

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
CURSO DE MESTRADO EM AGRONOMIA

LILIAN SCHAFASCHECK

DISSIMILARIDADE GENÉTICA, ADAPTABILIDADE E ESTABILIDADE DE
GENÓTIPOS DE TRIGO

PONTA GROSSA
2015

LILIAN SCHAFASCHECK

DISSIMILARIDADE GENÉTICA, ADAPTABILIDADE E ESTABILIDADE DE
GENÓTIPOS DE TRIGO

Dissertação apresentada para a obtenção do
título de Mestre em Agronomia na
Universidade Estadual de Ponta Grossa,
área de concentração Agricultura.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello

PONTA GROSSA

2015

Ficha Catalográfica
Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG

S296 Schafascheck, Lilian
Dissimilaridade genética,
adaptabilidade e estabilidade de genótipos
de trigo/ Lilian Schafascheck. Ponta
Grossa, 2015.
79f.

Dissertação (Mestrado em Agronomia -
Área de Concentração: Agricultura),
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues
Matiello.

1.Caracteres agronômicos. 2.Marcadores
moleculares. 3.Rendimento de grãos.
I.Matiello, Rodrigo Rodrigues. II.
Universidade Estadual de Ponta Grossa.
Mestrado em Agronomia. III. T.

CDD: 633.11



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

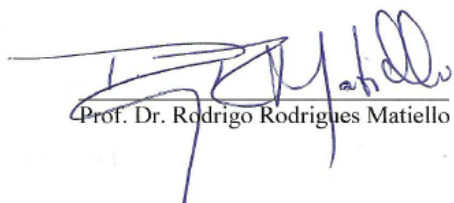
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação: “Dissimilaridade genética, adaptabilidade e estabilidade de genótipos de trigo”.

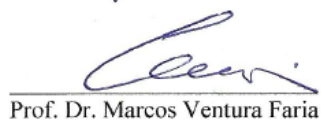
Nome: Lilian Schafascheck

Orientador: Rodrigo Rodrigues Matiello

Aprovado pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello



Prof. Dr. Marcos Ventura Faria



Prof. Dr. José Raulindo Garding

Data da Realização: 10 de dezembro de 2015.

Ao meu pai, minha mãe e minhas irmãs.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, por toda a orientação durante todas as etapas da minha vida, principalmente nos momentos mais difíceis.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao curso de pós-graduação em Agronomia, pela oportunidade de aprendizado através de sua estrutura e equipe.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Mestrado.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello, pela orientação, confiança, conhecimentos transmitidos e por toda a ajuda e dedicação no decorrer do mestrado.

Ao Prof. Dr. Carlos Tadeu Santos Dias pelo auxílio nas análises e estar sempre disposto a ajudar.

Aos meus pais amados, Edézio e Odete, pelo amor, incentivo e apoio incondicional em toda a minha vida, sem o qual não estaria aqui, amo vocês.

As minhas irmãs Aline e Jéssica, por serem minhas amigas confidentes, conselheiras, por todo carinho e amor.

Ao meu namorado Franco, pela compreensão, carinho e amor.

Aos queridos amigos do Laboratório de Genética Molecular: Caroline de Jesus Coelho, Cristiane Romanek, Brenda Luiza, Franciele Richardt, Guilherme S. Schulze, Renato Bombardeli, Thiago Portes e Danilo Guimarães, por todo o auxílio na execução do trabalho, pela amizade e pelos momentos alegres que passamos juntos.

A todos aqueles que de alguma maneira contribuíram na realização desta conquista e não foram aqui citados, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O melhoramento genético de trigo inicia com a seleção dos parentais para compor os blocos de cruzamentos, visando populações segregantes com alto potencial produtivo e divergente, até a avaliação da adaptabilidade e estabilidade fenotípica nas diferentes regiões tritícolas. Diante disso, os objetivos deste trabalho foram estimar a dissimilaridade genética entre genótipos de trigo através da caracterização agrônômica, da genotipagem molecular e do coeficiente de parentesco, realizar a análise de agrupamento dos genótipos por meio de métodos estatísticos multivariados, bem como avaliar a adaptabilidade e estabilidade fenotípica através da metodologia GGE biplot. Foram avaliadas 43 novas linhagens de trigo desenvolvidas pelo programa de melhoramento da UEPG e a cultivar comercial Safira®. A dissimilaridade genética entre os genótipos foi obtida a partir da Distância Quadrada Generalizada de Mahalanobis (D^2) através de sete características agrônômicas, do coeficiente de parentesco (COP) e do índice de Jaccard para os marcadores SSR e AFLP. Os genótipos de trigo foram agrupados de acordo com a dissimilaridade genética através dos métodos UPGMA e da análise de componentes principais (ACP). A análise de componentes principais (ACP) possibilitou a redução do conjunto de sete variáveis em três componentes principais, explicando 67% da variância fenotípica total. Os coeficientes dos autovetores indicaram que o CP1 foi mais relacionado a qualidade de grãos (peso de mil grãos e peso do hectolitro) e ao ciclo vegetativo. O CP2 em maior parte foi influenciado pelo rendimento de grãos (48,4%) e o CP3 associado negativamente com a estatura de plantas (72,08%). A análise CP permitiu a identificação de diferentes grupos de genótipos de trigo a partir da caracterização agrônômica. Os dendrogramas obtidos da genotipagem molecular (SSR e AFLP) e da caracterização agrônômica demonstraram a formação de oito grupos, enquanto pelo coeficiente de parentesco apenas cinco grupos de genótipos. As correlações cofenéticas entre as matrizes de dissimilaridade genética foram baixas. Apesar disso, as metodologias de análise foram eficientes em estimar a dissimilaridade genética entre os genótipos e possibilitaram destacar as linhagens de trigo que evidenciaram desempenho agrônômico superior. Para estimar a adaptabilidade e estabilidade os genótipos de trigo foram avaliados nas safras de 2010, 2011 e 2012 em Ponta Grossa, para as características estatura de planta, ciclo reprodutivo e rendimento de grãos. A partir dos resultados da análise gráfica, foi possível identificar os genótipos ideais, caracterizados pela alta adaptação agrônômica e estabilidade fenotípica. As linhagens do programa de melhoramento da UEPG L8, L15, L17, L31, L34, L38 e L40 evidenciaram alta adaptação agrônômica e estabilidade fenotípica para o rendimento de grãos. Esse grupo de linhagens de trigo apresentou potencial produtivo superior a cultivar comercial Safira®, tornando-as no futuro fortes candidatas como novas cultivares comerciais recomendadas para o município de Ponta Grossa.

Palavras-chave: Caracteres agrônômicos. Marcadores moleculares. Rendimento de grãos.

ABSTRACT

The wheat breeding starts with the selection of the parent to make the crossing blocks, aiming at segregating populations with high yield potential and divergent, to evaluate the adaptability and phenotypic stability in different wheat regions. Therefore, the objectives of this study were to estimate the genetic dissimilarity among wheat genotypes through agronomic characterization, molecular genotyping and coefficient parentage, cluster analyses of genotypes by means of multivariate statistical methods, and to evaluate the adaptability and phenotypic stability by GGE biplot methodology. It was evaluated 43 new wheat lines developed by the breeding program of UEPG and cultivar commercial Safira[®]. The genetic dissimilarity among the genotypes was obtained from the Generalized Mahalanobis Square Distance (D^2) through seven agronomic traits, coefficient parentage (COP) and Jaccard index for SSR and AFLP markers. The genotypes were grouped according to the genetic dissimilarity through the UPGMA and principal component analysis (PCA) methods. The principal component analysis (PCA) enabled the reduction the set of seven variables on three principal components, explaining 67% of the total phenotypic variance. The coefficients of the eigenvectors indicated that the CP1 was more related to grain quality (thousand kernels weight and weight hectoliter) and the vegetative cycle. CP2 in most was influenced by the grain yield (48.4%) and CP3 negatively associated with the plant height (72.08%). CP analysis allowed the identification of groups of different wheat genotypes through agronomic characteristics. The dendrograms obtained through molecular genotyping (SSR and AFLP) and agronomic characterization demonstrated the formation of eight groups, while the coefficient parentage only five groups of genotypes. The cophenetic correlations between the matrices of genetic dissimilarity were low. Nevertheless, the analysis methods were efficient in estimating the genetic dissimilarity among the genotypes and enabled highlight wheat lines which showed higher agronomic performance. To estimate the adaptability and stability of wheat genotypes were evaluated in crops 2010, 2011 and 2012 in Ponta Grossa, for characteristics plant height, reproductive cycle and grain yield. From the results of the graphical analysis, it could identify the ideals genotypes characterized by high agronomic adaptation combined with phenotypic stability. The lines of the UEPG program L8, L15, L17, L31, L34, L38 and L40 showed high adaptation agronomic and phenotypic stability for grain yield. This group of wheat lines showed higher potential productive than that commercial cultivar Safira[®], making them strong candidates in the future as new commercial cultivars recommended for the municipality of Ponta Grossa.

