

# Capítulo 7

Pré-melhoramento  
de cereais de inverno

Uma abordagem para  
ampliar a base genética

Edson J. Iorczesk  
Ana Christina Sagebin Albuquerque  
Sandro Bonow  
Luciano Consoli  
Gisele Abigail Montan Torres  
Sandra Patussi Brammer



## Introdução

No Brasil, nas últimas décadas, as cultivares desenvolvidas pelo melhoramento de cereais de inverno produziram importantes resultados econômicos, sociais, científicos e ambientalmente corretos. A importância do germoplasma brasileiro é ainda mais evidente por estar presente no *pedigree* de inúmeros materiais cultivados ou em cultivo no exterior.

Contudo, a despeito do desafio passado estar posto para um conjunto de problemas de solução genética aparentemente mais fácil, a exemplo do manuseio de características de herança simples como baixa estatura, fotoperíodo e resistência a doenças, só algumas cultivares foram capazes de marcar época de forma indelével.

Para o trigo (*Triticum aestivum* L. em. Thell.,  $2n=6x=42$ , AABBDD), citam-se BH 1146, IAC 5-Maringá e BR 23, dentre outras. Entretanto, apesar das conquistas, o cenário aponta para desafios mais complexos, os quais requerem abordagem científica adequada para serem enfrentados. Como determinantes na trajetória do melhoramento de cereais de inverno, alguns fatores adicionais também devem ser considerados.

Historicamente, ao longo dos anos, forças de cunho comercial – e a necessidade de serem mais competitivos em curto prazo – direcionaram os programas de melhoramento a uma base genética estreita. Outro fator a ser considerado no direcionamento dos programas de melhoramento é a introdução da *Lei de Proteção de Cultivares*, em 1997, que abriu caminho para mudanças e ajustes no portfólio das pesquisas em melhoramento genético vegetal no País.

O cenário para onde a atividade se direciona aponta para o fortalecimento da pesquisa pública na produção de germoplasma com novas classes de atributos e não necessariamente, tecnologias prontas para serem usadas pelos agricultores. Ao mesmo tempo, segundo alguns indicadores, o pré-melhoramento, é de custo muito elevado e demorado para ser assumido pela iniciativa privada. Consequentemente, pode-se inferir que não deverá fazer parte do modelo comercial de desenvolvimento de cultivares e que essa responsabilidade poderá recair, única e exclusivamente, sobre a iniciativa pública.

Nesse caso, projetos cooperativos – entre empresas públicas e privadas – serão necessários para fazer frente aos futuros desafios, ou seja, descobrir caminhos para nova geração de tecnologias com atributos diferenciados. Esse cenário é o que se apresenta no caso do *Grains Research & Development Corporation (GRDC)*, na Austrália, onde a nova estratégia de melhoramento, com atores dos setores público e privado, definirá como as cultivares de trigo serão desenvolvidas naquele país.

Em longo prazo, a expectativa é de que os programas de melhoramento invistam em germoplasma desenvolvido por pré-melhoristas, os quais, com aprimoramento e aplicação de ferramentas biotecnológicas, disponibilizarão novas classes de características de interesse como, grãos de trigo mais nutritivos e genótipos mais adaptados a ambientes extremos.

## Melhoramento genético

O melhoramento de plantas desenvolveu-se a partir da ciência da genética. Modificações genéticas em plantas cultivadas dependem do reconhecimento e do uso correto de fatores responsáveis por características de interesse como as necessárias para incremento do rendimento ou da sua estabilidade, resistência a doenças e a pragas ou melhoria da qualidade para o fim que se destinam.

O melhoramento tradicional busca re-arranjar e produzir novas combinações de variantes alélicas dominantes e/ou recessivas, muitas vezes complexas, interativas e não totalmente entendidas, em genótipos que se aproximem do ideotipo preconizado e que se expressem no ambiente alvo. Mesmo na presença de variabilidade, identificar genótipos numa população segregante, que apresentem características de interesse, é um grande desafio.

Em muitos casos, a identificação de genes desejáveis, para o genótipo alvo, requer a exploração de *pools* gênicos geneticamente distantes ou diferentes do habitualmente usado ou até mesmo buscá-los em espécies afins ou em qualquer outra espécie. Nesse contexto, a combinação de modernas técnicas de biologia celular, de genética molecular, de transferência gênica e de bioinformática surge como importante ferramenta para o alcance de objetivo de cunho científico/econômico ou de preservação ambiental.

O grau de dificuldade interposto pelos desafios a serem vencidos em curto, médio e longo prazos direciona a pesquisa para uma abordagem nova, por meio da qual a variabilidade necessária para fazer frente a esses desafios deverá ter, como coadjuvante, ferramentas biotecnológicas para utilização de novos *pools* gênicos.

O processo a ser estabelecido crescerá, à consolidada e bem-sucedida porção arte, no melhoramento vegetal, um pouco mais de ciência e, com isso, espera-se maior eficiência e eficácia no desenvolvimento de novas cultivares. Poucos programas de melhoramento de cereais de inverno estão preparados para oferecer as soluções esperadas, novas soluções ou soluções alternativas, no espaço de tempo requerido.

No Brasil, é consenso que a base genética atualmente usada em melhoramento é insuficiente para resolver satisfatoriamente problemas mais complexos como estresses abióticos, a exemplo de seca, de calor, de germinação pré-colheita e de excesso de CO<sub>2</sub>; estresses bióticos (giberela, ferrugem-da-folha e brusone); e ainda demandas para outros usos como trigos nutracêuticos, trigos com qualidade para fins específicos, etc.

Quem faz melhoramento, apresenta duas grandes questões:

- Como acessar uma base genética mais ampla e de qualidade, na busca de novos genes.
- Como aumentar velocidade e eficiência no processo de criação de novas cultivares.

Melhoristas de hoje estão conscientes de que, em algumas situações, rendimento *per se* pode não mais ser o foco principal na busca de novas cultivares e que alguns genes, isoladamente, agregam muito mais valor a uma cultivar do que os demais genes em conjunto. Entre os exemplos que suportam essa assertiva, pode-se citar o gene de resistência ao glifosato na soja [*Glycine max* (L.) Merrill] RR (*Roundup Ready*) e os genes responsáveis pela tolerância ao alumínio tóxico, em trigo.

Outros fatores devem ser considerados no direcionamento da pesquisa, como por exemplo, agências financiadoras que gerenciam o suporte à pesquisa atentas ao que o mercado está demandando e o produtor, cada vez mais profissional, conduz seu negócio observando questões ambientais e de segurança alimentar, para ser competitivo no mercado interno e externo, onde os cereais possivelmente deixarão de ser vistos simplesmente como *commodities*.

Sumariamente, este é o cenário que se descortina para o negócio de cereais de inverno. Nesse contexto, qual o papel do melhoramento genético vegetal e como a pesquisa atual – que é muito mais dependente de complementaridade – poderá contribuir? O melhorista deve procurar o mais aceitável compromisso do tripé demanda humana/genótipo/ambiente.

