

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

André Ebone

**FENOTIPAGEM NA DETECÇÃO PRECOCE DE SINTOMAS
CAUSADOS POR *Pyrenophora tritici-repentis* EM TRIGO**

Santa Maria, RS
2021

André Ebone

**FENOTIPAGEM NA DETECÇÃO PRECOCE DE SINTOMAS CAUSADOS POR
Pyrenophora tritici-repentis EM TRIGO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Orientador: Prof. Dr. Thomas Newton Martin

Santa Maria, RS
2021

André Ebone

**FENOTIPAGEM NA DETECÇÃO PRECOCE DE SINTOMAS CAUSADOS POR
Pyrenophora tritici-repentis EM TRIGO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**.

Aprovado em 01 de abril de 2021

Thomas Newton Martin, Dr. (UFSM)
Presidente/Orientador

Luciane Almeri Tabaldi, Dra. (UFSM)

Flávio Martins Santana, Dr. (EMBRAPA-Trigo)

Santa Maria, RS
2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas envolvidas nesse projeto.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao meu orientador professor Dr. Thomas Newton Martin, pela contribuição na minha formação.

Ao pesquisador Dr. Flávio Martins Santana, por me confiar o projeto e apoiar incondicionalmente.

Aos membros do comitê de orientação e avaliação Dr. Thomas Newton Martin, Dra. Luciane Almeri Tabaldi e Dr. Flávio Martins Santana, pelo auxílio durante todas as etapas da pesquisa.

À todas as pessoas, amigos e familiares, que participaram e incentivaram esse processo de formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

FENOTIPAGEM NA DETECÇÃO PRECOCE DE SINTOMAS CAUSADOS POR *Pyrenophora tritici-repentis* EM TRIGO

AUTOR: André Ebone

ORIENTADOR: Thomas Newton Martin

O trigo (*Triticum aestivum* L.) possui relevância ao longo da história pelo seu alto consumo na dieta alimentar. Alto potencial produtivo exige adoção de manejo mais criterioso, especialmente para cultivares suscetíveis a doenças. O objetivo da pesquisa visou fenotipar cultivares de trigo quanto a sensibilidade a mancha amarela, por meio de imagem, e identificar respostas bioquímicas como indicador de infecção precoce por *Pyrenophora tritici-repentis*. Foram conduzidos experimentos de campo em Santa Maria (SM) e Ijuí (IJ) com avaliação de 4 cultivares de trigo (Tbio Toruk, Tbio Sinuelo, Tbio Audaz e Tbio Sossego), com e sem inoculação do fungo *Pyrenophora tritici-repentis*. Foram avaliadas produtividade de grãos, massa por hectolitro e massa de mil grãos, além da determinação da severidade visual e por imagem (no local SM) com o uso do software Quant® aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a inoculação (DAI) para compor a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em cada cultivar. Em casa de vegetação foi conduzido experimento para avaliar os pigmentos fotossintetizantes e compostos bioquímicos do complexo antioxidante em plantas as 0, 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) com *Pyrenophora tritici-repentis*. A atividade da Clorofila A (ChlA), Clorofila B (ChlB), Clorofilas Totais (ChlTot), Carotenoides (Carot), Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂), peroxidação lipídica por malondialdeído-MDA (TBARS), Superóxido Dismutase (SOD) e Guaiacol Peroxidase (POD), foram determinadas em relação ao seu controle, sem o patógeno, para todas as cultivares. As menores médias de severidades de mancha amarela e AACPD foram identificadas nas cultivares Tbio Sossego e Tbio Audaz, não sendo observada correlação inversa no aumento nas produtividades de grãos, indicando que os componentes de produtividade não são indicadores de tolerância à mancha amarela. Os níveis relativos de tolerância para cada cultivar, estão relacionados com a diminuição da AACPD da doença. Assim, fenotipicamente Tbio Toruk foi classificado como sensível a mancha amarela por apresentar maior AACPD, enquanto a mais tolerante foi Tbio Sossego, em ambos os locais. A análise dos componentes principais (PCA) demonstrou diferença entre as cultivares Tbio Toruk e Tbio Sossego as 192 HAI, pelo acúmulo de estímulos após a inoculação com o patógeno. O decréscimo médio de acurácia na classificação das cultivares foi maior para POD, sendo esta avaliação responsável por 24% do modelo preditivo por RandomForest a 96 HAI. A sensibilidade (SN) na matriz de confusão do modelo permitiu classificar Tbio Toruk em 100% das predições. A máxima expressão relativa de POD determinada para Tbio Toruk ocorreu as 126 horas após a inoculação, com atividade 386,9% superiores ao controle não inoculado com *Pyrenophora tritici-repentis*. Assim, as cultivares de trigo foram fenotipadas, sendo Tbio Toruk a cultivar mais suscetível a mancha amarela devido demonstrar elevada AACPD. A detecção de alterações nas respostas enzimáticas até 96 HAI, especialmente a atividade da enzima POD é um indicador para detecção precoce à infecção por *Pyrenophora tritici-repentis* em cultivares sensíveis.

Palavras-chave: Mancha amarela. Análise dos Componentes Principais. Atividade Enzimática. Guaiacol Peroxidase.

ABSTRACT

Phenotyping in the early detection of symptoms caused by *Pyrenophora tritici-repentis* in wheat

AUTHOR: André Ebone
ADVISER: Thomas Newton Martin

Wheat (*Triticum aestivum* L.) has relevance throughout history for its high consumption in the diet. High yield potential requires the adoption of more careful management, especially for diseases susceptible cultivars. The objective of the research was to phenotyping wheat cultivars for sensitivity to tan spot, by proximal imaging, and to identify biochemical responses as an indicator of early infection by *Pyrenophora tritici-repentis*. Two field experiments were carried out in Santa Maria (SM) and Ijuí (IJ) with 4 wheat cultivars (Tbio Toruk, Tbio Sinuelo, Tbio Audaz and Tbio Sossego), with and without inoculation of the fungus *Pyrenophora tritici-repentis*. Grain yield, mass per hectoliter and mass of a thousand grains were evaluated, in addition to visual and picture severity (at the SM site) using the Quant® software determined at 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days after inoculation (DAI) to compose the area under the disease progress curve (AADPC) in each cultivar. An experiment was carried out in a greenhouse to evaluate the photosynthetic pigments and biochemical compounds of the antioxidant complex in plants at 0, 24, 48, 96 and 192 hours after inoculation (HAI) with *Pyrenophora tritici-repentis*. The activity of Chlorophyll A (ChlA), Chlorophyll B (ChlB), Total Chlorophylls (ChlTot), Carotenoids (Carot), Hydrogen Peroxide (H₂O₂), lipid peroxidation by malondialdehyde-MDA (TBARS), Superoxide Dismutase (SOD) and Guaiacol Peroxidase (POD), were determined in relation to the control, without the pathogen, for all the cultivars. The lowest averages of severity of tan spot and AADPC were identified in the cultivars Tbio Sossego and Tbio Audaz, with no inverse correlation observed in the increase in grain yields, indicating that the yield components are not indicators of tolerance to the tan spot. The relative tolerance levels for each cultivar are related to the decrease in the disease's AADPC. Thus, phenotypically Tbio Toruk was classified as sensitive to yellow spot for presenting greater AADPC, while the most tolerant was Tbio Sossego, in both locations. The principal component analysis (PCA) defines the difference between the cultivars Tbio Toruk and Tbio Sossego as 192 HAI, due to the stimuli accumulation after inoculation with the pathogen. The average decrease in accuracy in the classification of cultivars was greater for POD, this evaluation being responsible for 24% of the predictive model by RandomForest at 96 HAI. In the confusion matrix, classification model showed 100% of the sensitivity (SN) to the predictions of Tbio Toruk. A maximum relative expression of POD indicated for Tbio Toruk occurred as 126 HAI, with activity 386.9% higher than the control not inoculated with *Pyrenophora tritici-repentis*. Thus, the wheat cultivars were phenotyped and Tbio Toruk being a cultivar more susceptible to tan spot because demonstrated highest AADPC values. The detection of changes in enzyme responses until to 96 HAI, especially the activity of the POD enzyme, is an indicator for early detection of infection by *Pyrenophora tritici-repentis* in sensitive cultivars.

Keywords: Tan Spot. Principal Component Analysis. Enzymatic activity. Guaiacol Peroxidase.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características das cultivares a serem utilizadas no projeto.	20
Tabela 2 - Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, dos componentes de produtividade e AACPD de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> nos experimentos conduzidos em Santa Maria (SM) e Ijuí (IJ). Santa Maria, RS, 2021.	29
Tabela 3 - Efeito da inoculação de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> nos componentes de produtividade das cultivares de trigo, em Santa Maria (SM). Santa Maria, RS, 2021.	30
Tabela 4 - Efeito da inoculação de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> nos componentes de produtividade das cultivares de trigo, em Ijuí (IJ). Santa Maria, RS, 2021.	31
Tabela 5 - Determinação da AACPD pela avaliação visual de mancha amarela, em Santa Maria (SM) e Ijuí (IJ), em cultivares de trigo. Santa Maria, RS, 2021.	32
Tabela 6 - Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios com dados transformados, das avaliações por imagem RGB da severidade (%) e AACPD de mancha amarela via software Quant® em cultivares de trigo em Santa Maria. Santa Maria, RS, 2021.	33
Tabela 7 - Avaliações por imagem RGB da severidade (%) e AACPD de mancha amarela via software Quant® em cultivares de trigo em Santa Maria. Santa Maria, RS, 2021.	34
Tabela 8 - Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, da atividade relativa da resposta bioquímica das cultivares de trigo quando inoculadas com <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> . Santa Maria, RS, 2021.	36
Tabela 9 - Resposta bioquímica de quatro cultivares de trigo avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> , em relação ao controle sem inoculação. Santa Maria, RS, 2021.	38
Tabela 10 - Matriz de confusão para a predição de quatro cultivares de trigo pela RandomForest (RF) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> , em relação ao controle sem inoculação. Santa Maria, RS, 2021.	45

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Comportamento da severidade média de mancha amarela em cultivares de trigo, com e sem inoculação de *Pyrenophora tritici-repentis*, determinada por imagens em Santa Maria. Santa Maria, RS, 2021. 35
- Figura 2 - Biplot da análise dos componentes principais da resposta bioquímica relativa das cultivares de trigo avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 41
- Figura 3 - Importância das variáveis preditoras na diminuição média da acurácia classificatória das cultivares de trigo pela RandomForest (RF) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*, em relação ao controle sem inoculação. Santa Maria, RS, 2021. Fonte: Autor, 2021. 42
- Figura 4 - Teor relativo de clorofila A (ChIA) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 47
- Figura 5 - Teor relativo de clorofila B (ChIB) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 48
- Figura 6 - Teor relativo de clorofila Total (ChITot) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 49
- Figura 7 - Teor relativo de carotenoides (Carot) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 50
- Figura 8 - Teor relativo de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 51
- Figura 9 - Peroxidação lipídica relativa por malondialdeído-MDA (TBARS) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 52
- Figura 10 - Atividade relativa da enzima Superóxido Dismutase (SOD) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 53
- Figura 11 - Atividade relativa da enzima Guaiacol Peroxidase (POD) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021. 54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. FENOTIPAGEM	11
2.2. DETECÇÃO PRECOCE DE DOENÇAS	14
2.3. FISIOLOGIA DO PARASITISMO	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. CULTIVARES.....	19
3.2. PATÓGENO E INOCULAÇÃO	20
3.3. EXPERIMENTO 1:	21
3.3.1. Componentes de produtividade	23
3.3.2. Avaliações de severidade de mancha amarela	23
3.4. EXPERIMENTO 2:	25
3.4.1. Avaliações bioquímicas	26
3.4.2. Análises estatísticas	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
4.1. EXPERIMENTO 1:	29
4.2. EXPERIMENTO 2:	36
5. CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

1. INTRODUÇÃO

A alimentação mundial é dependente dos cereais, dentre eles o trigo, se destacando como categoria de alimento mais produzido mundialmente (FAO, 2020). Além do trigo (*Triticum aestivum* L.), arroz (*Oryza sativa* L.) e milho (*Zea mays* L.) são fontes de nutrientes que superaram a produção de 2,18 bilhões de toneladas em 2019 e seu alto consumo pelos seres humanos ao longo da história reflete sua relevância na dieta alimentar (RANHOTRA, 1994). Adicionalmente, o aumento e concentração da população em áreas urbanas bem como a limitação de áreas agricultáveis e aumento da demanda energética são desafios constantes para a atividade agrícola. Números recentes evidenciam que o incremento anual na produção de cereais entre o ano de 2006 e 2016 foi de aproximadamente 2%, com expansão em área cultivada inferior a 0,5% ao ano, demonstrando que o aumento da produção ocorreu através do incremento da produtividade (SHIFERAW et al., 2013).

O aprimoramento das técnicas de manejo desenvolvidas a partir da revolução verde com o uso de materiais genéticos com maior potencial produtivo, controle mais eficiente de plantas daninhas e pragas e, adoção de práticas conservacionistas do solo e d'água contribuíram fortemente no aumento da produção global sem acarretar aumento significativo da área cultivada (RAY et al., 2013). Para o trigo, a evolução da produção nos últimos 40 anos apresentou números ainda mais significativos, com acréscimo superior a 320 milhões de toneladas entre 1980 e 2019, representando um aumento de 73% na produção mundial (FAOSTAT, 2020). Todavia, a área cultivada reduziu no mesmo período, evidenciando que a adoção de tecnologias pode contribuir significativamente na produtividade e qualidade dos grãos, elevando o volume final produzido (JIA et al., 2021).

Atualmente, estimativas e levantamentos governamentais reportam uma produção anual de trigo superior a 765 milhões de toneladas, com destaque para a China e Índia como principais produtores mundiais (FAOSTAT, 2020). No continente americano, a produção de trigo é de 117 milhões de toneladas, o que representa aproximadamente 15% do total produzido mundialmente. Já o Brasil, apresenta uma produção pequena de trigo comparado a outros países, produzindo cerca de 6.183 milhões de toneladas em uma área de 2,34 milhões de hectares, encontrada principalmente nos Estados do Paraná e Rio Grande do Sul (CONAB, 2021).

As oscilações da área cultivada e produtividade são frequentes na Região Sul do Brasil, visto que a cultura é diretamente afetada pelas condições meteorológicas como amplitudes térmicas, chuvas frequentes e, ocorrência de geadas que reduzem a produtividade (CAMPONOGARA et al., 2015). Todavia, a pesquisa tem trabalhado na busca de plantas de interesse agrônomo mais adaptadas e estáveis às condições de cultivo, a fim de expressar a máxima qualidade genética e elevada produtividade, mesmo sob condições desfavoráveis (FRONZEK et al., 2018). A resistência genética de cultivares à doenças e pragas, adaptação às mudanças meteorológicas, otimização do uso da água, fertilizantes, mão-de-obra qualificada e todo o aporte de tecnologia foram fatores que contribuíram no aumento da produtividade (LENAERTS et al., 2019; SHIFERAW et al., 2013). Por outro lado, as condições de cultivo encontradas na Região Sul do Brasil são favoráveis para incidência de doenças, gerando instabilidade produtiva e menor qualidade dos grãos colhidos (REIS et al., 2001). A disponibilidade de cultivares de trigo com alto potencial produtivo exige a adoção de práticas de manejo mais criteriosas, visto que características de tolerância a estresses, por vezes, são suprimidas involuntariamente na seleção (HUNT et al., 2018; LI et al., 2020b).

Dentre as principais doenças que acometem a cultura do trigo na região temperada do país estão as ferrugens e as manchas foliares com potencial de reduzir até 80% a produção de grãos, em condições meteorológicas favoráveis (NAVARINI; BALARDIN, 2012). A *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler, forma anamórfica *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker, popularmente conhecido como o fungo causador da mancha amarela do trigo, ataca os tecidos foliares causando redução na capacidade fotossintética e conseqüentemente diminuição da produtividade. (MACLEAN et al., 2018; SANTANA et al., 2008). O estabelecimento de metodologias eficientes para detecção precoce de doenças é fundamental para o sucesso no controle de doenças de plantas (TISCHLER et al., 2018). Um diagnóstico rápido, precoce e preciso pode auxiliar no controle mais eficiente, reduzindo custos e risco ambiental (KALISCHUK et al., 2020). A avaliação visual dos níveis de danos que ocorrem na planta é considerada uma determinação indireta da injúria causada pela doença na cultura, evidenciando que a identificação precoce dos sintomas (início da infecção) permite diagnosticar com antecedência o nível de sensibilidade da planta ao patógeno. A avaliação de parâmetros do estresse oxidativo em cultivares de trigo, em resposta a infecção pela mancha amarela, pode contribuir na seleção de genótipos

superiores (CAVERZAN et al., 2016). A definição de indicadores que refletem o ataque do patógeno auxilia na tomada de decisão de manejo químico, visto que o posicionamento de fungicidas é essencial para proteção adequada dos cultivos suscetíveis (ZHOU et al., 2015).

O período entre a infecção até a ocorrência da morte celular envolve diversas alterações de processos fisiológicos como ativação da maquinaria bioquímica e dos mecanismos de defesa (LI et al., 2020c; PRASAD et al, 2020). A fenotipagem permite determinar quantitativamente ou qualitativamente o desempenho de um genótipo em um ambiente específico de maneira eficiente comparado as técnicas tradicionais de determinação, que demandam amplo consumo de recursos financeiros, tempo e mão-de-obra (SOUZA et al., 2015). Assim, a determinação dos compostos bioquímicos produzidos nas cultivares, com diferentes sensibilidades a mancha amarela, ao longo do processo de infecção, permite identificar o padrão de defesa e o entendimento do perfil fisiológico de resposta (AHMED et al., 2020; FANTOZZI et al. 2021).

Dessa forma, a pesquisa objetivou caracterizar (fenotipar) a sensibilidade de cultivares de trigo a mancha amarela, por meio de imagem, e identificar respostas bioquímicas como indicador de infecção precoce por *Pyrenophora tritici-repentis*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. FENOTIPAGEM

O trigo ocupa a maior área cultivada das lavouras do Sul do Brasil durante a estação fria do ano, tornando-se a principal região produtora com aproximadamente 90% da área cultivada do país (BRUM; HECK, 2005). A adaptabilidade das cultivares às características edafoclimáticas aliado ao conjunto de práticas de manejo são condições que possibilitaram o aumento da produtividade nos últimos anos. O cultivo do trigo na região subtropical do país possibilita o desenvolvimento pleno da cultura do trigo e as condições meteorológicas, de temperatura e umidade relativa do ar, favorecem o surgimento de doenças ao longo do ciclo da cultura, reduzindo significativamente a produtividade quando o manejo não é realizado adequadamente. (AGRIOS, 2005; FORCELINI, 2005).

Ferramentas para mitigar, viabilizar e reduzir os riscos associados a ocorrência de fungos no cultivo do trigo incluem a seleção de materiais geneticamente superiores,

tolerantes a doenças e adaptados às condições climáticas locais (CHAIRI et al., 2020). A seleção de uma característica em uma população adaptada a um determinado ambiente ou o melhoramento genético para um determinado traço desejado, requer metodologias específicas. Métodos que possuam capacidade de quantificar, direta ou indiretamente, a relação de alguma variável/parâmetro resposta como a tradução de uma vantagem competitiva do genótipo (FISCHER, 2020).

As mensurações fenotípicas em plantas cultivadas são fundamentais para caracterizar funções biológicas dos indivíduos quanto ao ganho potencial produtivo (SANTOS; YASSITEPE, 2014). No entanto, a inserção da agricultura de precisão e a popularização no uso de sensores na agricultura, trouxeram novos métodos para determinação das respostas, em especial, têm sido utilizados aspectos relacionados a identificação dos sintomas das doenças (MUTKA et al., 2016). Os tradicionais métodos visuais estão sendo substituídos gradativamente por sensores baseados em imagens digitais com padrões RGB (*red, green e blue* – sistema visual humano tridimensional), sensores de imagens espectrais, sensores térmicos, sensores de captura da fluorescência e construção de imagens multidimensionais (MANAVALAN, 2020). Essas ferramentas são capazes de avaliar os sintomas causados por doenças, estimar o acúmulo da biomassa vegetal e monitorar modificações na arquitetura de plantas em diversas situações (FERNANDEZ-GALLEGO, 2019; MAHLEIN, 2016; MUTKA; BART, 2015).

A fenotipagem, como ferramenta, é baseada na interação entre o genótipo, o fenótipo e o ambiente e tem sido uma prática que busca substituir as técnicas tradicionais de mensuração que, apesar de serem simples e fáceis de realizar, demandam tempo, recursos financeiros e mão-de-obra (LI et al, 2020a; SOUZA et al., 2015). A fenotipagem consiste em determinar valores quantitativos ou qualitativos de variáveis em estudo e relacionar essas mensurações ao desempenho de um genótipo em um ambiente específico (DHONDT et al., 2013). Assim, o fenótipo de um indivíduo é resultado do somatório da expressão genética a partir de estímulos gerados pelo meio em que se encontra, podendo ser dinâmico e condicional. As respostas do indivíduo são complexas pelo conjunto de sinais endógenos e exógenos que interferem ao longo do desenvolvimento (COBB et al., 2013).

A pesquisa tem evoluído na fenotipagem de larga escala, como um complemento natural aos avanços ocorridos na genômica. No entanto, o desenvolvimento genético cresceu e se desenvolveu rapidamente com avanços em

precisão e velocidade na obtenção de respostas, nem sempre acompanhados pela fenotipagem, tornando-se um gargalo ao melhoramento genético e biotecnologia (SADRAS et al., 2013). Na área da fitopatologia não é diferente, na qual vários pesquisadores têm utilizado a fenotipagem em suas pesquisas como ferramenta capaz de detectar respostas precisas, rápidas e precoces, possibilitando a predição do desempenho das cultivares sob interferência das doenças (FEUSSNER; POLLE, 2015; MAHLEIN, 2016; SOUZA, 2014).

Na cultura do trigo, fenotipagem foi empregada com sucesso na seleção e melhoramento genético (BAI et al., 2016; MUJEEB-KAZI et al., 2019; WATRY et al., 2020), na tolerância a seca e altas temperaturas (AHMED et al., 2020; GUIMARÃES et al., 2010; NAGY et al., 2018; THISTLETHWAITE et al., 2020), e avaliação de critérios morfológicos ligados ao desempenho produtivo (CHAERLE et al., 2004; 2007a; CHEN et al., 2019; CSÉFALVAY et al., 2009; DAMM et al., 2014; KIPP et al., 2014; PIÑERA-CHAVEZ et al., 2020; SANKARAN et al., 2015). Técnicas de predição de potencial produtivo por meio de sensoriamento remoto têm sido constantemente aprimoradas (MOGHIMI et al., 2020; PÉREZ-RUIZ et al., 2020; REZZOUK et al., 2019; SCHWALBERT et al. 2020). Na área da fitopatologia, a fenotipagem foi utilizada na detecção precoce e diagnose de doenças do trigo (JOHANNES et al., 2017; SHI et al., 2017), estudos de populações quanto a resistência a *Magnaporthe oryzae* (CAMILOTTI et al., 2017; FERREIRA et al., 2016), detecção de *Blumeria graminis* (CAO et al., 2013; ZHANG et al., 2012), identificação de *Puccinia striiformis* (HUANG et al., 2007), disseminação de *Puccinia triticina* (AZADBAKHT et al., 2019; RATERIA et al., 2019) além de ser usada como uma ferramenta para avaliar estratégias de manejo (PIRES et al., 2014). Em outras culturas comerciais, a fenotipagem foi usada na identificação de *Raffaelea lauricola* em abacateiro (ABDULRIDHA et al., 2019), identificação e classificação de doenças em citros (IQBAL et al., 2018), detecção precoce dos sintomas de *Tobacco mosaic virus* (CHAERLE et al., 2007b) e na ampla identificação de doenças em espécies agrícolas (FERENTINOS, 2018). Todavia, metodologias de fenotipagem buscando detectar os sintomas iniciais causados por *Pyrenophora tritici-repentis* na cultura do trigo ainda não são reportados na literatura, podendo servir de modelo para a adoção das estratégias de manejo.