Keywords: Agronomic traits. Molecular markers. Grain yield.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Escores dos 44 genótipos de trigo (43 linhagens e a cultivar Safira®) para os três primeiros componentes principais. Ponta Grossa, 2015..... 35
- Figura 2 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através dos dados da genealogia. Ponta Grossa, 2015..... 40
- Figura 3 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através do marcador SSR. Ponta Grossa, 2015..... 41
- Figura 4 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através do marcador AFLP. Ponta Grossa, 2015..... 43
- Figura 5 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através dos caracteres agrônômicos. Ponta Grossa, 2015..... 44
- Figura 6 - Caracterização das linhagens de trigo por componentes principais (CP1 e CP2). (A) Visualização do polígono formado pela análise GGE biplot (“wich-won-were”). (B) AEC (“average environment coordination”) mostrando a performance média e estabilidade dos 44 genótipos de trigo em função do rendimento de grãos em kg ha⁻¹ nas safras 2010, 2011 e 2012. Ponta Grossa, 2015..... 60
- Figura 7 - Caracterização das linhagens de trigo de acordo com os componentes principais (CP1 e CP2). (A) Visualização do polígono formado pela análise GGE biplot (“wich-won-were”). (B) AEC (“average environment coordination”) mostrando a performance média e estabilidade para 44 genótipos de trigo em função da característica ciclo reprodutivo em dias. Ponta Grossa, 2015..... 64
- Figura 8 - Caracterização das linhagens de trigo de acordo com os componentes principais (CP1 e CP2). (A) Visualização do polígono formado pela análise GGE biplot (“wich-won-were”). (B) AEC (“average environment coordination”) mostrando a performance média e estabilidade para 44 genótipos de trigo em função da característica estatura de plantas. Ponta Grossa, 2015..... 66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Genealogia dos genótipos de trigo utilizados nos experimentos de caracterização agrônômica e de genotipagem molecular. Ponta Grossa, 2015.....	32
Tabela 2 - Estimativas dos autovalores λ_j associados aos componentes principais, importância relativa (λ_j %) e a variância fenotípica total acumulada (%). Ponta Grossa, 2015.....	33
Tabela 3 - Autovetores dos três primeiros componentes principais e importância relativa de cada variável fenotípica para a formação do componente principal. Ponta Grossa, 2015.....	34
Tabela 4 - Locus microssatélites polimórficos genotipados nos 44 genótipos de trigo. Ponta Grossa, 2015.....	36
Tabela 5 - Número de fragmentos amplificados (monomórfico e polimórfico) e porcentagem de polimorfismo para 10 combinações de <i>primers</i> EcoRI + MseI do marcador AFLP genotipadas nos 44 genótipos de trigo. Ponta Grossa, 2015.....	37
Tabela 6 - Desempenho médio de sete variáveis fenotípicas para cada grupo de genótipos obtidos pelo método de agrupamento UPGMA. Ponta Grossa, 2015.....	45
Tabela 7 - Valores de correlação entre as matrizes de dissimilaridade dos marcadores moleculares (SSR e AFLP), caracteres agrônômicos e genealogia dos genótipos de trigo. Ponta Grossa, 2015.....	46
Tabela 8 - Resumo da análise de variância conjunta para as variáveis ciclo reprodutivo (DEM), estatura de planta (EST) e rendimento de grãos (REND) em função dos ambientes, dos genótipos e da interação genótipo x ambiente (G x A) nas safras de 2010, 2011 e 2012. Ponta Grossa, 2015.....	55
Tabela 9 - Desempenho médio dos 44 genótipos de trigo para as variáveis ciclo reprodutivo (DEM), estatura de planta (EST) e rendimento de grãos (REND) nas safras de 2010, 2011 e 2012. Ponta Grossa, 2015.....	57
Tabela 10 - Proporção explicada e acumulada dos três primeiros componentes principais (CP's) para as variáveis ciclo reprodutivo (DEM), estatura de planta (EST) e rendimento de grãos (REND). Ponta Grossa, 2015.....	58

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVOS	12
2.1	OBJETIVO GERAL.....	12
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1	A CULTURA DO TRIGO	13
3.2	DIVERGÊNCIA GENÉTICA	14
3.2.1	Medidas de dissimilaridade	16
3.2.2	Técnicas de Agrupamento.....	17
3.3	COEFICIENTE DE PARENTESCO.....	18
3.4	MARCADORES MOLECULARES.....	19
3.4.1	AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	19
3.4.2	Marcador Microssatélite ou SSR (<i>Simple Sequence Repeats</i>)	20
3.5	ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS	21
3.6	INTERAÇÃO GENÓTIPOS X AMBIENTES	22
3.6.1	Adaptabilidade e Estabilidade	23
4	DISSIMILARIDADE GENÉTICA EM LINHAGENS DE TRIGO ATRAVÉS DA CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR	26
5	ADAPTABILIDADE E ESTABILIDADE DE GENÓTIPOS DE TRIGO PELO MÉTODO GGE BILOT	49
6	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

1 INTRODUÇÃO

O trigo é uma das culturas agrícolas de grande importância econômica, pela ampla possibilidade de utilização seja na alimentação humana, na fabricação de pães, bolos, biscoitos, rações e também como forragem para animais. Segundo FAOSTAT (2015), o trigo é um dos cereais mais cultivados no mundo, com mais de 220 milhões de hectares semeados em diferentes condições climáticas e nas mais diversificadas regiões geográficas. No Brasil, a produção nacional em 2014 foi de aproximadamente 5,9 milhões de toneladas, prioritariamente nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste (CONAB, 2015). Neste cenário, a produção nacional destaca-se negativamente, pois atende apenas 50% da demanda interna deste cereal, o que torna o Brasil anualmente dependente da importação de outros países para manter o mercado interno consumidor.

As principais causas da insuficiência de grãos deste cereal no país estão relacionadas à instabilidade no rendimento de grãos, devido a alta variação climática entre as safras agrícolas, afetando negativamente a produtividade e a qualidade dos grãos, bem como a baixa disponibilidade de cultivares com alto potencial produtivo e bem adaptadas às regiões de cultivo de trigo no Brasil (SILVA, 2011). Para reduzir os problemas associados à falta de cultivares adaptadas e com alto potencial produtivo, faz-se necessário o desenvolvimento de novas linhagens de trigo pelos programas de melhoramento da cultura. Mas para isso, é fundamental que o melhorista disponha de variabilidade genética favorável e em quantidade suficiente para que tenha maior probabilidade de obter combinações superiores durante os ciclos de seleção que as populações segregantes serão submetidas. Além disso, não basta apenas divergência genética entre os genitores dos blocos de cruzamento, mas que estes possuam o maior número de alelos favoráveis à adaptação agrônômica e ao aumento do potencial produtivo deste cereal (SOUZA, 2013).