Ganhos de eficiência, como redução do tempo de uma geração para outra, acurácia dos ensaios de rendimento e identificação mais rápida de genótipos resistentes a doenças não necessariamente dependem de novas tecnologias, mas de refinamento das tecnologias atualmente em uso.

Contudo, pode-se afirmar que, a biologia molecular, associada à genética quantitativa, poderá dar ao melhoramento genético vegetal mais eficiência, ou mesmo ajudá-lo a atingir objetivos antes dificilmente atingíveis. Assim, para atender às necessidades do cenário que se descortina, os ganhos no melhoramento genético vegetal requerem:

- Exploração de uma base genética ou de um *pool* gênico mais amplo do que o usado atualmente.
- Introdução, em alguns casos, de variabilidade exógena.
- Aumento da velocidade de seleção e decréscimo do tempo de geração.
- Modificação na abordagem/métodos de melhoramento.

Em se tratando de recursos genéticos, alguns avanços se fazem necessários, como:

- Desenvolvimento de uma estratégia global de conservação e documentação dos recursos genéticos de cereais de inverno.
- Identificação e acesso global de coleções de recursos genéticos de cereais de inverno, organizadas em nível nacional e por região, que atendam a padrões internacionais de conservação e que sejam importantes na conservação global.
- Desenvolvimento de um modelo global de colaboração e divisão de responsabilidade para um efetivo e eficiente gerenciamento de coleções-chaves desses cereais.
- Identificação de necessidades e oportunidades de atualização dessas coleções-chaves, bem como a capacitação de gerentes na manutenção e na distribuição eficiente e eficaz em longo prazo.
- Identificação das necessidades da tecnologia da informação para uma rede de integração global dos recursos genéticos de cereais de inverno e das etapas necessárias para atingir essas metas.
- Identificação dos pontos de estrangulamento existentes nas coleções e identificação de estratégias para eliminar esses gargalos por meio da comparação dos bancos de dados nacionais e estrangeiros.
- Desenvolvimento de coleções nucleares para viabilizar a utilização da variabilidade presente nos bancos de germoplasma.

## Recursos genéticos de cereais de inverno

No Brasil, a preocupação em conservar os recursos genéticos vem de longa data, mais especificamente, desde 1974, com a criação, em Brasília, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Unidade Descentralizada da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (GOEDERT, 2007). Essa Unidade dispõe de infraestrutura para armazenamento de recursos genéticos em longo prazo, e atualmente conserva mais de 100 mil acessos.

Além da manutenção da variabilidade das mais diversas espécies, um dos objetivos da conservação dos recursos genéticos é a possibilidade de sua exploração e consequente uso nos programas de melhoramento. Assim, foram criados os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs), nas Unidades Descentralizadas da Embrapa, os quais normalmente conservam recursos genéticos em médio prazo e têm como uma de suas atribuições, o fornecimento de variabilidade para os programas de melhoramento genético.

No caso dos cereais de inverno (trigo, cevada, aveia, centeio e triticale), o BAG está situado na Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS, onde é mantido um acervo de mais de 15 mil acessos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Número de acessos conservados no Banco Ativo de Germoplasma de Cereais de Inverno da Embrapa Trigo, em Passo Fundo, RS.

Espécie	Número de acessos
Trigo	11.736
Cevada	2.267
Aveia	331
Centeio	106
Triticale	162
Espécies afins do trigo <sup>(1)</sup>	1.000

<sup>(1)</sup> Inclui acessos dos gêneros *Triticum*, *Aegilops*, *Agropyron*, *Elymus*, *Elytrigia*, *Psathyrostachys* e *Leymus*.

Potencialmente, os acessos conservados representam uma diversidade genética mais ampla do que a utilizada pelos programas de melhoramento. No caso do trigo, o BAG da Embrapa Trigo contém genótipos oriundos de 68 países, fato que fortalece a afirmativa da potencial diversidade conservada, sendo esta uma fonte para solução de muitos problemas, alvos dos programas de melhoramento.

Características desejáveis poderão ser encontradas nos bancos de germoplasma e, por meio destes, terem seu uso facilitado. Para que esse potencial reservatório de genes seja útil aos melhoristas – e resulte em avanço na disponibilização de cultivares aos produtores – é necessária sua efetiva exploração.

A exploração dos recursos genéticos envolve várias etapas e esse caminho entre os recursos genéticos e o programa de melhoramento propriamente dito é denominado pré-melhoramento. Em outras palavras, o pré-melhoramento é o desenvolvimento de germoplasma, revelando a diversidade disponível a ponto de torná-lo utilizável pelos melhoristas.

Atualmente, pode-se afirmar que o principal entrave no uso dos recursos genéticos – pelos programas de melhoramento – tem sido a falta de conhecimento dos genótipos conservados, quanto a informações detalhadas sobre a caracterização agrônômica dos acessos. A dificuldade em se obter essas informações reside na necessidade de uma equipe multidisciplinar, de e de pessoal de apoio, para execução dessas tarefas, fato agravado pela ausência de atividades sistêmicas de pré-melhoramento responsáveis pela valoração dos recursos genéticos. Tradicionalmente, essas atividades ficavam a cargo dos melhoristas, tendo sido relegadas a segundo plano.

Motivados pela necessidade de soluções rápidas às demandas do mercado, os melhoristas preferiram usar o germoplasma já adaptado ao programa de melhoramento. Assim, o potencial de diversidade em cereais de inverno conservado tem sido pouco utilizado em prol dos programas de melhoramento, no Brasil. Na tentativa de reverter esse quadro, iniciativas para o fortalecimento e a implantação de atividades de pré-melhoramento foram – e estão sendo – tomadas, para promover ampla utilização dos recursos genéticos pelos programas de melhoramento.

Para fazer frente aos desafios supramencionados, a abordagem proposta a seguir sugere um novo sinergismo entre o melhoramento convencional, os recursos genéticos e a biotecnologia. Sob essa ótica, além das atividades normais de caracterização, avaliação, regeneração, introdução e documentação do germoplasma conservado, o BAG da Embrapa Trigo iniciou a formação da coleção nuclear de trigo, com o objetivo de avaliar e ampliar o *pool* gênico em uso no programa de melhoramento daquela Unidade.

Para melhorar o uso dos recursos genéticos, estão sendo empreendidos esforços no desenvolvimento de populações para estudos genéticos e no desenvolvimento de coleções de trigos sintéticos.

## Coleção nuclear de trigo e pré-melhoramento

Como passo inicial para a formação da coleção nuclear, os acessos do BAG estão sendo agrupados por origem, por características agronômicas, por adaptação e por respostas a estresses. Nuclear os acessos por características, se deve à necessidade de estabelecer limites para investigações mais aprofundadas. Contudo, para o estabelecimento de inferências, a diversidade genética deve estar preservada.

Didaticamente, o pré-melhoramento pode ser dividido em quatro etapas:

- Escolha dos acessos a serem avaliados.
- Avaliação dos acessos.
- Identificação das características e/ou genes de interesse.
- Introgessão da característica de interesse em genótipo-elite.