2.2. DETECÇÃO PRECOCE DE DOENÇAS

As cultivares de trigo utilizadas nacionalmente, são resultado de grandes investimentos em pesquisa ao longo do tempo, visando materiais genéticos com alta produtividade de grãos e estabilidade produtiva sob as condições do ambiente. O aprimoramento das características produtivas e sanitárias nos genótipos proporcionam soberania e segurança alimentar. A maior produção de grãos e a estabilidade no cultivo frente as variações **do meio, são** resultados da ausência de pragas epidêmicas como a ferrugem do colmo, que afetou fortemente a triticultura gaúcha no início do século XIX (BACALTCHUK et al., 2006). Atualmente, as principais doenças da cultura do trigo na região Sul do Brasil são oídio (*Blumeria graminis* f.sp.*tritici*), giberela (*Gibberella zeae*), ferrugem da folha (*Puccinia recondita* f.sp.*tritici*), brusone (*Pyricularia grisea*) e manchas foliares como mancha amarela (*Pyrenophora tritici-repentis*), mancha marrom (*Bipolaris sorokiniana*) e mancha das glumas (*Stagonospora nodorum*) (REIS; CASA, 2007).

A mancha amarela infecta as plantas em condições de temperatura entre 18 e 28°C, desde que haja molhamento foliar superior a 30 horas (BACALTCHUK et al., 2006; SANTANA; FRIESEN, 2007). Condições essas comumente encontradas ao longo da região produtora, exigindo a intervenção sanitária com métodos integrados de controle, desde a escolha das cultivares. Os métodos de controle visam minimizar a ocorrência da infecção ou reduzir a evolução dos danos, o que depende de alguns fatores relacionados e permite caracterizar as cultivares conforme sua tolerância a infecção (BEDENDO; AMORIN, 2011). A redução da produtividade causada pela mancha amarela pode variar de 20 até a 75%, a partir de pequenas lesões foliares até o surgimento de severas epidemias resultam em perdas abruptas e significativas do potencial fotossintetizante dos tecidos foliares (JULIANA et al., 2017; MACLEAN et al., 2018), reduzindo a produtividade final (GAJU et al., 2014).

A característica biológica do fungo *Pyrenophora tritici-repentis* em sobreviver na palhada (patógeno necrotrófico) permite a permanência do inóculo nas áreas cultivadas de uma safra para outra (SANTANA; FRIESEN, 2007). O sistema de semeadura direta sob a palha preconiza a manutenção dos restos culturais sobre o solo de um ciclo para o outro, favorecendo a sobrevivência do inóculo (FORCELINI, 2005; SUMMERELL; BURGESS, 1989). Em países europeus como a Dinamarca, a mancha amarela é uma das principais doenças do trigo semeado sob restos culturais

e sem revolvimento do solo (JØRGENSEN; OLSEN, 2007). O conhecimento do ciclo de vida da doença permitiu a adoção de outras práticas de manejo como a rotação de culturas, que é um método de controle que visa quebrar o ciclo da doença e reduzir a fonte de inóculo inicial, preconizando evitar o cultivo de trigo em anos subsequentes (REIS; CASA, 2005).

Além das práticas culturais, as condições meteorológicas estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento do patossistema, especialmente em períodos com altos volumes pluviométricos, permitindo a emergência dos ascósporos e infecção dos tecidos vegetais (SANTANA, 2009). Períodos chuvosos ainda tendem a dificultar a mecanização agrícola e as operações de campo como a pulverização de fungicidas para manejo químico de doenças (PRESTES et al., 2002). A utilização de fungicidas como ferramenta de manejo é essencial e indispensável para a manutenção da sanidade dos cultivos, protegendo a área foliar fotossinteticamente ativa e a produtividade de grãos (JØRGENSEN; OLSEN, 2007; SCHIERENBECK et al., 2019).

A eficácia das estratégias de controle e a magnitude dos danos causados pelas doenças são dependentes da suscetibilidade da cultivar, agressividade do patógeno, estágio de desenvolvimento da planta no momento da infecção e das condições ambientais do período (BARROS et al., 2006; PERIPOLLI et al., 2018). Assim, a manutenção da interação patógeno-hospedeiro abaixo do limiar de dano econômico exige práticas integradas de controle como o uso de cultivares resistentes e controle químico (TORMEN et al., 2013). A resistência genética é uma das ferramentas de controle mais eficientes, mas pode perder suas características de rusticidade em poucas safras sob elevada pressão de seleção pela característica do patógeno (MACIEL; DANELLI, 2018). A sustentabilidade e longevidade dos sistemas produtivos dependem da interação dos métodos de controle, desde que possam serem utilizados individualmente de forma eficiente.

Em nível de campo, a determinação do momento correto para iniciar a proteção das plantas com fungicidas é essencial para garantir a eficiência do controle químico das doenças foliares em trigo (PANISSON, 2003). A detecção precoce dos sintomas causados por uma doença nos tecidos vegetais são o ponto-chave na determinação do momento exato para iniciar a aplicação de fungicidas (SCHIERENBECK et al., 2019), bem como possibilita quantificar o potencial de dano do patossistema com base nas alterações bioquímicas e estruturais (DEBONA; RODRIGUES, 2018). Segundo

Tischler et al. (2018) e Wang et al. (2014), entende-se como precoce a identificação de alterações induzidas na fotossíntese, respiração e translocação de água e nutrientes, antes de serem detectáveis visualmente. A interferência no metabolismo fisiológico celular ocorre já nos estágios iniciais da infecção podendo ser detectada por técnicas não invasivas que determinam a condição de sanidade da planta (BRAVO et al., 2003).

A taxa de infecção é dependente de fatores envolvidos na interação entre patógeno-hospedeiro e condições do ambiente. O inóculo inicial e a taxa de infecção são os principais parâmetros para determinar a velocidade de desenvolvimento de uma doença, desde seus primeiros sintomas até a morte celular, caracterizada pela degradação de compostos estruturais durante a multiplicação do patógeno (VANDERPLANK, 1963). Assim, quanto mais um patógeno for capaz de colonizar às plantas e mais suscetível for o hospedeiro sob condições ambientais favoráveis de luz, umidade e temperatura, mais inclinada será a curva de progresso da doença no tempo (VALE; ZAMBOLIM, 2005). O ponto de começo de qualquer epidemia é o inóculo inicial, sendo a exclusão uma ferramenta de controle. A infecção somente ocorre quando o inóculo inicial for capaz de causar doença e a velocidade da curva de progresso dependerá da quantidade de propágulos, por consequência, determinando os danos aos hospedeiros (BALARDIN, 2006).

A curva de progresso de uma doença pode ser expressa matematicamente por meio de modelagem do crescimento, seguindo padrões específicos em função do patossistema (KRANZ, 1990). As equações do tipo exponencial, monomolecular, logístico, logaritmo-logístico, gompertz e a AACPD (área abaixo da curva de progresso da doença) são amplamente utilizadas para demonstrar a evolução da doença em plantas cultivadas (AMORIM et al., 2018). O ajustamento da curva de progresso da doença ao modelo possibilita transcrever os dados biológicos em modelos matemáticos utilizados em epidemiologia comparativa. O conhecimento do comportamento epidemiológico da doença serve como parâmetro para realizar o manejo integrado de doenças quando esta atingir o limiar de dano econômico, aumentando a eficiência do controle e reduzindo custos (REIS; CASA, 2005). Dessa forma, a detecção precoce é uma ferramenta funcional quando os métodos de exclusão não são suficientes. A possibilidade de tomar uma decisão rápida, agindo no controle ou erradicação, reduz a evolução da doença em tempo hábil e otimiza o uso de fungicidas específicos (TISCHLER et al., 2018).

2.3. FISILOGIA DO PARASITISMO

Os patógenos que atacam vegetais pertencem ao mesmo grupo de organismos que causam doenças em animais e humanos, sobrevivendo e se multiplicando em hospedeiros às custas de energia vital para seu pleno desenvolvimento (TENLLADO; CANTO, 2020). A interação com microrganismos é fundamental para a manutenção da sustentabilidade das espécies em seus níveis tróficos, por meio da troca de compostos ou nutrientes, podendo ocorrer pelo comensalismo, mutualismo, simbiose, ou ainda, pelo parasitismo que se caracteriza por ser uma interferência negativa ao hospedeiro ocasionando a patogênese (NEWTON et al., 2010). Na maioria das doenças que ocorrem em plantas, os danos causados tendem a ser superiores ao efeito da injúria direta do parasita, pois a remoção de nutrientes e água é relativamente pequena (MEDEIROS et al., 2003). Os tecidos vegetais afetados pela ação de substâncias secretadas pelos patógenos ou as respostas produzidas pelo próprio hospedeiro quando atacado afetam significativamente os processos fisiológicos celulares como translocação de água e nutrientes, taxas respiratórias, fotossíntese, permeabilidade da membrana e transcrição gênica para proteínas (AGRIOS, 2005; QI et al., 2019).

O termo patogenicidade tem sido usado para descrever a capacidade de um microrganismo (parasita) interferir em uma ou mais funções essenciais da planta para sobrevivência e reprodução e, conseqüentemente, causar a doença (AMORIM et al., 2018). Nesse sentido, a patogenicidade nem sempre pode ser considerada resultado do parasitismo completo. Alguns organismos fitopatogênicos como vírus, nematoides e, alguns fungos biotróficos, obrigatoriamente necessitam de um hospedeiro vivo para se manterem viáveis e são classificados como parasitas obrigatórios (TANG et al., 2018). Já, a maioria dos fungos e bactérias, podem sobreviver tanto em tecidos vivos como também em hospedeiros mortos, sendo chamados de parasitas não obrigatórios ou necrotróficos (SANTANA, 2009).

A mancha amarela causada por *Pyrenophora tritici-repentis*, por ser um fungo necrotrófico, seus ascósporos advêm de restos culturais antecedentes e infectam as folhas de trigo em temperaturas de 25°C e na presença de água livre para germinação (DORNELES et al., 2017). Um ciclo completo da mancha amarela é de 14 dias, entre a penetração da hifa até a produção de conídios, estes já dando início ao ciclo secundário a partir da forma anamórfica *Drechslera tritici-repentis* (SANTANA et al.,

2008). Os sucessivos ciclos aumentam exponencialmente a quantidade de inóculo disponível para serem dispersos e seguem colonizando os tecidos saudáveis das plantas. Os meios mais utilizados pelos microrganismos para atacar as estruturas externas do seu hospedeiro, com o objetivo de romper a parede celular e iniciar a colonização do protoplasto, são o processo mecânico, pela penetração física, ou o processo químico, por meio de secreções de enzimas, toxinas, polissacarídeos e hormônios reguladores de crescimento (PASCHOLATI, 2011).

Os esporos da mancha amarela germinam e usam o apressório como estrutura de penetração física, posteriormente colonizando de forma latente o mesófilo foliar com suas hifas. Os compostos orgânicos são adquiridos a partir de estruturas específicas dos patógeno somente após ultrapassar a barreira imposta pela parede celular, composta por celulose, hemicelulose e pectina, e revestidas por cutina e camadas cerosas (PASCHOLATI et al., 2008). A visualização dos danos na superfície foliar é produto do colapso das células pela reprodução do patógeno ou induzidas bioquimicamente a se defender durante a incubação da doença (VALE; ZAMBOLIM, 2005).

A defesa e a resistência compreendem o método genético de proteção das plantas aos patótipos, resultado de processos fisiológicos que alteram componentes estruturais ou bioquímicos quando estimulados (KANG et al., 2020). A fim de reduzir a taxa de progresso da doença pode haver a indução de defesa, por elicitores não específicos, ou a resistência genética ao patógeno por elicitores específicos (CAVALCANTI et al., 2005). Cada patógeno possui um elicitor específico que, ao reagir com receptores celulares compatíveis no hospedeiro, desencadeiam processos fisiológicos de sinalização química e produção de respostas. Esse processo foi apresentado pela teoria de Flor (1942; 1971), o qual determinou que cada gene capaz de condicionar a resistência no hospedeiro (gene R) apresenta um gene complementar que ocasiona a virulência no patógeno (gene avr) (AGRIOS, 2005).

Após a infecção, o desencadeamento das reações de defesa em rotas celulares causa gasto energético (ATP - Adenosina trifosfato) para produção de compostos especificamente induzidos ou produtos simples oriundo das rotas metabólicas essenciais, conhecidos como compostos secundários (DORNELES et al., 2017). As espécies reativas de oxigênio (EROs) oriundas do metabolismo intermediário com o oxigênio, são frequentemente relacionadas com a interação patógeno-hospedeiro, indicando a resposta de defesa induzida pela infecção (OMARA

et al., 2019). A presença de superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singleto (1O_2), os radicais hidroxiperoxila (HO_2^\bullet) e hidroxila (HO^\bullet) e recentemente o óxido nítrico (NO), se relacionam diretamente com o processo da infecção de patógenos (FOLEY et al., 2016; LEHMANN et al., 2015).

Embora as EROs sejam produzidas normalmente no interior das células vegetais como resultado de processos de transferência de elétrons, como a fotossíntese e a respiração, os estresses de natureza abiótica e biótica induzem sua produção (MITTLER et al., 2004). A tolerância a esses agentes estressantes pode contribuir como mecanismos regulatórios do acúmulo ou detoxificação metabólica (DEBONA; RODRIGUES, 2018). As células eliminam as EROs por meio da atividade de enzimas do complexo antioxidante (SHEN et al., 2018). Enzimas como superóxido dismutase (SOD) e catalase são os componentes mais abundantes para neutralização dos danos das moléculas reativas, transformando o radical superóxido em H_2O_2 , e este posteriormente convertido em água (LI et al., 2019).

O equilíbrio entre a geração e a eliminação de EROs nas organelas subcelulares, é fundamental para manter suas concentrações em níveis baixos, pois sua acumulação pode comprometer o crescimento e o desenvolvimento da planta devido os danos em proteínas, ácidos nucléicos e membrana plasmática (CAVERZAN et al., 2016). A acumulação rápida de EROs em resposta a estresses bióticos, desregulam o balanço antioxidante e induzem reações de defesa da planta, comum em processos de infecção de plantas de trigo por *Puccinia triticina* (WANG et al., 2020), *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (LI et al., 2019), *Bipolaris sorokiniana* (PITTNER et al., 2019), *Puccinia striiformis* f. sp. *Triticum* (YIN et al., 2016), *Fusarium spp.* (KHALEDI et al., 2016) e *Rhizoctonia solani* (FOLEY et al., 2016). As espécies reativas acumuladas após a infecção da mancha amarela em trigo não estão totalmente elucidadas, nem tampouco, os mecanismos pelo qual ocorre a detoxificação no interior das células vegetais após o início da interação *Pyrenophora tritici-repentis*-*Triticum aestivum*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CULTIVARES

As cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.), escolhidas para a pesquisa, foram selecionadas dentre as mais comumente utilizadas em lavouras comerciais, devido seu elevado potencial produtivo de grãos e frequência de uso pelos produtores rurais da região. Ainda, foram separadas conforme suas características pré-estabelecidas de reação a sensibilidade aos sintomas da mancha amarela visando obter uma amplitude de reações entre as selecionadas. Assim, foram utilizados quatro materiais com diferentes níveis de reação a infecção e evolução dos sintomas sendo eles Tbio Toruk, Tbio Sinuelo, Tbio Audaz e Tbio Sossego, em ordem crescente de tolerância (Tabela 1).

Tabela 1 - Características das cultivares a serem utilizadas no projeto.

Cultivares	*Ciclo	Classe	**Reação	Cruzamento
Tbio Toruk	M	Pão	MS	Mirante/IBIO 0901//Quartzo
Tbio Sinuelo	M/T	Pão	MR/MS	Quartzo/3/Fundacep 30/Ônix//Pampeano/4/Quartzo
Tbio Audaz	P	Melhorador	MR	TBIO Toruk/Celebra
Tbio Sossego	M	Pão	MR/R	BIO 08400 'S'/Quartzo/Quartzo

*Ciclo: M=Médio, T=Tardio e P=Precoce; **Reação à mancha amarela do trigo: MS= moderadamente suscetível, MR= moderadamente resistente e R=resistente.

Fonte: Biotrigo (2019).

3.2. PATÓGENO E INOCULAÇÃO

As plantas de trigo foram inoculadas com **ascósporos** de *Pyrenophora tritici-repentis* cultivados em meio de cultura no Laboratório de Fitopatologia da EMBRAPA Trigo em Passo Fundo - RS. Os esporos do fungo foram obtidos da cepa C4/08-3, isolado oriundo de cultivos locais de trigo. A reprodução do inóculo ocorreu pelo seu cultivo em placas de petri em meio de cultura V8 BDA (Suco V8 [marca comercial Campbell] + Batata-dextrose-ágar). O preparo do meio de cultura foi realizado a partir do cozimento da batata em micro-ondas em uma fração da água destilada por aproximadamente 10 minutos, o extrato foi filtrado, aferido para um 1 litro e posteriormente o ágar e a dextrose foram fundidos. O suco V8 foi adicionado ao meio de cultura, sendo acondicionados em um Erlenmeyer e autoclavados para

esterilização. O meio de cultura aquecido foi vasado para placas de petri e iniciado o cultivo por 7 dias em temperatura constante de 25° C, com períodos intermitentes de fornecimento de luz. Os esporos produzidos pelo patógeno foram posteriormente suspensos em água.

Conforme metodologia descrita por Santana et al. (2008), os esporos em solução foram quantificados e posteriormente realizada a diluição até atingir a concentração de 3000 esporos ml⁻¹ de água. Os esporos suspensos em água foram separados em borrifadores manuais e acondicionados em caixas de isopor até o momento da inoculação das plantas. A pulverização nos respectivos tratamentos, por meio do borrifador manual, ocorreu a partir das 18 horas visando aproveitar as condições ambientais de baixa luminosidade e temperatura amena, mantendo por maior tempo a viabilidade do inóculo e a taxa de infecção. As plantas foram inoculadas quando atingiram o estágio fenológico de perfilhamento, conforme a escala Feekes e Large (LARGE, 1954), aproximadamente aos 20 dias após a emergência das plântulas. No ensaio em casa de vegetação, as plantas continuaram sendo borrifadas com água por uma hora após a inoculação para manter o molhamento foliar elevado, condição esta que predispõe a infecção do fungo.

3.3. EXPERIMENTO 1:

Fenotipagem de cultivares de trigo quanto a sensibilidade à mancha amarela em dois locais no RS

Foram instalados experimentos em dois locais. O primeiro foi instalado em Santa Maria, na área experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, situado a 29°43'05.1" de latitude Sul, 53°44'01.8" de longitude Oeste e 117 m de altitude. O solo da região é classificado como Argissolo Vermelho Distrófico Arênico (EMBRAPA, 2013) ou *Ultisol* (USDA, 2014), textura média (20 a 55% de argila), friável e drenado. A classificação climática da região é do tipo Cfa sendo subtropical úmido com verões quentes e sem estação seca definida (TAPIADOR et al., 2019). A precipitação média anual é de 1712,4 mm, distribuída uniformemente nas estações e a temperatura média do ar para o mês mais quente é de 24,7°C (HELDWEIN et al., 2009).

O segundo experimento foi conduzido no município de Ijuí, em propriedade rural na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul, situada na latitude de 28°27' 55,5" Sul e longitude de 53°57' 33,6" Oeste e 280 metros de altitude. O solo é o Latossolo Vermelho Distroférrico Típico (EMBRAPA, 2013) ou *oxisol* (USDA, 2014), textura argilosa (>55% de argila), profundo e bem drenado, com predomínio de terreno plano com ondulações suaves. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima da região se enquadra na descrição de Cfa (subtropical úmido) (TAPIADOR et al., 2019). Os verões são quentes e sem ocorrência de estiagens prolongadas. Os meses mais quentes do ano são os de janeiro e fevereiro, com temperaturas do ar superiores a 22° C. No que se refere à pluviosidade, são registrados, anualmente, volumes próximos a 1600 mm, sendo mais concentrados na estação fria do ano (PEREIRA et al., 2012).

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso sendo este um bifatorial (4 x 2) com quatro repetições. O fator A foram as cultivares em estudo (Tabela 1) e o fator B a inoculação do patógeno. Os tratamentos foram compostos pelos níveis do fator A, as cultivares Tbio Toruk, Tbio Sinuelo, Tbio Audaz e Tbio Sossego, para todas as combinações com o fator B, em que receberam ou não, a inoculação com o patógeno *Pyrenophora tritici-repentis*. As unidades experimentais foram compostas por parcelas de campo medindo 2 metros de largura e 7,75 metros de comprimento com a semeadura de 10 fileiras de trigo espaçadas entre si por 0,2 metros, na área de Santa Maria e espaçadas entre si por 0,17 metros em Ijuí. A semeadura ocorreu nos dias 10/06/2019 e 14/06/2019, em Santa Maria e Ijuí, respectivamente. A semeadura foi realizada por semeadora-adubadora Imasa PHS 125 para plantio direto com distribuição de 300 sementes viáveis metro⁻² (60 sementes e 50 sementes metro linear⁻¹, respectivamente). A adubação de base utilizada foi de 220 kg ha⁻¹ de fertilizante NPK (nitrogênio/fósforo/potássio) na formulação de 10-50-70, a partir de mistura das matérias-primas ureia, superfosfato triplo e cloreto de potássio.

No início do alongamento, conforme estágio fenológico da escala Feekes e Large (LARGE, 1954), foi realizada adubação nitrogenada em cobertura com uma aplicação de ureia (NPK 45-00-00) na dose de 120 kg ha⁻¹. A inoculação com os ascósporos do fungo *Pyrenophora tritici-repentis* ocorreu no dia 11/07/2019 no experimento em Ijuí e no dia 12/07/2019 em Santa Maria. Ambas as áreas haviam sido cultivadas com a sucessão aveia preta-soja na safra anterior, ocorrendo a rotação

de culturas e ausência de resíduos culturais de trigo, evitando o fornecimento de inóculo voluntário de mancha amarela. Os demais tratamentos culturais seguiram as recomendações da 12ª Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (2018), ocorrendo o manejo fitossanitário para controle de plantas daninhas e pragas com pulverizações periódicas, conforme necessidade identificada em cada local, não sendo realizado nenhum manejo de doenças foliares com fungicidas.