Os programas de melhoramento genético dispõem de inúmeras ferramentas genético/estatísticas para a determinação da diversidade genética bem como estratégias para estimar os ganhos genéticos com a seleção artificial, sendo estas baseadas em dados de genealogia dos cruzamentos (BERED; BARBOSA-NETO; CARVALHO, 2002), na caracterização agrônômica a campo (KRYSTKOWIAK et al., 2009) e através da genotipagem molecular com marcadores de DNA (WANG et al.,

2013). Após a seleção dos genótipos mais divergentes e com os melhores atributos agronômicos, a qual permite direcionar os parentais ideais para os blocos de cruzamento, é necessário confirmar a superioridade das novas linhagens do programa de melhoramento, por meio da análise da adaptabilidade e estabilidade dos genótipos (SOUZA, 2013), visando a recomendação de novas cultivares com alto potencial produtivo, adaptadas as regiões de cultivo e que possibilitem através destas melhorias reduzir a necessidade de importação anual de grãos deste cereal de inverno. Neste sentido, o presente trabalho científico possibilitará estimar a dissimilaridade genética de um conjunto de novas linhagens de trigo do programa de melhoramento da UEPG, permitirá conhecer o potencial agronômico destas linhagens e inferir geneticamente sobre a adaptação e a estabilidade fenotípica destes genótipos para o município de Ponta Grossa no estado do Paraná.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a dissimilaridade genética de linhagens de trigo do programa de melhoramento da Universidade Estadual de Ponta Grossa, através da caracterização agronômica, da genotipagem molecular e do coeficiente de parentesco, bem como estudar a adaptabilidade e a estabilidade fenotípica dessas linhagens para o município de Ponta Grossa no estado do Paraná.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar a dissimilaridade genética entre 43 novas linhagens de trigo da UEPG e a cultivar comercial Safira® a partir dos dados da genotipagem molecular pelos marcadores microssatélites e AFLP's, da caracterização agronômica e do coeficiente de parentesco entre os genótipos de trigo;

Realizar a análise de agrupamento UPGMA dos genótipos de trigo a partir de procedimentos estatísticos multivariados da genotipagem molecular, da fenotipagem agronômica e dos dados de genealogia dos genótipos;

Estimar a dissimilaridade genética dos genótipos de trigo através da análise de componentes principais baseado em dados da fenotipagem agronômica;

Estimar a adaptabilidade e a estabilidade para o rendimento de grãos, ciclo reprodutivo e estatura de plantas, de um conjunto de genótipos de trigo a partir de três safras agrícolas por meio da metodologia GGE biplot;

Identificar as melhores linhagens de trigo em relação a adaptabilidade e a estabilidade fenotípica para a região de Ponta Grossa, visando no futuro serem recomendadas como novas cultivares para a região.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A CULTURA DO TRIGO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma espécie hexaplóide, obtido pela hibridação natural entre o trigo tetraplóide *T. turgidum* L. e a espécie diplóide *Aegilops tauschii* (GUPTA et al., 2008). Apresenta o número básico de sete cromossomos ($2n=6x=42$, genoma AABBDD). Existem diversas espécies silvestres e cultivadas de trigo, mas apenas duas com importância econômica, o trigo para pão (*Triticum aestivum* L.) e o trigo tipo duro (*Triticum durum* L.). O trigo para pão representa em torno de 90% do trigo cultivado no mundo, sendo o restante da área cultivado com o trigo duro (BARBIERI; STUMPF, 2008).

No Brasil, há relatos que o cultivo do trigo tenha se iniciado em 1534, na antiga Capitania de São Vicente. A partir de 1969/70, expandiu-se para as áreas de solos mais férteis do Norte/Oeste do Paraná e, em 1979, o estado assumiu a liderança na produção de trigo no Brasil (EMBRAPA SOJA, 2013). O Paraná apresenta algumas vantagens em relação ao Rio Grande do Sul e a Argentina, como a colheita dos grãos, a qual é realizada antes, antecipando a comercialização e garantido melhores preços aos agricultores. Além disso, a proximidade ao Sudeste do país, maior consumidor nacional, faz com que o estado seja favorecido, pois permite o escoamento da safra com menores custos de transporte (BRUM; MÜLLER, 2008).

Cereal de inverno mundialmente consumido, tendo maior importância para a alimentação humana, devido a sua composição única de proteínas de reserva, permitindo a obtenção de vários produtos por meio do processo de panificação (JOSHI et al., 2007). As cultivares brasileiras de trigo são classificadas em diferentes classes de qualidade de grãos, de acordo com a alveografia e o número de queda, sendo tipificados em: melhorador, pão, doméstico, básico e trigo para outras finalidades. Segundo Guarienti (2009), a classificação proposta atende, em parte, aos anseios das indústrias de moagem e dos produtos finais (fabricação de pães, massas, biscoitos, etc.), pois fornece um indicativo da qualidade do trigo para os diferentes usos. O trigo tipo doméstico e tipo básico são indicados para uso na fabricação de bolachas, biscoitos, bolos e outros produtos que necessitem de baixa força de glúten. O trigo pão é indicado para a fabricação de pães, massas

alimentícias e crackers. O tipo melhorador é indicado para o uso em mesclas com outros trigos para aumentar a força de glúten, podendo também ser usados na fabricação de massas alimentícias e crackers. E o trigo para outros usos são aqueles que não se enquadram em nenhuma das classes anteriores, sendo destinados prioritariamente à alimentação animal ou outro uso industrial (GUARIENTI, 2009).

A qualidade dos grãos do trigo é o resultado da interação que a planta sofre no campo, pelo efeito das condições de solo, como a adubação, da incidência de pragas e doenças, manejo cultural, do genótipo, bem como das operações de colheita, secagem, armazenamento, moagem e, por fim, do uso industrial destinado à farinha (GUARIENTI, 2009). Além de ser uma cultura fortemente influenciada pelas condições de clima, como a umidade elevada, geada, seca no espigamento e excesso de chuvas na colheita. O clima, não influencia apenas o rendimento físico da cultura, mas também as características de qualidade industrial. Por outro lado, a possibilidade de semeadura numa ampla região geográfica, possibilita o cultivo em diferentes regiões agrícolas como regiões temperadas, subtropicais e tropicais (CUNHA et al., 2001).

Pela cultura do trigo ser muito sensível as flutuações do clima e ao ataque de doenças e pragas, é de fundamental importância uma política de pesquisa genética e de melhoramento, firme e de longo alcance, com investimentos adequados, que possibilitem a geração de cultivares resistentes, adaptadas as diferentes microrregiões de cultivo bem como com elevado potencial de rendimento (BRUM, 1988).

3.2 DIVERGÊNCIA GENÉTICA

A variabilidade genética tem origem das mutações e correspondem a mudanças herdáveis que servem como matéria prima aos processos de melhoramento genético (RAMALHO et al., 2012). A diversidade existente dentro e entre as espécies vegetais está intimamente relacionada com a evolução, mesmo antes do surgimento da agricultura já ocorria a domesticação das espécies silvestres, processo pelo qual as plantas foram selecionadas contra a deiscência natural dos grãos, incremento no tamanho das inflorescências, entre outras características (BERED; CARVALHO; BARBOSA NETO, 2000).

A diversidade genética existente nos bancos de germoplasma *ex situ*, reflete a variabilidade genética que poderá ser explorada no desenvolvimento de novas cultivares, com maior probabilidade de progresso genético (CHEN et al., 2012). Pode ser considerada uma estratégia de ligação entre a conservação e a utilização de recursos genéticos disponíveis (LOARCE; GALLEGO; FERRER, 1996). A redução da variabilidade genética decorre das práticas intensivas de melhoramento, pela alta intensidade de seleção para características de interesse agrônomo (FU, 2005), as quais limitam a melhoria do potencial produtivo e qualidade dos grãos, além de aumentar a vulnerabilidade da cultura a estresses bióticos e abióticos (WANG et al., 2013). Portanto, torna-se necessário manter a variabilidade genética suficiente para possibilitar, através da seleção artificial, a obtenção de novos genótipos melhorados e adequados para cultivo num amplo leque de ambientes (MIR et al., 2012).

