; B53 ($P>F=0,0210$ e $R^2_a=0,19$), com ponto mínimo de germinação de 37,04%, em 7 hai; B54 ($P>F=0,0050$ e $R^2_a=0,27$), com ponto mínimo de germinação de 46,48%, em 2 hai; B56 ($P>F=0,0001$ e $R^2_a=0,54$), com ponto mínimo de germinação de 44,93%, em 8 hai; B57 ($P>F=0,0001$ e $R^2_a=0,51$), com ponto máximo de germinação de 71%, em 9 hai. Houve ajustamento linear da regressão para a raça B58 ($P>F=0,0009$ e $R^2_a=0,31$), enquanto nenhum modelo de regressão ajustou-se para a raça B59 (regressão linear: $P>F=0,4851$; regressão quadrática: $P>F=0,7720$).

Os valores de máximos calculados para as raças estudadas indicam que elas apresentam um ponto onde há maior porcentagem de germinação de esporos e que, após esse tempo, a esporulação tende a se estabilizar ou parar. Isso pode ocorrer devido à viabilidade dos esporos de ferrugem nas condições as quais os esporos são expostos. Para as raças que apresentaram um ponto de mínimo isso também ocorreu, mas o valor indica o menor ponto de germinação. Após aquele horário houve um acréscimo no percentual de germinação.

Em temperatura ótima, no claro, a raça B56 apresentou o ponto máximo de germinação (96%) em 9 hai, seguida por B58 (88%), no mesmo período. A luz não inibiu a germinação em temperatura alta para essas raças. A raça B51, em 9 hai, apresentou ponto máximo do seu percentual de germinação em 77%, sendo o menor das raças investigadas, nessa condição.

Em temperatura ótima, no escuro, a raça B59 apresentou o ponto máximo de germinação de 86,55 %, em 8 hai. A raça B51 apresentou um ponto mínimo de 80% de germinação de esporos, no mesmo período.

O menor ponto mínimo foi da B53, com 15,32% em 7 hai. As raças B50 e B58 apresentaram pontos de máximo com 34,5% em 7 hai e 44,5% em 7 hai, respectivamente.

A raça B57 foi uma raça que apresentou germinação em todas as condições testadas nesse experimento, mas em nenhuma apresentou destaque. Em contrapartida possui alta frequência nos levantos de raça demonstrando que sua constituição genética lhe proporciona vantagem frente as demais raças.

A raça B55 obteve alto percentual de germinação em temperatura alta tanto no claro como no escuro, permitindo observar que esta raça possui grande adaptabilidade em temperaturas mais altas. Fato similar ao observado para a raça B57, em temperaturas e no escuro, permitindo supor que essa característica foi mantida, se está correta a suposição que a raça B57 deve descender diretamente da raça B55.

Não foi possível encontrar uma explicação biológica para a redução na germinação de esporos em 12 horas, para as B50 e B58 em temperatura alta no claro, B53 e B54 na temperatura ótima no escuro, B58 e B56 em temperatura alta no escuro. Os dados do experimento foram bastante consistentes entre e dentro (entre placas) das duas repetições experimentais realizadas para a raça B50 (dados não apresentados), fato que não seria esperado, em caso de ser uma variação apenas aleatória. Já para a raça B58 os dados dentro de repetições (entre placas) já são mais variáveis,

observando-se valores de germinação de esporos em 12 horas similares a valores encontrados nos tempos de avaliação de 3 e 6 h (dados não apresentados). Dessa forma, seria necessário a realização de mais repetições desse experimento para ter-se uma ideia mais clara do que está ocorrendo.

4.5 Correlações entre os caracteres quantitativos de agressividade

Compensações genéticas ou evolutivas surgem se um aumento de uma característica está correlacionada com a diminuição da outra (Pariaud *et al.*, 2013). Por esse motivo, a capacidade de desenvolvimento de um patógeno pode não ser maximizada para dois caracteres ao mesmo tempo. Desta forma, a seleção direcional para período latente mais curto pode ser compensado com a menor produção de esporos por pústula. Assim, as correlações negativas entre estes componentes podem representar uma restrição evolutiva para o parasita (Pariaud *et al.*, 2013).

Os coeficientes de correlação entre as variáveis estudadas em plântula são apresentados na Tabela 7. As variáveis germinação no escuro e temperatura alta em doze horas (GEA12) não se correlacionaram significativamente com nenhuma das demais variáveis avaliadas.

O período latente (PL) foi negativamente correlacionado com a Esporulação em 20 dias (ES20) ($r = -0,6754$ e $p = 0,0459$) e positivamente correlacionada com a germinação no escuro em temperatura ótima em três horas (GEO3) ($r = 0,6710$ e $p = 0,0479$). A relação encontrada neste estudo, entre período latente e esporulação em 20 dias, foi contrária a apresentada por Pariaud *et al.* (2012), quando avaliaram seis isolados e encontraram que

período latente curto estava positivamente correlacionado com baixa produção de esporos por área foliar ($r=0,91$ e $p= 0,0127$), estabelecendo uma compensação entre esses dois caracteres.

A compensação entre caracteres (aumento de um componente e diminuição de outro) pode ocorrer quando dois componentes do ciclo de vida do patógeno estão positivamente relacionadas com a adaptação do patógeno, mas apresentam correlação genética negativa (Héraudet *et al.*, 2008). Por outro lado, nas raças analisadas neste estudo o menor período de latência estava associado com maior capacidade de produção de esporos por pústula, embora a produção de esporos aos 12 dias não tenha sido significativa ($P=0,14$). Indicando que, nas condições do sul do Brasil, houve seleção para raças mais adaptadas, que além de esporularem mais cedo, produzem mais esporos por pústulas, portanto, com maior potencial de agressividade.

Conceitos básicos em biologia evolutiva assumem que compensações entre componentes adaptativos restringem a resposta à seleção e, assim, evitam a fixação de genótipos onipotentes (Pariaud *et al.*, 2013). Isto indica que a colonização mais rápida dos tecidos hospedeiros e a formação de estruturas de esporulação são obtidas à custa da quantidade de esporos produzidos. Esse custo de reprodução é também conhecido em outros organismos parasitas, tais como os bacteriófagos, onde a sua lise precoce está associado com menor tamanho de sua erupção (Pariaud *et al.*, 2013; Wang, 2006). Embora tal fato não tenha sido observado no presente estudo.