### Escolha dos acessos a serem avaliados

Inicialmente, é oportuno verificar, para a cultura em questão, o número de acessos disponíveis. Se esse número for pequeno, como é o caso atual do centeio, na Embrapa Trigo (Tabela 1), essa escolha talvez não seja necessária ou facilitada. Nesse exemplo, a atividade de pré-melhoramento torna-se tarefa menos árdua, permitindo o conhecimento das potencialidades e da totalidade do germoplasma disponível.

Levando a situação ao outro extremo, no caso de culturas com grande número de acessos conservados e pouca informação sobre dados de passaporte, características agronômicas, fenológicas e morfológicas – e de diversidade genética – um programa de pré-melhoramento torna-se fundamental e tem grande papel a exercer. Nessa situação, a escolha do germoplasma a ser avaliado pode seguir mais de um caminho.

Contudo, como passo inicial, é fundamental identificar e conhecer os problemas que o programa de melhoramento em que o germoplasma será introgridido está tentando solucionar.

Trazendo a situação para o trigo no Brasil, além de antecipar problemas como doenças ainda não presentes no País, mudanças climáticas globais e arquitetura de planta, podem-se apontar alguns problemas atuais, os quais são alvo dos programas de melhoramento genético e dos trabalhos de pré-melhoramento. São eles:

- Resistência a doenças (giberela, ferrugem-da-folha, brusone, manchas-foliaves e viroses).
- Tolerância a danos causados por insetos.
- Tolerância a estresses por calor e seca.
- Tolerância à germinação pré-colheita.
- Qualidade de uso final.
- Eficiência na aquisição e no uso de nutrientes como P (fósforo) e N (nitrogênio).

A decisão de quais acessos avaliar será nas informações disponíveis sobre os genótipos. Assim, dentro de um banco de germoplasma, a documentação e a organização da informação são aspectos de importância fundamental para a correta tomada de decisão. Dentre as informações, destacam-se os dados de passaporte, principalmente o local de origem, a genealogia e as informações de estudos anteriores.

Em qualquer banco de germoplasma, o conhecimento da variabilidade genética disponível é informação extremamente útil, pois permite o direcionamento de ações na busca de ampliação da base genética da cultura, além de evitar a avaliação de genótipos geneticamente muito próximos, os quais possuem menor probabilidade de apresentar diferenças consideráveis nos resultados. Assim, informações de diversidade, obtidas a partir dos dados de passaporte, caracterização e avaliação do germoplasma conservado orientarão a escolha dos acessos.

Uma das alternativas para a escolha dos genótipos a serem avaliados é a construção de uma coleção nuclear criteriosamente selecionada a partir da coleção total, isto é, a reunião de um grupo de genótipos representando com um mínimo de repetibilidade, a máxima diversidade presente na coleção total. No grupo de genótipos-alvo das avaliações, estaria representada a riqueza alélica presente no acervo.

No Brasil, considerando-se o caso do trigo, em que mais de 10 mil acessos estão sendo conservados, a redução no tamanho da coleção por meio da formação de coleção nuclear, permitirá a realização de trabalhos de avaliação e de caracterização otimizados. Diante de tal situação, vem à tona o seguinte questionamento:

*Na escolha desses genótipos, deve-se considerar uma coleção que represente a diversidade total dos genótipos, ou seja, a coleção nuclear?*

*Ou devem-se ter várias coleções, cada uma voltada para uma característica específica, com a participação de um número comum de genótipos nas diferentes coleções?*

Ainda hoje, a resposta a essa questão é alvo de discussões. Se considerarmos que os genótipos de uma coleção nuclear possuem a chamada variabilidade latente (extensão da

variabilidade que não é observada no campo até que esta seja desafiada por determinados estresses), a primeira opção talvez seja a alternativa adequada. Segundo Mackay et al. (2005), são recomendadas subcoleções contendo acessos relacionados a características específicas.

Esse pesquisador desenvolve um projeto denominado *Focused Identification of Germoplasm Strategy (Figs)*, no qual acredita que a coleção nuclear não contém, necessariamente, o grupo de genótipos com a variação procurada pelos melhoristas. Segundo ele, que no momento desenvolve o projeto especificamente em trigo, a seleção dos genótipos deve ser feita levando-se em conta questões ambientais.

A proposta relaciona as condições agroclimáticas e parâmetros edáficos dos locais de origem dos acessos com aquelas nas quais problemas como pragas, estresses abióticos, etc., teriam maiores chances de se desenvolver. Por exemplo, selecionando-se um grupo de acessos para serem avaliados sobre tolerância a estresse hídrico, acessos oriundos de locais com abundância de água seriam inicialmente excluídos do grupo a ser avaliado<sup>1</sup>.

Para que a estratégia proposta por Mackay seja aplicada, é importante dispor dos seguintes elementos:

- Uma sólida base de dados dos acessos conservados.
- O conhecimento do local de coleta/origem/cultivo.
- Dados de mapeamento de condições agroclimáticas em mapas edáficos da região de origem, os quais devem ser cruzados com informações sobre as condições ambientais adequadas à ocorrência do problema em questão.

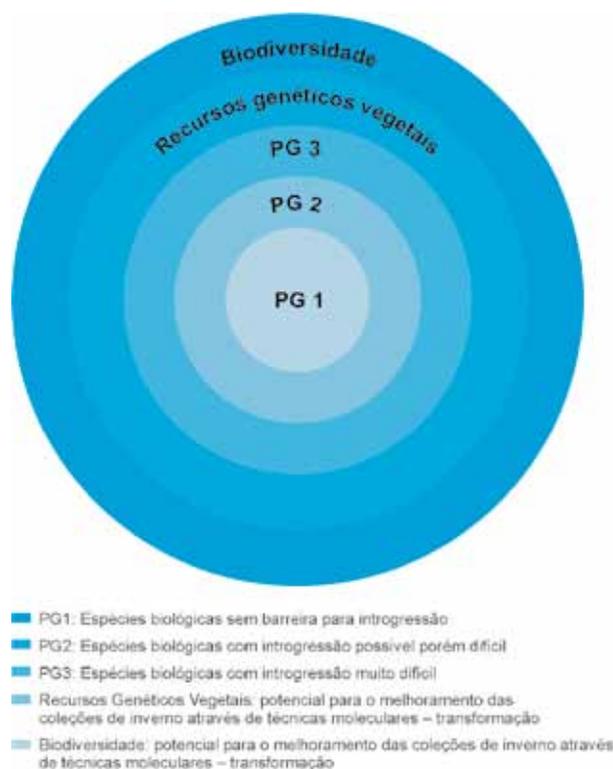
No Brasil, à primeira vista, podem-se agrupar os genótipos de trigo em diferentes classes como:

- Trigos coloniais.
- Genótipos nacionais melhorados.
- Genótipos estrangeiros.
- Espécies afins.

Acredita-se que, num passo inicial, é importante haver uma amostra representando a variabilidade genética do acervo, mas com concentração nos genótipos com maior possibilidade de possuírem a característica alvo. Nesse caso, é oportuno destacar que a variabilidade de interesse poderá ser buscada em diferentes *pools* gênicos (*PG*), conforme esquematizado na Figura 1. Com base nas tendências dos programas de melhoramento de trigo no mundo, assume-se que as principais fontes de genes para *T. aestivum* seja em ordem de importância, conforme a disposição a seguir:

- Diversidade intra-específica de *T. aestivum*.
- Outras espécies de *Triticum*.
- Outros gêneros da tribo *Triticeae* Dum. (particularmente do gênero *Aegilops*).
- Gêneros da família *Poaceae* Barnh. relacionados (MEREZHKO, 1998).