3.3.1. Componentes de produtividade

A produtividade do trigo foi determinada na área útil da parcela com 3,6 m² na porção central da unidade experimental, onde as plantas foram colhidas e trilhadas em equipamento estacionário. Após a limpeza manual, por um conjunto de peneiras, foi realizada a determinação da massa dos grãos em balança analítica e posteriormente a umidade foi corrigida ao teor de 13%, com valores finais convertidos em kg ha⁻¹. A massa por hectolitro (PH) foi determinada com os grãos obtidos da amostra colhida pelo equipamento Gehaka G650i, corrigindo os valores ao teor de 13% de umidade (SISTEMA OCEPAR, 2012). Ainda, no experimento em Ijuí foi determinado a massa de mil grãos (MMG) por meio de contagem manual de 300 unidades e determinação da massa com balança analítica de 0,05g de precisão para, posteriormente, extrapolar o valor obtido em unidade de g mil⁻¹ sementes.

3.3.2. Avaliações de severidade de mancha amarela

As avaliações para quantificação dos danos ocasionados pela mancha amarela nas folhas das cultivares foram realizadas pela avaliação da severidade visual e da severidade determinada via imagem RGB. Conforme definição de Amorim et al (2018), severidade é definida como a área ou volume do tecido que é coberto com os sintomas da doença. Assim, o método utilizado foi a quantificação visual dos danos na área foliar ocasionada pela doença, sendo baseada na escala diagramática de doenças foliares de cereais adaptada de James (1971). As quantificações nos experimentos foram realizadas a cada 7 dias a partir da inoculação com o patógeno, permitindo a determinação da evolução da porcentagem de área foliar com sintomas de mancha amarela no tempo. A avaliação visual das folhas, na área útil da parcela, foi realizada no terço inferior das plantas até 42 dias após a inoculação (DAI), sendo avaliadas

sempre folhas pertencentes ao mesmo extrato. A escolha das folhas foi pelo fato de terem recebido inoculação e estarem posicionadas em um microclima propício ao desenvolvimento da doença, desconsiderando folhas recentemente emitidas.

A quantificação de severidade por meio de imagem RGB foi realizada por meio de coleta de 40 folhas do terço inferior das plantas (folhas bandeira -3). A cada 7 dias a partir da inoculação com o patógeno, foram coletadas no ensaio conduzido em Santa Maria folhas para posteriormente ser realizada a captura de fotografias. Após removidas da planta, grupos de 10 unidades foram dispostas sobre uma plataforma de vácuo que permitiu fixar temporariamente os limbos foliares para a tomada da imagem proximal. As folhas foram fotografadas por meio de câmera ótica digital de 13 megapixel, com resolução máxima de 4160 x 3120 pixel, possuindo estabilizador digital automático.

As fotografias foram tratadas no software Quant® (LIBERATO, 2003) para determinação da porcentagem de área foliar com lesões de mancha amarela. As imagens originais foram submetidas a operações sequenciais de divisão entre os canais de cor, para realçar as diferenças e quantificar a área foliar lesionada em relação ao tamanho do limbo foliar total (porcentagem de severidade). A operação de divisão entre o canal G (green) pelo B (blue), reduziu substancialmente o total de combinações de cores RGB de cada imagem original. Após a divisão dos canais, o processamento ocorreu pela redução automática do número de cores para 20 classes, sendo definido pelo próprio software por similaridade. Por meio de seleção manual, foi reduzido a 3 cores diferenciando os extratos fundo, limbo foliar sadio e área foliar lesionada. Ao término do processamento são apresentadas as áreas das três cores, sendo o resultado fornecido em pixel, em cm² e em %, sendo este utilizado como o valor de severidade da amostra pela área foliar lesionada.

A partir das avaliações de severidade por ambos os métodos, visual e imagem RGB, foi possível determinar a Área Abaixo da Curva de Progresso de Doença (AACPD). A AACPD consiste em determinar a curva de evolução dos sintomas da doença em relação ao tempo, como resultado dos efeitos do hospedeiro, patógeno e ambiente, interagindo entre si (CAMPBELL; MADDEN, 1990). Os valores da severidade foram submetidos à Equação 1, a qual foi calculada por integração trapezoidal dos dados.

$$AACPD = \sum_i^{n-1} [(x_i + x(i+1)) * 0,5] * [t(i+1) - t_i] \quad (1)$$

Para o cálculo da AACPD, n é o número de avaliações, x_i e $x_{(i+1)}$ são os valores da severidade da doença em duas avaliações consecutivas e o tempo em dias t_i e $t_{(i+1)}$ são o intervalo entre duas avaliações consecutivas da severidade da doença. Os valores de i foram 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias após a inoculação (DAI). A curva de progresso da doença expressa pela plotagem da proporção de doença no tempo indica a intensidade de mancha amarela acumulada e, comparativamente, a porcentagem de controle dos tratamentos testados (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996).

Os resultados obtidos nos experimentos foram submetidos a análise de variância (ANOVA) pelo teste de F para o nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e, em caso de significância, as médias dos tratamentos foram submetidas a comparação pelo teste complementar de Scott-Knott com intervalo de confiança de $p < 0,05$. Os dados foram armazenados em planilhas eletrônicas e submetidos aos testes estatísticos por meio do software Rbio® (BHERING, 2017).

3.4. EXPERIMENTO 2:

Avaliação do efeito fisiológico da infecção de *Pyrenophora tritici-repentis* em cultivares de trigo

O experimento foi conduzido em vasos plásticos de 700 mL em casa de vegetação na cidade de Santa Maria, na área experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, situado a 29°43'04.3" de latitude Sul, 53°44'02.13" de longitude Oeste e 120 m de altitude. O cultivo protegido permitiu o controle de temperatura, molhamento foliar e irrigação por gotejamento das unidades experimentais, sendo que cada recipiente plástico compôs uma repetição. O substrato utilizado nas unidades experimentais foi composto 1/3 de areia lavada e peneirada e por 2/3 de solo fértil da camada arável oriundo de lavouras comerciais da região, sendo este classificado como Argissolo Vermelho Distrófico Arênico (EMBRAPA, 2013) ou *Ultisol* (USDA, 2014), de textura média (20 a 55% de argila), friável e drenado.

As unidades experimentais foram semeadas no dia 29/08/2019 com 30 sementes viáveis e, após a emergência, foi realizado o desbaste uniformizando cada vaso com 20 plântulas normais. A condução do experimento seguiu a disposição

aleatória dos vasos no interior da casa de vegetação e devido a isso considerou-se o delineamento inteiramente casualizado. A pesquisa seguiu um esquema fatorial triplo (AxBxC) com 4 repetições para todas as combinações. Os tratamentos foram compostos pelos níveis do fator A, cultivares de trigo Tbio Toruk, Tbio Sinuelo, Tbio Audaz e Tbio Sossego, para as combinações com o fator B em dois níveis, com e sem a inoculação com o patógeno *Pyrenophora tritici-repentis*. O fator C se refere ao momento em que foram realizadas as avaliações das plantas, sendo estas realizadas em 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI). Para o tempo 0 (Zero) HAI, foi adicionado tratamento adicional em cada cultivar com 4 repetições para determinação do controle no momento da inoculação. As plantas foram inoculadas com o fungo no estágio fenológico de perfilhamento, conforme a escala Feekes e Large (LARGE, 1954).

3.4.1. Avaliações bioquímicas

As avaliações fisiológicas dos pigmentos fotossintetizantes e da atividade do complexo antioxidante foram realizadas por meio de avaliação destrutiva das plantas de cada unidade experimental nos tempos 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI). O material fresco de folhas foi removido de todas as plantas e congelado imediatamente em nitrogênio líquido (-180° C) para posteriormente serem realizados os procedimentos laboratoriais específicos de cada análise. Foram determinadas as concentrações de pigmentos fotossintetizantes como clorofila A, clorofila B e clorofilas totais, além dos carotenoides. Os pigmentos foram determinados a partir de metodologia descrita por Hiscox e Israelstam (1979) e quantificado pela equação de Lichtenthaler (1987) em mg g⁻¹ massa fresca. Após a coleta e armazenamento em ultrafreezer (-80°C), 50 mg de massa fresca do tecido vegetal de cada amostra (folhas) foram incubados em 5 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) por 45 minutos a 65 °C para remoção total dos pigmentos. Após este período, 4 mL do líquido sobrenadante foi pipetado em tubos de vidro (2 mL para cada replicata) e os valores de absorbância determinados em espectrofotômetro (Bel Photonics, 1105, Brasil) nos comprimentos de onda 663, 645 e 470nm, para clorofila a, b, e carotenoides, respectivamente.

A peroxidação lipídica a partir da avaliação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS - *Thiobarbituric acid reactive substances*) foi determinada a partir da quantificação do acúmulo de malondialdeído (MDA). O MDA é o produto da

peroxidação de ácidos graxos insaturados, podendo ser determinado pela reação ao ácido tiobarbitúrico (TBA) (EL-MOSHATY et al., 1993). Amostras de 0,5 g de massa fresca de tecido vegetal foram homogeneizadas em 3 mL de tampão fosfato de citrato (pH 6,5), e centrifugadas a 20.000 rpm por 15 minutos. A fração sobrenadante foi adicionada em tubos de vidro contendo TCA (ácido tricloroacético) + TBA (ácido tiobarbitúrico), e estes foram agitados e incubados a 95 °C por 40 minutos. Em seguida, as amostras foram colocadas no gelo por 15 minutos e, posteriormente, centrifugadas a 10.000 rpm por 15 minutos. A absorbância foi mensurada em espectrofotômetro (Bel Photonics, 1105, Brasil) a 532 e 600nm, com resultados expressos em nmol MDA g⁻¹ massa fresca.

O conteúdo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), oriundo do metabolismo intermediário com o oxigênio e considerado uma espécie reativa de oxigênio (ERO), foi determinado a partir de amostra com 0,3 g de massa fresca de folhas. De acordo com a metodologia descrita por Loreto e Velikova (2001), a amostra foi homogeneizada e adicionada a 3 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (M/V), para posteriormente o líquido ser centrifugado a 12.000 rpm por 15 minutos a 4 °C. Para determinação da concentração de H₂O₂ no tecido vegetal, a quantidade de 0,5 mL do sobrenadante foi adicionado em 0,5 mL de tampão fosfato de potássio (pH 7,0) com 1 mL de iodeto de potássio (KI), realizando-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro (Bel Photonics, 1105, Brazil) a 390 nm. Os valores após ajustados à curva padrão de H₂O₂ foram expressos em µmol g⁻¹ da massa fresca.

As enzimas do complexo antioxidante analisadas foram superóxido dismutase (SOD) e guaiacol peroxidase (POD). Para determinação de SOD foram utilizados 0,5 g de tecido vegetal foliar moídas com nitrogênio líquido e homogeneizados em 3 mL de tampão de fosfato de sódio 0,05 M (pH 7,8), contendo 1 mM de EDTA e 2% (M/V) de polivinilpirrolidona (PVP). Para a avaliação da atividade enzimática da SOD, uma mistura (Mix) de tampão de fosfato de potássio (pH 7,8), 13 mM de metionina, 0,1 µM EDTA, 75 µM NBT e 2 µM de riboflavina foi utilizado. Para realizar a determinação foram misturadas 300 µL de amostra e 2,5 mL de Mix, sendo realizada a incubação sobre lâmpada fluorescente (15 watts) por 5 minutos (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). Após esse procedimento, foram realizadas as leituras de absorbância em espectrofotômetro (Bel Photonics, 1105, Brazil) a 560 nm, sendo que tubos sem extrato expostos, ou não, à luz foram utilizados como controles. Os resultados foram

expressos em $U\ mg^{-1}$ proteína, unidade definida como a quantidade de enzima que inibe a fotorredução do NBT em 50% (BEAUCHAMP; FRIDOVICH, 1971).

Para a determinação da enzima guaiacol peroxidase (POD) foram utilizadas amostras com 0,5 g de tecido fresco de folhas moídas com nitrogênio líquido e homogeneizadas em 3 mL de tampão de fosfato de sódio 0,05 M (pH 7,8), contendo 1 mM de EDTA e 2% (M/V) de polyvinylpyrrolidone (PVP). A amostra homogeneizada foi centrifugada a 13.000 rpm por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante armazenado em eppendorf para determinação da atividade enzimática. A atividade da POD foi determinada em espectrofotômetro digital UV/VIS (Fentoscan) a 470 nm, conforme metodologia de Zeraik et al. (2008).

3.4.2. Análises estatísticas

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade por Shapiro-Wilk e análise de variância (ANOVA) pelo teste F para o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As médias dos tratamentos, quando significativos, foram comparadas pelo teste de Scott-Knott com intervalo de confiança de $p < 0,05$ e submetidas a análise de regressão polinomial considerando as interações encontradas entre os níveis dos fatores em cada período de avaliação. Os dados foram armazenados em planilhas eletrônicas e submetidos aos testes estatísticos por meio da interface Rbio (BHERING, 2017).

A análise dos componentes principais (PCA) foi realizada por meio das funções disponíveis nos pacotes “factominer” (LÊ et al., 2008) e “factoextra” (KASSAMBARA; MUNDT, 2019). A técnica matemática utilizada para analisar os componentes principais (PCA) visa reduzir a dimensionalidade, por meio de uma transformação ortogonal do conjunto inicial de dados. O novo conjunto de variáveis não correlacionadas, chamadas de componentes principais (PC) ou dimensões (Dim), são apresentadas na forma de biplot. O gráfico destaca duas variáveis, onde a primeira (Dim1) tem a maior variância e a Dim2 tem a segunda maior variância, sendo estas responsáveis por fornecer as principais respostas do conjunto de observações. Os efeitos dos componentes principais, para cada tempo analisado, foram preditos por classificação e regressão pela construção de múltiplas árvores de decisão com o método de RandomForest.

A construção das árvores, permutação de variáveis e matriz de confusão foram realizadas pelo uso do pacote “RandomForest” (LIAW; WIENER, 2002). A correlação

multidimensional permite categorizar o conjunto de observações e indicar a tendência das respostas pelo modelo de treinamento de árvores de decisão. Por meio da técnica de permutação de variáveis, as variáveis são classificadas pelo decréscimo médio da acurácia quando, na ausência da variável em evidência, busca prever as cultivares. Assim, a assertividade da classificação é dependente da acurácia média auferida pela variável preditora. O algoritmo treinado, para o conjunto de dados, utilizou os critérios ntree igual a 1000 (de número de árvores) e 4 variáveis experimentadas em cada divisão. Os pacotes para determinação da PCA e construção de árvores foram utilizados em ambiente de trabalho R Studio (R CORE TEAM, 2020).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. EXPERIMENTO 1:

A análise de variância do experimento 1 (Tabela 2) apresentou efeito significativo na interação bifatorial A x B (cultivares x inoculação com o patógeno) a 5% de probabilidade do erro ($p < 0,05$) para a variável produtividade de grãos em Ijuí (IJ). A redução da produtividade e a perda de qualidade dos grãos de trigo são respostas evidentes quando as plantas são submetidas a condições desfavoráveis de desenvolvimento, especialmente danos bióticos aos tecidos foliares (MATZEN et al., 2019; SERRAGO et al., 2009; 2011). No entanto, as demais variáveis como produtividade de grãos em Santa Maria (SM), massa por hectolitro nos dois locais e massa de mil grãos do local IJ, apresentaram significância apenas para o fator cultivares.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, dos componentes de produtividade e AACPD de *Pyrenophora tritici-repentis* nos experimentos conduzidos em Santa Maria (SM) e Ijuí (IJ). Santa Maria, RS, 2021.

FV	GL	PG-SM	PH-SM	PG-IJ	PH-IJ	MMG-IJ	AACPD-SM	AACPD-IJ
Blocos	3	93827 ^{ns}	5271 ^{ns}	113333 ^{ns}	6183 ^{ns}	14813 ^{ns}	11,67 ^{ns}	1,58 ^{ns}
Cultivares (A)	3	121520*	128985*	2000501*	77927*	51914*	541,62*	158,94*
Inoculação (B)	1	53832 ^{ns}	3232 ^{ns}	606112 ^{ns}	2703 ^{ns}	9282 ^{ns}	332,82*	98,00*
A x B	3	13817 ^{ns}	3266 ^{ns}	912927*	5730 ^{ns}	5934 ^{ns}	54,93*	12,56*
erro	21	121067	4152	260439	3133	13736 ^{ns}	7,90	1,15
CV %	-	11,40	3,23	15,89	2,88	4,11	19,60	14,78
Média	-	3053,38	63,13	3212,26	61,41	28,53	14,34	7,26

*significativo a 5% ($p \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; Fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV%); as variáveis explicativas: Produtividade de grãos-Santa Maria (PG-SM, Kg ha⁻¹), massa por hectolitro-Santa Maria (PH-SM, Kg hL⁻¹), Produtividade de grãos-Santa Maria (PG-SM, Kg ha⁻¹), massa por hectolitro-Santa Maria (PH-SM, Kg hL⁻¹), produtividade de grãos-Ijuí (PG-IJ, Kg ha⁻¹), massa por hectolitro-Ijuí (PH-IJ, Kg/hct), massa de mil grãos-Ijuí (MMG-IJ, g), área abaixo da curva de progresso da doença-Santa Maria (AACPD-SM), área abaixo da curva de progresso da doença-Ijuí (AACPD-IJ).

As avaliações da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), determinada a partir da avaliação semanal de severidade de mancha amarela, apresentaram interação significativa entre os efeitos dos fatores A e B em ambos os locais. Apesar de haver interação entre os fatores para avaliação de AACPD, a produtividade de grãos das cultivares não foi afetada de forma proporcional para o local SM. A cultivar Tbio Toruk apresentou a maior média com 3.513,58 kg ha⁻¹, não diferindo estatisticamente de Tbio Audaz com produtividade de 3.216,16 kg ha⁻¹ (Tabela 3). Ao observar os valores de PH no local SM, pode observar uma diferente tolerância das cultivares as condições ambientais, em especial a ocorrência de mancha amarela. A cultivar Tbio Toruk, que obteve a maior produtividade de grãos, apresentou a menor massa por hectolitro, com valores de 57,72 Kg hL⁻¹ diferindo estatisticamente das demais.

Tabela 3 - Efeito da inoculação de *Pyrenophora tritici-repentis* nos componentes de produtividade das cultivares de trigo, em Santa Maria (SM). Santa Maria, RS, 2021.

Variáveis	-----PG-SM-----			-----PH-SM-----		
	Ninoc	Inoc	Médias	Ninoc	Inoc	Médias
Sinuelo	2726,04 ^{ns}	2541,59 ^{ns}	2633,82 b	67,49 ^{ns}	65,94 ^{ns}	66,72 a
Audaz	3208,08	3224,24	3216,16 a	63,46	61,59	62,52 b
Toruk	3562,10	3465,06	3513,58 a	57,34	58,09	57,72 c
Sossego	2881,35	2818,56	2849,95 b	65,48	65,62	65,55 a
Médias	3094,39	3012,36	3053,38	63,44	62,81	63,13
CV (%)	----- 11,4-----			----- 3,23-----		

Variáveis explicativas: PG-SM (Kg ha⁻¹) - produtividade de grãos-Santa Maria; PH-SM, (Kg hL⁻¹) - massa por hectolitro-Santa Maria; *médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; CV (%) - Coeficiente de variação.

A tolerância a uma doença é a capacidade relacionada a cultivar em manter sua performance produtiva mesmo apresentando sintomas de danos pela presença do patógeno (RIOS et al., 2017). Por outro lado, a cultura do trigo é geralmente atacada por um complexo de doenças, enquanto a tolerância, se houver, é específica a algum patógeno (TSIALTAS et al., 2018). Dessa forma, pode-se verificar no local IJ que a produtividade de grãos sofreu a interferência causada pela amancha amarela

(Tabela 4), pois o efeito da inoculação com o fungo *Pyrenophora tritici-repentis* promoveu interação significativa para essa variável. A cultivar Tbio Sossego apresentou a maior PG de 3.848,11 kg ha⁻¹ quando não inoculado, não diferindo estatisticamente de Tbio Audaz. Porém, quando ocorreu a inoculação, Tbio Audaz permaneceu com as maiores médias de produtividade de grãos enquanto Tbio Sossego demonstrou redução significativa, diferindo estatisticamente entre si.

Tabela 4 - Efeito da inoculação de *Pyrenophora tritici-repentis* nos componentes de produtividade das cultivares de trigo, em Ijuí (IJ). Santa Maria, RS, 2021.

Variáveis	-----PG-IJ-----			-----PH-IJ-----			-----MMG-IJ-----		
	Cultivar	Ninoc	Inoc	Médias	Ninoc	Inoc	Médias	Ninoc	Inoc
Sinuelo	3027,57 bA	2467,84 bA	2747,71	67,52 ^{ns}	64,47 ^{ns}	66,00 a	29,16 ^{ns}	28,24 ^{ns}	28,70 a
Audaz	3799,25 aA	3953,11 aA	3876,18	59,71	59,55	59,63 b	29,61	29,52	29,57 a
Toruk	2724,60 bA	3116,58 bA	2920,59	58,86	59,66	59,26 b	28,01	28,30	28,15 b
Sossego	3848,11 aA	2760,99 bB	3304,55	60,74	60,80	60,77 b	28,02	27,37	27,70 b
Médias	3349,88	3074,63	3212,26	61,70	61,12	61,41	28,70	28,36	28,53
CV (%)	----- 15,89-----			----- 2,88-----			----- 4,11-----		

Variáveis explicativas: PG-IJ, (Kg ha⁻¹) - produtividade de grãos-Ijuí; PH-IJ, (Kg hL⁻¹)- massa por hectolitro-Ijuí; MMG-IJ, (g) - massa de mil grãos-Ijuí; *médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; CV% - Coeficiente de variação.

As altas produtividades de grãos não permitem inferir tolerância a uma referida doença, visto não haver correlação da compensação direta entre a produção e a tolerância, conforme demonstrado pelos recentes estudos de Bancal et al. (2015), Castro e Simón (2016) e Collin et al. (2018). Porém a ausência de pulverização com fungicidas nos experimentos permite interpretar que outros patossistemas, além da mancha amarela, interferiram nos componentes de produtividade avaliados. Isso explica o comportamento verificado na avaliação de MMG, realizada no local IJ, onde Tbio Sossego, apesar da maior produtividade sem inoculação, obteve a menor média com 27,70 g a cada 1000 grãos, não diferindo estatisticamente de Tbio Toruk com média de 28,15 g.

O local SM destacou-se por apresentar valores médios de AACPD superiores ao local IJ, sendo as maiores médias foram observadas na cultivar Tbio Toruk com 26,46 e 13,79, respectivamente para SM e IJ (Tabela 5). A semelhança na avaliação da massa de mil grãos entre as cultivares Tbio Sossego e Toruk, as quais apresentaram valores opostos em severidade de mancha amarela corrobora com

Collin et al. (2018) que observaram que a massa de mil grãos e produtividade final não demonstrou correlação com o grau de tolerância a *Septoria tritici*. Por outro lado, a avaliação dos sintomas da doença na destruição da área foliar apresentou efeito direto na expressão de tolerância à *Pyrenophora tritici-repentis*, em genótipos de trigo de alto rendimento (KREMNEVA et al., 2020).