A variável tamanho de pústula foi positivamente correlacionada com as variáveis: germinação na temperatura ótima no claro em seis horas

(GCO6) ($r=0,7927$ e $p=0,0108$); germinação na temperatura alta e no escuro em três horas (GEA3) ($r=0,9163$ e $p=0,0005$) e germinação no escuro e em temperatura alta em seis horas (GA 6) ($r=0,7323$ e $p=0,249$).

Os dados acima também indicam que, nas condições do sul do Brasil, houve de seleção de raças com maior adaptação, que tendem a ter maior tamanho de pústula e maior capacidade de germinar no escuro sob temperaturas altas, além do menor período de latência, já citado anteriormente. A maior capacidade de germinar sob temperaturas altas, no escuro, daria vantagem adaptativa nas condições de noites quentes, que eventualmente ocorrem nas primaveras sulbrasileiras. Desta forma, é razoável supor que há compatibilidade entre patógeno e hospedeiro, as raças de ferrugem da folha do trigo, encontradas no sul do Brasil, tendem a ser relativamente bem adaptadas, contribuindo para as fortes epidemias da doença, geralmente observadas nesta região agrícola.

A variável germinação em temperatura ótima no escuro em três horas, (GEO3) foi correlacionada positivamente com germinação na temperatura ótima no escuro em seis horas (GEO6) ($r=0,7639$ e $p=0,0166$).

Germinação em temperatura ótima no escuro em doze horas (GEO12) foi positivamente correlacionada com as variáveis: germinação em temperatura ótima no claro em doze horas (GCO12) ($r=0,6949$ e $p=0,0377$); germinação em temperatura ótima no escuro em três horas (GEO3) ($r=0,7077$ e $p=0,0329$) e germinação em temperatura ótima no escuro em seis horas (GEO6) ($r=0,8337$ e $p=0,0027$).

Germinação em temperatura alta no claro em três horas (GCA3) foi positivamente correlacionada com a variável germinação em temperatura

alta no claro em seis horas (GAC6) ($r=0,8442$ e $p=0,0042$). Desta forma, conclui-se que raças com maior capacidade de germinação de esporos sob uma condição tendem a manter essa capacidade de germinação sob outra condição de ambiente, fato previamente esperado.

A variável germinação em temperatura alta no claro em doze horas (GCA12) foi negativamente correlacionada com esporulação em 12 dias (ES12) ($r= -0,7617$ e $p=0,0171$) e positivamente correlacionada com Germinação em temperatura ótima no claro em três horas (GCO3) ($r=0,8342$ e $p=0,0052$).

As raças de *P. triticina* estudadas neste trabalho apresentaram diferenças com relação às características avaliadas. De modo geral, através do comportamento apresentado pelas diferentes raças, frente às variáveis mensuradas (Tabela 8), e sua relação com a frequência destas raças no ambiente, determinadas através dos trabalhos de mapeamento e levantamentos de raças realizadas pela Embrapa Trigo (Tabela 2) pode-se relacionar que:

TABELA 7. Correlações entre os caracteres quantitativos de agressividade de raças de Puccinia triticina avaliadas em fase de plântulas de cultivar suscetível sob condições controladas. Porto Alegre, RS, 2014.

| PL | TP | ES 12 | ES 20 | GCO 3 | GCO 6 | GCO 12 | GEO 3 | GEO 6 | GEO 12 | GCA 3 | GCA 6 | GCA 12 | GEA 3 | GEA 6 | GEA 12 |
|-------|-----------------|-------|-----------------|-------|----------------|--------|----------------|----------------|----------------|-------|----------------|-----------------|----------------|----------------|--------|
| PL | NS ¹ | NS | -0,6754* | NS | NS | NS | 0,6710* | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| TP | | NS | NS | NS | 0,7927* | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0,9163* | 0,7323* | NS |
| ES12 | | | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | -0,7617* | NS | NS | NS |
| ES20 | | | | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| GCO3 | | | | | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | 0,8342* | NS | NS | NS |
| GCO6 | | | | | | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| GCO12 | | | | | | | NS | NS | 0,6949* | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| GEO3 | | | | | | | | 0,7639* | 0,7077* | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| GEO6 | | | | | | | | | 0,8637* | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| GEO12 | | | | | | | | | | NS | NS | NS | NS | NS | NS |
| GCA3 | | | | | | | | | | | 0,8442* | NS | NS | NS | NS |
| GCA6 | | | | | | | | | | | | NS | NS | NS | NS |
| GCA12 | | | | | | | | | | | | | NS | NS | NS |
| GEA3 | | | | | | | | | | | | | | 0,8760* | NS |
| GEA6 | | | | | | | | | | | | | | | NS |
| GEA12 | | | | | | | | | | | | | | | NS |

PL= Período de Latência, TP= Tamanho de Pústula, ES12= Esporulação em 12 dias, ES20= Esporulação em 20 dias, GCO 3= Germinação de esporos no claro em temperatura ótima em 3 horas, GCO 6= Germinação de esporos no claro em temperatura ótima em 6 horas, GCO 12= Germinação de esporos no claro em temperatura ótima em 12 horas, GEO 3 = Germinação de esporos no escuro em temperatura ótima em 3 horas, GEO 6= Germinação de esporos no escuro em temperatura ótima em 6 horas, GEO 12= Germinação de esporos no escuro em temperatura ótima em 12 horas, GCA 3= Germinação de esporos no claro em temperatura alta em 3 horas, GCA 6= Germinação de esporos no claro em temperatura alta em 3 horas, GCA 12= Germinação de esporos no claro em temperatura alta em 12 horas, GEA 3= Germinação de esporos no escuro em temperatura alta em 3 horas, GEA 6= Germinação de esporos no claro em temperatura alta em 6 horas, GEA 12= Germinação de esporos no claro em temperatura alta em 12 horas. ¹Coeficientes de correlação de Pearson. * Correlação significativa (p<0,05). NS- Não Significativo.

A raça B51 apresentou grande produção de esporos em doze e vinte dias e alta taxa de produção de esporos por pústula/dia, além de ter apresentado alta porcentagem de germinação no claro em temperatura alta em doze horas. A germinação em temperaturas mais altas permite que esta raça, se encontrar tecido verde no final do ciclo do trigo, onde as temperaturas estão mais elevadas, poderá continuar a infectar produzindo e liberando mais esporos no ambiente.