<sup>1</sup> Maiores detalhes a respeito dessa estratégia podem ser encontrados em <<http://www.figstraitmine.org/>>.



**Figura 1.** *Pools* gênicos de espécies vegetais.

Ilustração: Edson J. Iorczeski

As espécies afins do trigo representam grande potencial como fontes de genes relacionados a características de interesse. Isso pode ser comprovado pelos resultados encontrados em trabalhos conduzidos em instituições como o *Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK)*, na Alemanha.

Nessa instituição, pesquisas na área de pré-melhoramento envolvendo exploração de recursos genéticos são desenvolvidas há mais de 60 anos, nas quais foram avaliados mais de 10 mil acessos, com aplicação de cerca de 150 mil testes à procura de novas fontes de resistência a diversas doenças, tanto em plântulas como em plantas adultas.

Esses estudos permitiram concluir que a probabilidade de encontrar materiais resistentes a doenças é maior em espécies do gênero *Aegilops*. Dentro do gênero *Triticum*, as espécies diploides apresentam maior chance de constituir novas fontes de resistência, sendo decrescente essa possibilidade, de acordo com o acréscimo do nível de ploidia (BORNER et al., 2006).

Entre 22 espécies do gênero *Aegilops*, *Ae. geniculata* Roth (genoma MU) é uma das que apresentam distribuição geográfica mais ampla, mostrando adaptação a diferentes estresses ambientais. A partir de uma coleção de *Ae. geniculata*, estudos fisiológicos permitiram identificar grupos distintos quanto às estratégias adaptativas (ZAHARIEVA et al., 2001).

*Psathyrostachys* Nevski é um pequeno gênero da tribo *Triticeae* (*Poaceae*), que inclui dez espécies diploides perenes, portadoras do genoma Ns. Essa espécie tem atraído especial atenção pelas seguintes características:

- Nanismo.
- Prematuridade.
- Tolerância à seca e à salinidade.
- Resistência a diferentes doenças (CHEN et al., 1991; SUN et al., 1992).

Recentemente, foram obtidos híbridos F1 entre a cultivar de trigo *Chinese Spring* e *P. huashanica* Keng ex Kuo ( $2n=2x=14$ , NsNs), sem a necessidade da cultura de embriões imaturos, apesar da confirmação da não-homeologia com os genomas ABD de trigo (KANG et al., 2007). Esses relatos demonstram a possibilidade de sucesso, a partir da avaliação de espécies afins, as quais somam, aproximadamente, mil acessos conservados no Banco de Germoplasma de Cereais de Inverno da Embrapa Trigo (gêneros: *Triticum*, *Aegilops*, *Agropyron*, *Elymus*, *Elytrigia*, *Psathyrostachys* e *Leymus*).

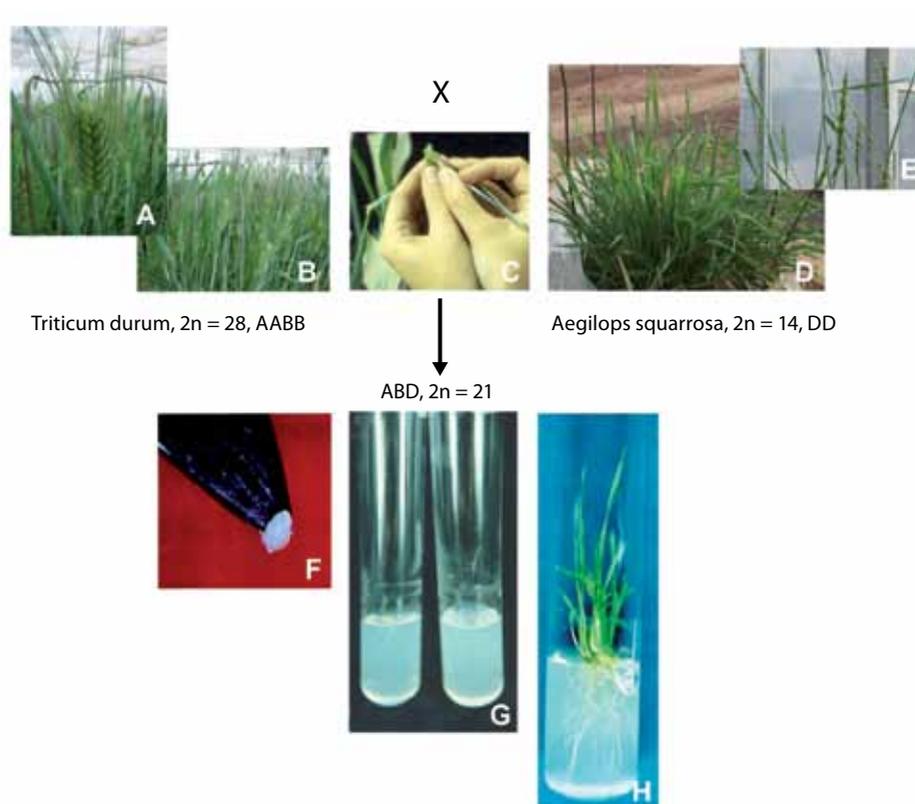
Inicialmente, uma coleção de mais de 200 acessos da Estação Experimental de Winnipeg, no Canadá, foi enviada à Embrapa Trigo, contendo espécies de *T. monococcum* L. ( $2n=2x=14$ , A<sup>m</sup>A<sup>m</sup>) e *Aegilops tauschii* (Coss.) Schmal. ( $2n=2x=14$ , DD) (= *Aegilops squarrosa* L.; *Triticum tauschii* (Coss.) Schmal).

Em 1978, os acessos dessas espécies foram multiplicados, e testados em 1979, quanto à resistência à *Stagonospora nodorum* (Berk) Castellani & Germano (= *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. in Berk. & Broome, teleomorfo *Phaeosphaeria nodorum* (E. Muller) Hedjaroude. Outra coleção de 500 acessos, proveniente de Beltsville, Estados Unidos, também foi testada. Algumas espécies foram consideradas imunes em plântulas e outras em plantas adultas.

Paralelamente aos testes de confirmação da imunidade à *S. nodorum*, em 1980, foram iniciados os trabalhos de transferência dessa característica para o trigo comum. Para obter variabilidade para esse caráter, foram feitos diversos cruzamentos com diferentes espécies (MORAES-FERNANDES et al., 1980). Atualmente, existem diversos trigos hexaploides sintéticos, provenientes do cruzamento entre *Triticum durum* Desf. (L.) ( $2n=4x=28$ , AABB) e *Ae. tauschii* (Figura 2).

Os trabalhos foram conduzidos pela citogeneticista Maria Irene Baggio de Moraes-Fernandes e pelo fitopatologista Ariano Moraes Prestes, ambos pesquisadores já aposentados da Embrapa Trigo. Nesse trabalho, foram concretizadas importantes parcerias com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e com a Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), por meio de dissertações de mestrado e de teses de doutorado.