Tabela 5 - Determinação da AACPD pela avaliação visual de mancha amarela, em Santa Maria (SM) e Ijuí (IJ), em cultivares de trigo. Santa Maria, RS, 2021.

Variáveis	-----AACPD-SM-----			-----AACPD-IJ-----		
	Ninoc*	Inoc*	Médias	Ninoc*	Inoc*	Médias
Sinuelo	9,70 bB	15,13 bA	12,41	4,68 bB	6,65 bA	5,66
Audaz	7,13 bA	10,09 cA	8,61	4,09 bB	7,58 bA	5,83
Toruk	19,39 aB	33,53 aA	26,46	10,28 aB	17,31 aA	13,79
Sossego	8,26 bA	11,54 cA	9,90	3,00 bA	4,50 cA	3,75
Médias	11,12	17,57	14,34	5,51	9,01	7,26
CV (%)	-----19,6-----			-----14,78-----		

Variáveis explicativas: AACPD-SM - área abaixo da curva de progresso da doença-Santa Maria; AACPD-IJ - área abaixo da curva de progresso da doença-Ijuí; *médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; CV% - Coeficiente de variação.

As menores médias de severidades de mancha amarela e consequentemente AACPD foram identificadas nas cultivares Tbio Sossego e Tbio Audaz, em ambos os locais, diferindo entre si apenas no local IJ quando inoculado (Tabela 5). No entanto, estas cultivares apresentaram também as menores médias de massa por hectolitro no local IJ, com valores de 60,77 Kg hL⁻¹ e 59,63 Kg hL⁻¹, não diferindo estatisticamente de Tbio Toruk. A avaliação de massa por hectolitro no local SM (Tabela 3), gerou divergência de tendência de resposta pois Tbio Sossego obteve 65,55 Kg hL⁻¹, significativamente superior ao valor médio de Tbio Audaz com 62,52 Kg hL⁻¹.

Assim, apesar de visualmente apresentarem menores danos causados por mancha amarela, os componentes de produtividade Tbio Audaz e Sossego responderam de forma diferente aos estímulos de cada ambiente. A resposta em cada local pode ser resultado do ataque de outras doenças como ferrugem da folha (*Puccinia recondita* f.sp. *tritici*) e oídio (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*), endêmicas no sul do Brasil conforme relatado por Forcelini (2005) e Reis; Casa (2007), favorecidas pela ausência do uso de fungicidas. Uma abordagem integrando várias medidas de

controle (rotação de culturas, nutrição mineral, época de semeadura) é fundamental, mesmo em cultivares consideradas tolerantes, sendo por fim utilizado o controle químico (MACLEAN et al., 2018).

No local SM, onde foi identificado visualmente a maior severidade de mancha amarela, foi realizada a coleta de folhas para avaliação das severidades e determinação da AACPD por meio de imagem RGB (AACPD-IM). As folhas foram coletadas e avaliadas a cada 7 dias após a inoculação (DAI) para posteriormente determinação da AACPD, sendo necessária a transformação dos dados conforme apresentada na ANOVA (Tabela 6). Os resultados demonstram que nas avaliações de 7 e 21 DAI foi observada significância a $p < 0,05$ para a avaliação de severidade em relação ao fator cultivares. As demais avaliações de severidade e a AACPD gerada a partir dessas médias não apresentaram diferenças estatisticamente significativas a 5% de probabilidade do erro.

Tabela 6 - Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios com dados transformados, das avaliações por imagem RGB da severidade (%) e AACPD de mancha amarela via software Quant® em cultivares de trigo em Santa Maria. Santa Maria, RS, 2021.

FV	GL	7DAI	14DAI ^{ns}	21DAI	28DAI ^{ns}	35DAI ^{ns}	42DAI ^{ns}	AACPD-IM ^{ns}
Cultivares (A)	3	0,310*	0,138	0,119*	0,083	0,028	0,201	0,243
Inoculação (B)	1	0,039 ^{ns}	0,100	0,122 ^{ns}	0,086	0,018	0,013	0,008
A x B	3	0,061 ^{ns}	0,119	0,050 ^{ns}	0,139	0,061	0,009	0,143
erro	72	0,059	0,097	0,044	0,087	0,124	0,145	0,125
CV %	-	57,53	40,73	19,95	28,88	32,74	28,36	12,91
Média	-	0,422	0,766	1,046	1,019	1,075	1,340	2,736

*significativo a 5% ($p \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; Fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV%); as variáveis explicativas: 7DAI (%) – severidade da doença aos 7 dias após a inoculação; 14DAI (%) – severidade da doença aos 14 dias após a inoculação; 21DAI (%) – severidade da doença aos 21 dias após a inoculação; 28DAI (%) – severidade da doença aos 28 dias após a inoculação; 35DAI (%) – severidade da doença aos 35 dias após a inoculação; 42DAI (%) – severidade da doença aos 42 dias após a inoculação; AACPD-IM (cm²) – área abaixo da curva de progresso da doença - por imagem; *médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; CV% - Coeficiente de variação; ** Transformação de dados por Raiz Quarta.

As imagens digitais são matrizes compostas por linhas e colunas, onde cada interseção desse retângulo pode ser chamada de ponto ou pixel (do inglês picture element) (ALI et al., 2019). Cada pixel contém a informação da luz refletida, naquela determinada área da imagem e a determinação da severidade via software Quant® foi realizada pela simples determinação do padrão RGB dos pixels da fotografia por técnicas de limiarização (Liberato, 2003). Os resultados de AACPD-IM no experimento

não apresentaram diferenças significativas estatisticamente. Apesar disso, a cultivar Tbio Toruk apresentou resposta semelhante a observada na avaliação visual dos locais SM e IJ, obtendo os maiores valores médios de severidade de mancha amarela quando comparada as demais cultivares avaliadas (Tabela 7). Valores médios superiores foram encontrados quando as cultivares foram inoculadas com o patógeno, exceto para a cultivar Tbio Sossego, a qual havia se mostrado mais tolerante a mancha amarela nas avaliações visuais.

Tabela 7- Avaliações por imagem RGB da severidade (%) e AACPD de mancha amarela via software Quant® em cultivares de trigo em Santa Maria. Santa Maria, RS, 2021.

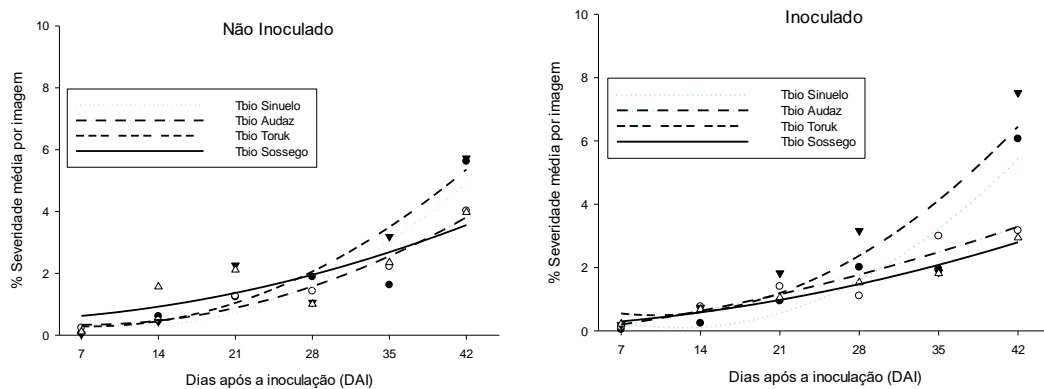
Variáveis	7DAI*	14DAI ^{ns}	21DAI*	28DAI ^{ns}	35DAI ^{ns}	42DAI ^{ns}	AACPD-IM ^{ns}
Cultivar	-----Não Inoculado-----						
Sinuelo	0,07	0,61	1,23 b	1,88	1,62	5,62	59,2
Audaz	0,24	0,47	1,26 b	1,42	2,21	4,02	53,81
Toruk	0,03	0,44	2,26 a	1,06	3,18	5,72	71,08
Sossego	0,11	1,56	2,11 b	1,00	2,35	3,97	64,96
Médias	0,11	0,77	1,72	1,34	2,34	4,83	62,27
Cultivar	-----Inoculado-----						
Sinuelo	0,04	0,24	0,94 b	2,01	1,95	6,06	59,41
Audaz	0,11	0,76	1,40 b	1,10	2,99	3,16	56,33
Toruk	0,19	0,73	1,82 a	3,16	1,85	7,52	82,14
Sossego	0,21	0,68	1,05 b	1,52	1,81	2,94	47,19
Médias	0,14	0,60	1,30	1,95	2,15	4,92	61,27
CV** (%)	57,53	40,73	19,95	28,88	32,74	28,36	12,91

Variáveis explicativas: 7DAI (%) – severidade da doença aos 7 dias após a inoculação; 14DAI (%) – severidade da doença aos 14 dias após a inoculação; 21DAI (%) – severidade da doença aos 21 dias após a inoculação; 28DAI (%) – severidade da doença aos 28 dias após a inoculação; 35DAI (%) – severidade da doença aos 35 dias após a inoculação; 42DAI (%) – severidade da doença aos 42 dias após a inoculação; AACPD-IM (cm²) – área abaixo da curva de progresso da doença - por imagem; *médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; CV% - Coeficiente de variação; ** Transformação de dados por Raiz Quarta.

A técnica de segmentação utilizada com o software não conseguiu avaliar apenas as lesões de mancha amarela, o que pode ter gerado um superdimensionamento na área atacada em algumas cultivares, adicionando variação ao conjunto de dados (BARBEDO, 2018). No entanto, ao analisarmos a porcentagem de severidade de mancha amarela determinada via imagem para cada cultivar, ao longo do tempo, reconhecemos tendências relacionadas a tolerância das cultivares (Figura 1). A inclinação da curva, ou seja, a taxa de progresso da severidade da doença é mais intensa na cultivar Tbio Toruk, seguida por Tbio Sinuelo, enquanto Tbio

Audaz e Sossego apresentam tendências crescentes, porém com taxas lineares. Segundo Manavalan (2020), os métodos automatizados atualmente utilizados para diagnose não apresentam uma solução completa para discriminar as doenças, por suas propriedades semelhantes as plantas saudias.

Figura 1 – Comportamento da severidade média de mancha amarela em cultivares de trigo, com e sem inoculação de *Pyrenophora tritici-repentis*, determinada por imagens em Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

Para aumentar a precisão das ferramentas automatizadas na diagnose e quantificação de doenças foliares, outras ferramentas de bioinformática podem ser utilizadas de forma associada a segmentação do padrão RGB em imagens proximais. Assim, uma abordagem de prós e contras de cada método pode apresentar a necessidade de adição de pré-processamentos ou fusão de técnicas diferentes. A segmentação pela técnica de limiarização (thresholding), utilizada nessa pesquisa, permite converter imagens multinível em imagens binárias reduzindo a complexidade. No entanto, possui a dificuldade na definição do valor limite ideal para imagens, sendo sensível ao erro (BARBEDO; GODOY, 2015). Outras técnicas já estão sendo utilizadas em culturas de grãos como a extração de características, uso de gradientes por histogramas, matriz de co-ocorrência e aprendizado de máquina (*deep learning*) (ALI et al., 2019; ASTOLFI et al., 2019; BARBEDO, 2018; FLETCHER et al., 2020; MANAVALAN, 2020; SINGH et al., 2020).

Dessa forma, a avaliação da severidade de mancha amarela, por meio de imagem, apesar de não apresentar significância estatística a $p < 0,05$ nesse

experimento, foi capaz de quantificar os danos na área foliar e a tendência da taxa de progresso da doença nas cultivares. Os níveis relativos de tolerância ao patógeno, para cada cultivar, estão relacionados com a diminuição da AACPD da doença. A fenotipagem por meio da avaliação dos sintomas visuais de mancha amarela, permitiu diferir as cultivares em relação a sua sensibilidade a doença, confirmando a existência de diferenças genotípicas, a priori, entre elas. Sendo assim, podemos afirmar que fenotipicamente Tbio Toruk pode ser classificado como o mais sensível a mancha amarela, por apresentar maiores valores de AACPD nos experimentos conduzidos em Santa Maria e Ijuí. As cultivares fenotipadas como mais tolerantes foram Tbio Sossego, em ambos os locais, e Tbio Audaz em Santa Maria, o que resulta, possivelmente, em diferenças na resposta bioquímica entre os grupos.

4.2. EXPERIMENTO 2:

A atividade bioquímica foi determinada pelo quociente de cada resultado laboratorial de amostra inoculada em relação à média do controle. O controle foram observações obtidas de amostra não inoculada com o patógeno *Pyrenophora tritici-repentis* para cada cultivar nos tempos 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI). Foram observados efeitos significativos para a atividade relativa em todas as variáveis bioquímicas na interação bifatorial, cultivares e horas após a inoculação (A x B), a $p \leq 0,05$, conforme evidenciado na análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 8.

Tabela 8 - Resumo da análise de variância, representado pelos quadrados médios, da atividade relativa da resposta bioquímica das cultivares de trigo quando inoculadas com *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.

FV	GL	ChIA	ChIB	ChITot	Carot	H2O2	TBARS	SOD	POD
Cultivares (A)	3	0,131*	0,156*	0,144*	0,116*	0,028*	0,366*	0,139*	2,303*
Horas (B)	3	0,041 ^{ns}	0,179*	0,027 ^{ns}	0,004 ^{ns}	0,015 ^{ns}	0,505*	0,093*	3,022*
A x B	9	0,183*	0,212*	0,181*	0,109*	0,031*	0,167*	0,191*	2,952*
erro	48	0,021	0,035	0,013	0,011	0,007	0,046	0,020	0,087
CV %		14,71	19,44	11,74	10,21	8,44	20,78	13,75	19,20
Média		0,987	0,969	0,976	1,007	0,992	1,027	1,028	1,538

*significativo a 5% ($p \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; Fonte de variação (FV); grau de liberdade (GL); coeficiente de variação (CV%); as variáveis explicativas (Unidade relativa = inoculado.média do controle⁻¹): Clorofila A (ChIA, mg g⁻¹ massa fresca); Clorofila B (ChIB, mg g⁻¹ massa fresca); Clorofilas Totais (ChITot, mg g⁻¹ massa fresca); Carotenoides (Carot, mg g⁻¹ massa fresca); Peróxido de Hidrogênio (H2O2, nmol g⁻¹ massa fresca); peroxidação

lipídica por malondialdeído-MDA (TBARS, nmol MDA g⁻¹ massa fresca); Superóxido Dismutase (SOD, U mg⁻¹ proteína); e Guaiacol Peroxidase (POD, U mg⁻¹ proteína).

A análise complementar, para explicar a interação entre as cultivares e a inoculação com o patógeno, foi avaliada conforme a característica do fator. Por meio da minimização das somas de quadrados, as médias foram comparadas e classificadas em grupos homogêneos com o método de Skott-Knott a $\alpha \leq 0,05$, para os níveis do fator cultivares, em cada tempo de análise (Tabela 9). A resposta bioquímica relativa na avaliação realizada a 24 HAI, demonstrou pequenas alterações para os pigmentos fotossintetizantes, onde Tbio Audaz e Tbio Toruk apresentaram maiores reduções nos teores de ChIA e ChITot em relação ao controle, não diferindo estatisticamente. A alteração negativa nos teores de pigmentos fotossintetizantes, como as clorofilas, afeta diretamente a taxa de fotossíntese (NEHE et al., 2020) e, por consequência, promove redução na produção de grãos (GAJU et al., 2014). Por outro lado, ocorreu aumento no teor de carotenóides para a Tbio Audaz e Tbio Sossego em 14,7 e 8,2%, respectivamente, compostos capazes de eliminar radicais superóxidos produzidos no metabolismo de plantas de trigo (SHEN et al., 2018). As avaliações de H₂O₂ não diferiram estatisticamente entre as cultivares para a avaliação aos 24 HAI, no entanto, os níveis médios foram menores que o controle sem inoculação. Na cultivar Tbio Toruk, logo após a infecção, foi observado os menores valores relativos de acúmulo de H₂O₂. Isso pode ter ocorrido pela inibição do acúmulo de peróxido de hidrogênio pela atividade do complexo antioxidante, como os carotenóides (SHEN et al., 2018).

A análise de TBARS aos 24 HAI, como avaliação da peroxidação lipídica, apresentou aumento de 83,3% na produção de malondialdeído (MDA), na cultivar Tbio Toruk. O notável aumento na TBARS pode indicar o motivo do incremento de 15,7% na atividade de superóxido dismutase – SOD em Tbio Toruk, quando comparado ao controle. Comportamento oposto, para esta cultivar, foi observado na peroxidação por POD, onde ocorreu redução na atividade relativa em 54,3%. Os resultados de Zhang et al. (2013), indicam redução na atividade da peroxidase por POD em variedades de trigo resistentes logo após a inoculação com *Fusarium graminearum* em comparação as suscetíveis. No tempo 24 HAI, o comportamento de POD para Tbio Sossego e Audaz, cultivares com menor AACPD de mancha amarela, resultou no aumento de 39,4 e 29,6%, respectivamente, em sua atividade relativa.

Tabela 9 - Resposta bioquímica de quatro cultivares de trigo avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*, em relação ao controle sem inoculação. Santa Maria, RS, 2021.

Variáveis	ChIA	ChIB	ChITot	Carot	H2O2	TBARS	SOD	POD
24 HAI								
Cultivar								
Sinuelo	1,121 a	0,845 b	1,041 a	0,866 b	0,940 a	0,969 b	0,968 a	0,626 b
Audaz	0,941 b	1,209 a	1,027 a	1,147 a	0,975 a	1,171 b	0,787 b	1,296 a
Toruk	0,877 b	0,991 b	0,902 a	0,983 b	0,919 a	1,838 a	1,157 a	0,457 b
Sossego	1,183 a	1,147 a	1,147 a	1,082 a	0,965 a	1,076 b	0,776 b	1,394 a
Médias	1,030	1,048	1,029	1,019	0,950	1,263	0,922	0,943
48 HAI								
Sinuelo	0,861 a	0,812 a	0,776 b	0,939 a	0,899 a	1,186 a	1,144 a	1,413 b
Audaz	0,933 a	0,886 a	0,923 a	0,990 a	0,989 a	0,891 a	0,785 b	0,904 c
Toruk	1,053 a	1,172 a	1,075 a	1,073 a	1,075 a	1,036 a	1,093 a	2,639 a
Sossego	0,969 a	0,935 a	0,962 a	0,991 a	1,007 a	0,883 a	1,074 a	1,588 b
Médias	0,954	0,951	0,934	0,998	0,992	0,999	1,024	1,636
96 HAI								
Sinuelo	1,041 a	1,022 a	1,082 a	0,930 b	0,969 a	0,650 a	0,858 b	1,249 c
Audaz	0,752 b	0,876 a	0,786 b	0,907 b	0,965 a	0,901 a	1,477 a	2,142 b
Toruk	1,038 a	1,106 a	1,052 a	1,118 a	1,103 a	0,914 a	1,024 b	3,878 a
Sossego	0,903 b	1,195 a	1,010 a	0,996 b	1,037 a	0,866 a	1,033 b	0,676 d
Médias	0,934	1,050	0,983	0,988	1,018	0,833	1,098	1,986
192 HAI								
Sinuelo	0,946 b	0,897 a	0,843 b	0,915 c	0,959 b	1,000 a	1,056 b	1,498 b
Audaz	1,242 a	0,967 a	1,174 a	1,176 b	1,087 a	1,064 a	0,884 b	1,489 b
Toruk	0,572 c	0,309 b	0,507 c	0,667 d	0,835 c	1,192 a	1,381 a	1,348 b
Sossego	1,361 a	1,132 a	1,305 a	1,324 a	1,155 a	0,793 a	0,943 b	2,006 a
Médias	1,030	0,826	0,957	1,021	1,009	1,012	1,066	1,585
CV (%)	14,71	19,44	11,74	10,21	8,44	20,78	13,75	19,20

Variáveis explicativas (Unidade relativa = inoculado.média do controle⁻¹): ChIA (mg g⁻¹ massa fresca) Clorofila A; ChIB (mg g⁻¹ massa fresca) - Clorofila B; ChITot (mg g⁻¹ massa fresca) Clorofilas Totais; Carot (mg g⁻¹ massa fresca) - Carotenoides; H2O2 (nmol g⁻¹ massa fresca) - Peróxido de Hidrogênio; TBARS (nmol MDA g⁻¹ massa fresca) peroxidação lipídica por malondialdeído-MDA; SOD (U mg⁻¹ proteína) - Superóxido Dismutase; e POD (U mg⁻¹ proteína) - Guaiacol Peroxidase; *médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott ($\alpha \leq 0,05$); ^{ns} não significativo; CV% - Coeficiente de variação.

No tempo 48 HAI as variáveis explicativas ChIA, ChIB, Carot, H2O2 e TBARS não diferiram estatisticamente a 5% de probabilidade do erro pelo teste de Skott-Knott. Os teores de pigmentos fotossintetizantes decrescem em resposta a evolução do processo infeccioso pelo acúmulo de espécies reativas, mesmo em cultivares resistentes (NEHE et al., 2020). Porém, o aumento de H2O2 e TBARS não foi observado em resposta ao ataque do patógeno, como identificado por Li et al. (2019). Os diferentes resultados obtidos entre as cultivares pode estar relacionado a baixa produção de EROs ou por sua eliminação pelo complexo enzimático (MITTLER et al.,

2004; SPANIC et al. 2017). A cultivar Tbio Audaz produziu quantidade reduzidas de espécies reativas a 48 HAI, evidente pelo pequeno acúmulo de H₂O₂ e MDA, além da baixa atividade relativa de SOD e POD. Já para as demais cultivares, a resposta da peroxidação determinada pela SOD e POD evitou o acúmulo de H₂O₂ e MDA. O destaque foi a cultivar Tbio Toruk, a qual é susceptível a mancha amarela e apresentou aumento de 163,9% na atividade relativa de POD a 48 HAI, diferente estatisticamente dos demais.