A B51 assim como a B50 foi uma raça com primeira detecção em 2002 aparecendo em todos os anos seguintes, É uma raça com baixa frequência no ambiente, talvez pelo mesmo motivo de B50 (grande período de latência - o segundo maior do estudo), com exceção do ano de 2004, onde esteve presente em 20,87% e em 2009 em 15,4% das amostras recebidas.

A raça B55 se destacou para diversos caracteres avaliados, com exceção do Período Latente. Esta raça surgiu em 2005 já em uma frequência expressiva, tendo um aumento nos anos seguintes e diminuindo apenas em 2011 e 2012. Pode ser considerada uma raça agressiva por ter se destacado nos caracteres estudados. A sua diminuição de frequência pode ter ocorrido por mudança na composição dos genes de resistência do hospedeiro, conforme indicado pela sua substituição, no quesito maior frequência, pela raça B57, que apresenta maior número de genes de avirulência (Tabela 2).

Outros componentes de ciclo do patógeno que não foram mensurados também podem ter importância e contribuição significativa, como a eficiência de infecção, área foliar afetada e também a variável que está recentemente sendo estudada, a morfologia das estruturas de infecção dos patógenos. Millus *et al.* (2006) concluíram que as raças de *P. striiformis* recentes eram mais

agressivas por acumular vantagens sobre as demais. Não é possível saber se esses demais fatores contribuíram para maior frequência das raças B55 e B57, cada uma em seu período de maior frequência. Porém parece razoável supor que, uma vez atendida a exigência de genes de virulência capazes de superar a resistência genética do hospedeiro, caracteres adaptativos favoráveis ao desenvolvimento da epidemia contribuem para o aumento de frequência de algumas raças em detrimento de outras (Tabelas 2 e 8).

TABELA 8. Ranking das raças que apresentaram vantagens adaptativas em relação com as demais testadas de acordo com os testes de discriminação da variação entre tratamentos. Porto Alegre, RS, 2014.

| Variáveis testadas | B50 | B51 | B53 | B54 | B55 | B56 | B57 | B58 | B59 |
|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Período latente | 3° | 4° | 5° | 2° | 3° | 3° | 1° | 2° | 3° |
| Tamanho de pústula | 4° | 5° | 3° | 2° | 1° | 1° | 2° | 1° | 2° |
| Esporulação 12 dias | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° |
| Esporulação 20 dias | 1° | 1° | 2° | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° |
| Taxa de Esporulação | 2° | 1° | 3° | 1° | 1° | 1° | 2° | 1° | 1° |
| GCO3 | 3° | 2° | 2° | 3° | 1° | 2° | 3° | 2° | 2° |
| GCO6 | 2° | 2° | 2° | 2° | 1° | 1° | 2° | 1° | 1° |
| GCO12 | 2° | 2° | 2° | 1° | 1° | 1° | 3° | 1° | 3° |
| GEO3 | 2° | 1° | 1° | 1° | 1° | 2° | 3° | 2° | 3° |
| GEO6 | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° | 1° | 2° | 1° | 1° |
| GEO12 | 1° | 1° | 1° | 2° | 1° | 1° | 2° | 2° | 2° |
| GCA3 | 3° | 2° | 3° | 2° | 1° | 3° | 3° | 2° | 1° |
| GCA6 | 3° | 4° | 5° | 5° | 2° | 5° | 5° | 2° | 1° |
| GCA12 | 4° | 1° | 2° | 3° | 1° | 1° | 4° | 3° | 1° |
| GEA3 | 2° | 3° | 2° | 1° | 1° | 1° | 2° | 1° | 1° |
| GEA6 | 2° | 3° | 3° | 1° | 1° | 2° | 1° | 1° | 1° |
| GEA12 | 2° | 2° | 3° | 1° | 1° | 2° | 2° | 3° | 2° |
| Total referente a 1ª posição | 4 | 7 | 4 | 9 | 15 | 10 | 4 | 9 | 10 |

Legenda: GOC3= Germinação de esporos no claro em temperatura ótima em 3 horas, GOC6= Germinação de esporos no claro em temperatura ótima em 6 horas, GCO12= Germinação de esporos no claro em temperatura ótima em 12 horas, GCO3 = Germinação de esporos no escuro em temperatura ótima em 3 horas, GEO6= Germinação de esporos no escuro em temperatura ótima em 6 horas, GEO12= Germinação de esporos no escuro em temperatura ótima em 12 horas, GCA3= Germinação de esporos no claro em temperatura alta em 3 horas, GCA6= Germinação de esporos no claro em temperatura alta em 6 horas, GCA12= germinação de esporos no claro em temperatura alta em 12 horas, GEA3= Germinação de esporos no escuro em temperatura alta em 3 horas, GEA6= Germinação de esporos no escuro em temperatura alta em 6 horas, GAE12= Germinação de esporos no escuro em temperatura alta em 12 horas.

A raça B57 apresentou grande produção de esporos em doze e vinte dias (Tabela 5), além de uma alta porcentagem de germinação no escuro em temperatura alta em seis horas, mas o que foi mais relevante para esta raça é o fato de ter apresentado o menor período latente dentre as raças estudadas. Além disso, possuir a vantagem em período de latência leva a rápida liberação de esporos no ambiente o que facilita a autoinfecção do mesmo hospedeiro, aumentando localmente a sua densidade.

Lannou *et al.* (2008) analisaram folhas de trigo infectadas por *Puccinia triticina*, em condição ótima para desenvolvimento do patógeno, e verificaram que uma única pústula produzia de 50 a 200 descendentes por autoinfecção em um estágio inicial de epidemia. Lehman & Shaner (1996) simularam epidemias de ferrugem da folha do trigo e verificaram que a doença progride mais rapidamente nos genótipos com períodos de latência curtos, do que em genótipos com períodos latentes longos e intermediários. Vários ciclos de infecção impulsionam as epidemias de ferrugem do trigo e, portanto, as estirpes com o período de latência mais curto devem ter uma vantagem seletiva e predominar na progressão sazonal da doença (Lehman & Shaner, 1996; Sackett & Mundt, 2005). A raça B57 é uma raça que teve ano de detecção em 2005, assim como as raças B55 e B56, mas teve baixa frequência até 2007, não aparecendo em 2006. A partir de 2010 esta raça foi encontrada em alta frequência, superando a raça B55 em porcentagem nos levantamentos de raça (Tabela 2).