Tradicionalmente, a diversidade genética pode ser avaliada por meio do coeficiente de parentesco entre os genótipos, pela caracterização agrônoma e genotípica. A escolha de cada método de análise é baseada prioritariamente na disponibilidade de recursos financeiros e informações disponíveis, como a genealogia dos genótipos, reagentes/enzimas para análise molecular e disponibilidade de área experimental para coleta dos dados fenotípicos. As análises multivariadas vêm sendo utilizadas rotineiramente no estudo de divergência genética, pois consideram simultaneamente as variáveis avaliadas dos genótipos, além da correlação existente entre elas. Segundo Correa e Gonçalves (2012) estas metodologias estatísticas têm por finalidade básica a simplificação na observação das distâncias genéticas, auxiliando também na identificação de grupos de genótipos mais similares.

Prasad et al. (2000) analisando diferentes genótipos elite de trigo originários de 29 países, através do marcador microssatélite (SSR), estimaram uma similaridade genética média de 23%, demonstrando a alta divergência genética das linhagens de trigo entre os continentes estudados.

Casassola et al. (2013) determinaram a similaridade genética de 23 cultivares de trigo, oriundas do programa de melhoramento genético da Embrapa, através da caracterização fenotípica e molecular. Relataram que a semelhança entre os genótipos é explicada pelas suas genealogias, embora com elevado índice de diversidade genética (31%) a partir da genotipagem molecular.

No trabalho realizado por Wang et al. (2013), foi avaliado por meio do marcador microssatélite a diversidade genética de acessos de trigo comum e 73 acessos de espécies intimamente relacionadas com o trigo. Dos 497 locos microssatélites, apenas 44 foram polimórficos, detectando um total de 274 alelos, com média de 6,32 alelos por loco. Na análise de agrupamento, todos os acessos foram agrupados de acordo com os genomas, sendo consistente com a classificação taxonômica.

Shoib e Arabi (2006) determinaram a diversidade genética entre cultivares de trigo da Síria e acessos de *Triticum turgidum* spp. *durum*, por meio do marcador molecular AFLP. Os autores detectaram aproximadamente 525 alelos, dos quais apenas 46,7% foram polimórficos. Na análise de agrupamento os genótipos foram divididos em dois grandes grupos, o primeiro composto apenas das cultivares de trigo comum e no outro os acessos da espécie silvestre. Entre as cultivares de trigo foi observada estreita diversidade genética, com similaridade média de 88,4%, indicando que as cultivares poderiam ter sido originadas de um mesmo genótipo parental.

Bered; Barbosa-Neto e Carvalho (2002) avaliaram a diversidade genética de 53 genótipos de trigo através do coeficiente de parentesco. Os resultados evidenciaram um coeficiente de parentesco médio de 0,07, com a formação de 22 grupos com base na similaridade genética entre eles. Os autores indicaram que apesar da similaridade genética ter sido relativamente baixa, a base genética dos genótipos de trigo avaliados está limitada a um pequeno número de parentais utilizados nos cruzamentos.

3.2.1 Medidas de dissimilaridade

A quantificação da dissimilaridade entre genótipos é de extrema importância no melhoramento genético de plantas, pois com elas pode se tomar decisões importantes, como por exemplo, a escolha dos parentais para os blocos de cruzamentos, para a obtenção de populações segregantes transgressivas e populações de ampla variabilidade genética (BENIN et al., 2003), e também para a organização dos bancos de germoplasma. As medidas de dissimilaridade genética podem ser obtidas de diferentes formas nas mais variadas metodologias de análise disponíveis.

A distância euclidiana é a medida mais rotineiramente reconhecida, muitas vezes chamada de distância em linha reta. A principal limitação desta abordagem é de não levar em consideração a correlação entre os caracteres estudados, além de sofrer alteração com a mudança de escala das medidas utilizadas e com o número de caracteres analisados. Assim, como alternativa, pode-se padronizar os dados, contornando o inconveniente referente as escalas e, utilizar a distância euclidiana média para resolver o problema envolvido com o número de caracteres (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Apesar da distância euclidiana média conseguir contornar os inconvenientes da distância euclidiana, continua não resolvendo a existência de correlações residuais entre os caracteres avaliados (CRUZ; REGAZZI, 1997). Segundo Hair Jr. et al. (2009), a distância de Mahalanobis (D^2) é uma medida generalizada de distância que explica as correlações entre as variáveis de maneira ponderada entre elas. Quando se dispõe de vários caracteres, a distância pode ser estimada a partir das médias originais e da matriz de covariâncias residuais, ou por meio de dados padronizados (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Outra forma para se estimar a distância entre genótipos é através de coeficientes de similaridade específicos para dados binários (marcadores moleculares). O coeficiente de Jaccard (1908) compara o número de presenças de fragmentos comuns e o número total de fragmentos, desconsiderando o número de ausências conjuntas. Esse coeficiente pode ser facilmente convertido para coeficiente de dissimilaridade. Assim se a similaridade for denominada por “s”, a medida de dissimilaridade será o seu complementar ($1 - s$) (MEYER, 2002). Este coeficiente é bastante utilizado por pesquisadores na cultura do trigo, como por Chen e Li (2007), Najaphy; Parchin e Farshadfar (2012), Almanza-Pinzón et al. (2003) e Prasad et al. (2000).

3.2.2 Técnicas de Agrupamento

As técnicas de agrupamento são análises multivariadas cujo objetivo principal é agregar os genótipos de acordo com suas características inerentes. Nessa classificação, cada genótipo é semelhante aos demais no agrupamento com base em um conjunto de características escolhidas, sendo que dentro de cada grupo deve

haver elevada homogeneidade entre os genótipos e heterogeneidade entre os grupos (HAIR JR. et al., 2009).

A análise de agrupamento segue algumas etapas, inicialmente os dados numa tabela com “m” colunas (variáveis) e “n” linhas (genótipos), posteriormente faz-se a escolha do coeficiente de associação (dissimilaridade ou similaridade), como por exemplo a distância Euclidiana, Euclidiana média, Mahalanobis, Jaccard, entre outros e em seguida a escolha do método de agrupamento, baseado naquele que evidenciar o maior coeficiente cofenético (VALENTIN, 2000). Existem inúmeros métodos de agrupamento que podem ser utilizados. Os métodos hierárquicos são os mais utilizados no melhoramento genético de plantas.

Nos métodos hierárquicos, os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, até que seja formado o dendrograma, sendo que o interesse maior está no dendrograma e nas ramificações obtidas (CRUZ; REGAZZI, 1997). Entre as metodologias de agrupamento hierárquico, destaca-se o método de ligação média (*Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average*) ou UPGMA (SNEATH; SOKAL, 1973), onde o agrupamento dos genótipos é baseado na média aritmética da dissimilaridade e/ou similaridade dos genótipos (VALENTIN, 2000). O UPGMA é uma metodologia com menor interferência de observações atípicas, por não depender de valores de dissimilaridade e/ou similaridade extremos (HAIR JR. et al., 2009). Para avaliar a consistência dos agrupamentos Sokal e Rohlf (1962) propuseram o coeficiente de correlação cofenética, o qual é obtido por meio da correlação da matriz de distância original e a matriz de distância obtida a partir do agrupamento, sendo denominada de matriz cofenética. Após a obtenção da correlação cofenética, é possível testar o nível de significância da correlação para o método Hierárquico por meio do teste de aleatorização de Mantel (1967) (MANLY, 2008).

3.3 COEFICIENTE DE PARENTESCO

Uma ferramenta de baixo custo e de fácil utilização que tem auxiliado melhoristas de plantas nos estudos de diversidade genética é a avaliação do grau de parentesco entre os genótipos. Este índice pode ser estimado pelo coeficiente de parentesco (f_{xy}), que fornece uma estimativa das relações genéticas entre dois genótipos baseados na análise de genealogia (COX et al., 1985), mas para isso, é

necessário ter conhecimento da genealogia dos genótipos, que muitas vezes se torna uma tarefa difícil, devido à escassez de informações da genealogia, limitando o uso da metodologia (BERTAN et al., 2007).