A determinação da variável POD, em todas as avaliações, foi o parâmetro que apresentou diferenças de maior amplitude, em relação ao controle, para as cultivares estudadas. A elevada expressão relativa da atividade de POD, para a cultivar Tbio Toruk, também foi evidenciada no tempo 96 HAI. A partir da avaliação 48 HAI foi possível identificar uma tendência na expressão da enzima POD, atingindo as 96 HAI valor 287,8% superior ao controle sem a inoculação com *Pyrenophora tritici-repentis*. O comportamento expressivo na atividade de POD é observado comumente em resposta ao acúmulo de EROs no interior do tecido celular por estresses bióticos ou abióticos (HAN et al., 2021; SHARMA et al., 2012; UARROTA et al., 2016)

A atividade de POD para Tbio Audaz e Tbio Sinuelo aumentou 114,2 e 24,9%, respectivamente, em relação ao controle sem inoculação. A atividade enzimática intensa, no tempo 96 HAI, foi capaz de neutralizar o conteúdo de H₂O₂, assim houve a redução da peroxidação lipídica por MDA, não diferindo entre as cultivares. Os danos resultantes da infecção pelo patógeno, especialmente o acúmulo de EROs, promove peroxidação dos subcompartimentos celulares, formando lesões foliares visíveis a partir de 192 HAI (QI et al., 2019). Os teores dos pigmentos fotossintetizantes foram reduzidos abruptamente evidenciando a redução significativa da capacidade de realizar o processo da fotossíntese (TSIALTAS et al., 2018). A redução foi mais pronunciada na cultivar Tbio Toruk, com retração de 49,3% na ChITotal, em relação ao controle sem inoculação, devido sua suscetibilidade a mancha amarela. Ao mesmo tempo que os teores de clorofila foram reduzidos na cultivar suscetível a mancha amarela, esta obteve aumento de 19,2% na peroxidação lipídica determinada por TBARS. A cultivar Tbio Sossego apresentou os maiores valores relativos de ChIA, ChIB, ChITot e Carot indicando que mesmo no tempo 192 HAI o teor de pigmentos fotossintetizante era superior as demais cultivares, como resposta a sua tolerância a doença (NEHE et al., 2020; SPANIC et al. 2017). O maior conteúdo relativo de pigmentos de Tbio Sossego, em relação ao controle, assim como

os menores valores de AACPD corroboram com Kremneva et al. (2020) na expressão de tolerância a mancha amarela.

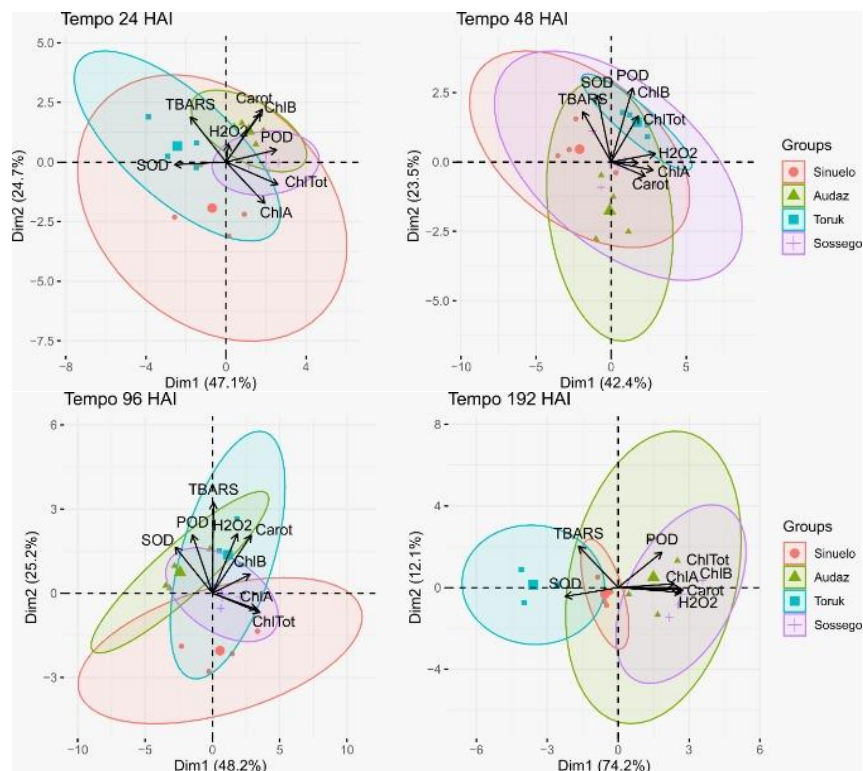
O conteúdo de H₂O₂ para Tbio Toruk apresentou redução significativa a 192 HAI, perante as demais cultivares. Isso é resposta ao colapso celular verificado pelos danos ao aparato fotossintético do mesófilo, devido a fotossíntese ser uma fonte natural de EROs como H₂O₂, os quais deixaram de se acumular nos compartimentos celulares (HENZLER; STEUDLE, 2000; MITTLER et al., 2004). A diminuição de 42,8% na ChIA, 69,1% na ChIB e 49,3% na ChITotal, em relação ao controle, demonstra os danos causados à Tbio Toruk pelo acúmulo de EROs. Ainda no tempo 192 HAI, a cultivar Tbio Toruk demonstrou atividade relativa superior em 38,1% para SOD, comparado ao controle. Isso se relaciona com os resultados obtidos por He et al. (2020), onde a atividade enzimática de SOD participa das principais rotas de neutralização dos compostos reativos gerados por estresses.

O metabolismo atua em resposta a estímulos gerados pelo ambiente em que a planta está inserida e varia individualmente conforme sua carga genética para neutralizar a soma de impactos ocasionados pelos fatores bióticos e abióticos envolvidos (HAN et al., 2021; KANNAUJIA et al., 2019). Na cultura do trigo, Spanic et al. (2017) identificaram uma grande variabilidade na atividade enzimática e no conteúdo de espécies reativas, em plantas sob estresse biótico. Assim, a produção e neutralização de EROs requer a sinalização de grande número de genes responsáveis pelo sequestro desses compostos, relacionados diretamente ao conteúdo genético de resistência ao patógenos (MITTLER et al., 2004). A atividade da enzima POD se destacou pela sua expressiva atividade em resposta ao acúmulo de EROs, produzidos pelo processo infeccioso da inoculação de *Pyrenophora tritici-repentis*, especialmente em Tbio Toruk. A partir dessas informações, considerando a dimensionalidade do conjunto de dados, foi verificada a importância das variáveis em cada tempo analisado por meio da análise dos componentes principais (PCA), nas cultivares de trigo estudadas.

O bi-plot da análise dos componentes principais presentes na Figura 2, demonstra a diferença evidente entre as cultivares Tbio Toruk e Tbio Sossego no tempo 192 HAI. A diferença no tempo 192 HAI é explicada pelo impacto da variação do componente principal 1 (Dim1) em 74,2%, enquanto a Dim2 explica 12,1% de variação do conjunto de dados. A amplitude das variações não permitiu diferenciar o conjunto de observações entre as cultivares nos demais tempos (24, 48 e 96 HAI), por

meio dos componentes principais. Isso pode estar relacionado a ampla expressão genética das cultivares a partir dos estímulos gerados pela inoculação com o patógeno, promovendo respostas diversas no conjunto de dados (ILYAS et al., 2020; QI et al., 2019; WU et al., 2020).

Figura 2 - Biplot da análise dos componentes principais da resposta bioquímica relativa das cultivares de trigo avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



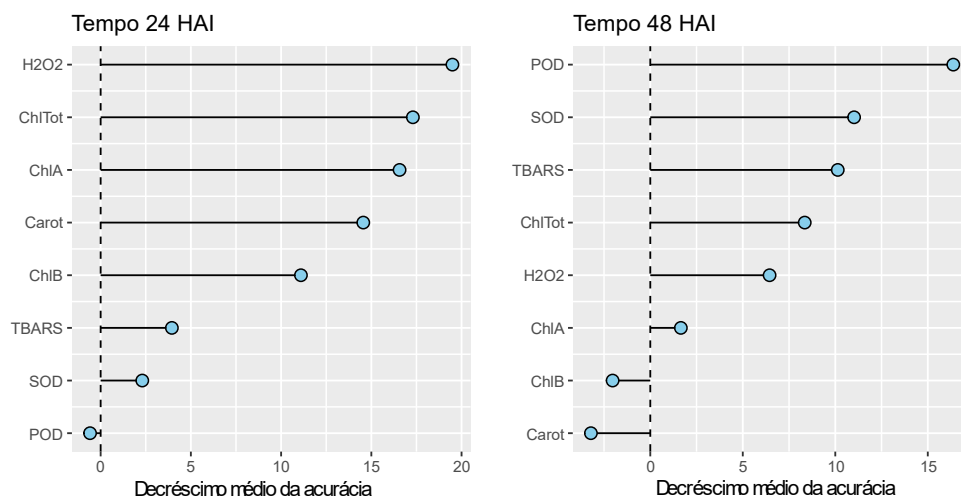
Fonte: Autor, 2021.

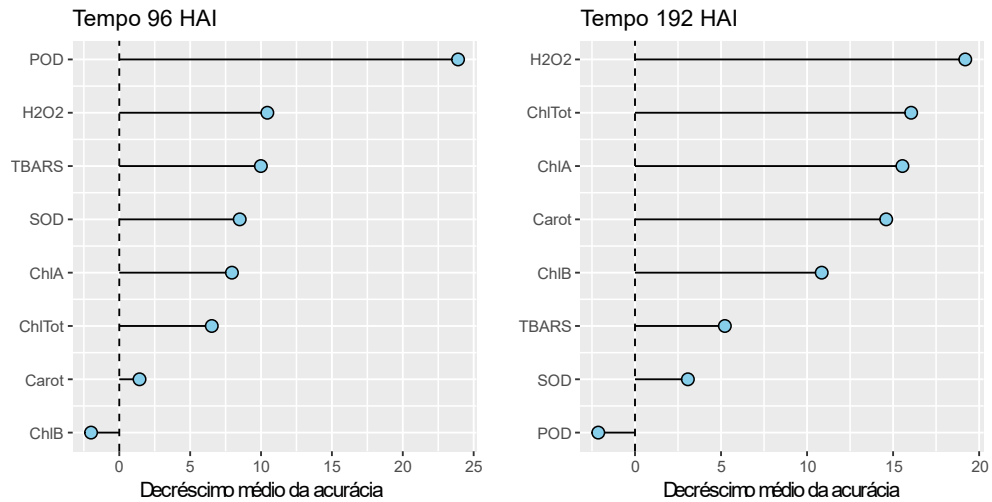
A visão proporcionada pela PCA demonstra que os componentes principais somados explicam 86,3% da variação, no tempo 192 HAI. As alterações individuais nas variáveis são observadas em todos os tempos analisados, iniciando com modificações sutis até comprometerem o funcionamento das estruturas celulares (LI et al., 2019; MITTLER et al., 2004). A resposta aos 192 HAI nos permite interpretar que o acúmulo de estímulos promoveu respostas evidentes capazes de diferenciar as cultivares pelo comportamento em relação a inoculação com o patógeno *Pyrenophora tritici-repentis*. Os autores Spanic et al. (2017) também identificaram diferenças gradativas nas EROs e nas enzimas do complexo antioxidante, após a inoculação de *Fusarium spp* em resposta aos níveis de resistência das cultivares de trigo. Os efeitos

principais no bi-plot para os demais tempos têm peso considerável nas respostas bioquímicas das cultivares, em relação a sensibilidade à doença. A plotagem das variáveis, para cada tempo analisado, em nível decrescente de importância na diminuição média da acurácia para a classificação das cultivares é demonstrado na Figura 3.

No tempo 192 HAI, onde as cultivares Tbio Toruk e Tbio Sossego foram classificadas como diferentes, a variável com maior importância na acurácia dessa categorização foi H2O2. Com isso, H2O2 foi a variável preditora mais acurada para classificar as cultivares no tempo 192 HAI, com redução média próxima a 20%, seguida da ChITot e ChIA. Esse resultado é similar ao já observado na análise complementar, onde os teores relativos de pigmentos fotossintetizantes como ChIA, ChIB, ChITot e Carot, assim como do conteúdo de H2O2 para Tbio Toruk obtiveram redução significativa, perante as demais cultivares. Isso se deve ao acúmulo de H2O2 estar relacionado a resistência gênica, como verificado para Ferrugem estriada em trigo (FENG et al., 2014)

Figura 3 - Importância das variáveis preditoras na diminuição média da acurácia classificatória das cultivares de trigo pela RandomForest (RF) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*, em relação ao controle sem inoculação. Santa Maria, RS, 2021. Fonte: Autor, 2021.





Fonte: Autor, 2021.

O decréscimo médio de acurácia na classificação da variável resposta (cultivar) no tempo 24 HAI, apresentou mesma tendência que no tempo 192 HAI, onde as principais variáveis preditoras foram H2O2, ChITot e ChIA. Apesar disso, as alterações aos 24 HAI foram de menor magnitude, onde Tbio Audaz e Tbio Toruk apresentaram maiores reduções nos teores de ChIA e ChITot, em relação ao controle, e H2O2 não diferiu estatisticamente a $p < 0,05$ por Skott Knott. A amplitude de reação aos estresses externos está relacionada com o mecanismo a ser ativado e a magnitude dos estímulos, permitindo, em muitos casos, o desenvolvimento da tolerância (SARKAR et al., 2021).

No tempo 48 HAI, a variável explicativa POD foi a responsável pelo maior decréscimo de acurácia sendo responsável por 16% na capacidade de o modelo predizer as cultivares. Resultado também observado no tempo 96 HAI, onde POD teve um incremento na capacidade de predizer as cultivares próximo a 24% no modelo. Isso corrobora com a elevada expressão relativa da atividade de POD para a cultivar Tbio Toruk em ambos os tempos, onde chegou a atingir, quando inoculado com *Pyrenophora tritici-repentis*, valores 287,8% superiores ao controle. A importância das variáveis do complexo enzimático, explicando a classificação das cultivares a partir de 48 HAI, se manteve também nas observações coletadas no tempo 96 HAI. Além de POD, a enzima SOD e a peroxidação por TBARS explicam 10% e 8% da acurácia do modelo, respectivamente, associado ainda a H2O2 com 11% de importância na classificação.

A importância do decréscimo médio de acurácia, por múltiplas árvores de decisão em cada tempo analisado, permite identificar a resposta gerada pela classificação para cada variável preditora. Para classificar com assertividade quanto a sensibilidade de mancha amarela, em todos os tempos, foram avaliados os parâmetros básicos da matriz de confusão do logaritmo utilizado (Tabela 10). O classificador produz para cada linha de dados a probabilidade que esta possa ser classificada como positiva. Assim, a acurácia (ACC) é considerada como a porcentagem de que os dados testados são corretamente classificados, em cada tempo analisado.

A melhor ACC é igual a 100%, enquanto 0% de acurácia significa que o modelo não é capaz de encontrar diferenças para classificar os cultivar, ou seja, 100% de taxa de erro (ERR). A acurácia para a predição das cultivares nos tempos 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação com o patógeno foram, respectivamente, de 81,25%, 50,00%, 81,25% e 75,00%. O indicador F-score refere-se a média harmônica entre a precisão (PREC) e a sensibilidade (SN), indicando que o cultivar Tbio Toruk no tempo 48 HAI e 192 HAI e o cultivar Tbio Sossego no tempo 96 HAI, possuem 100% de precisão e 100% de sensibilidade na classificação.

Apesar dos valores de acurácia observados no modelo serem de 50% e 75 % nos tempos 48 e 192 HAI, respectivamente, a SN do modelo permite classificar o cultivar Tbio Toruk em 100% das predições como positiva nesse modelo classificador utilizado. O parâmetro sensibilidade é mais informativo que a acurácia, para indicar os verdadeiros positivos dados pelo classificador, pois SN reflete a probabilidade de uma informação relevante ser categorizada pelo preditor (SHEN et al., 2021). A PREC é usada como indicador do número de predições positivas em relação ao total de predições, não havendo precisão máxima em todos os tempos para as diferentes cultivares.

Tabela 10 - Matriz de confusão para a predição de quatro cultivares de trigo pela RandomForest (RF) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*, em relação ao controle sem inoculação. Santa Maria, RS, 2021.

-----24 HAI-----							
		-----Cultivar Predita-----					
		Sinuelo	Audaz	Toruk	Sossego	SN (%)	F-score (%)
Cultivar atual	Sinuelo	3	0	1	0	75,00%	85,71%
	Audaz	0	2	0	2	50,00%	66,67%
	Toruk	0	0	4	0	100,00%	88,89%
	Sossego	0	0	0	4	100,00%	80,00%
PREC (%)		100,00%	100,00%	80,00%	66,67%		
ERR (%)		18,75%					
ACC (%)		81,25%					
-----48 HAI-----							
		-----Cultivar Predita-----					
		Sinuelo	Audaz	Toruk	Sossego	SN (%)	F-score (%)
Cultivar atual	Sinuelo	3	1	0	0	75,00%	66,67%
	Audaz	1	0	0	3	0,00%	0,00%
	Toruk	0	0	4	0	100,00%	100,00%
	Sossego	1	2	0	1	25,00%	25,00%
PREC (%)		60,00%	0,00%	100,00%	25,00%		
ERR (%)		50,00%					
ACC (%)		50,00%					
-----96 HAI-----							
		-----Cultivar Predita-----					
		Sinuelo	Audaz	Toruk	Sossego	SN (%)	F-score (%)
Cultivar atual	Sinuelo	2	1	1	0	50,00%	66,67%
	Audaz	0	3	1	0	75,00%	0,00%
	Toruk	0	0	4	0	100,00%	80,00%
	Sossego	0	0	0	4	100,00%	100,00%
PREC (%)		100,00%	75,00%	66,67%	100,00%		
ERR (%)		18,75%					
ACC (%)		81,25%					
-----192 HAI-----							
		-----Cultivar Predita-----					
		Sinuelo	Audaz	Toruk	Sossego	SN (%)	F-score (%)
Cultivar atual	Sinuelo	4	0	0	0	100,00%	88,89%
	Audaz	1	1	0	2	25,00%	0,00%
	Toruk	0	0	4	0	100,00%	100,00%
	Sossego	0	1	0	3	75,00%	66,67%
PREC (%)		80,00%	50,00%	100,00%	60,00%		
ERR (%)		25,00%					
ACC (%)		75,00%					

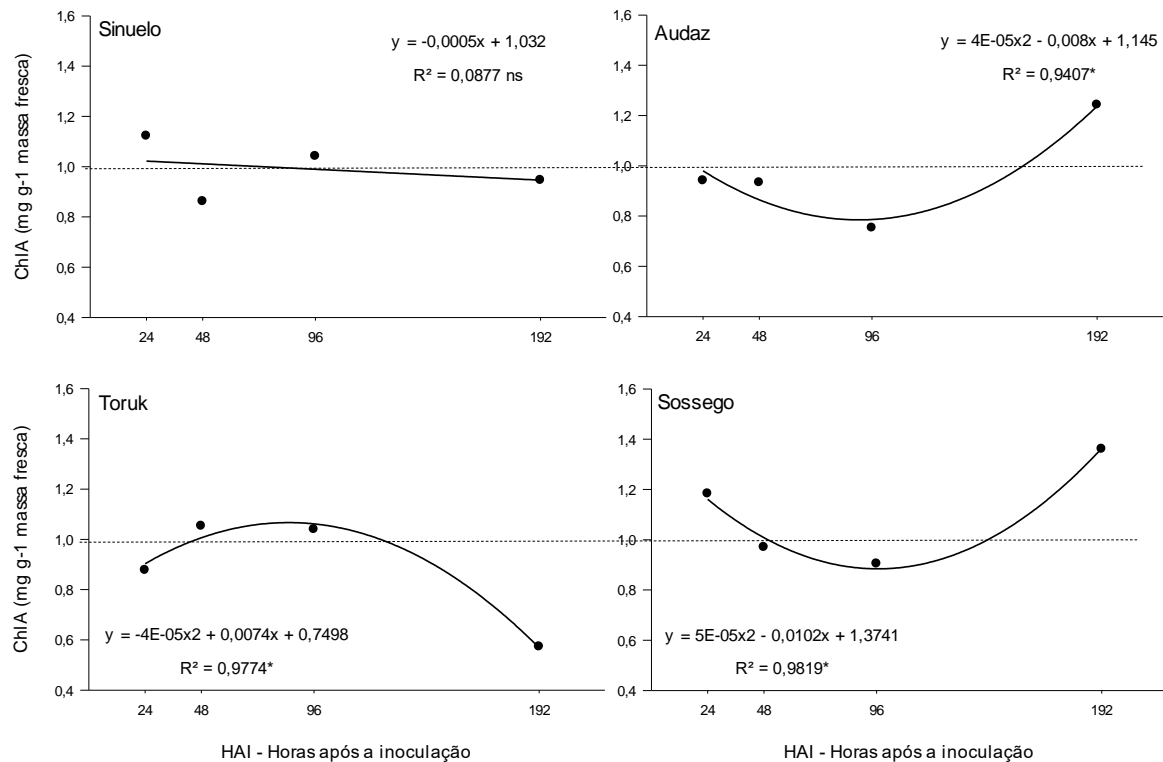
Medições básicas: ERR (%) – Taxa de erro; ACC (%) – Acurácia; SN (%) – Sensibilidade ou verdadeiros positivos; PREC (%) – Precisão ou preditivos positivos; F-score (%) – média harmônica $\{F= 2/[(1/PREC)+(1/SN)]\}$

Dessa forma, Tbio Toruk pode ser classificado como diferente das demais cultivares por apresentar SN igual a 100%, em todos os tempos analisados. As variáveis mais importantes no modelo preditor são, também, as mais adequadas na

classificação de Tbio Toruk. Com isso, o maior ajuste na predição é dado pela variável POD as 96 HAI, respondendo a 24% do modelo. Ainda POD é a mais importante na classificação as 48 HAI enquanto a variável H₂O₂ se destaca nos tempos 24 e 192 HAI. Nesse experimento, a inoculação com o fungo foi capaz de promover alterações fisiológicas nas diferentes cultivares, especialmente pela redução dos teores de pigmentos fotossintetizantes e pelo aumento da peroxidação mensurada pela atividade de POD. A análise de componentes principais classificou as amostras de acordo com seus níveis de atividade bioquímica relativa pelo modelo de árvore de decisão demonstrando que POD é a variável mais acurada para classificar as cultivares de trigo quanto sua sensibilidade a mancha amarela. A cultivar Tbio Toruk demonstrou ser mais suscetível a mancha amarela, apresentando aumento de 287,8% na atividade de POD as 96 horas após a inoculação com *Pyrenophora tritici-repentis*.

Os níveis do fator quantitativo, horas após a inoculação, foram submetidos a análise de regressão polinomial, para cada nível do fator cultivares em cada período de avaliação. O teor relativo de clorofila A (ChIA) demonstrou ser significativo a 5% da probabilidade de erro quando analisado ao longo do tempo (Figura 4). A cultivar Tbio Toruk apresentou comportamento decrescente nos teores indicando a degradação da clorofila A no tempo 192 HAI.