A raça B59 apresentou alta capacidade de esporulação em doze e vinte dias, elevada taxa de produção de esporos por pústula/dia, além de GCO em seis horas, GEA em três horas, GEA em seis horas, GEO em três horas, GCA

em três, seis e doze horas (Tabela 6). Teve seu surgimento em 2007, assim como a B58, não ocorrendo em 2008 e nos levantamentos seguintes, em baixa frequência (Tabela 2). Esta raça se destacou pela capacidade de germinar em temperaturas mais elevadas e esta característica pode resultar em maior produção de esporos no final do ciclo do trigo onde a temperatura está mais alta. Além disso, a germinação no claro permite que ela infecte o trigo durante o dia, caso encontre os estômatos abertos, isto a conferiria maior vantagem sobre as demais. Esta raça possui fórmula de virulência muito semelhante à raça B55 (Tabela 2), que neste estudo apresentou as características de uma raça agressiva e também grande capacidade de germinar em temperaturas mais alta. B59 pode ter sido originada da B55 e esta capacidade em continuar se multiplicando no final do ciclo pode resultar no aumento da frequência de B59 nos próximos levantamentos de raças realizados no Cone Sul da América do Sul.

A raça B50 de *P. triticina* apresentou grande produção de esporos em doze e vinte dias, alta porcentagem de GEO em seis e doze horas (Tabela 6). Esta raça teve sua detecção pela primeira vez em 2002, mas sua frequência nunca foi muito expressiva, de tal forma que ela nem foi encontrada em alguns anos, nos levantamentos de raças. Essa baixa frequência pode estar relacionada com o período de latência, pois, a raça B50 apresentou o terceiro maior período latente deste estudo.

A raça B53 apresentou produção de esporos alta em doze dias e esse valor não teve um incremento aos 20 dias (Tabela 5). O fato da raça B53 ter se comportado dessa forma no experimento de esporulação pode ocorrer devido ao fato desta raça produzir esporos somente até os doze primeiros dias do

ciclo do patógeno. Além disso, essa raça apresentou grande porcentagem de GEO em três, seis e doze horas indicando que sua germinação é fortemente dependente do ambiente ao qual é exposta. Ainda pode ser observado que a raça B53, ao apresentar um grande período latente (Tabela 5) aparece em baixa frequência nos levantamentos (Tabela 2), pelo fato de demorar em liberar esporos no ambiente. A competição com as demais raças pode deixá-la em desvantagem.

A raça B54 apresentou grande produção de esporos em doze e vinte dias, além de alta taxa de produção de esporos por dia (Tabela 5). Apresentou ainda alto percentual de germinação para várias situações, GCO em doze horas, GEO em três e seis horas, GEA em três, seis e doze horas (Tabela 6). Esta raça surgiu em 2004 em alta frequência, com 18,7%. Nos anos seguintes não foi expressiva nos levantamentos, não sendo detectada em 2011, mas reaparecendo em 2012, em baixa frequência (Tabela 2). A raça B54 está entre as raças com os menores períodos de latência observados, mas não favoreceu que estivesse em maior frequência. A menor frequência da raça B54 também pode dever-se a sua constituição de genes de avirulência, uma vez que o gene de resistência *Lr10* é efetivo contra essa raça, assim como contra as raças B51 e B56, todas em baixa frequência entre 2005 e 2012 (Tabela 2).

A raça B56 apresentou pústulas grandes, elevada esporulação em 12 e 20 dias e alta taxa de produção de esporos por pústula/dia além de ter se destacado em GCO seis e doze horas, GEO em seis e doze horas, GCA em doze horas e GEA em três horas. Esta raça teve sua primeira detecção, assim como B55, em 2005, aparecendo em todos os levantamentos seguintes. Porém, sempre foi encontrada em baixa frequência nos levantamentos. O

motivo para sua baixa frequência pode ser apenas o fato da efetividade do gene de resistência *Lr10*, conforme exposto no parágrafo anterior.

A raça B58 apresentou tamanho de pústulas grande, esporulação alta em doze e vinte dias, taxa de produção de esporos por pústula/dia elevados, além de grandes porcentagens de GCO em seis e doze horas, GEO em seis horas e GEA em três e seis horas. Esta raça teve sua primeira detecção em 2007, mas sua frequência foi baixa. Também apareceu em 2009 em baixa frequência e nos demais anos não foi detectada nos levantamentos de raças. Mais uma vez, a constituição dos genes de avirulência da raça B58 pode ser a causa de sua baixa frequência. Vários genes de resistência são efetivos contra essa raça, sendo digno de nota os genes *Lr11* e *Lr26*. A efetividade do gene *Lr11* foi observada apenas nas raças B56 e B58, ambas de baixa frequência, enquanto o gene *Lr26* é efetivo apenas para a raça B58.

Os dados levantados neste trabalho dão indícios de que esses fatores do ciclo de vida de *Puccinia triticina* são importantes para permanência e multiplicação de determinadas raças no Brasil. Mas, ainda se faz necessário a correlação com a resistência genética presente nas cultivares plantadas no território brasileiro.

Atualmente a visão comum entre os pesquisadores é a de considerar que as características quantitativas da patogenicidade estão sob o controle compartilhado entre o patógeno, o hospedeiro e a sua interação (Figura 9). Estudos indicam que a composição genética das cultivares influencia na composição das raças no ambiente e que a resistência quantitativa do hospedeiro, mediada por genes de menor efeito, pode desempenhar um papel importante na formação das populações patogênicas (Lannou *et al.*, 2012).

As plantas desenvolveram estratégias de resistência diferentes para se protegerem contra os patógenos invasores. Essa resistência pode ser qualitativa, sendo governada por um ou poucos genes de maior efeito fenotípico, ou quantitativa, sendo regida por um ou vários genes de menor efeito, os chamados locos de caracteres quantitativos (QTLs). A resistência conferida pela maioria dos genes de maior efeito fenotípico impede o crescimento de fungos após a entrada do parasita na célula da planta hospedeira, e é acompanhada pela morte celular ou pela morte de um conjunto de células, em torno do local desafiado pelo patógeno, fenômeno conhecido como reação de hipersensibilidade (RH). Esta resistência à base de RH ocorre quando existe o reconhecimento direto ou indireto de um efector específico do patógeno, conhecida como um fator de avirulência (AVR), por um receptor de resistência do hospedeiro (R). Já a resistência mediada pelos QTLs é ampla e efetiva contra vários isolados do patógeno (Marcel *et al.*, 2007).