O coeficiente de parentesco (f_{xy}) entre dois genótipos é a probabilidade que um alelo tomado ao acaso em um determinado genótipo seja idêntico por descendência a um alelo tomado ao acaso do mesmo loco em outro genótipo (BERTAN et al., 2007). Quando $f_{xy} = 0$, não há parentesco e quando $f_{xy} = 1$ indica parentesco máximo. Neste sentido, quanto maior o coeficiente, maior o parentesco entre dois genótipos (VELLO; HIROMOTO; AZEVEDO-FILHO, 1988).

O coeficiente de parentesco fornece indícios importantes da divergência entre genótipos, sendo bastante úteis nos estágios iniciais dos programas de melhoramento, em que as informações sobre os caracteres agrônômicos e dados moleculares são normalmente escassas (PETERNELLI et al., 2009). Por outro lado, pode levar a uma superestimação da diversidade genética existente como um resultado das suposições que são feitas sobre a deriva genética, pressão de seleção e a ausência de informação de algum parental (EIVAZI et al., 2008).

3.4 MARCADORES MOLECULARES

3.4.1 AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*)

O AFLP é uma técnica desenvolvida por Zabeau e Vos (1993) que tem sido utilizada de forma crescente para diversas finalidades, como para a caracterização de cultivares, mapeamento molecular e estudos filogenéticos. Possui grande capacidade para a detecção de variabilidade genética a nível de DNA e analisa, simultaneamente diferentes regiões genômicas com alta reprodutibilidade (VOS et al., 1995).

A análise de AFLP envolve quatro etapas distintas, primeiramente a clivagem do DNA genômico usando duas enzimas de restrição (corte raro e frequente), seguida da ligação de adaptadores específicos com sequência conhecida aos terminais coesivos dos fragmentos de DNA clivados (BRAMMER, 2000). Após, são realizadas amplificações seletivas via PCR dos fragmentos do DNA com *primers* específicos. Com essas amplificações reduz-se o número de fragmentos amplificados, evitando arrastos na migração durante a eletroforese. A partir dessa

pré-seleção obtêm-se fragmentos em número suficiente e polimorfismo adequado (VOS et al., 1995). Os produtos da amplificação são separados em gel de poliacrilamida desnaturante, o qual proporciona alto nível de resolução. O polimorfismo é identificado pela presença ou ausência dos fragmentos amplificados (BORÉM; CAIXETA, 2009).

O AFLP possui a vantagem de ser altamente reprodutível e não requer informação prévia das sequências de DNA dos organismos a serem estudados. Altamente informativo, pois possui a capacidade de analisar em um único gel um grande número de locos polimórficos simultaneamente, devido a presença e ausência de sítios de restrição (SEMAGN; BJORNSTAD; NDJIONDJOP, 2006). Por outro lado, apresenta limitações, como o baixo conteúdo de informação genética por loco, uma vez que a expressão é dominante, não permitindo a discriminação entre genótipos homocigotos e heterocigotos (SANTOS, 2002). Além de requerer mais etapas na técnica e custo elevado por envolver maior número de reagentes, enzimas de restrição, adaptadores e *primers*. Adicionalmente, necessita de DNA de boa qualidade, para garantir uma completa digestão pelas enzimas de restrição (SEMAGN; BJORNSTAD; NDJIONDJOP, 2006).

3.4.2 Marcador Microsatélite ou SSR (*Simple Sequence Repeats*)

O marcador microsatélite (LITT; LUTY, 1989; TAUTZ, 1989) é uma classe de sequências de DNA repetitivo que ocorre em todos os organismos. Foi relatado pela primeira vez em plantas por Condit e Hubbel (1991).

Microsatélites são sequências repetidas em *tandem* de dois a seis nucleotídeos, que podem chegar até 100 pares de bases, geralmente diferem no número de unidades repetidas. Este marcador evidencia expressão codominante e altamente polimórfico (GARLAND et al., 1999). Os SSR's são classificados conforme o tamanho, o motivo de repetição e a localização no genoma. Dependendo do número de nucleotídeos por unidade de repetição podem ser mono-, di-, tri-, tetra-, penta- ou hexanucleotídeos (KALIA et al., 2011). Segundo Ellegren (2004), as repetições de mono, di, tri e tetra nucleotídeos são os principais tipos de microsatélites, sendo que as repetições de dinucleotídeos (GA)_n, (AT)_n e (GC)_n ocorrem em maior frequência. Segundo Bryan et al. (1997) os microsatélites mais abundantes no trigo são os dinucleotídeos (CA)_n e (GA)_n.

O polimorfismo é baseado nas diferenças de comprimento das sequências amplificadas, pois o número de repetições em cada microssatélite é altamente variável onde cada segmento diferente de DNA representa um alelo daquele loco específico (WEBER; MAY, 1989). As vantagens do microssatélite em relação a outros marcadores são a fácil exequibilidade, uma vez que existam primers disponíveis para a espécie em estudo e a ampla distribuição no genoma (HOFFMAM; BARROSO, 2006). Os microssatélites apresentam expressão codominante, ou seja, ambos os alelos de um indivíduo heterozigoto são visualizados no gel, assim possibilita diferenciar indivíduos homozigotos dos heterozigotos para os alelos do marcador (SLATKIN, 1995).

A grande limitação do uso em larga escala do marcador SSR é a obtenção dos *primers* específicos que serão usados na PCR para amplificar alelos em cada loco, requerendo a construção de bibliotecas genômicas enriquecidas, o sequenciamento e o desenho dos *primers* (GUIMARÃES et al., 2009). Trata-se de um processo caro e elaborado, considerando todas as etapas do desenvolvimento (BUSO et al., 2003). Embora para a cultura do trigo tem se disponível inúmeros *primers* específicos do marcador SSR, os quais estão bem distribuídos em todos os genomas e cromossomos da cultura (RÖDER et al., 1998).

3.5 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

A análise de componentes principais teve origem com Karl Pearson em 1901, mas sendo consolidada apenas com Hottelling em 1933. Tem objetivo de transformar um conjunto original de variáveis métricas (Y_1, Y_2, \dots, Y_p) em outro conjunto de variáveis sintéticas (C_1, C_2, \dots, C_p), chamados de componentes principais, de dimensões equivalentes (MANLY, 2008).

Segundo Regazzi (2000), para determinar os componentes principais, faz-se necessário estimar a matriz de variância-covariância (matriz de correlação), realizar os cálculos para determinar os autovalores e os autovetores e, posteriormente escrever as combinações lineares, as quais serão as novas variáveis. Assim, cada componente principal será uma combinação linear de todas as variáveis originais. Esse sistema reduzido de coordenadas irá proporcionar a representação gráfica sobre as semelhanças entre os acessos, além de facilitar a interpretação dos dados (VALENTIN, 2000).

Na literatura especializada existem diversos exemplos do emprego da análise de componentes principais para avaliação da divergência genética em culturas agrícolas, como em mamão (MENGARDA et al., 2015), melancia (ULUTURK; FRARY; DOGANLAR, 2011), arroz (OGUNBAYO et al., 2005), soja (LI; NELSON, 2001), cana de açúcar (YOU et al., 2013) e cebola (BARK; HAVEY, 1995).

Altintas et al. (2008), para avaliar a diversidade genética entre genótipos de trigo pão e durum, utilizaram a análise de componentes principais. Com os resultados, os autores observaram a formação de dois grupos principais, um constituído apenas de trigo pão e o outro apenas pelo tipo durum com elevada similaridade genética dentro dos grupos, possivelmente resultado da alta intensidade de seleção adotado pelos programas de melhoramento de trigo da Turquia. Babay et al. (2015), estimaram a diversidade genética de trigo pela análise de componentes principais de dados morfológicos. A análise evidenciou a formação de seis grupos de genótipos de acordo com a similaridade fenotípica observada entre os acessos. Khodadadi; Fotokian e Miransari (2011) avaliaram a diversidade genética de 36 genótipos de trigo, por meio da análise multivariada. Realizaram a análise de agrupamento através dos cinco primeiros componentes principais, os quais explicavam 97% da variação genética. Os resultados evidenciaram a formação de seis grupos, confirmando a diversidade genética existente nos genótipos de trigo, a qual poderá ser usada futuramente nos programas de melhoramento genético.