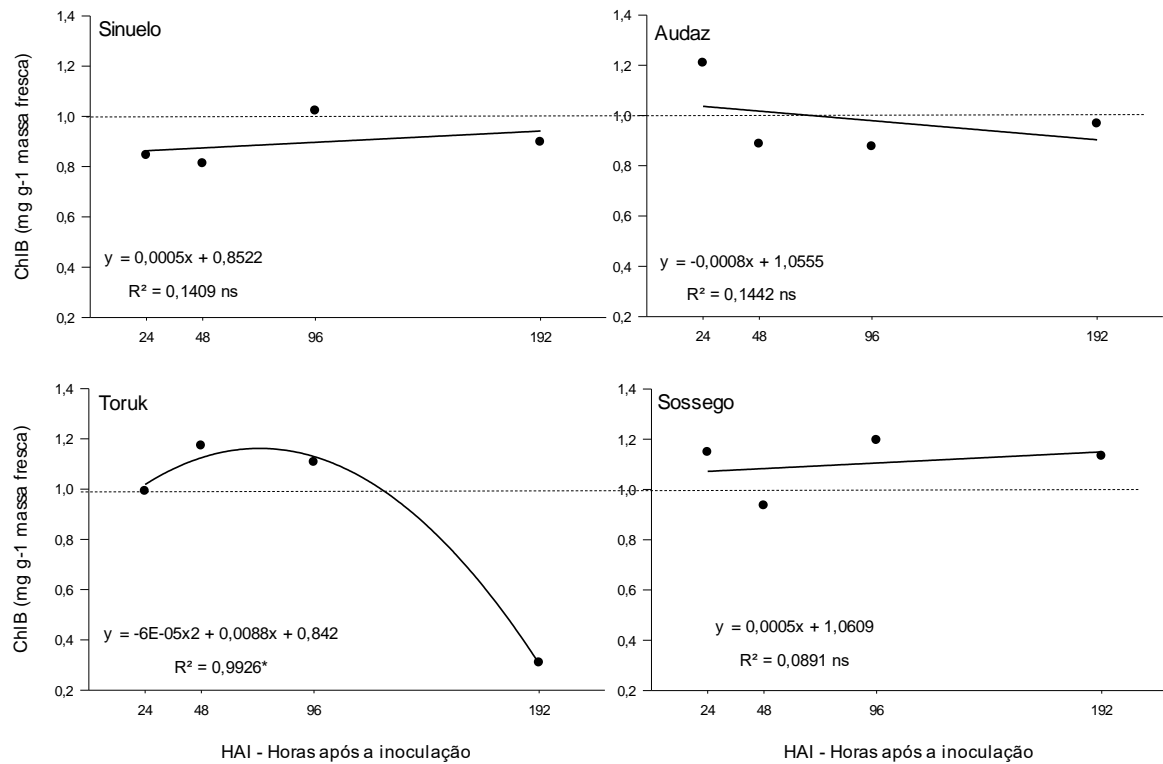
Figura 4 - Teor relativo de clorofila A (ChIA) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

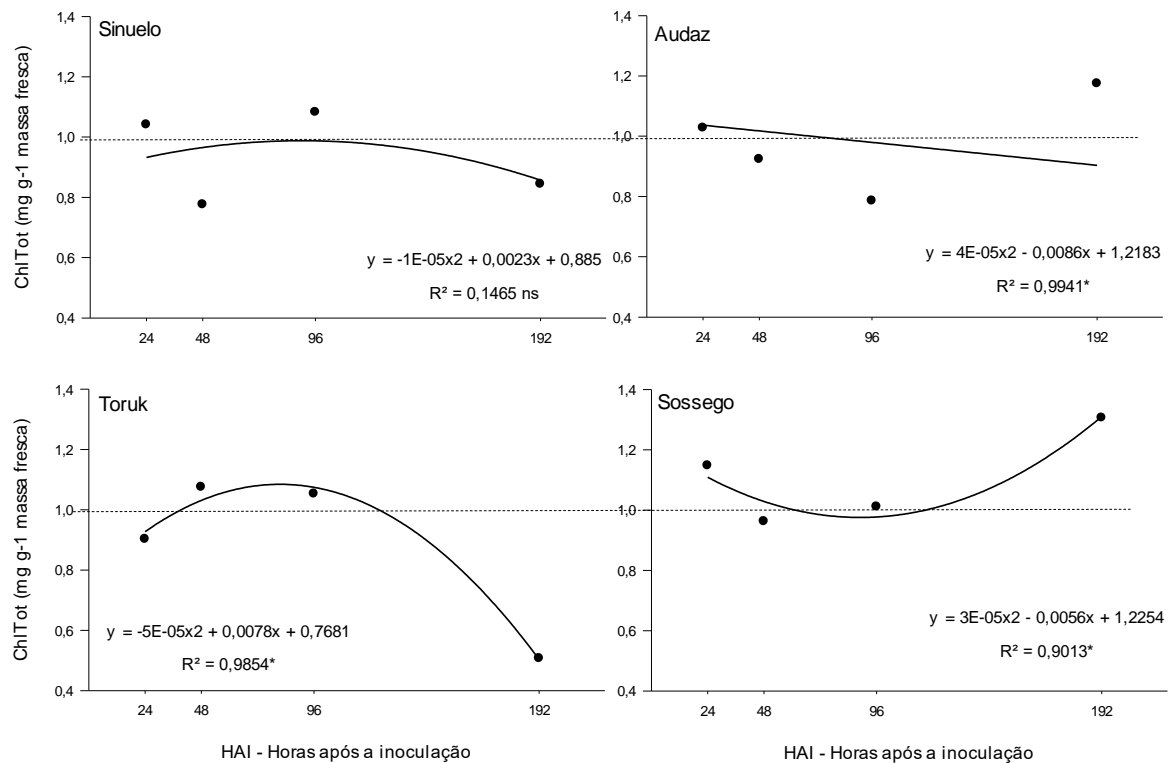
A degradação dos pigmentos ao longo do tempo para a cultivar Tbio Toruk fica evidente também nas análises realizadas para os teores relativos de ChIB (Figura 5) e ChITotal (Figura 6). Os teores relativos das clorofilas apresentam uma redução significativa para a cultivar Tbio Toruk, enquanto as demais se mantêm próximas ao controle ou superiores, mesmo após a inoculação com o patógeno. Essa redução na atividade relativa das clorofilas, quando relacionada ao ataque de patógenos afeta diretamente o desenvolvimento vegetal conforme verificado nas pesquisas de Gaju et al. (2014) e Nehe et al. (2020). Os menores teores de clorofilas reduzem diretamente a taxa de fotossíntese e, por consequência, o acúmulo de compostos de carbono necessários a produção de massa vegetal, especialmente formação dos grãos de trigo (TSIALTAS et al., 2018).

Figura 5 - Teor relativo de clorofila B (ChlB) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

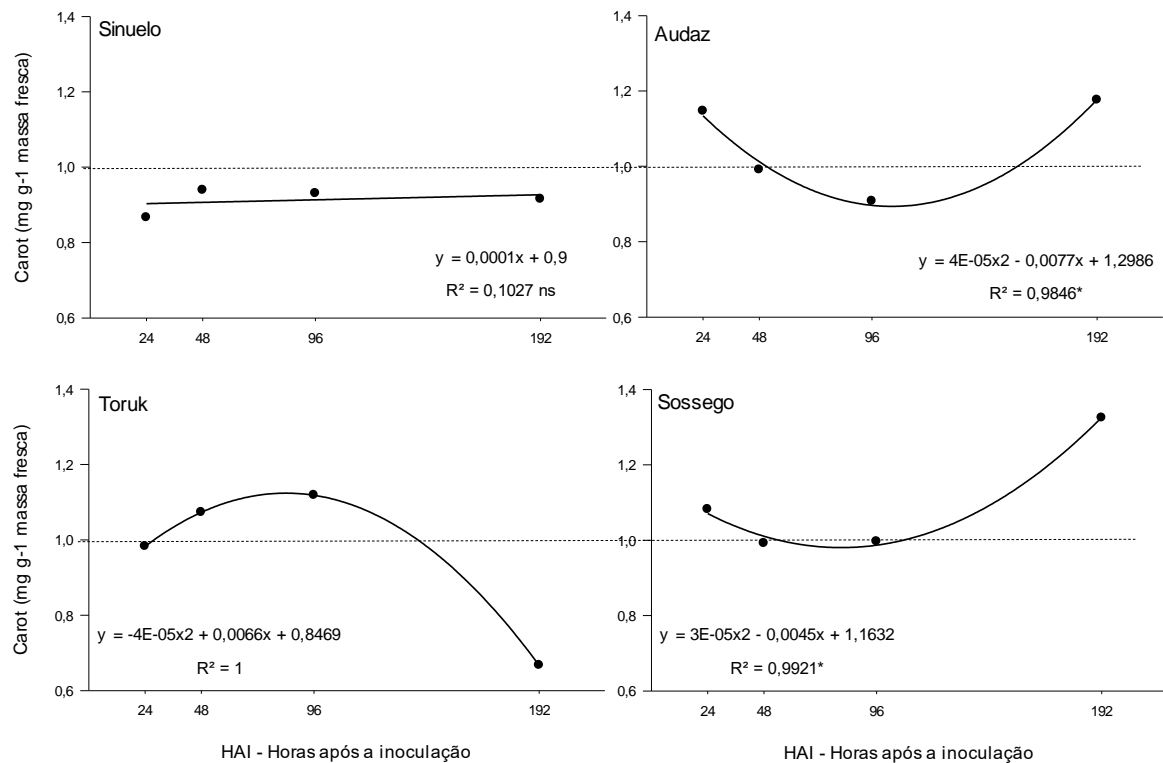
Figura 6 - Teor relativo de clorofila Total (ChITot) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

A Figura 7 apresenta os valores observados para a variável carotenoides. Shen et al. (2018) demonstraram que os carotenoides são componentes efetivos no sequestro de espécies reativas de oxigênio das células vegetais. No tempo 192 HAI, o colapso das membranas pela peroxidação lipídica gerou uma redução significativa nos teores de carotenóides para Tbio Toruk, comportamento oposto ao observado nas demais cultivares.

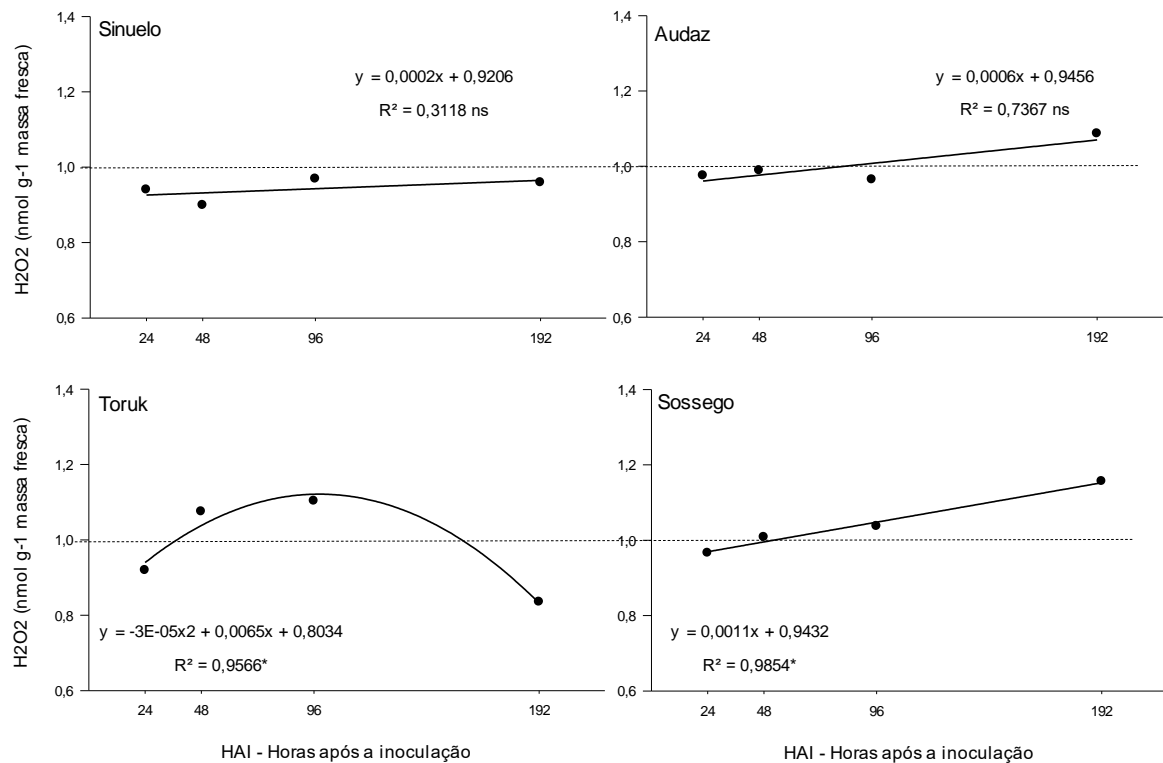
Figura 7 - Teor relativo de carotenoides (Carot) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

A avaliação de H₂O₂ ao longo do tempo após a inoculação foi significativa apenas para Tbio Sossego e Toruk, apresentando comportamentos opostos (Figura 8). A tendência esperada seria um acúmulo de H₂O₂ nas cultivares sensíveis, pelo desencadeamento do mecanismo de defesa, a partir do início do processo infeccioso (QI et al., 2019). No entanto, houve redução dos teores de peróxido de hidrogênio na cultivar Tbio Toruk no tempo 192 HAI enquanto Tbio Sossego apresentou acúmulo contínuo desse composto quando comparado ao controle. Segundo Mittler et al. (2004), o controle da toxicidade de EROs, como H₂O₂, é complexo e exige atividade de uma rede de genes capazes de transcrever compostos secundários participantes das rotas metabólicas antioxidantes. Assim, a resposta de H₂O₂ na cultivar Tbio Toruk, sensível a mancha amarela, está ligada a elevada atividade do complexo antioxidante como POD, indicando a resposta de defesa induzida pela infecção (OMARA et al., 2019).

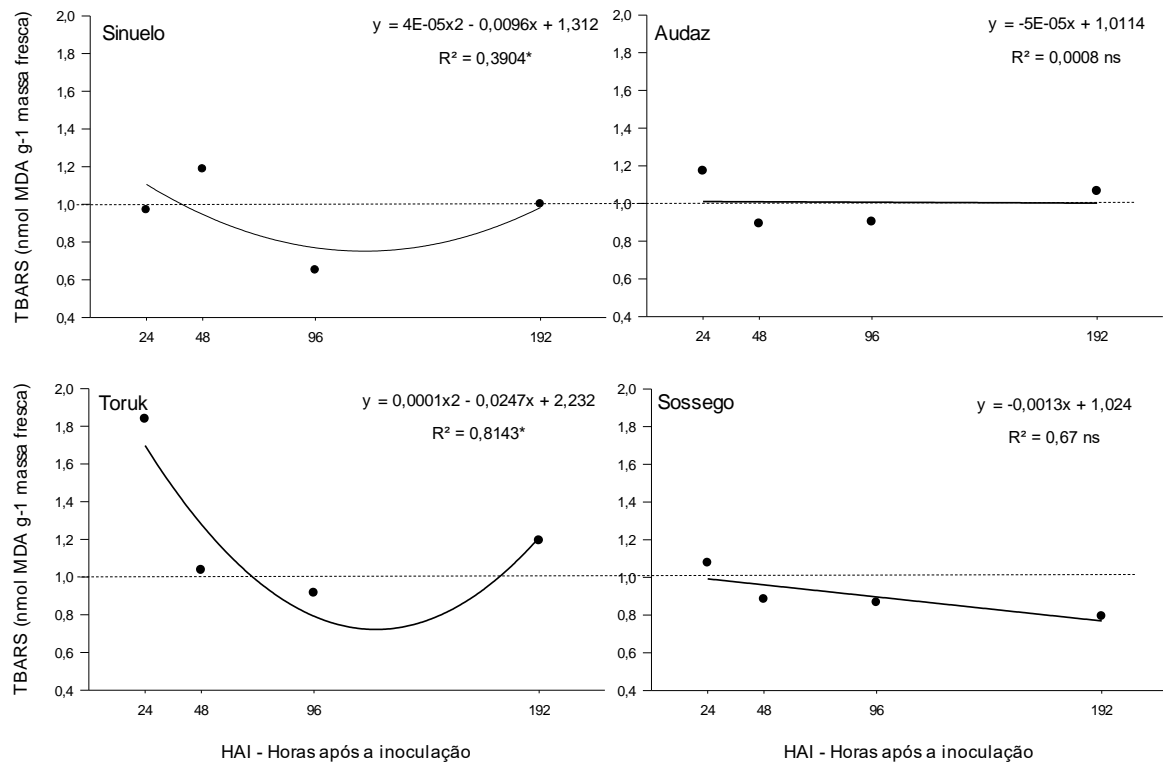
Figura 8 - Teor relativo de Peróxido de Hidrogênio (H₂O₂) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

A peroxidação lipídica pelo acúmulo de MDA avaliada por TBARS foi significativa ao longo dos tempos analisados para as cultivares Tbio Sinuelo e Toruk (Figura 9). O comportamento em relação ao controle para a análise de TBARS aos 24 HAI indica uma expressiva peroxidação lipídica para a cultivar Tbio Toruk. Esse aumento também foi verificado a partir de 3 horas após a inoculação com o patógeno *Fusarium* spp., em algumas cultivares de trigo estudadas por Spanic et al. (2017). Além do incremento em resposta a agentes bióticos, o efeito de outros estresses externos é capaz de incrementar o conteúdo de MDA na cultura do trigo (HAN et al., 2021). A diminuição do acúmulo de MDA ao longo das avaliações, especialmente para a cultivar Tbio Toruk, é resultado da atividade antioxidante do complexo enzimático como SOD e POD (SORAHINOBAR et al., 2015).

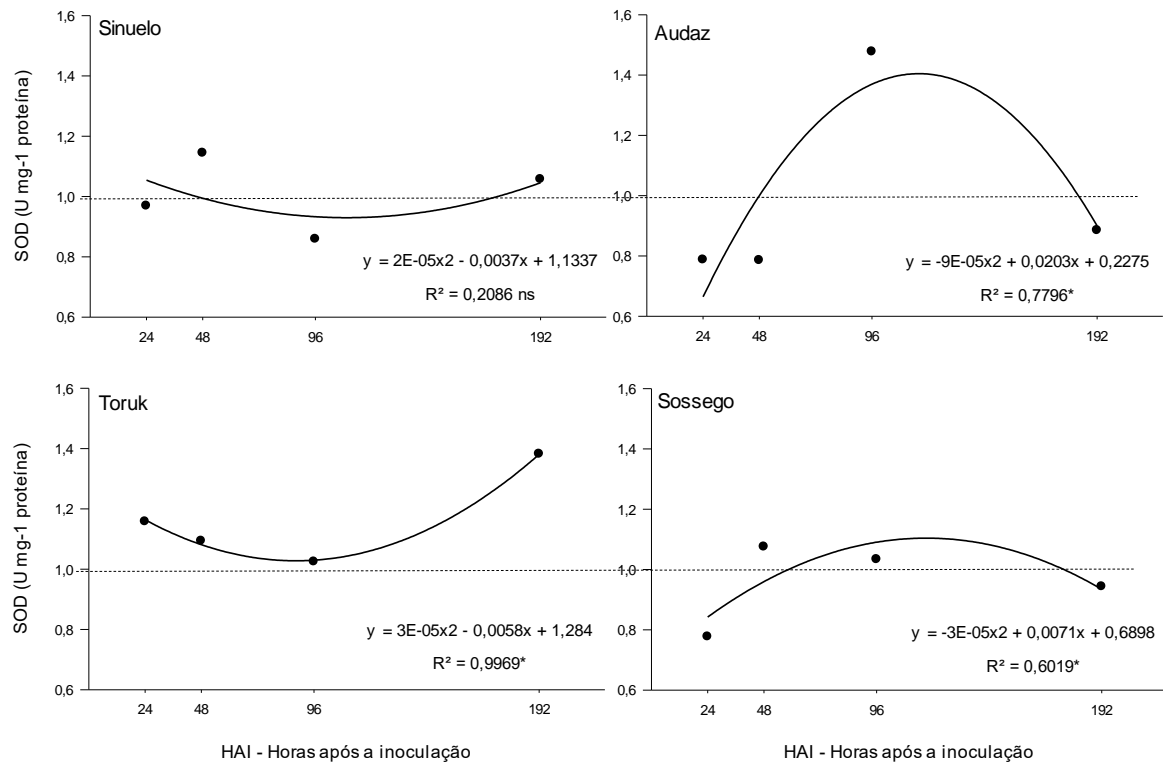
Figura 9 - Peroxidação lipídica relativa por malondialdeído-MDA (TBARS) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

A enzima SOD é a primeira linha de defesa contra os efeitos das espécies reativas de oxigênio por estar diretamente envolvida na dismutase dos ânions para posteriormente serem convertidos em oxigênio e água, não mais danosas a estrutura celular (DAT et al., 2000). Os aumentos expressivos na atividade relativa de SOD foi observado as 96 HAI para Tbio Audaz e as 24 e 192 HAI para Tbio Toruk (Figura 10). Considerando a suscetibilidade a doenças, as enzimas superoxidases, dismutases, catalases e peroxidases apresentam aumento na atividade em reação a infecção (MORKUNAS; GEMEREK, 2007). Segundo Madadkhah et al. (2012), as espécies se comportam ao ataque patogênico de modo particular, onde a máxima atividade enzimática ocorreu aos 4 dias após a inoculação com *Fusarium oxysporum*. Nas cultivares estudadas, Tbio Audaz e Tbio Sossego apresentaram tendência crescente na atividade relativa de SOD após a inoculação com *Pyrenophora tritici-repentis*, indicando ser um componente na indução de resistência a mancha amarela.

Figura 10 - Atividade relativa da enzima Superóxido Dismutase (SOD) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



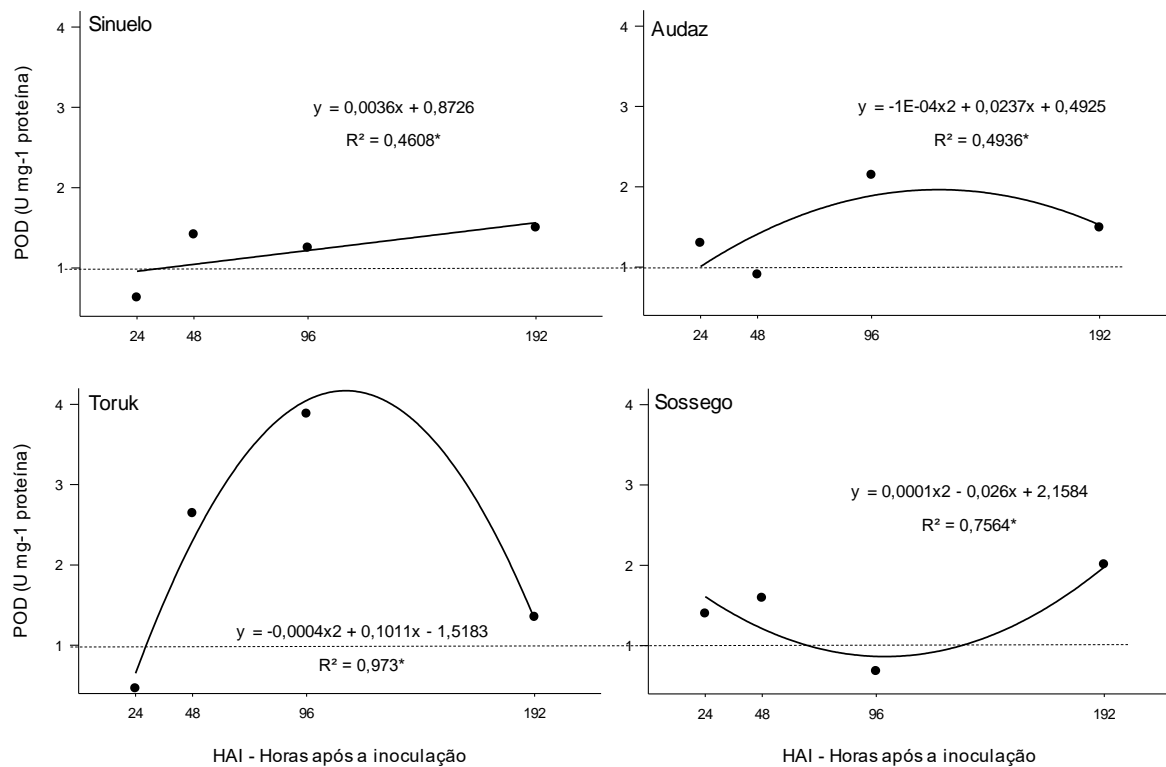
Fonte: Autor, 2021.