Na Figura 9 está ilustrada a expressão das características quantitativas da patogenicidade, que é determinada pela origem genética do hospedeiro e também pela origem genética do patógeno, em que QTLs representam parte da variação. Além disso, as interações genótipos-ambiente também influenciam a expressão dessas características.

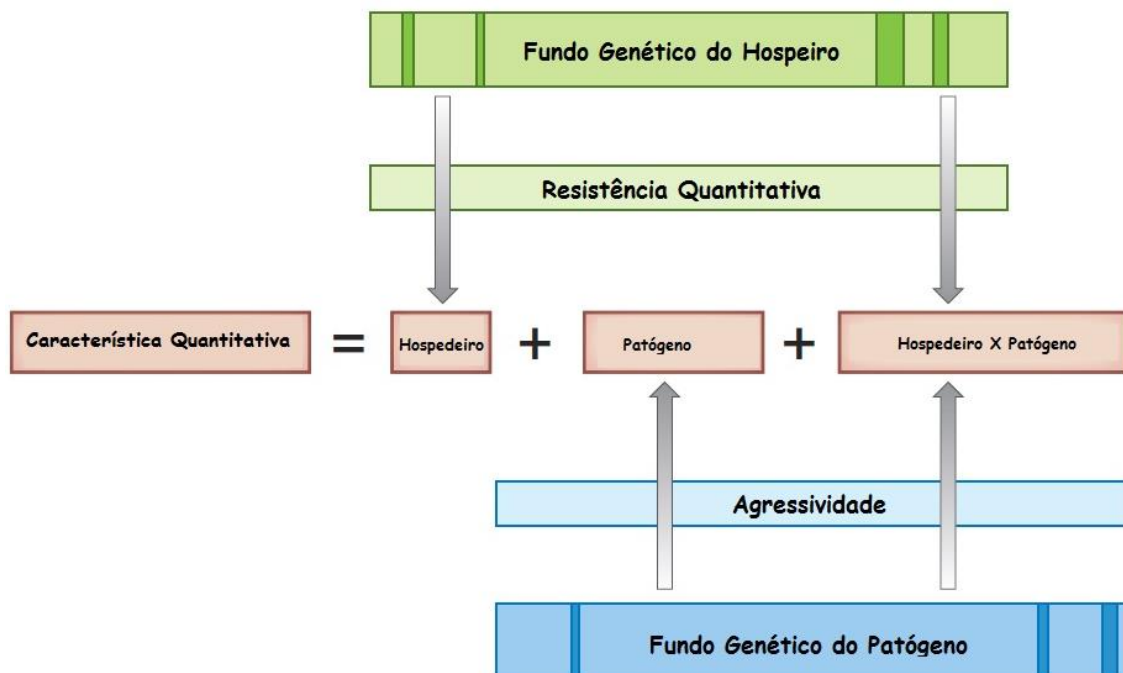


FIGURA 9. Uma característica quantitativa de patogenicidade (por exemplo: o período latente) pode ser representado como o resultado de um efeito do hospedeiro, um efeito do patógeno e a interação entre eles. O fundo genético do hospedeiro em que os loci das características quantitativas (QTLs) (verde escuro) podem ser detectados determina o nível de resistência quantitativa (efeito do hospedeiro mais a interação). A base genética do patógeno, em que os QTLs para agressividade (azul escuro) podem ser detectados, determina o nível de agressividade do patógeno (efeito do patógeno mais a interação). Dependendo da característica considerada, dos genótipos hospedeiros e dos patógenos testados, este padrão pode não ser completo, ou seja, o efeito principal da interação pode estar ausente. Traduzido de: Lannou *et al.*, 2012. Porto Alegre, RS, 2014.

Estudo realizado na França, (Papaix *et al.*, 2011) relacionou as cultivares com maior área cultivada no país com os isolados de *Puccinia triticina* presentes nesses materiais. A análise do estudo demonstrou que a composição das cultivares em uso, influencia a estrutura da população do patógeno, através da frequência dos genes de resistência presentes na população do hospedeiro. Outra conclusão do estudo foi que os efeitos quantitativos (ligados com a resistência quantitativa ou com a agressividade do patógeno) desempenharam um papel importante na formação da estrutura da população de ferrugem da folha na França nos últimos dez anos.

Em sistemas de cultivo, a evolução do patógeno é impulsionada pela intervenção humana, introduzindo e removendo cultivares de plantas. As cultivares podem ser caracterizadas quanto a seus componentes quantitativos da resistência e existem várias técnicas que estão disponíveis para medir com precisão as características quantitativas do patógeno. Isso oferece oportunidades interessantes para estudar a vida do patógeno e a evolução histórica e adaptativa aos seus hospedeiros. O conhecimento da arquitetura genética e das características do ciclo de vida dos patógenos de plantas, também pode orientar o manejo da resistência, uma vez que pode ajudar a prever a expansão epidemiológica de determinados patótipos (Thrall *et al.*, 2011; Pariaud *et al.*, 2012).

5 CONCLUSÕES GERAIS

As raças de *Puccinia triticina* estudadas neste trabalho apresentaram diferenças com relação às características avaliadas. A prevalência de raças parece ser dependente em primeiro lugar de sua composição genética, quanto aos genes de virulência e, em contrapartida, da composição dos genes de resistência na população do hospedeiro, ou seja, as cultivares de trigo em uso pelos agricultores. Características adaptativas como período de latência, tamanho de pústula e produção de esporos por pústula parecem contribuir para a manutenção e aumento de frequência das raças capazes de infectar o hospedeiro, embora não sejam capazes, sozinhos, para determinar as raças que terão maior frequência no ambiente.

Maior tamanho de pústula foi observado nas raças B56, B55 e B58, embora as raça B56 e B58 nunca tenham apresentado elevada frequência no ambiente, apresentando, porém, elevado número de genes de resistência do hospedeiro efetivos contra as mesmas.

Não foi observado compensação negativa entre caracteres adaptativos, sendo observada tendência que as raças com menor período de latência também apresentassem maior produção de esporos.

As raças mais prevalentes no Brasil no período estudado (2002 a 2012), B55 e B57, apresentaram vantagens adaptativas que as conferem *status* de raças agressivas. B55 por ter apresentado maior tamanho de pústulas, alta esporulação e germinação de esporos em temperaturas mais elevadas. B57 por apresentar o menor período latente do estudo e capacidade de germinação em todas as situações testadas além, de alta esporulação. Mas a prevalência dessas raças de *Puccinia triticina* na lavoura não deve depender somente da agressividade. A manutenção e a frequência de uma raça deve também depender da interação do patógeno com os genes de resistência que estão presente nas cultivares utilizadas pelos agricultores em grande escala.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5 ed. San Diego: Elsevier Academic, 2005. p.922

ANIKSTER, Y. et al. *Puccinia recondita* causing leaf rust on cultivated wheats, wild wheats, and rye. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.75, p. 2082-2096, 1997.