Atualmente, pesquisas com espécies afins do trigo e com trigos hexaploides, gerados nas décadas de 1980 e de 1990, vêm sendo conduzidas na Embrapa Trigo, principalmente com *Ae. tauschii*, por meio de estudos citogenéticos, fitopatológicos e moleculares. Além do mencionado, *Ae. tauschii* destaca-se entre as espécies silvestres que têm fornecido importantes genes de resistência à ferrugem-da-folha em trigo, sendo considerada uma das espécies diploides mais severas do grupo *Triticum-Aegilops*.



Fotos: A e B: Alcir R. Signori; C e F: Maria Irene Baggio de Moraes-Fernandes; D, E, G e H: Sandra Patussi Brammer

**Figura 2.** Para a ressíntese do trigo hexaploide *Triticum aestivum* (A) ( $2n = 42$ , AABBDD), a espécie tetraploide *Triticum durum* ( $2n = 28$ , AABB) é emasculada (B, C) e polinizada com *Aegilops squarrosa* = *Aegilops tauschii* ( $2n = 14$ , DD) (D, E). Os embriões híbridos ( $2n = 21$ , ABD) precisam ser resgatados (F, G) para a regeneração das plântulas in vitro (H) e posterior duplicação dos genomas pelo tratamento com colchicina.

Fonte: adaptada a partir de Moraes-Fernandes et. al. (2000).

No trigo cultivado (*Triticum aestivum* L. em. Thell), entre as dezenas de genes *Lr* (*Leaf rust*) descritos, cinco são oriundos de *Ae. tauschii*: *Lr21* (= *Lr40*), *Lr32*, *Lr39* (= *Lr41*), e *Lr42*, efetivos durante todo o ciclo da planta e *Lr22a*, descrito como gene de resistência de planta adulta<sup>2</sup>. Apesar de pouco explorado, com tipo agrônômico não adaptado às exigências dos programas de melhoramento, além dos genes de resistência a doenças mencionados, *Ae. tauschii* contém, ainda, outras características de interesse para melhoramento do trigo, como:

- Proteína no grão.
- Qualidade para panificação.
- Tolerância a estresses abióticos.

Nessa espécie, foram identificadas formas alélicas de subunidades de gluteninas de alto e baixo peso molecular, distintas das até então encontradas no trigo comum (PFLUGER et al., 2001a). Outra espécie que merece destaque é *Thinopyrum ponticum* R. Dewey [= *Agropyron*

<sup>2</sup> Disponível em: < <http://www.ars.usda.gov> >.

*elongatum* auct. non (Host) P. Beauv., *Elytrigia pontica* (Podp.) Holub., *Lophopyrum ponticum* (Podp.) A. Löve] com  $2n=10x=70$  e genomas SSJJJJ (CHEN et al., 1998), do mesmo modo que *Ae. tauschii* foi muito estudada na década de 1980, na Embrapa Trigo.

Essa espécie é perene e rústica, também pertencente à tribo Triticeae, contendo genes de resistência à ferrugem-da-folha Lr19, Lr24 e Lr29, além de genes de resistência a várias manchas foliares e a estresses abióticos como encharcamento, seca, geada, acidez e salinidade do solo (ANGRA, 1995). As primeiras gerações derivadas de hibridações, entre trigo e espécies afins, na maioria são tipos agronomicamente pobres.

Entretanto, o uso de metodologias adequadas pode melhorar, significativamente, o fenótipo das progênes. Villareal (1992) citado por MUJEEB-KAZI (1993) obtiveram gerações avançadas portadoras de resistência a patógenos como *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur (= *Helminthosporium sativum* Pammel, King & Bakke), anamorfo *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem., *F. graminearum* e *Septoria* spp. Todas as progênes foram resultantes das combinações entre *Triticum aestivum* L. em. Thell. e *Agropyron curvifolium* Lange (= *Thinopyrum curvifolium* (Lange) DR Dewey).

*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* Schrank é uma espécie alopoliploide tetraploide (genoma AABB) amplamente cultivada no passado e que possui alta rusticidade. Apesar de possuir menor qualidade tecnológica que o trigo durum (*Triticum durum* L.) ou o comum, apresenta potencial genético para geração de novos produtos com maior digestibilidade. Além disso, não é tóxico à celíacos (PFLUGER et al., 2001b).

## Avaliação dos acessos

Uma vez definidos o problema e os acessos a serem avaliados, os genótipos devem ser fenotipados em relação à característica-alvo. Por exemplo, se o desejo é avaliar a variabilidade relacionada à tolerância/resistência a determinada doença, os acessos a serem avaliados devem ser submetidos a condições adequadas (umidade, temperatura, presença do patógeno, época de plantio, etc.), ao desenvolvimento da doença.

Então, os genótipos são avaliados, aos quais são atribuídas notas, de acordo com a resposta à doença, permitindo avaliar sua reação e identificar fontes de tolerância/resistência. Dependendo da característica a ser avaliada, pode haver a necessidade de repetições, espacial e temporalmente.

A caracterização genética dos genótipos identificados como novas fontes de variabilidade passou a ter importância fundamental. Atualmente, diferentes ferramentas biotecnológicas podem ser empregadas, possibilitando o conhecimento do genótipo e sua utilização para a introgressão do(s) gene(s) de interesse.

Mundialmente, muitos projetos foram e (estão sendo) desenvolvidos, procurando explorar a potencialidade dos recursos genéticos em fornecer características que possam ser adicionadas aos programas de melhoramento com ganhos reais. Apesar desses trabalhos, algumas ques-

tões ainda rondam as mentes dos cientistas envolvidos em estudos na área. Entre questões, destaca-se a estimativa de quanto das características e/ou dos genes oriundos da exploração dos recursos genéticos estão, realmente, sendo incorporados aos programas de melhoramento.

Hajjar e Hodgkin (2007) tentaram responder a essa questão, levando em consideração a opinião e os resultados alcançados com pesquisas de vários cientistas do mundo inteiro. Ao abordarem os ganhos relacionados a cereais de inverno, estes foram considerados cultivares lançadas com genes oriundos de espécies afins.

Os resultados revelaram que, no trigo, a grande maioria das atividades de pré-melhoramento tiveram êxito na busca de características relacionadas à resistência a doenças, existindo algumas poucas iniciativas relacionadas à produtividade e à qualidade. Em cevada, os ganhos foram menores, com destaque para a tolerância a estresse hídrico.

Já em 1998, Merezhko afirmava que mesmo a variabilidade intraespecífica de trigo vinha sendo pouco investigada geneticamente. Se adequadamente avaliada, ela poderia fornecer soluções múltiplas para problemas tradicionais e novos do melhoramento, como por exemplo, combinando precocidade e alta produtividade.

## **Identificação das características e/ou genes de interesse**

Num programa de melhoramento, o desenvolvimento de germoplasma pode ser assessorado por diversas abordagens biotecnológicas, como:

- Cultura de tecidos e técnicas para se obter duplo-haploides.
- Seleção assistida por marcadores (SAM).
- Cruzamentos interespecíficos.
- Citogenética clássica e molecular.
- Caracterização molecular de coleções nucleares.
- Técnicas de engenharia genética.