A cultivar Tbio Toruk apresentou atividade relativa superior ao controle, não inoculado, para as avaliações de POD realizadas aos 48, 96 e 192 HAI (Figura 11). As regressões ajustadas para a atividade relativa de POD foram significativas para todas as cultivares estudadas, apresentando tendência crescente ao longo do tempo após a inoculação com *Pyrenophora tritici-repentis*. No entanto, a magnitude da expressão relativa foi menor na cultivar Tbio Sossego, apresentando valores máximos as 192 HAI. Esse comportamento é explicado pela maior expressão de POD em cultivares de trigo sensíveis, em detrimento da atividade enzimática de ascorbato peroxidase e polifenol oxidase mais pronunciadas em cultivares resistentes (SPANIC et al., 2017).

Vários autores têm encontrado alta correlação entre a deterioração fisiológica de células vegetais com o aumento na expressão da enzima guaiacol peroxidase (HAN et al., 2021; JOEL et al., 2020; SARKAR et al., 2021; SPANIC et al., 2017;

UARROTA et al., 2016). A determinação da atividade de POD, em relação ao controle sem o patógeno, constitui uma análise indicadora de estágios iniciais da infecção em cultivares suscetíveis (SORAHINOBAR et al., 2015), sendo expresso em períodos mais longos em cultivares tolerantes. O momento correto para avaliar a suscetibilidade de uma cultivar, por meio da atividade enzimática, é dependente da interação específica patógeno-hospedeiro. O aumento da atividade como resposta fisiológica variou de 3 horas em trigo (SPANIC et al., 2017) a 4 dias após a inoculação de *Fusarium* spp. em melão (*Cucumis melo*) (MADADKHAH et al., 2012).

Figura 11 - Atividade relativa da enzima Guaiacol Peroxidase (POD) das cultivares de trigo (inoculado.média do controle⁻¹) avaliados a 24, 48, 96 e 192 horas após a inoculação (HAI) de *Pyrenophora tritici-repentis*. Santa Maria, RS, 2021.



Fonte: Autor, 2021.

A cultivar Tbio Toruk apresentou valores superiores aos demais, com elevada amplitude para POD, em resposta a infecção com o patógeno. A atividade máxima relativa para esta cultivar foi definida pelo cálculo do vértice da parábola da regressão polinomial quadrática, atingindo valores 386,9% superiores ao controle. A máxima

expressão relativa para Tbio Toruk ocorreu as 126 horas após a inoculação com o patógeno *Pyrenophora tritici-repentis*.

A atividade da ascorbato peroxidase é geralmente estimada pela taxa de desaparecimento do ácido ascórbico, enquanto a atividade da POD é habitualmente avaliada pela formação de tetraguaiacol a partir de guaiacol (SHARMA et al., 2012). No entanto, esse método pode levar à confusão da atividade ascorbato peroxidase com a atividade de POD pela afinidade enzimática ao substrato fenólico (VAN DOORN; KETSA, 2014). Isso pode ter ampliado os resultados obtidos para a atividade da POD no experimento, explicando os elevados valores relativos dessa enzima para a cultivar Tbio Toruk, especialmente as 96 HAI em relação ao controle. A oxidação de fenóis pela POD frequentemente resulta em oxidação de ascorbato, portanto, desempenham a mesma função que ascorbato peroxidase, neutralizando as EROs, indicando ser a POD uma avaliação consistente dos componentes de resistência ao ataque de patógenos (LEHMANN et al., 2015). Dessa forma, utilizando modelos preditivos e análises complementares, um modelo descritivo foi construído confirmando que a atividade de POD é um indicador bioquímico importante para atribuir o nível de suscetibilidade das cultivares de trigo a mancha amarela. O melhor tempo para observar a resposta fisiológica das cultivares de trigo sob infecção de *Pyrenophora tritici-repentis* se deu as 96 HAI.

5. CONCLUSÕES

Dentre as cultivares fenotipadas nessa pesquisa, Tbio Toruk foi a mais suscetível à infecção de *Pyrenophora tritici-repentis*, por apresentar maiores valores de severidade e AACPD de mancha amarela.

A cultivar Tbio Sossego caracterizou-se como a mais tolerante aos danos causados pela mancha amarela, apresentando baixa taxa de progresso da doença.

A alteração na atividade enzimática do complexo antioxidante até 96 horas após a inoculação são indicadores bioquímicos capazes de classificar precocemente as cultivares de trigo quanto a sua sensibilidade à mancha amarela.

A detecção da alteração na atividade da enzima POD, após a inoculação com o patógeno, pode ser utilizada como indicador fenotípico para detecção precoce da infecção por *Pyrenophora tritici-repentis* na cultivar Tbio Toruk.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

12ª REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO E TRITICALE. **Informações técnicas para cultura do trigo e triticale safra 2019**. Brasília – DF. Embrapa, 2018. 240 p.

ABDULRIDHA, J. et al. A remote sensing technique for detecting laurel wilt disease in avocado in presence of other biotic and abiotic stresses. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 156, p. 549–557, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.12.018>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005.

AHMED, K. et al. Phenotyping for drought resistance in bread wheat using physiological and biochemical traits. **Science of the Total Environment**. v. 729, p. 139082, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139082>>. Acesso em: 05 jan.2021.

ALI, M. M. et al. Non-Destructive Techniques of Detecting Plant Diseases: A Review. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 108, 101426. Disponível em: <[doi:10.1016/j.pmp.2019.101426](https://doi.org/10.1016/j.pmp.2019.101426)>. Acesso em: 21 jan.2021.

AMORIM, L; BERGAMIN FILHO, A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed., v. 1, 2018, 573 p.

AMORIM, L; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos**. 4 ed. Vol. 1, São Paulo, Agronômica Ceres, 2011. 704 p.

ASTOLFI, G. et al. **Using syntactic methods and LSTM to the recognition of objects visual patterns**. In: Workshop De Visão Computacional, 15, 2019, São Bernardo do Campo. Anais [...]. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Computação, 2019. p. 79-84. Disponível em: <<https://doi.org/10.5753/wvc.2019.7632>>. Acesso em: 26 jan.2021.

AZADBAKHT, M. et al. Wheat leaf rust detection at canopy scale under different lai levels using machine learning techniques. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 156, p. 119–28, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.11.016>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

BACALTCHUK, B. et al. Características e cuidados com algumas doenças do trigo. **Embrapa Trigo**. v.6, p. 1–9, 2006.

BAI, G. et al. A multi-sensor system for high throughput field phenotyping in soybean and wheat breeding. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.128, p. 181–192, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2016.08.021>>. Acesso em: 12 nov.2020.

BALARDIN, R. S. et al. Influência do Fósforo e do Potássio na Severidade da Ferrugem da Soja *Phakopsora pachyrhizi*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 31, p. 462-467, 2006.

BANCAL, P. et al. Identifying traits leading to tolerance of wheat to *Septoria tritici* blotch. **Field Crops Research**, v. 180, p. 176–185, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2015.05.006>>. Acesso em: 12 fev.2021.

BARBEDO, J. G. A. Factors influencing the use of deep learning for plant disease recognition. **Biosystems engineering**, v. 172, p. 84-91, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2018.05.013>>. Acesso em: 26 jan.2021.

BARBEDO, J. G. A.; GODOY, C. V. **Automatic Classification of Soybean Diseases Based on Digital Images of Leaf Symptoms**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROINFORMÁTICA, 10., 2015, Ponta Grossa. Uso de VANTs e sensores para avanços no agronegócio: anais. Ponta Grossa: Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2015. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1028847/1/automatic.godoy.2015.pdf>>. Acesso em: 21 jan.2021.

BARROS, B. C.; CASTRO, J. L.; PATRÍCIO, F. R. A. Resposta de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) ao controle químico das principais doenças fúngicas da cultura. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 3, p. 239-246, 2006.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276-287, 1971.

BEDENDO, I. P.; AMORIM, L. Ambiente e doença. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**. 4 ed. São Paulo. Ceres, 2011. p. 133-147.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de Plantas Tropicais: epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Editora Ceres, 1996.

BHERING, L.L. Rbio: A tool for biometric and statistical analysis using the R platform. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.17, p. 187-190, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1984-70332017v17n2s29>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

BIOTRIGO. **Guia de Cultivares Tbio**. 2019. p. 36

BRAVO, C. et al. Early Disease Detection in Wheat Fields using Spectral Reflectance. **Biosystems Engineering**, v. 84, p. 137–145, 2003. Disponível em: <[doi:10.1016/s1537-5110\(02\)00269-6](https://doi.org/10.1016/s1537-5110(02)00269-6)>. Acesso em: 05 fev.2021.

BRUM, A. L.; HECK. C. R. A economia do trigo no rio grande do sul: breve histórico do cereal na economia do estado. **Análise**. v. 16, p. 29–44, 2005.

CAMILOTTI, G. A. et al. Fenotipagem de população de linhagens duplo-haploides de trigo quanto à resistência a *Magnaporthe oryzae*. In: **Mostra de pós-graduação da embrapa trigo**. Passo Fundo, p. 21, 2017.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. 1. ed. New York: John Wiley, 1990. 532 p.

CAMPONOGARA, A. et al. O atual contexto da produção de trigo no Rio Grande do Sul. **Revista eletrônica em gestão, educação e tecnologia ambiental**. v. 19, n. 2, p. 246-257, mai- ago. 2015. Disponível em: <doi: 105902/2236117015437>. Acesso em: 04 jan. 2021.

CAO, X. et al. Detection of powdery mildew in two winter wheat cultivars using canopy hyperspectral reflectance. **Crop Protection** v.45, p. 24–31, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2012.12.002>. Acesso em: 12 nov. 2020.

CASTRO, A.C.; SIMÓN, M.R. Effect of tolerance to Septoria tritici blotch on grain yield, yield components and grain quality in Argentinean wheat cultivars. **Crop Protect**, v. 90, p. 66–76, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.015>. Acesso em: 12 fev.2021.

CAVALCANTI, L. et al. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 263 p.

CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S. P. Antioxidant responses of wheat plants under stress. **Genetics and Molecular Biology**. v. 39, p. 1-6, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2015-0109>. Acesso em: 12 nov. 2020.

CHAERLE, L. et al. Monitoring and Screening Plant Populations with Combined Thermal and Chlorophyll Fluorescence Imaging. **Journal of Experimental Botany**. v.58, p. 773–784, 2007a. Disponível em: <doi:10.1016/j.jplph.2006.01.011>. Acesso em: 12 nov.2020.

CHAERLE, L. et al. Multicolor Fluorescence Imaging for Early Detection of the Hypersensitive Reaction to Tobacco Mosaic Virus. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 253–262, 2007b. Disponível em: <doi:10.1093/jxb/erl257>. Acesso em: 12 nov. 2020.

CHAERLE, L. et al. Thermal and Chlorophyll-Fluorescence Imaging Distinguish Plant-Pathogen Interactions at an Early Stage. **Plant and Cell Physiology**. v.45, p. 887–896, 2004.

CHAIRI, F. et al. Breeding effects on the genotype x environment interaction for yield of durum wheat grown after the Green Revolution: The case of Spain. **The Crop Journal**. v. 8, p. 623 – 634, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cj.2020.01.005>. Acesso em: 05 jan.2021.

CHEN, Y. et al. Crop root systems and rhizosphere interactions. **Plant Soil**. v. 439, p. 1–5, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04154-2>. Acesso em: 12 nov.2020.

COBB, J. N. et al. Next-Generation Phenotyping: Requirements and Strategies for Enhancing Our Understanding of Genotype-Phenotype Relationships and Its

Relevance to Crop Improvement. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 126, p. 867–87 2013. Disponível em: <DOI: 10.1007/s00122-013-2066-0>. Acesso em: 12 nov.2020.

COLLIN, F. et al. Wheat lines exhibiting variation in tolerance of *Septoria tritici* blotch differentiated by grain source limitation. **Field Crops Research**, v. 217, p. 1–10, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.11.022>>. Acesso em: 12 fev.2021.

CONAB. **Acompanhamento Da Safra Brasileira – Grãos: Safra 2020/21**, n.5 - Quinto levantamento, Brasília, p. 1-94, fevereiro 2021.

CSÉFALVAY, L. et al. Pre-Symptomatic Detection of *Plasmopara Viticola* Infection in Grapevine Leaves Using Chlorophyll Fluorescence Imaging. **European Journal of Plant Pathology**. v.125, p. 291–302, 2009. Disponível em: <DOI 10.1007/s10658-009-9482-7>. Acesso em: 12 nov.2020.

DAMM, A., L. et al. FLD-Based Retrieval of Sun-Induced Chlorophyll Fluorescence from Medium Spectral Resolution Airborne Spectroscopy Data. **Remote Sensing of Environment**. v.147, p. 256–266, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rse.2014.03.009>>. Acesso em: 12 nov.2020.

DAT, J. et al. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. **Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)**, v. 57, p. 779–795, 2000. Disponível em: < doi:10.1007/s000180050041>. Acesso em: 03 dez.2020.

DEBONA. D.; RODRIGUES, F. A. Alterações bioquímicas e estruturais em plantas induzidas após a detecção do patógeno. In. DALLAGNOL, L. J. **Resistência genética: de plantas a patógenos**. Pelotas: Ed. UFPel, Cap. 5. 2018. 437 p

DHONDT, S.; WUYTS, N.; INZÉ, D. Cell to Whole-Plant Phenotyping: The Best Is yet to Come. **Trends in Plant Science**. v.18, p. 428–439, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2013.04.008>>. Acesso em: 12 nov.2020.

DORNELES, K. R. et al. Silicon potentiates biochemical defense responses of wheat against tan spot. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 97, p. 69-78, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.01.001>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

EL-MOSHATY, et al. Lipid peroxidation and superoxide production in cowpea (*Vigna unguiculata*) leaves infected with tobacco ringspot virus or southern bean mosaic virus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 43, n. 2, p. 109-119, 1993.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 3ª ed, Embrapa. 2013. 353p.

FANTOZZI, E. et al. Conditional promoters to investigate gene function during wheat infection by *Zymoseptoria tritici*. *Fungal Genetics and Biology*, v. 146, 103487, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2020.103487>>. Acesso em: 05 fev.2021.

FAO. **Crop Prospects and Food Situation** - Quarterly Global Report No. 4. Rome. Dez.,2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.4060/cb2334en>>. Acesso em: 18 jan. 2021.

FAOSTAT. **Data Indicators**. Statistics Division - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data>>. Acesso em:12 fev. 2021.

FERENTINOS, K. P. Deep Learning Models for Plant Disease Detection and Diagnosis. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 145, p. 311–318, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.01.009>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

FERNANDEZ-GALLEGO et al. Low-cost assessment of grain yield in durum wheat using RGB images. *European Journal of Agronomy*, v. 105, p. 146–156, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eja.2019.02.007>>. Acesso em: 05 fev.2021.

FERREIRA, J. R. et al. Fenotipagem fina da resistência de trigo a *Magnaporthe oryzae*. In: **Mostra de pós-graduação da embrapa trigo**. Brasília, p. 51, 2016.

FEUSSNER, I.; POLLE, A. What the transcriptome does not tell — proteomics and metabolomics are closer to the plants' patho-phenotype. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 26, p. 26–31, 2015. Disponível em: <[doi:10.1016/j.pbi.2015.05.023](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.05.023)>. Acesso em: 05 fev.2021.

FISCHER, R. A. Breeding wheat for increased potential yield: Contrasting ideas from Donald and Fasoulas, and the case for early generation selection under nil competition. **Field Crops Research**. v. 252, p. 107782, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107782>>. Acesso em: 05 jan.2021.

FLETCHER, J. et al. Forensic plant pathology. **Microbial Forensics**, 3rd Edition, 2020. 49-70 p. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815379-6.00005-2>>. Acesso em: 26 jan.2021.

FLOR, H. H. Current status of the gene-for-gene concept. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.9, p.275-296, 1971.

FLOR, H. H. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. **Phytopathology**, Lancaster, v.32, p.653-659, 1942.

FOLEY, R. C. et al. Reactive Oxygen Species Play a Role in the Infection of the Necrotrophic Fungi, *Rhizoctonia solani* in Wheat. **PLoS ONE**. v. 11. p. 1-16, 2016. Disponível em: <[doi:10.1371/journal.pone.0152548](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152548)>. Acesso em: 12 nov. 2020.

FORCELINI, C. A. Doenças Fúngicas do trigo: resgatando os princípios de controle. In: **Tecnologias de produção para a cultura do trigo: atualidades técnicas 1**. Passo Fundo: Aldeia Norte. p. 55-60, 2005.

FRONZEK, S. et al. Classifying multi-model wheat yield impact response surfaces showing sensitivity to temperature and precipitation change. **Agricultural Systems**. V.159, p. 209–224, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2017.08.004>>. Acesso em: 04 jan. 2021.

GAJU, O. et al. Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and grain nitrogen concentration in wheat cultivars. **Field Crops Research**, v. 155, p. 213–223, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/J.FCR.2013.09.003>>. Acesso em: 29 jan.2021.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Purification and quantitative relationship with water-soluble protein in seedlings. **Journal of Plant Physiology**, v. 59, n.2, p. 315-318, 1977.

GUIMARÃES, C. M. et al. II simpósio sobre inovação e criatividade científica na Embrapa plataforma de fenotipagem para tolerância à deficiência hídrica. **Encarte de Informações Agrônomicas 1**. 2010.

HAN, T. et al. Providing a view for toxicity mechanism of tetracycline by analysis of the connections between metabolites and biologic endpoints of wheat. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 2012, 111998, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111998>>. Acesso em: 14 fev.2021.

HE, J. et al. Strip rotary tillage with subsoiling increases winter wheat yield by alleviating leaf senescence and increasing grain filling. **The Crop Journal**, v. 8, p. 327-340, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.08.007>>. Acesso em: 29 jan.2021.

HELDWEIN, A. B.; BURIOL, A. G.; STRECK, N. A. O clima de Santa Maria. **Ciência & Ambiente**, v.38, n. 1, p.43-58, 2009.

HENZLER, T.; STEUDLE, E. Transport and metabolic degradation of hydrogen peroxide in Chara corallina: model calculations and measurements with the pressure probe suggest transport of H₂O₂ across water channels. **Journal of Experimental Botany**, v.51, p. 2053 - 2066, 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/jexbot/51.353.2053>>. Acesso em: 26 jan.2021.

HISCOX, JD T.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian journal of Botany**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979.

HUANG, W. et al. Identification of Yellow Rust in Wheat Using In-Situ Spectral Reflectance Measurements and Airborne Hyperspectral Imaging. **Precision Agriculture**, v. 8, p. 187–97, 2007. Disponível em: <DOI:10.1007/s11119-007-9038-9>. Acesso em: 12 nov. 2020.

HUNT, J. R. et al. Opportunities to reduce heat damage in rain-fed wheat crops based on plant breeding and agronomic management. **Field Crops Research**. V. 224, p. 126–138, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.05.012>>. Acesso em: 04 jan. 2021.

ILYAS, N. et al. Quantitative trait loci (QTL) mapping for physiological and biochemical attributes in a Pasban90/Frontana recombinant inbred lines (RILs) population of wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress condition. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 27, p. 341-351, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.10.003>>. Acesso em: 14 fev.2021.

IQBAL, Z. et al. An Automated Detection and Classification of Citrus Plant Diseases Using Image Processing Techniques: A Review. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 153, p.12–32, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.07.032>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

JAMES, W. C. An Illustrated Series of Assessment Keys for Plant Diseases, Their Preparation and Usage'. **Canadian Plant Disease Survey**. v.51, p. 39–65, 1971.

JIA, D. et al. Alternate furrow irrigation improves grain yield and nitrogen use efficiency in winter wheat. **Agricultural Water Management**, v. 244, 106606, 2021. Disponível em: <[doi:10.1016/j.agwat.2020.106606](https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106606)>. Acesso em: 05 fev.2021.

JOEL, E. B. et al. Peroxidase from waste cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.) exhibits the potential to biodegrade phenol and synthetic dyes from wastewater. **Scientific African**, v. 10, e00608, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00608>>. Acesso em: 03 dez.2020.

JOHANNES, A. et al. Automatic Plant Disease Diagnosis Using Mobile Capture Devices, Applied on a Wheat Use Case. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 138, p. 200–209, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2017.04.013>>. Acesso em: 12 nov.2020.

JØRGENSEN, L. N.; OLSEN, L. V. Control of Tan Spot (*Drechslera Tritici-Repentis*) Using Cultivar Resistance, Tillage Methods and Fungicides. **Crop Protection** v. 26, p. 1606–1616, 2007. Disponível em: <[doi:10.1016/j.cropro.2007.01.009](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.01.009)>. Acesso em: 12 nov. 2020.

JULIANA, P. et al. Comparison of Models and Whole-Genome Profiling Approaches for Genomic-Enabled Prediction of Septoria Tritici Blotch, Stagonospora Nodorum Blotch, and Tan Spot Resistance in Wheat. **The Plant Genome**. v. 10, p. 1-16, 2017. Disponível em: <[doi:10.3835/plantgenome2016.08.0082](https://doi.org/10.3835/plantgenome2016.08.0082)>. Acesso em: 12 nov. 2020.

KALISCHUK, M. L.; ROBERTS, P. D.; PARET, M. L. A rapid fluorescence-based real-time isothermal assay for the detection of Cucurbit yellow stunting disorder virus in squash and watermelon plants. **Molecular and Cellular Probes**. V. 53, p. 101613, 2020. Disponível em: <[doi:https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101613](https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101613)>. Acesso em: 05 jan.2021.

KANG, H. et al. Rapid detection of wheat blast pathogen *magnaporthe oryzae* triticum pathotype using genome-specific primers and Cas12a-mediated technology. **Engineering**, 2020. Disponível em: <[doi:10.1016/j.eng.2020.07.016](https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.07.016)>. Acesso em: 12 fev.2021.