AZZIMOTI, G. et al. Components of quantitative resistance to leaf rust in wheat cultivars: diversity, variability and specificity. **Plant Pathology**, Oxford, v. 58, p. 409-424, 2013.

BACALTCHUK, B. et al. **Características e cuidados com algumas doenças do trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. Disponível em: <www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do64.htm>. Acesso em: 12 de jan. de 2014

BARBIERI, R.L., CARVALHO, F.I.F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, p. 79-161, 2001.

BARCELLOS, A. L., CHAVES, M.S. Epidemias de ferrugem da folha em cultivares brasileiras de trigo- Alterações na população do patógeno de 1993 a 2002. In: SEMINARIO INTERNACIONAL RESISTENCIA A ROYAS EN TRIGO, 2003, La Estanzuela. **Resúmenes**. La Estanzuela: INIA, 2003. p.13

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

BOLTON, M. D.; KOLMER, J. A.; GARVIN, D.F. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. **Molecular Plant Pathology**, Saint Paul, v.9, n.5, p. 563-575, 2008.

BUCK, J.W.; DONG, W. MUELLER, D. S. Effect of light exposure on in vitro germination and germ tube growth of eight species of rust fungi. **Mycologia**, New York, v. 102, p. 1134–1140, 2010.

CANZIANI, J. R.; GUIMARÃES, V. D. A. O trigo na Brasil e no mundo: cadeia de produção, transformação e comercialização. In: CUNHA, G. R. (Ed.). **Oficina sobre trigo no Brasil: bases para a construção de uma nova triticultura brasileira**. Passo Fundo: Embrapa trigo, 2009.

CAREFOOT, G. L.; SPROTT E.R. *Famine on the Wind: Man's battle against plant disease*. Chicago: Rand MacNally, 1967. p. 231

CHAVES, M. S.; BARCELLOS, A. L. Especialização fisiológica de *Puccinia triticina* no Brasil em 2002. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 3. p. 57-62, jan./fev. 2006.

CHAVES, M.S.; MARTINELLI, J.A.; FEDERIZZI, L.C. Resistência quantitativa à ferrugem da folha em genótipos de aveia branca: II – Avaliação de componentes de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p. 47-55, 2004.

CHAVES, M.S. et al. The Cereal Rust: An Overview. **Pest Thechnology**, Isleworth, v.2, p.38-55, 2008.

CHAVES, M. S. et al. Population dynamics of *Puccinia triticina* in the South Cone region of South America from 1997 to 2004. In: INTERNATIONAL WHEAT CONFERENCE, 7th, 2005, Mar del Plata. **Abstracts**. Mar del Plata: SAGPyA/INTA, 2005. p.130

CHAVES, M. S. Ferrugem da folha do trigo, vencer ou conviver? **A lavoura**, Rio de Janeiro, v. 109, nº.657 p. 48-49, 2006.

CHEN, X. M. Epidemiology and control of stripe rust [*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*] on wheat. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Ontario, v. 27, p. 314-337, 2005.

CHESTER, K.S. The nature and prevention of the cereal rusts as exemplified in the rust of wheat. **Chronica Botanica**, New York, p.269, 1946.

CLIFFORD, B. C.; CLOTHIER, R. B. Physiologic specialization of *Puccinia hordei* on barley hosts with non-hypersensitive resistance. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, v.63, p. 421-430, 1974.

COWGER C.; MUNDT C.C.; Aggressiveness of *Mycosphaerella graminicola* isolates from susceptible and partially resistant wheat cultivars. **Phytopathology**, Saint Paul, v.92, p. 624–630, 2002.

CUMMINS, G.B.; CALDWELL, R.M. The validity of binomials in the leaf rust fungus complex of cereals and grasses. **Phytopathology**, Saint Paul, v.46, p. 81- 82, 1956.

DYCK, P.L.; KERBER, E.R. Resistance of the Race-Specific Type. In: THE CEREAL Rusts. Orlando, FL, USA: Academic Press, 1985. v. 2, p. 469–500

DICKINSON, S. Studies in the physiology of obligate parasitism. VI. Directed growth. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.66, p. 38- 49, 1969.

EMGE R.G.; KINGSOLVER C.H.; JOHNSON D. R. Growth of the sporulating zone of *Puccinia striiformis* and its relationship to stripe rust epiphytology. **Phytopathology**, Saint Paul, v.65, p.679–681, 1975.

FBPP. **A Guide to the Use of Terms in Plant Pathology**. Kew, UK : Commonwealth Mycological Institute, 1973. 55p. (Phytopathological Papers, v.17)

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, p. 1039-1042, 2011.

GERMÁN S.E. et al. The situation of common wheat rusts in the Southern Cone of America and perspectives for control. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v.58, p.620–30, 2007.

HÉRAUDET, V.; SALVAUDON L.; SHYKOFF J. A. Trade-off between latent period and transmission success of a plant pathogen revealed by phenotypic correlations. **Evolutionary Ecology Research**, Tucson, v.10, p. 913–924, 2008.

HOLLIDAY, P. **A Dictionary of Plant Pathology**. Cambridge: University Press, 1998.

HUERTA-ESPINO, J. et al. Global status of wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. **Euphytica**, Wageningen, v. 179, p.143-160, 2011.

KNOTT E. A. and MUNDT C. C. Latent period and infection efficiency of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* populations isolated from different wheat cultivars. **Phytopathology**, Saint Paul, v.81, p.435-439,1991.

KOLMER, J.A., LEONARD, K.J. Genetic selection and adaptation of *Cochliobolus heterostrophus* to corn hosts with partial resistance. **Phytopathology**, Saint Paul, v.76, p.774-777, 1986.

KOLMER, J. Leaf Rust of Wheat: Pathogen Biology, Variation and Host Resistance. **Forests**, [Basel], v.4, p. 70-84, 2013.

LANNOU C. et al. Autoinfection in wheat leaf rust epidemics. **The New Phytologist**, Cambridge, v.177, p.1001-1011, 2008.