Os marcadores moleculares apresentam potencial em diversas aplicações; seja no monitoramento de genes de interesse durante o processo de introgressão em cultivares-elites, na seleção assistida, na caracterização molecular e no monitoramento de segmentos cromossômicos de interesse em cruzamentos interespecíficos.

Essas técnicas biotecnológicas vêm sendo usadas como ferramentas no desenvolvimento de germoplasma em programas de melhoramento, buscando diminuir a distância entre a identificação de um gene, ou alelo de interesse, e sua disponibilização em genótipos-elites de interesse dos melhoristas.

Com linhagens de substituição cromossômica derivada do cruzamento de *T. dicoccoides* e *Ae. tauschii* retrocruzadas com 'Chinese Spring', Simón et al. (2001, 2005) identificaram um gene (ou

genes), no cromossomo 7D, determinando resistência quase completa a dois isolados de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt in Cohn, anamorfa *Septoria tritici* Roberge in Desmaz.

Com isso, vale lembrar que o trigo é uma espécie hexaploide (42 cromossomos) oriunda da junção de 3 genomas (ABD), os quais possuem alto grau de homeologia e que a expressão de uma dada característica, o fenótipo, está diretamente relacionada à expressão coordenada dos três genomas (SNAPE, 1998; RAJARAM, 2001).

Estimativas atuais indicam a presença de 25 mil a 30 mil genes, dos quais só uma pequena fração foi mapeada e cujos efeitos primários e pleiotrópicos foram estudados. Por sua vez, distintamente de qualquer outra grande cultura, no trigo, é possível explorar recursos citogenéticos como as linhagens monossômicas e de substituição, com o uso de modernas ferramentas da citogenética molecular, associadas à citogenética clássica e à engenharia cromossômica.

Exemplos desse tipo de abordagem, onde linhagens de introgressão/substituição foram desenvolvidas e permitiram o mapeamento fino de QTLs (*Quantitative Trait Loci*)/genes de interesse, podem ser citados tanto para cevada (VON KORFF et al., 2004) quanto para trigo (PESTSOVA et al., 2006).

Tradicionalmente, na identificação de regiões genômicas associadas a características de importância, faz-se uso de populações derivadas de cruzamentos simples entre progenitores contrastantes para tais características (QTLs). No entanto, essa estratégia apresenta certas limitações para a aplicação direta nos programas de melhoramento.

Para a identificação de regiões do genoma relacionadas às características de interesse (QTL), é necessário alto contraste entre os genitores. Para isso, em muitos casos, busca-se um genitor de baixa qualidade agrônômica ou com tipo agrônômico ultrapassado. Outro ponto é a limitada cobertura do genoma, uma vez que só os genes que segregam na população poderão ser estudados.

Além disso, essa abordagem não fornece informações sobre a frequência ou o valor dos QTLs nas populações de melhoramento. Finalmente, diante da dificuldade de se obter um único cruzamento apresentando contrastes entre genitores para várias características abordadas num programa de melhoramento, muitas vezes, o custo para estudos de QTLs compete diretamente com os do próprio melhoramento.

Para contornar essas limitações e buscar maior eficiência na aplicação dos recursos destinados às ferramentas biotecnológicas, outro tipo de abordagem a ser adotado é a busca de marcadores moleculares associados a características de interesse, com enfoque em genes candidatos prospectados via bioinformática. Uma vez identificados, os genes candidatos (marcadores moleculares) são validados por meio de metodologias de mapeamento por associação, método também conhecido por genética de associação, servindo-se de populações naturais ou de coleções nucleares (RISCH, 2000).

As vantagens técnicas dessa abordagem estão relacionadas, principalmente, à velocidade de se obter resultados, visto que não há necessidade de se conseguir populações de cruzamentos controlados, e à resolução, ou seja, a distância entre o marcador molecular e o gene de interesse. A resolução da abordagem de associação depende do desequilíbrio de ligação ou correlação entre locos polimórficos dentro da população.

Na Embrapa Trigo, a abordagem usada nas atividades relativas ao pré-melhoramento de cereais de inverno, com ênfase no trigo, tem como objetivo desenvolver uma estratégia científica ampla, de médio e de longo prazo, para o gerenciamento da variabilidade presente no germoplasma, de maneira orientada para as necessidades do usuário final, ou seja, dos melhoristas.

Os recursos humanos e financeiros, destinados à caracterização molecular, devem ser concentrados na coleção nuclear, a qual será fenotipada para todas as características agrônômicas de interesse, ao longo de vários anos. Esse tipo de abordagem vem sendo desenvolvido para diversas culturas (NEALE; SAVOLAINEN, 2004; TOMMASINI et al., 2007; YU; BUCKLER, 2006).

A vantagem desse tipo de material genético está no número de alelos avaliados por loco. Trabalhos de genética de associação relatam a presença de até 40 alelos por loco, dependendo do tipo de marcador e da estrutura genética da população usada, contrariamente aos estudos clássicos de QTL, onde apenas dois alelos são avaliados por loco (YU; BUCKLER, 2006). Trabalhos recentes em trigo (BALFOURIER et al., 2007; BRESEGHELLO; SORRELLS, 2006; RAVEL et al., 2006; TOMMASINI et al., 2007) relataram o potencial dessa abordagem, tanto na caracterização da variabilidade quanto na detecção de alelos favoráveis.

Vários trabalhos em milho vêm demonstrando o potencial do estudo de associações para diversas características (YU; BUCKLER, 2006). Esses resultados demonstram que essa abordagem é de grande utilidade para características com controle genético próximo ao mendeliano (cor e sabor adocicados do endosperma do milho), ou apresentando genes de grande efeito, com alta herdabilidade (data de florescimento). Resultados de associação também vêm sendo encontrados, com sucesso, para características complexas e com herdabilidade moderada em milho (WILSON et al. 2004) e em trigo (BRESEGHELLO; SORRELLS, 2006; RAVEL et al., 2006; TOMMASINI et al., 2007).

Outra abordagem prevista no pré-melhoramento da Embrapa Trigo está relacionada com a prospecção gênica em espécies afins do trigo. Para esse tipo de estudo, devem ser criadas populações derivadas de cruzamentos interespecíficos ou intergenéricos. Populações de trigos sintéticos, oriundas do cruzamento entre *Triticum durum* e *Aegilops speltoides*, apresentam grande potencial para aumentar a variabilidade geralmente estudada em *Triticum aestivum*. Além dessas espécies, uma série de espécies presentes no BAG da Embrapa Trigo podem ser usadas na busca de novos genes.

## **Identificação das características e/ou dos genes de interesse**

Primeiramente, o pré-melhoramento envolve a avaliação de características de material do *pool* gênico (PG) primário, secundário e/ou terciário. Posteriormente, procede-se à introdução dessas características num *background* conhecido.

Para que a exploração de material genético dessas diferentes espécies no melhoramento de trigo seja possível, é necessário obter híbridos viáveis. Nesses casos, a transferência implica na

passagem de um segmento de cromossomo da espécie doadora à espécie receptora. O segmento deve ser o menor possível, para se evitar a transferência de outros caracteres indesejáveis.