3.6 INTERAÇÃO GENÓTIPOS X AMBIENTES

As condições edafoclimáticas, os tratos culturais, a ocorrência de patógenos, são os principais fatores responsáveis pelas variações nos ambientes. A alteração no desempenho dos genótipos em virtude de diferentes ambientes é denominada de interação genótipos x ambientes (BORÉM; MIRANDA, 2013). Para Destro e Montalván (1999), a interação G x A ocorre quando o desempenho relativo dos genótipos é inconstante de um ambiente para o outro.

Segundo Borém e Miranda (2013), os fatores ambientais que podem afetar o desempenho dos genótipos, podem ser previsíveis e imprevisíveis. Os previsíveis são o fotoperíodo, o tipo de solo, a fertilidade, a toxidade por alumínio, a época de semeadura e as práticas agrícolas. Por outro lado, os imprevisíveis são a

distribuição pluviométrica, a umidade relativa do ar, as temperaturas e a presença de patógenos/insetos.

A interação G x A é um entrave para o melhorista, pois ao avaliar o desempenho de diversos genótipos em um determinado ambiente, terá uma resposta, porém ao avaliar os mesmos genótipos em outro ambiente, a classificação poderá ser totalmente diferenciada em relação ao primeiro ambiente de avaliação. Neste sentido, faz-se necessário identificar os genótipos mais adaptados para determinados ambientes. A estimativa e a interpretação da interação genótipo x ambiente pode ser facilitada pelo uso de diferentes metodologias de modelagem estatística, sempre a partir de no mínimo dois genótipos avaliados em pelo menos dois ambientes (MOHAMMADI; AMRI, 2012).

Para Rossmann (2001), é necessário realizar a avaliação dos genótipos em diferentes ambientes, visando a recomendação regionalizada ou ampla aos ambientes de cultivo de trigo. Entende-se como ambiente diferente, qualquer fator que afete a expressão fenotípica de um genótipo, mas que não seja de origem genética.

3.6.1 Adaptabilidade e Estabilidade

Inicialmente os programas de melhoramento geram variabilidade genética por meio de cruzamentos entre diferentes parentais visando a obtendo as populações segregantes. Com o passar dos ciclos de seleção artificial nessas populações, os genótipos vão sendo selecionados por conter o maior número de alelos favoráveis para aquele ambiente de seleção, conseqüentemente refletirá na obtenção de genótipos mais adaptados aquele ambiente de seleção (PEIXOUTO, 2013).

O termo adaptabilidade designa a capacidade potencial de genótipos para assimilarem vantajosamente o estímulo ambiental. A estabilidade é a capacidade de os genótipos evidenciarem desempenho fenotípico mais constante em função das variações ambientais que são submetidos (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). Para Peixoto (2013), o genótipo é considerado adaptado quando possui o conjunto gênico melhor adaptado ao ambiente em que se encontra, sendo assim irá deixar maior número de descendentes. Portanto, a determinação dos genótipos mais adaptados e estáveis é de extrema importância não só para a recomendação das

novas cultivares, mas também para o desenvolvimento de cultivares com alto potencial de rendimento nos ambientes de cultivo (SANCHEZ-GARCIA et al., 2012).

Existem diversas metodologias de análise quanto aos princípios estatísticos envolvidos, como os métodos baseados na análise de variância (SHUKLA, 1972), em regressão linear (EBERHART; RUSSEL, 1966), em regressão linear bissegmentada (CRUZ et al., 1989), na análise não paramétrica (LIN; BINNS, 1988) e na análise multivariada (YAN et al., 2000). Uma das formas mais clássicas é através da análise de variância conjunta dos experimentos, levando em consideração todos os ambientes e o desdobramento da soma de quadrados dos efeitos de ambiente e da interação genótipos e ambientes, em efeitos de ambientes dentro de cada genótipo (SQUILASSI, 2003). Neste método a estabilidade é determinada a partir do quadrado médio, sendo que genótipos mais estáveis terão menor quadrado médio nos vários ambientes de avaliação (CRUZ; REGAZZI, 1997).

Yan et al. (2000) propuseram o modelo GGE biplot (*genotype main effects + genotype environment interaction*), em que consideram o efeito principal de genótipo mais a interação dos genótipos x ambientes. Esta metodologia possibilita uma análise gráfica biplot, obtido de uma tabela de dupla entrada (genótipos x ambientes), facilitando assim a visualização e a interpretação dos resultados (SILVA; BENIN, 2012). Para Souza (2010), os gráficos biplots conseguem captar a porção padrão da interação G x A, demonstrando quais são os genótipos e ambientes que menos contribuíram para a magnitude da interação, sendo estes os mais estáveis e as combinações de genótipos e ambientes desejáveis a maior adaptabilidade aos ambientes de avaliação.

A base da técnica GGE biplot, realizada por meio da análise de componentes principais, é a DVS (Decomposição em Valores Singulares). Na qual é resumida toda a variação contida na matriz n (genótipos) x m (ambientes) em poucos vetores que explicam a maior parte da variação, facilitando a interpretação no gráfico obtido (GAUCH, 2006). Tendo como principal característica não evidenciar apenas o desempenho médio e a estabilidade dos genótipos, mas também o desempenho relativo de cada genótipo nos ambientes de avaliação (YAN; TINKER, 2006).

Inicialmente é construído um polígono unindo os genótipos das extremidades em cada quadrante, sendo que todos os genótipos estarão incluídos dentro do polígono formado. Em seguida é traçada uma linha perpendicular para cada lado do polígono em relação a origem, com isso, separa-se os genótipos e os ambientes em

mega-ambientes. Em cada mega-ambiente, o genótipo que está localizado no vértice do polígono é aquele que apresentou o melhor desempenho. Os genótipos em cada mega-ambiente são os que apresentaram melhor desempenho nos ambientes incluídos naquele mega-ambiente, assim pode-se identificar quais os genótipos com adaptação ampla ou específica (YAN et al. 2007).

As interpretações são feitas de acordo com a direção dos vetores. Os escores referentes aos genótipos explicam as médias empíricas para os mesmos, sendo que, quanto maior for o valor dos escores do primeiro componente principal, maiores serão as médias dos genótipos. Um genótipo é considerado estável, quando o valor dos escores do segundo componente principal está próximo a zero. Quando se tem um ambiente com escore alto para o primeiro componente principal indica que o mesmo possui alta capacidade de discriminar os genótipos. Por outro lado, escore próximo de zero para o segundo componente principal, refere-se ao ambiente que proporcionou maior produtividade média (OLIVEIRA et al. 2010).

Hagos e Abay (2013) utilizaram a análise multivariada para avaliar a adaptação e a estabilidade de dez genótipos de trigo em cinco regiões de cultivo. Observaram alta interação dos genótipos com os ambientes e a partir da análise foi possível dividir as regiões em dois mega-ambientes, sendo que dentro de cada um estão os genótipos mais adaptados. Neste sentido, foi possível indicar aos agricultores as melhores cultivares para cada ambiente bem como concluíram que a cultivar de trigo M20ESWYT-46 foi a única com ampla adaptação, podendo ser recomendada para as cinco regiões estudadas.

Ayalew; Wondale e Teshager (2014) utilizaram a técnica GGE biplot para determinar a interação G x A de 12 linhagens de trigo em seis locais no Noroeste da Etiópia, nos anos de 2008 e 2009. Os seis ambientes foram divididos em dois mega-ambientes. Observaram que o genótipo ETBW5344 foi o mais estável, podendo ser considerado o mais adequado para o cultivo na região. Adicionalmente, relataram que a técnica GGE biplot foi eficiente na avaliação dos genótipos de trigo mais adaptados e estáveis a região Noroeste da Etiópia.