LEHMAN, J. S.; SHANER, G. Genetic variation in latent period among isolates of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* on partially resistant wheat cultivars. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 86, p.633-641, 1996.

LEHMAN, J.S.; SHANER, G. Selection of populations of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* for shortened latent period on a partially resistant wheat cultivar. **Phytopathology**, Saint Paul, v.87, p.170–176, 1997.

LONG, D. L.; KOLMER J. A. Anorth American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.79, p. 525-529, 1989.

MAINS, E.B.; JACKSON, H.S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina*. **Phytopathology**, Saint Paul, v.16, p. 89-120, 1926.

MARCEL, T.C. et al. Isolate specificity of quantitative trait loci for partial resistance of barley to *Puccinia hordei* confirmed in mapping populations and nearisogenic lines. **The New Phytologist**, Cambridge, v.17, p.743–755, 2008.

McINTOSH, R. A.; WELLINGS, C. R.; PARJ, R. F. **Wheat Rusts**: an atlas of resistance genes. Melbourne: CSIRO, 1995.

MILLER, J. S.; JOHNSON, D. A.; HAMM, P.B. Aggressiveness of isolates of *Phytophthora infestans* from the Columbia Basin of Washington and Oregon. **Phytopathology**, Saint Paul, v.88, p.190-197, 1998.

MILUS, E. A.; SEYRAN, E.; MCNEW, R., Aggressiveness of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* isolates in the south-central States. **Plant Disease**, Saint Paul, v.90, p.847–852, 2006.

MORI, C; IGNACZAK, J. C. Aspectos econômicos do complexo agroindustrial do trigo. In: TRIGO no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. p. 46-76

MUNDT, C. C.; NIEVA, L.P.; VERA CRUZ, C.M. Variation for aggressiveness within and between lineages of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. **Plant Pathology**, Oxford, v.51, p.163-168, 2002.

NIKS, R. E. Failure of haustorial development as a factor in slow growth and development of *Puccinia hordei* in partially resistant barley seedlings. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.28, p. 309-322, 1986.

PANSTRUGA, R. Establishing compatibility between plants and obligate biotrophic pathogens. **Current Opinion in Plant Biology**, Carl-von-Linné, v.6, p. 320–326, 2003.

PANWAR V.; McCALLUM B.; BAKKEREN G. Host-induced gene silencing of wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* pathogenicity genes mediated by the Barley stripe mosaic virus. **Plant Molecular Biology**, Summerland, v.81, p.595-608, 2013.

PAPAIX, J. et al. Influence of cultivated landscape composition on variety resistance: an assessment based on wheat leaf rust epidemics. **The New Phytologist**, Cambridge, v.191, p.1095-1107, 2011.

PARIAUD, B. et al. Aggressiveness and its role in the adaptation of plant pathogens. **Plant Pathology**, Cambridge, v.58, p.409-424, 2009a.

PARIAUD B. et al. Aggressiveness Components and Adaptation to a Host Cultivar in Wheat Leaf Rust. **Phytopathology**, Saint Paul, v.99, p.869-878, 2009b.

PARIAUD B. et al. Shared influence of pathogen and host genetics on a trade off between latent period and spore production capacity in the wheat pathogen, *Puccinia triticina*. **Evolutionary Applications**, [Oxford], v. 6, p. 303-312, 2013.

PRIESTLEY, R. H.; DOLING, D. A. Aggressiveness of *Puccinia striiformis* isolates on wheat cultivars. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.63, p.549-557, 1974.

REIS, E.M. **Doenças do trigo V: ferrugens**. São Paulo: Bayer do Brasil, 1991. 20p.

REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. **Ata e resumos...**Passo Fundo: Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale: Embrapa Trigo: Embrapa Transferência de Tecnologia, 2008.

ROELFS, A.P.; SINGH, R.P.; SAARI, E. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico: CIMMYT, 1992. 81p.

ROELFS, A.P.; BUSHNELL, W.R. (Ed.). **The Cereal Rusts: diseases, distribution, epidemiology, and control**. Orlando, FL, USA: Academic Press, 1985. v. 2, p. 1–546.

SACHE, I. Effect of density and age of lesions on sporulation capacity and infection efficiency in wheat leaf rust (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*). **Plant Pathology**, Cambridge, v.46, p. 581-589, 1997.

SACKETT, K. E.; MUNDT, C.C. The effects of dispersal gradient and pathogen life cycle components on epidemic velocity in computer simulations. **Phytopathology**, Saint Paul, v.95, p. 992-1000, 2005.

SAMBORSKI, D.J.; DYCK, P.L. Inheritance of virulence in *Puccinia recondita* on six backcross lines of wheat with single genes for resistance to leaf rust. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v. 54, p.1666–1671, 1976.

SAMBORSKI, D.J. Wheat leaf rust. In: ROELFS, A.P.; BUSHNELL, W.R. (Ed.). **The Cereal Rusts**. Orlando: Academic Press, 1985. v. 2, p. 39-60,

SAVILE, D.B.O. Taxonomy of the cereal rust fungi. In: BUSHNELL, W.R.; ROELFS A.P. (Eds). **The cereal rusts: Origins, specificity, structures, and physiology**. Orlando: Academic Press, 1984. v. 1, p. 79-112.

SHANER, G.E. Probits for analyzing latent period data in studies of slow rusting resistance. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 70, p.1179–1182. 1980.

SHURTLEFF, M.C.; AVERRE, C.W. **Glossary of Plant-Pathological Terms**. Saint Paul: APS Press, 1997

SINGH R. P. ; HUERTA-ESPINO J.; ROELFS A. P. The wheat rusts. In: CURTIS B.C.; RAJARAM S.; MACPHERSON H. G. (Eds). **Bread wheat: improvement and production, plant production and protection series**. Rome: FAO, p. 227–249. (FAO-Plant Production and Protection Series, v. 30) Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/006/y4011e/y4011e0g.htm>>. Acesso em: 09 maio 2014.

SZABO, L.S.; BUSHNELL, W.R. Hidden robbers: the role of fungal haustoria in parasitism of plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Saint Paul, v.98, p.7654– 7655, 2001.

THRALL, P. H. et al. Evolution in agriculture: the application of evolutionary approaches to the management of biotic interactions in agroecosystems. **Evolutionary Applications**, Canberra, v.4, p.200–215, 2011.

USDA. **Grain: World Market and Trade**. 2010. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/grain/circular/2010/03-10/grainfull03-10.pdf>>. Acesso em; 05 jan. 2014.