A detecção da introgressão de genes pode ser feita por meio de técnicas de biologia celular e molecular, visando à caracterização de cromossomos ou segmentos cromossômicos, nas diferentes progênies. Assim, é possível reduzir o tamanho da população usada num programa de melhoramento, por meio da identificação precoce dos indivíduos desejados.

O *pool* gênico primário compreende cultivares de trigos hexaploides, trigos *durum* tetraploides, espécies selvagens de *T. dicoccoides*, e as espécies diploides doadoras do genoma A e D. Usando-se o *pool* gênico primário, ocorre a hibridação direta e a recombinação homóloga. A seleção recorrente é a técnica recomendada.

Nesse caso, o uso de marcadores moleculares no processo de transferência da característica de interesse auxilia na manutenção de atributos favoráveis presentes no genótipo doador e no descarte de materiais portadores de genes não desejáveis. Algumas das combinações genéticas entre espécies do *pool* gênico primário requerem, ainda, o auxílio de técnicas como o resgate de embriões.

Durante a década de 1970, metodologias de cultura de tecidos foram desenvolvidas, visando a regeneração de plantas a partir de gametócitos. A partir de então, foi identificado o potencial da produção de duplo-haploides. Em cevada, o reconhecimento da eliminação cromossômica em cruzamentos interespecíficos com *Hordeum bulbosum* L. promoveu as pesquisas com trigo (SNAPE, 1998). Tais estudos culminaram com a identificação e o uso de cruzamentos intergenéricos trigo *versus* milho, ampliando a adoção do sistema de duplo-haploides pelos programas de melhoramento de trigo, inclusive na Embrapa Trigo.

Atualmente, o cultivo de micrósoros isolados tem substituído essas técnicas em muitos laboratórios, em todo o mundo, e o crescente número de trabalhos publicados com essa metodologia demonstra a importância e a eficiência dessa técnica na produção de plantas duplo-haploides (LIU et al., 2002). Espécies poliploides de *Aegilops* e *Triticum*, com genoma em comum, com *T. aestivum*, são incluídas no *pool* gênico secundário, assim como espécies diploides da seção Sitopsis. Atenção especial tem sido dada na exploração de acessos de *Aegilops speltoides* ( $2n=2x=14$ , BB ou BsBs) no melhoramento de trigo comum e *durum*.

Por fim, no *pool* gênico terciário, são incluídas as espécies diploides e poliploides com genomas não-homeólogos aos do trigo, os quais requerem manipulações citogenéticas complexas. Técnicas de irradiação ou de cultura de tecidos podem ser adotadas quando não é possível a troca de segmentos cromossômicos. Essas hibridações requerem o resgate de embriões e seu sucesso ocorre em baixa frequência.

Considerando-se cruzamentos interespecíficos e ou intergenéricos, visando-se introgressões de genes de resistência a doenças, a técnica de *Fish* (*Fluorescent In Situ Hybridization*) está sendo amplamente usada no monitoramento dos segmentos cromossômicos, como pode ser verificado no trabalho de Vidal (2003).

No trigo hexaploide (AABBDD), os três genomas podem ser distinguidos simultaneamente com o uso de sondas genômicas, além de sondas de oligonucleotídios específicos, oriundas

de suas espécies ancestrais. Exemplo dessa metodologia foi adotado na parceria entre a Universidade Federal de Pernambuco (UFP) e a Embrapa Trigo, possibilitando a caracterização cromossômica de híbridos intergenéricos de trigo (*T. aestivum* x *Thinopyrum ponticum*), com diferentes combinações genômicas (VIDAL, 2003).

Frequentemente, tecnologias modernas vêm eliminando as barreiras naturais de incompatibilidade sexual. Inclusive, existe atualmente, na literatura, vários relatos da transferência de características úteis das espécies afins do trigo para o trigo hexaploide, por meio de hibridações intergenéricas, inclusive para o caso de espécies não-homeólogas (FELDMAN, 1983; JAUHAR, 1993; JIANG et al., 1994; KANG et al., 2007; PREM; RAVINDRA, 1999; SHARMA; GILL, 1983). Com isso, abrem-se outras possibilidades para aumentar o potencial genético de uma cultura, introduzir características importantes como tolerância a estresses, e eficiência na aquisição e no uso de nutrientes.

## Considerações finais

Geralmente, para se alcançar os objetivos do pré-melhoramento, deve-se empreender grande esforço, principalmente na conscientização sobre uma das principais formas de aumentar a base genética usada atualmente no País, por meio da exploração dos recursos genéticos conservados. Do ponto de vista técnico, de acordo com a fonte a ser usada na busca da variabilidade necessária à melhoria genética, de forma concisa, pode-se dizer que esta pode ser alcançada com a exploração de duas avenidas.

A primeira delas está relacionada a materiais/espécies, onde existe homeologia entre os genomas e onde a transferência de genes ou segmentos de cromossomos é possível pela seleção recorrente, isoladamente, ou com auxílio de técnicas moleculares (marcadores) e celulares (cultura de embriões imaturos ou de micrósporos isolados). Essas metodologias são conhecidas e de fácil execução.

Na outra via, encontra-se a engenharia genética, a qual tornou possível inserir em plantas genes de *pools* gênicos não relacionados e que condicionam ou afetam características específicas. Juntas, essas duas vertentes possibilitarão novas conquistas/soluções para questões ainda não resolvidas na biologia e no melhoramento genético das plantas, conduzindo à melhor utilização dos recursos genéticos vegetais.

## Referências

- ANGRA, D. C. **Transferência da resistência à ferrugem da folha através de cruzamentos intergenéricos entre *Triticum aestivum* e *Agropyron elongatum***. 1995. 85 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1995.
- BALFOULIER, F.; ROUSSEL, V.; STRELCHENKO, P.; EXBRAYAT-VINSON, F.; SOURDILLE, P.; BOUTET, G.; KOENIG, J.; RAVEL, C.; MITROFANOVA, O.; BECKERT, M.; CHARMET, G. A worldwide bread wheat core collection arrayed in a

384-well plate. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 114, p. 1265-1275, 2007.

BORNER, A.; FREYTAG, U.; SPERLING, U. Analysis of wheat disease resistance data originating from screenings of Gatersleben genebank during 1933 and 1992. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, n. 53, p. 453-465, 2006.

BRESEGHELLO, F.; SORRELLS, M. E. Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. **Genetics**, Maryland, v. 172, p. 1165-1177, 2006.

CHEN, Q.; CONNER, R. L.; LAROCHE, A.; THOMAS, J. B. Genome analysis of *Thinopyrum intermedium* and *Thinopyrum ponticum* using genomic *in situ* hybridization. **Genome**, Ottawa, CA, v. 41, p. 580-586, 1998.

CHEN, S. Y.; ZHANG, A. J.; FU, J. The hybridization between *Triticum aestivum* and *Psathyrostachys huashanica*. **Acta Genetica Sinica**, Beijing, v. 18, p. 508-512, 1991.