4 DISSIMILARIDADE GENÉTICA EM LINHAGENS DE TRIGO ATRAVÉS DA CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR

RESUMO

A estimativa da diversidade genética entre genótipos de trigo auxilia na escolha dos genitores que irão compor os blocos de cruzamentos, bem como, na organização dos bancos de germoplasma. Os objetivos deste trabalho foram estimar a dissimilaridade genética entre genótipos de trigo através da caracterização agronômica, da genotipagem molecular e do coeficiente de parentesco e realizar agrupamento destes genótipos por meio de métodos estatísticos multivariados. Foram avaliadas 43 linhagens de trigo desenvolvidas pelo programa de melhoramento da UEPG e a cultivar comercial Safira[®]. A dissimilaridade genética entre os genótipos foi obtida a partir da Distância Quadrada Generalizada de Mahalanobis (D^2) através de sete características agronômicas, do coeficiente de parentesco (COP) e do índice de Jaccard para os marcadores SSR e AFLP. Os genótipos de trigo foram agrupados pela dissimilaridade genética através dos métodos UPGMA e da análise de componentes principais (ACP). A análise de componentes principais (ACP) reduziu o conjunto de sete variáveis em três componentes principais explicando 67% da variância fenotípica total. Os coeficientes dos autovetores indicaram que o CP1 foi mais relacionado à qualidade de grãos (peso de mil grãos e peso do hectolitro) e ao ciclo vegetativo. O CP2 foi mais influenciado pelo rendimento de grãos (48,4%) e o CP3 associado negativamente com a estatura de plantas (72,08%). A análise CP possibilitou a identificação de diferentes grupos de genótipos de trigo a partir da caracterização agronômica. Independente da metodologia utilizada para estimar a dissimilaridade genética foi possível identificar considerável diversidade genética entre os genótipos de trigo. Os dendrogramas obtidos a partir da genotipagem molecular (SSR e AFLP) e da caracterização agronômica demonstraram a formação de oito grupos, enquanto pelo coeficiente de parentesco apenas cinco grupos de genótipos. As correlações cofenéticas entre as matrizes de dissimilaridade genética foram baixas, com coeficientes de 0,04 (agronômico x AFLP) a 0,24 (genealogia x AFLP). Apesar disso, as metodologias de análise foram eficientes em estimar a dissimilaridade genética entre os genótipos e possibilitaram destacar as linhagens de trigo com melhor desempenho agrônomo.

Palavras-chave: Caracteres adaptativos. AFLP. SSR. Diversidade genética. Potencial de rendimento.

ABSTRACT

The estimation of genetic diversity among wheat genotypes helps to choose the parents that will make the crossing blocks, as well as the organization of germoplasm banks. The objectives of this study were to estimate the genetic dissimilarity among wheat genotypes through agronomic characterization, molecular genotyping and coefficient of parentage and cluster of these genotypes through of multivariate statistical methods. It was evaluated 43 wheat lines developed by the breeding program of UEPG and cultivar commercial Safira[®]. The genetic dissimilarity among the genotypes was obtained from the Generalized Mahalanobis Square Distance (D2) through seven agronomic traits, coefficient parentage (COP) and Jaccard index for SSR and AFLP markers. The genotypes were grouped by genetic dissimilarity through UPGMA and principal component analysis (PCA) methods. The principal component analysis (PCA) reduced set of seven variables on three principal components explaining 67% of the total phenotypic variance. The coefficients of the eigenvectors indicated that CP1 was more related to the grain quality (thousand kernels weight and weight hectoliter) and the vegetative cycle. The CP2 was more influenced by grain yield (48.4%) and CP3 negatively associated with plant height (72.08%). The CP analysis enabled the identification of different groups of wheat genotypes through agronomic characterization. Independent of the methodology used to estimate genetic dissimilarity was identified considerable genetic diversity among wheat genotypes. The dendrogram obtained through molecular genotyping (AFLP and SSR) and Agronomic characterization showed the formation of eight groups, while the coefficient of parentage only five groups of genotypes. The cophenetic correlations between the matrices of genetic dissimilarity were low, with coefficients of 0.04 (x agronomic AFLP) to 0.24 (genealogy x AFLP). Nevertheless, the analysis methods were efficient in estimating the genetic dissimilarity among the genotypes and enabled highlight wheat lines with better agronomic performance.

Keywords: Adaptive characters. AFLP. SSR. Genetic diversity. Yield potential.

INTRODUÇÃO

As principais espécies cultivadas de trigo no mundo são o *Triticum aestivum* L. e o *T. turgidum* var *durum* L., sendo que 95% do trigo consumido é do tipo comum (RANDHAWA et al., 2013). A produção mundial em 2013 foi de aproximadamente 715 milhões de toneladas, tornando-o o terceiro cereal mais produzido, após o milho e o arroz (FAOSTAT, 2015). No Brasil a produção anual na última década oscilou de 4 a 6 milhões de toneladas, o que representa 50% da demanda interna de grãos deste cereal. O rendimento médio nacional da cultura na safra 2014 foi de 2.165 kg ha⁻¹ (CONAB, 2015). Neste cenário, percebe-se a real necessidade de incrementar a produção nacional principalmente pelo desenvolvimento de novas cultivares adaptadas aos diferentes ambientes de cultivo e com maior potencial de rendimento de grãos.

O sucesso com a seleção artificial num programa de melhoramento genético está diretamente associado à presença de variabilidade genética favorável nos bancos ativos de germoplasma. A partir deste parâmetro, pode-se avaliar o potencial da população sob seleção, possibilitando direcionar os cruzamentos artificiais e beneficiar a segregação transgressiva nas populações segregantes (KHODADADI; FOTOKIAN; MIRANSARI, 2011). A diversidade genética das populações tem sido estabelecida por meio da estimativa do coeficiente de parentesco, da fenotipagem das características agronômicas, da genotipagem molecular (ARORA et al., 2014; SALEM; RÖDER; BÖRNER, 2015) ou através da associação das diferentes metodologias (EIVAZI et al., 2008).

O coeficiente de parentesco é muito utilizado em programas de melhoramento que não disponibilizam de muito recurso, por ser uma técnica fácil e barata, exige apenas informações relativa ao pedigree dos genótipos, sendo rotineiramente utilizada em diversas culturas agrícolas de interesse econômico, como arroz (KHERA et al., 2015), trigo (BERED; BARBOSA-NETO; CARVALHO, 2002; MARIC et al., 2004; MARTYNOV; DOBROTVORSKAYA, 2006), cana-de-açúcar (LIMA et al., 2002) e batata (SUN et al., 2003). Da mesma forma, a fenotipagem de características agronômicas é de fácil mensuração, embora dependente de áreas experimentais, tempo e interferência do meio ambiente (CARMONA; ALVAREZ; CABALLERO, 2010; ETICHA et al., 2005; LIU et al., 2007; ROY et al., 2004). Por outro lado, novas ferramentas baseadas na detecção de polimorfismos no DNA, tem

possibilitado melhorar a precisão das estimativas pela redução dos efeitos ambientais bem como possibilitar a separação de genótipos com base genética estreita, como o caso do trigo (NAWAZ et al., 2009). Os marcadores moleculares comumente utilizados para determinar a variabilidade genética em trigo são o RAPD (NAWAZ et al., 2009), o SSR (CHEN et al., 2012; DRIKVAND et al., 2013; MIR et al., 2012; WANG et al., 2013) e o AFLP (SHOAIB; ARABI, 2006).

Casassola et al. (2013) relataram que o marcador microssatélite (SSR) foi bastante eficiente na discriminação de genótipos de trigo fenotipicamente semelhantes, justificando a sua utilização como ferramenta de suporte nos processos de avaliação. Almanza-Pinzón et al. (2003) asseguram que as estimativas dos índices de diversidade genética por meio de marcadores moleculares e coeficiente de parentesco apresentam boa concordância. Mas ressaltam, da necessidade de informações mais completas sobre os dados do pedigree dos genótipos.