VAN DEN BERG, F. et al. High levels of auto-infection in plant pathogens favour short latent periods: a theoretical approach. **Evolutionary Ecology**, Hertfordshire, v. 27, p.409-428, 2013.

VAN DER PLANK, J. E. **Plant diseases: epidemics and control**. New York: Academic Press, 1963.

VILLARÉAL L. M. M. A.; LANNOU C. Selection for Increased Spore Efficacy by Host Genetic Background in a Wheat Powdery Mildew Population. **Phytopathology**, Saint Paul, v.90, p. 1300-1306, 2000.

VOLIN, R. B.; SHARP, E. L. Physiologic specialization and pathogen aggressiveness in stripe rust. **Phytopathology**, Saint Paul, v.63, p. 699-703, 1973.

WAHL, I.; WILCOXSON, R. D.; ROWELL, J. B. Slow rusting of wheat and steam rust detected in the glasshouse. **Plant Disease**, Saint Paul, v.64, p.54-56, 1980.

WAHL, I. et al. Evolution at the center of origin. In: BUSHNELL, W.R.; ROELFS, A.P. (Eds.) **The Cereal Rusts: origins, specificity, structure and physiology**. Orlando: Academic Press, 1984. p.39-72

WESP, C.L. et al. Herança da resistência quantitativa à ferrugem da folha em linhagens recombinantes de aveia branca. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.33, p.138-147, 2008.

ZHANG, L.; MEAKIN, H.; DICKINSON, M. Isolation of genes expressed during compatible interactions between leaf rust (*Puccinia triticina*) and wheat using cDNA-AFLP. **Molecular Plant Pathology**, Oxford, v.4, p.469–477, 2003.

7 APÊNDICES

APÊNDICE 1. Quadro da análise de variância do Período Latente de raças de *Puccinia triticina* em genótipo suscetível de trigo em estadio de plântula. Dados referentes à análise conjunta de duas repetições biológicas. Porto Alegre, RS, 2014.

| Causa de Variação | GL | SQ | QM | F | P>F |
|-------------------|-----|-------------|------------|---------|-------|
| Raça | 8 | 1037,244444 | 129,655556 | 155,660 | 0,01* |
| Repetição | 1 | 57,800000 | 57,800000 | 69,393 | 0,01* |
| Erro Experimental | 170 | 141,600000 | 0,832941 | | |
| Total | 179 | 1236,644444 | | | |

Média Geral: 129,3444444

Coefficiente de Variação: 0,71%

APÊNDICE 2. Quadro da análise de variância do comprimento de pustulas (μm) de *Puccinia triticina* em genótipo suscetível de trigo em estadio de plântula. Dados referentes à análise conjunta de duas repetições biológicas. Porto Alegre, RS, 2014.

| Causa de Variação | GL | SQ | QM | F | P>F |
|-------------------|------|--------------|-------------|--------|--------|
| Raça | 8 | 8964,806231 | 1120,600779 | 38,316 | 0,01* |
| Repetição | 1 | 0,105610 | 0,105610 | 0,004 | 0,9521 |
| Erro Experimental | 1790 | 52351,295932 | 29,246534 | | ns |
| Total | 1799 | 61316,207774 | | | |

Média Geral: 29,0881098

Coefficiente de Variação: 18,59%

Dados transformados em $\sqrt{x+1}$.

APÊNDICE 3. Quadro da análise de variância da produção de esporos por pústula das nove raças do patógeno *Puccinia triticina* em 12 e 20 dias após a inoculação. Dados referentes à análise conjunta de duas repetições biológicas. Porto Alegre, RS, 2014.

| Causa de Variação | GL | SQ | QM | F | P |
|-------------------|-----|----------|----------|----------|-------|
| Raça | 8 | 0,908222 | 0,113528 | 26,312 | 0,01* |
| Tempo | 1 | 1,051744 | 0,131468 | 30,470 | 0,01* |
| Raça x Tempo | 8 | 5,947995 | 5,947995 | 1378,545 | 0,01* |
| Erro Experimental | 162 | 0,698980 | 0,004315 | | |
| Total | 179 | 8,606941 | | | |

Média Geral: 3,8778000

Coefficiente de Variação: 1,69 %

Dados transformados em log (x).

APÊNDICE 4. Quadro da análise de variância germinação de esporos de *Puccinia triticina*, nas condições de temperatura ótima (20°C) e alta (25°C), claro e escuro em 3h, 6h e 12h após a inoculação das placas. Dados referentes à análise conjunta de duas repetições biológicas. Porto Alegre, RS, 2014.

| Causa de Variação | GL | SQ | QM | F | P |
|---|------|---------------|---------------|----------|-------|
| Raça | 8 | 27440,587333 | 3430,073417 | 49,651 | 0,01* |
| Temperatura | 1 | 283869,526259 | 283869,526259 | 4109,099 | 0,01* |
| Luminosidade | 1 | 66423,622259 | 66423,622259 | 961,502 | 0,01* |
| Horas | 2 | 10622,891556 | 5311,445778 | 76,885 | 0,01* |
| Raça x Temperatura | 8 | 17655,209407 | 2206,901176 | 31,946 | 0,01* |
| Raça x Luminosidade | 8 | 14156,920074 | 1769,615009 | 25,616 | 0,01* |
| Raça x Horas | 16 | 11419,495778 | 713,718486 | 10,331 | 0,01* |
| Temperatura x Luminosidade | 1 | 6825,208333 | 6825,208333 | 98,797 | 0,01* |
| Temperatura x Horas | 2 | 9539,944296 | 4769,972148 | 69,047 | 0,01* |
| Luminosidade x Horas | 2 | 3219,513185 | 1609,756593 | 23,302 | 0,01* |
| Raça x Temperatura x Luminosidade | 8 | 16803,434000 | 2100,429250 | 30,404 | 0,01* |
| Raça x Temperatura x Horas | 16 | 12681,131037 | 792,570690 | 11,473 | 0,01* |
| Temperatura x Luminosidade x Horas | 2 | 3659,331556 | 1829,665778 | 26,485 | 0,01* |
| Raça x Temperatura x Luminosidade x Horas | 16 | 5161,173111 | 322,573319 | 4,669 | 0,01* |
| Erro Experimental | 988 | | | | |
| Total | 1079 | 557732.143667 | | | |

Média Geral: 62,4872222

Coefficiente de Variação: 13,27%