FELDMAN, M. Gene transfer from wild species into cultivated plants. **Genetica**, The Hague, v. 15, p. 145-161, 1983.

GOEDERT, C. O. História e avanços em recursos genéticos no Brasil. In: NASS, L. **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858 p.

HAJJAR, R.; HODGKIN, T. The use of wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. **Euphytica**, Wageningen, v. 156, p. 1-13, 2007.

JAUHAR, P. P. Alien gene transfer and genetic enrichment of bread wheat. In: DAMANIA, A. B. (Ed.). **Biodiversity and wheat improvement**. Chichester: John Wiley and Sons, 1993. p. 103-119.

JIANG, J.; FRIEBE, B.; GILL, B. S. Recent advances in alien gene transfer in wheat. **Euphytica**, Wageningen, v. 73, p. 199-212, 1994.

KANG, H.-Y.; ZHANG, H.-Q.; FAN, X.; ZHOU, Y.-H. Morphological and cytogenetic studies on the hybrid between wheat and *Psathyrostachys huashanica* Keng ex Kuo. **Euphytica**, Wageningen, 2007. Disponível em: <<http://DOI.10.1007/s10681-007-9608-y>>. Acesso em: 20 set. 2007.

LIU, W.; ZHENG, M. Y.; POLLE, E. A.; KONZAK, C. F. Highly efficient doubled-haploid production in wheat (*Triticum aestivum* L.) via induced microspore embryogenesis. **Crop Science**, Madison, v. 42, p. 686-692, 2002.

MACKAY, M.; BOTHMER, R. V.; SKOVMAND, B. Conservation and Utilization of Plant Genetic Resources – Futures Directions. **Czech Journal Genetics Plant Breeding**, Praga, n. 41, p. 335-344. 2005.

MEREZHKO, A. F. Impact of plant genetic resources on wheat breeding. **Euphytica**, Wageningen, v. 100, p. 295-303, 1998.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de; FERNANDES, J. M.; PICININI, E. C.; AITA, L.; SARTORI, J. F. Transferência de genes de resistência à *Septoria nodorum* (Berk) de espécies afins para o trigo. In.: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO. 11., 1980, Porto Alegre **Resumos e comunicados técnicos...** Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1980. p. 139-140.

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de; ZANATTA, A. C. A.; PRESTES, A. M.; CAETANO, V. R.; BARCELLOS, A. L.; ANGRA, D. C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, p. 1051-1062, 2000.

MUJEEB-KAZI, A. Interspecific and intergeneric hybridization in the Triticeae for wheat improvement. In: DAMANIA, A. B. (Ed.). **Biodiversity and wheat improvement**. Chichester: John Wiley and Sons, 1993. p 95-102,

NEALE, D. B.; SAVOLAINEN, O. Association genetics of complex traits in conifers. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 9, p. 325-330, 2004.

- PESTSOVA, E. G.; BÖRNER, A.; RÖDER, M. S. Development and QTL assessment of *Triticum aestivum*-*Aegilops tauschii* introgression lines. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, p. 634-647, 2006.
- PFLUGER, L. A.; D'OVIDIO, R.; MARGIOTTA, B.; PENA, R.; MUJEEB-KAZI, A.; LAFIANDRA, D. Characterization of high and low molecular weight glutenin subunits associated to the D genome of *Aegilops tauschii* in a collection of synthetic hexaploid wheats. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 103, p. 1293-1301, 2001a.
- PFLUGER, L. A.; MARTÍN, L. M.; ALVAREZ, J. B. Variation in the HMW and LMW glutenin subunits from Spanish accessions of emmer wheat (*Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* Schrank. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 102, p. 767-772, 2001b.
- PREM, P. J.; RAVINDRA, N. C. Chromosome-mediated and direct gene transfer in wheat. **Genome**, Ottawa, CA, v. 42, p. 570-583, 1999.
- RAJARAM, S. Prospects and promise of wheat breeding in the 21<sup>st</sup> century. **Euphytica**, Wageningen, v. 119, p. 3-15, 2001.
- RAVEL, C.; PRAUD, S.; MURIGNEUX, M.; LINOSSIER, L.; DARDEVET, M.; BALFOURIER, F.; DUFOUR, P. BRUNEL, D.; CHARMET, G. Identification of Glu-B1-1 as a candidate gene for the quantity of high-molecular-weight glutenin in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) by means of an association study. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 112, p. 738-743, 2006.
- RISCH, N. J. Searching for genetic determinants in the new millennium. **Nature**, London, UK, v. 405, p. 847-856, 2000.
- SHARMA, H. C.; GILL, B. S. Current status of wide hybridization in wheat. **Euphytica**, Wageningen, v. 32, p. 17-31, 1983.
- SIMÓN, M. R.; WORLAND, A. J.; CORDO, C. A.; STRUIK, P. C. Chromosomal location of resistance to *Septoria tritici* in seedlings of a synthetic hexaploid wheat, *Triticum spelta* and two cultivars of *Triticum aestivum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 109, p. 151-155, 2001.
- SIMÓN, M. R.; WORLAND, A. J.; STRUIK, P. C. Chromosomal location of genes encoding for resistance to septoria tritici blotch (*Mycosphaerella graminicola*) in substitution lines of wheat. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v. 53, p. 113-130, 2005.
- SNAPE, J. W. Golden calves or white elephants? Biotechnologies for wheat improvement. **Euphytica**, Wageningen, v. 100, p. 207-217, 1998.
- SUN, G. L.; YAN, J.; YANG, J. L. Production and cytogenetic study of intergeneric hybrid between *Triticum aestivum* and *Psathyrostachys* species. **Acta Genetica Sinica**, Beijing, v. 19, p. 205-210, 1992.
- TOMMASINI, L.; SCHNURBUSCH, T.; FOSSATI, D.; MASCHER, F.; KELLER, B. Association mapping of *Stagonospora nodorum* blotch resistance in modern European winter wheat varieties. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 115, p. 697-708, 2007.
- VIDAL, A. C. B. Caracterização cromossômica de híbridos intergenéricos de trigo (*Triticum aestivum* X *Thinopyrum ponticum*) com diferentes combinações genômicas. 2003. 122 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2003.
- VON KORF, M.; WANG, H.; LEON, J.; PILLEN, K. Development of candidate introgression lines using an exotic barley accession (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) as donor. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 101, p. 1736-1745, 2004.
- WILSON, L. M.; WHITT, S. R.; IBANEZ, A. M.; ROCHEFORD, T. R.; GOODMAN, M. M.; BUCKLER, E. S. Dissection of maize kernel composition and starch production by candidate gene association. **Plant Cell**, Rockville, v. 16, p. 2719-2733, 2004.

YU, J.; BUCKLER, E. S. Genetic association mapping and genome organization of maize. **Current Opinion in Biotechnology**, London, UK, v. 17, p. 155-160, 2006.

ZAHARIEVA, M.; MONNEVEUX, P.; HENRY, M.; RIVOAL, R.; VALKOUN, J.; NACHIT, M. M. Evaluation of a collection of wild wheat relative *Aegilops geniculata* Roth and identification of potential sources for useful traits. **Euphytica**, Wageningen, v. 119, p. 33-38, 2001.