KANNAUJIA, R. et al. Phyllanthus emblica fruit extract stabilized biogenic silver nanoparticles as a growth promoter of wheat varieties by reducing ROS toxicity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 142, p. 460–471, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.08.008>>. Acesso em: 14 fev.2021.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. **Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses**. R package. Version 1. 2019. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/factoextra/index.html>>. Acesso em: 10 dez. 2020.

KHALEDI, N.; TAHERI, P.; RASTEGAR, M. F. Identification, virulence factors characterization, pathogenicity and aggressiveness analysis of Fusarium spp., causing wheat head blight in Iran. **European Journal of Plant Pathology**. v. 147, p. 897–918, 2016. Disponível em: <[doi:10.1007/s10658-016-1059-7](https://doi.org/10.1007/s10658-016-1059-7)>. Acesso em: 12 nov. 2020.

KIPP, S. et al. High-throughput phenotyping early plant vigour of winter wheat. **European Journal of Agronomy**. v.52, p. 271-278, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eja.2013.08.009>>. Acesso em: 12 nov.2020.

KRANZ, J. (Ed.) **Epidemics of plant diseases: mathematical analysis and modeling**. Ecological Studies, Vol. 13, 2nd ed. 1990. 268 p.

KREMNEVA et al. Resistance of winter wheat varieties to tan spot in the North Caucasus region of Russia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.021>>. Acesso em: 21 jan.2021.

LARGE, E. C. Growth stage in cereals: illustration of the Feekes scale. **Plant Pathology**, v. 3, p. 128-129, 1954.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**, v. 25, p. 1-18, 2008.

LEHMANN, S. et al. Reactive oxygen species and plant resistance to fungal pathogens. **Phytochemistry**. v. 112, p. 54-62, 2015.

LENAERTS. B.; COLLARD, B. C. Y.; DEMONT, M. Review: Improving global food security through accelerated plant breeding. **Plant Science**. v. 287, 110207, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110207>>. Acesso em: 04 jan. 2021.

LI, C. et al. Reactive oxygen species are involved in cell death in wheat roots against powdery mildew. **Journal of Integrative Agriculture**. v.18(9), p. 1961–1970, 2019. Disponível em: <[doi:10.1016/S2095-3119\(18\)62092-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62092-1)>. Acesso em: 04 jan. 2021.

LI, H. et al. Identification and expression analysis of some wheat F-box subfamilies during plant development and infection by Puccinia triticina. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 155, p. 535-548, 2020c. Disponível em: <[doi:10.1016/j.plaphy.2020.06.040](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.06.040)>. Acesso em: 05 fev.2021.

LI, X. et al. Biotic and abiotic stress-responsive genes are stimulated to resist drought stress in purple wheat. **Journal of Integrative Agriculture**. v. 19, p. 33–50, 2020b. Disponível em: <doi:10.1016/S2095-3119(19)62659-6>. Acesso em: 04 jan. 2021.

LI, Z. et al. A review of computer vision technologies for plant phenotyping. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 176, p. 105672, 2020a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105672>. Acesso em: 04 jan. 2021.

LIAW, A.; WIENER, M. Classification and Regression by Randomforest. **R News**, v.2, p. 18-22, 2002. Disponível em: <http://CRAN.R-project.org/doc/Rnews/>. Acesso em: 05 jul. 2020.

LIBERATO, J. R. **Desenvolvimento e avaliação do software quant para quantificação de doenças de plantas por análise de imagens**. 2003. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and Carotenoids - pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v.148, p.350-382, 1987.

LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiol**, v. 127, p. 1781-1787, 2001.

MACIEL, J. L. N; DANELLI, A. L. D. CAPÍTULO 8: Resistência genética de plantas a fungo. In. DALLAGNOL, L. J. **Resistência genética: de plantas a patógenos**. Pelotas: Ed. UFPel, 2018. 359-393 p.

MACLEAN, D. E. et al. Fungicide Application at Anthesis of Wheat Provides Effective Control of Leaf Spotting Diseases in Western Canada. **Crop Protection**. v. 112, p. 343–349, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.06.019>. Acesso em: 12 nov. 2020.

MACLEAN, D. E. et al. Fungicide application at anthesis of wheat provides effective control of leaf spotting diseases in western Canada. **Crop Protection**, v. 112, p. 343–349, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.06.019>. Acesso em: 12 fev.2021.

MADADKHAH, E. et al. Enzymatic activities in roots of melon genotypes infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis race 1. **Scientia Horticulturae**, v. 135, p. 171–176, 2012. Disponível em: <doi:10.1016/j.scienta.2011.11.020>. Acesso em: 03 dez.2020.

MAHLEIN, A. K. Present and Future Trends in Plant Disease Detection. **Plant Disease**. v. 100, p. 1–11, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0340-FE>. Acesso em: 12 nov. 2020.

MANAVALAN, R. Automatic identification of diseases in grains crops through computational approaches: A review. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.

178, 105802, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105802>>. Acesso em: 21 jan.2021.

MATZEN, N. et al. Grain quality in wheat—Impact of disease management. **European Journal of Agronomy**, v. 103, p. 152–164, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.eja.2018.12.007>>. Acesso em: 12 fev.2021.

MEDEIROS, R. B.; FERREIRA, M. A. S. V.; DIANESE, J. C. **Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta-patógeno**. Brasília, Editora UNB, 2003.

MITTLER, R. et al. Reactive oxygen gene network of plants. **Trends in Plant Science**, v. 9, p. 490-498, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>>. Acesso em: 26 jan.2021.

MOGHIMI, A. et al. A Novel Machine Learning Approach to Estimate Grapevine Leaf Nitrogen Concentration Using Aerial Multispectral Imagery. **Remote sensing**. v. 12, p. 3515, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/rs12213515>>. Acesso em: 12 nov.2020.

MORKUNAS, I.; GMEREK, J. The possible involvement of peroxidase in defense of yellow lupine embryo axes against *Fusarium oxysporum*. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, p. 185 - 194, 2007. Disponível em: <[doi:10.1016/j.jplph.2005.11.005](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.11.005)>. Acesso em: 03 dez.2020.

MUJEEB-KAZI, A. et al. Breeding Strategies for Structuring Salinity Tolerance in Wheat. **Advances in Agronomy**. v.155, p.121-187, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/bs.agron.2019.01.005>>. Acesso em: 12 nov.2020.

MUTKA, A M. et al. Quantitative, Image-Based Phenotyping Methods Provide Insight into Spatial and Temporal Dimensions of Plant Disease. **Plant Physiology**. v.172, p. 650-660, 2016.

MUTKA, A. M.; BART, R. S. Image-Based Phenotyping of Plant Disease Symptoms. **Frontiers in Plant Science**. v. 5, p. 1–8, 2015. Disponível em: <[doi:10.3389/fpls.2014.00734](https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00734)>. Acesso em: 12 nov.2020.

NAGY, É. et al. Phenotyping for testing drought tolerance on wheat varieties of different origins. **South African Journal of Botany**. v.116, p.216–221, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.03.009>>. Acesso em: 12 nov.2020.

NAVARINI, L.; BALARDIN, R.S. Doenças foliares e o controle por fungicidas na produtividade e qualidade de grãos de trigo. **Summa Phytopathologica**,

NEHE, A. S. et al. Nitrogen partitioning and remobilization in relation to leaf senescence, grain yield and protein concentration in Indian wheat cultivars. **Field Crops Research**, v. 251, 107778, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107778>>. Acesso em: 29 jan.2021.

- NEWTON, A. C. et al. Pathogenesis, parasitism and mutualism in the trophic space of microbe–plant interactions. **Trends in Microbiology**. v. 18, p. 365–373, 2010. Disponível em: <doi:10.1016/j.tim.2010.06.002>. Acesso em: 12 nov. 2020.
- OMARA, R. I. et al. Efficacy of certain bioagents on patho-physiological characters of wheat plants under wheat leaf rust stress. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 106, p. 102-108, 2019. Disponível em: <doi:10.1016/j.pmpp.2018.12.010>. Acesso em: 05 fev.2021.
- Optical Sensors. **APCBEE Procedia**, v. 8, p. 199 – 203, 2014. Disponível em: < doi: 10.1016/j.apcbee.2014.03.027>. Acesso em: 05 fev.2021.
- PANISSON, E. et al. Técnicas de aplicação de fungicida em trigo para o controle de giberela (*Gibberella zeae*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.1, p.13-20, 2003.
- PASCHOLATI, S. F.; et al. **Interação planta-patogeno: fisiologia, biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 627 p.
- PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como os patógenos atacam as plantas. In: Amorim, L. et al. (ed). **Manual de Fitopatologia**. Vol. 1. 4 ed. São Paulo, Ed. Agr. Ceres, 2011. p. 543-591.
- PEREIRA, E. A. et al. Variabilidade genética de caracteres forrageiros em *Paspalum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 10, p. 1533-1540, 2012.
- PÉREZ-RUIZ, M. et al. Development and evaluation of a self-propelled electric platform for highthroughput field phenotyping in wheat breeding trials. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 169, p. 105237, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105237>. Acesso em: 12 nov.2020.
- PERIPOLLI, M.; MARTINELLI, J. A.; DELATORRE, C. A. Avaliação da agressividade e da diversidade genética de *Sclerotinia sclerotiorum* em tabaco no sul do Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.2, p.170-177, 2018. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/172537>. Acesso em: 05 fev.2021.
- PIÑERA-CHAVEZ, F. J. et al. Optimizing phenotyping methods to evaluate lodging risk for wheat. **Field Crops Research**. v. 258, p. 107933, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107933>. Acesso em: 12 nov.2020
- PIRES, J. L. F. et al. Uso de sensor óptico ativo para caracterização do perfil de NDVI em dosséis de trigo submetidos a diferentes estratégias de manejo. In: BERNARDI, A. C. C. et al. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. Cap. 25, p. 279-286.
- PITTNER, E. et al. Defense responses of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) against brown spot as a result of possible elicitors application. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 86, p. 1-16, 2019. Disponível em: <doi:10.1590/1808-1657000312017>. Acesso em: 12 nov. 2020.

PRASAD, P. et al. The progress of leaf rust research in wheat. *Fungal Biology*. v. 124, p. 537-550, 2020. Disponível em: <doi:10.1016/j.funbio.2020.02.013>. Acesso em: 05 fev.2021.

PRESTES, A. M.; DOS SANTOS, H. P.; REIS, E. M. Práticas culturais e incidência de manchas foliares em trigo. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 37, n. 6, p. 791-797, 2002.

QI, T. et al. Stripe Rust Effector PstGSRE1 Disrupts Nuclear Localization of ROS-Promoting Transcription Factor TaLOL2 to Defeat ROS-Induced Defense in Wheat. **Molecular Plant**, v. 12 p. 1624-1638, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.09.010.>. Acesso em: 26 jan.2021.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2020. Disponível em: <https://www.r-project.org>. Acesso em: 05 jul. 2020.

RANHOTRA, G. S. Wheat: contribution to world food supply and human nutrition. In. BUSHUK W. et al. (Ed) **Wheat**. Chapman & Hall, 1994. 12–24 p. Disponível em: <doi:10.1007/978-1-4615-2672-8_2>. Acesso em: 18 jan. 2021.

RATERIA, A. et al. Investigation of Puccinia Triticina Contagion on Wheat Leaves Using Swept Source Optical Coherence Tomography. **Optik**. v. 178, p. 932–937, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2018.10.005>. Acesso em: 12 nov. 2020.

RAY, D. K. et al. Yield Trends Are Insufficient to Double Global Crop Production by 2050. **PLoS ONE** v. 8, e66428, 2013. Disponível em: <doi:10.1371/journal.pone.0066428>. Acesso em: 12 fev. 2021.

REIS, E. M.; CASA, R. T. DOENÇAS DO TRIGO. In: KIMATI, H. et al. (Ed.) A. **Manual de Fitopatologia** – Volume 2. 4 ed. São Paulo. Ceres, p. 631-638, 2005.

REIS, E. M.; CASA, R. T. **Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle**. 2.ed. Lages. Graphel, 2007. 176 p.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; MEDEIROS, C. A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Londrina. ES Comunicação, 2001. 94p.

REZZOUK, F. Z. et al. Remote sensing techniques and stable isotopes as phenotyping tools to assess wheat yield performance: effects of growing temperature and vernalization. **Plant Science**. v.295, p. 110281, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110281>. Acesso em: 12 nov.2020.

RIOS, J. A. et al. Effects of blast on components of wheat physiology and host resistance. **Plant Pathology**, v. 66, p. 877–889, 2017. Disponível em: <Doi: 10.1111/ppa.12634>. Acesso em: 12 fev.2021.

SADRAS, V. O.; REBETZKE, G. J.; EDMEADES, G. O. The Phenotype and the Components of Phenotypic Variance of Crop Traits. **Field Crops Research**. v. 154, p. 255–259, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fcr.2013.10.001>>. Acesso em: 12 nov.2020.

SANKARAN, S.; KHOT, L. R.; CARTER, A. H. Field-based crop phenotyping: Multispectral aerial imaging for evaluation of winter wheat emergence and spring stand. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.118, p. 372–379, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2015.09.001>>. Acesso em: 12 nov.2020.

SANTANA, F. M. **Avaliação da eficiência de controle de mancha amarela em duas linhagens de trigo da Embrapa Trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. 12 p.

SANTANA, F. M.; CLEBSCH, C. C.; FRIESEN, T. L. **Caracterização de raças de Pyrenophora tritici-repentis, agente etiológico da mancha amarela do trigo, no sul do Brasil**. Embrapa Trigo. 2008.

SANTANA, F. M.; FRIESEN, T. L. **Mancha amarela do trigo: caracterização de raças**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 14 p.

SANTOS, T. T.; YASSITEPE, J. E. C. T. Fenotipagem de plantas em larga escala: um novo campo de aplicação para a visão computacional na agricultura. In: MASSRUHÁ, S. M. F. S. et al. (Ed.). **Tecnologias da informação e comunicação e suas relações com a agricultura**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. Cap. 5. p. 85-100.

SARKAR, S. et al. Tolerance mechanisms for breeding wheat against heat stress: A review. **South African Journal of Botany**, v. 138, p. 1 – 16, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.01.003>>. Acesso em: 03 mar.2021.

SCHIERENBECK, M. et al. Combinations of Fungicide Molecules and Nitrogen Fertilization Revert Nitrogen Yield Reductions Generated by Pyrenophora Tritici-Repentis Infections in Bread Wheat. **Crop Protection**. v. 121, p. 173–181, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.04.004>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

SCHWALBERT, R. A. et al. Satellite-based soybean yield forecast: Integrating machine learning and weather data for improving crop yield prediction in southern Brazil. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 284, 107886, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2019.107886>>. Acesso em: 05 fev.2021.

SERRAGO, R. A. et al. Foliar diseases affect the eco-physiological attributes linked with yield and biomass in wheat (*Triticum aestivum* L.). **European Journal of Agronomy**, v. 31, p. 195–203, 2009. Disponível em: <[doi:10.1016/j.eja.2009.06.002](https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.06.002)>. Acesso em: 12 fev.2021.

SERRAGO, R. A. et al. Grain weight response to foliar diseases control in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Field Crops Research**, v. 120, p. 352–359, 2011. Disponível em: <[doi:10.1016/j.fcr.2010.11.004](https://doi.org/10.1016/j.fcr.2010.11.004)>. Acesso em: 12 fev.2021.

SHARMA, P. et al. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, Article ID 217037, 26 p, 2012. Disponível em: <doi:10.1155/2012/217037>. Acesso em: 14 fev.2021.

SHEN, Y. et al. Carotenoid and superoxide dismutase are the most effective antioxidants participating in ROS scavenging in phenanthrene accumulated wheat leaf. **Chemosphere**, v. 197, p. 513–525, 2018. Disponível em: <doi:10.1016/j.chemosphere.2018.01.036>. Acesso em: 12 fev.2021.

SHEN, Y. et al. Detection of impurities in wheat using terahertz spectral imaging and convolutional neural networks. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 181, 105931, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105931>. Acesso em: 10 mar.2021.

SHI, Y. et al. Detection and discrimination of pests and diseases in winter wheat based on spectral indices and kernel discriminant analysis. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 141, p. 171–180, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2017.07.019>. Acesso em: 12 nov.2020.

SHIFERAW, B. et al. Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. **Food Security**, v. 5 p. 291–317, 2013. Disponível em: <doi: 10.1007/s12571-013-0263-y>. Acesso em: 18 jan. 2021.

SINGH, A. Challenges and Opportunities in Machine-Augmented Plant Stress Phenotyping. **Trends in Plant Science**, v. 26, p. 53-69, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.07.010>. Acesso em: 26 jan.2021.

SISTEMA OCEPAR. Estimativa dos custos de recepção, limpeza e secagem do trigo e milho safrinha - safra/2012. **Informe Agroeconômico nº: 426/12**, p. 1-14, 2012.

SORAHINOBAR, M. et al. Differential antioxidative responses of susceptible and resistant wheat cultivars against Fusarium head blight. **International Journal of Farming and Allied Sciences**, v. 4, p. 239–243, 2015. Disponível em: <http://ijfas.com/wp-content/uploads/2015/03/239-243.pdf>. Acesso em: 03 dez.2020.

SOUZA, C. A. F. et al. Nova abordagem para a fenotipagem de plantas: conceitos, ferramentas e perspectivas. **Revista Brasileira de Geografia Física** V. 08, p. 660-672, 2015.

SOUZA, C. A. F. **Fenotipagem de plantas: As novas técnicas que estão surgindo para atender aos desafios atuais e futuros**. Brasília, DF. Embrapa Agroenergia. 2014. 6 p.

SPANIC, V. et al. Early response of wheat antioxidant system with special reference to Fusarium head blight stress, **Plant Physiology et Biochemistry**, v. 115, p. 34-43, 2017. Disponível em: <doi: 10.1016/j.plaphy.2017.03.010>. Acesso em: 29 jan.2021.

- SUMMERELL, B. A; BURGESS, L. W. Factors influencing survival of *Pyrenophora tritici-repentis*: water potential and temperature. **Mycological Research**. v. 93, p. 41-46, 1989.
- TANG, C. et al. Understanding the lifestyles and pathogenicity mechanisms of obligate biotrophic fungi in wheat: The emerging genomics era. **The Crop Journal**. v. 6, p. 60-67, 2018.
- TAPIADOR, F. J; MORENO, R.; NAVARRO, A. Consensus in climate classifications for present climate and global warming scenarios. **Atmospheric Research**. v. 216, p. 26-36, 2019. Disponível em: <doi:10.1016/j.atmosres.2019.05.022>. Acesso em: 12 nov. 2020.
- TENLLADO, F.; CANTO, T. Effects of a changing environment on the defenses of plants to viruses. **Current Opinion in Virology**, v. 42, p. 40–46, 2020. Disponível em: < doi:10.1016/j.coviro.2020.04.007>. Acesso em: 12 fev.2021.
- THISTLETHWAITE, R. J. et al. A phenotyping strategy for evaluating the high-temperature tolerance of wheat. **Field Crops Research**. v.255, 107905, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2020.107905>. Acesso em: 12 nov.2020.
- TISCHLER, Y. K.; THIESSEN, E.; HARTUNG, E. Early optical detection of infection with brown rust in winter wheat by chlorophyll fluorescence excitation spectra. **Computers and Electronics in Agriculture**. V. 146, p. 77–85, 2018. Disponível em: < https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.01.026>. Acesso em: 04 jan. 2021.
- TORMEN, N. R. et al. Reação de cultivares de trigo à ferrugem da folha e mancha amarela e responsividade a fungicidas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.2, p.239-246, fev, 2013.
- TSIALTAS, J. T.; THEOLOGIDOUA, G. S.; KARAOGLANIDISB, G. S. Effects of pyraclostrobin on leaf diseases, leaf physiology, yield and quality of durum wheat under Mediterranean conditions. **Crop Protection**, v. 113, p. 48–55, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.07.008>. Acesso em: 12 fev.2021.
- UARROTA, V. G. et al. The role of ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase, and polysaccharides in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) roots under postharvest physiological deterioration. **Food Chemistry**, v. 197, p. 737–746, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.025>. Acesso em: 14 fev.2021.
- USDA. Department of Agriculture of United States. Natural Resources Conservation Service. Soil Survey Staff. **Keys to soil taxonomy**. 12th ed. Washington, DC, 2014. 360 p.
v.38, n.4, p.294-299, 2012. Disponível em:
<https://www.scielo.br/pdf/sp/v38n4/04.pdf>. Acesso em: 05 fev.2021.
- VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. **Epidemiologia de doenças de plantas**. Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior – ABEAS. Viçosa, MG, UFV, 2005, 95p.

VAN DOORN, W. G.; KETSA, S. Cross reactivity between ascorbate peroxidase and phenol (guaiaicol) peroxidase. **Postharvest Biology and Technology**, v. 95, p. 64 – 69, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.04.002>>. Acesso em: 03 dez.2020.

VANDERPLANK, J. E. **Plant Disease: Epidemics and Control**. Academic Press, New York, 1963. 349 p.

WANG, X. et al. The role of reactive oxygen species in the virulence of wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina*. **Environmental Microbiology**. v. 22, p. 2956–2967, 2020. Disponível em: <[doi:10.1111/1462-2920.15063](https://doi.org/10.1111/1462-2920.15063)>. Acesso em: 12 nov. 2020.

WANG, Y. et al. Early Detection of Fungal Diseases in Winter Wheat by Multi-

WATRY, H.; ZERKLE, A.; LAUDENCIA-CHINGCUANCO, D. Modified acid-PAGE method for rapid screening and phenotyping of wheat gliadin mutant lines.

MethodsX. v.7, 100858, 2020. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.100858>>. Acesso em: 12 nov.2020.

WU, T. et al. The wheat receptor-like cytoplasmic kinase TaRLCK1B is required for host immune response to the necrotrophic pathogen *Rhizoctonia cerealis*. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 19, p. 2616–2627, 2020. Disponível em: <[doi:10.1016/S2095-3119\(20\)63160-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63160-4)>. Acesso em: 12 fev.2021.

YIN, S. et al. Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Coordinately Regulate the Germination of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* Urediniospores. **Frontiers in Microbiology**. v. 23, p. 1-11, 2016. Disponível em:

<<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00178>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

ZERAIK, A. E. et al. Desenvolvimento de Um Spot Test Para o Monitoramento Da Atividade Da Peroxidase Em Um Procedimento de Purificação. **Química Nova**, v. 31, p. 731–734, 2008.

ZHANG, J. C. et al. Detecting Powdery Mildew of Winter Wheat Using Leaf Level Hyperspectral Measurements. **Computers and Electronics in Agriculture** v. 85, p. 13–23, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2012.03.006>>. Acesso em: 12 nov. 2020.

ZHANG, P. et al. Change of Defensive-related Enzyme in Wheat Crown Rot Seedlings Infected by *Fusarium graminearum*. **Cereal Research Communications**, v. 41, p. 431- 439, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1556/CRC.2013.0014>>. Acesso em: 29 jan.2021.

ZHOU, B. et al. Low-cost assessment of wheat resistance to yellow rust through conventional RGB images. **Computers and Electronics in Agriculture**. v. 116 p. 20–29, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2015.05.017>>. Acesso em: 05 jan.2021.