O presente trabalho objetivou estimar a diversidade genética de um conjunto de linhagens endogâmicas de trigo do programa de melhoramento genético da UEPG, utilizando-se de dados de caracteres agronômicos, da genotipagem molecular e do coeficiente de parentesco das linhagens de trigo. Os índices de dissimilaridade genética juntamente com a análise de agrupamento poderão auxiliar na organização dos acessos do banco de germoplasma e também na seleção de parentais divergentes e com alto potencial agronômico para futuros esquemas de cruzamento no programa de melhoramento genético de trigo da UEPG.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e extração de DNA

Foram utilizados 44 genótipos de trigo, sendo uma cultivar comercial Safira® (OR Melhoramento de Sementes LTDA e Biotrigo Genética LTDA) e mais 43 linhagens do programa de melhoramento genético da UEPG. O DNA genômico dos genótipos foi extraído a partir de um bulk de folhas jovens de 10 plantas de cada genótipo. A metodologia de extração seguiu o protocolo de Hoisington et al. (1994). As amostras de DNA genômico foram quantificadas no espectrofotômetro NanoVue GE Healthcare e diluídas para as concentrações de 10 ng μL^{-1} (SSR) e 50 ng μL^{-1} (AFLP).

Amplificação dos locos SSR e AFLP

Um total de 62 locos SSR foram selecionados a partir do mapa de ligação consenso do trigo (RÖDER et al., 1998) e do *Marker Assisted Selection in Wheat da University of California, Davis* (<http://maswheat.ucdavis.edu/>). A reação de polimerização em cadeia (PCR) foi preparada em microtubos de 0,2mL contendo: 1X tampão Invitrogen™; 1,5 mM MgCl_2 ; 0,2 mM de solução de dNTP (100 mM, Amresco®); 0,25 μM de cada *primer* (*forward e reverse*); 1 U de *Taq DNA polimerase* (5 U/ μL , Invitrogen™) e 20 ng de DNA molde para um volume final de reação de 20 μL . Vários programas de PCR foram utilizados para a otimização dos locos SSR, sendo dois com ciclagem normal de PCR (RÖDER et al., 1998; WANG et al., 2010) e um do tipo *Touchdown* (HE et al., 2008). As amostras amplificadas foram coradas com 4 μL de GelRed mais tampão de carregamento (1:1) e separadas por eletroforese em gel de agarose 2% em tampão TBE 1X por aproximadamente 3 horas a 80 Volts.

A metodologia de amplificação do marcador AFLP foi de acordo Vos et al. (1995). Inicialmente foram testadas 50 combinações de primers EcoRI + MseI, a fim de selecionar as combinações que apresentaram melhor padrão de amplificação, com o DNA de cinco indivíduos aleatórios das linhagens de trigo. Foram escolhidas 10 combinações de primers AFLP's para genotipar os fragmentos polimórficos dos 44 genótipos de trigo. Para os dois marcadores moleculares (SSR e AFLP) os

fragmentos polimórficos foram genotipados em (1) presença ou (0) ausência gerando uma matriz de dados binários.

Experimentos de caracterização agronômica

Os experimentos foram realizados nas safras de 2010, 2011 e 2012. O delineamento experimental foi de blocos completos aleatorizados com três repetições. A parcela experimental foi composta por nove linhas de quatro metros de comprimento e 0,17m na entrelinha, com população de plantas de aproximadamente 350 plantas aptas por m^{-2} . Foram avaliadas em ordem cronológica do estágio de desenvolvimento as características: vigor inicial (notas de 1 a 5, sendo 5 o maior vigor), ciclo vegetativo (dias), ciclo reprodutivo (dias), estatura de planta (centímetros), peso de mil grãos (gramas), peso do hectolitro ($kg\ hl^{-1}$) e rendimento de grãos ($kg\ ha^{-1}$).

Componentes principais

A análise de componentes principais (ACP) dos dados da caracterização agronômica dos genótipos de trigo foi realizada através da função princomp() do software R versão 3.1.3 (R CORE TEAM, 2012), sendo utilizada a matriz de correlação residual obtida através da análise de variância conjunta dos experimentos pelo programa GENES (CRUZ, 2006).

Estimativa da dissimilaridade genética

A medida de dissimilaridade adotada para os dados fenotípicos foi a distância quadrada generalizada de Mahalanobis, calculada através do software R versão 3.1.3 (R CORE TEAM, 2012). Para os marcadores AFLP e SSR foi estimada a distância por meio do coeficiente de Jaccard a partir do software R versão 3.1.3 (R CORE TEAM, 2012). O cálculo do coeficiente de parentesco (COP) foi determinado de acordo com o sistema de parentesco de Malécot (1948), empregando-se a genealogia dos genótipos de trigo apresentada na Tabela 1 no programa GENES (CRUZ, 2006). Para estimar a Dissimilaridade genética (D_{ij}) foi utilizado o coeficiente de parentesco através da fórmula $D_{ij} = 1 - COP$. A correlação entre as matrizes de

dissimilaridade genética dos marcadores moleculares (SSR e AFLP), da fenotipagem agronômica e da genealogia foi baseada no teste de Mantel (MANTEL, 1967) no software R versão 3.1.3 (R CORE TEAM, 2012).

A partir das distâncias estimadas foi realizado o agrupamento dos 44 genótipos de trigo usando o método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average*) proposto por Sneath e Sokal (1973), no software R versão 3.1.3 (R CORE TEAM, 2012). A correlação cofenética entre a matriz de distâncias originais e a matriz cofenética foi obtida de acordo com a expressão proposta por Bussab, Miazaki e Andrade (1990) e os valores dos coeficientes foram submetidos ao teste de aleatorização de Mantel ($\alpha \leq 0,05$) baseado em 5000 permutações.

Tabela 1 - Genealogia dos genótipos de trigo utilizados nos experimentos de caracterização agronômica e de genotipagem molecular. Ponta Grossa, 2015.

Genótipo	Genealogia	Genótipo	Genealogia
L1	BRS220 / BH1146	L23	BRS210 / ALCOVER
L2	BRS220 / ÔNIX	L24	BRS210 / ALCOVER
L3	BRS220 / ÔNIX	L25	BRS210 / ALCOVER
L4	BRS220 / ÔNIX	L26	BRS210 / ALCOVER
L5	ÔNIX / BRS208	L27	BRS210 / OR1
L6	ÔNIX / BRS208	L28	BRS210 / OR1
L7	ÔNIX / BRS208	L29	ALCOVER / BRS220
L8	ÔNIX / BRS208	L30	ALCOVER / BRS220
L9	ALCOVER / BRS210	L31	ALCOVER / BRS220
L10	ALCOVER / BR18	L32	ALCOVER / BRS220
L11	ALCOVER / BR 18	L33	ALCOVER / BRS220
L12	ALCOVER / BR 18	L34	ALCOVER / ÔNIX
L13	BRS210 / ÔNIX	L35	ALCOVER / BH1146
L14	BRS210 / ÔNIX	L36	ALCOVER / BH1146
L15	BRS210 / ÔNIX	L37	ALCOVER / BH1146
L16	BRS210 / BRS208	L38	BRS208 / ALCOVER
L17	BRS210 / BRS208	L39	BRS208 / ALCOVER
L18	BRS210 / BRS208	L40	ALCOVER / OR1
L19	BRS210 / BRS208	L41	ALCOVER / OR1
L20	BRS210 / BRS208	L42	ALCOVER / OR1
L21	BRS210 / BRS208	L43	ALCOVER / OR1
L22	BRS210 / ALCOVER	Safira [®]	PF9099 / OR1 // GRANITO

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Componentes principais

A análise de componentes principais (ACP) teve como finalidade estimar a diversidade genética existente entre os 44 genótipos de trigo (43 linhagens e a cultivar comercial Safira®). Das sete características avaliadas, nas safras 2010, 2011 e 2012 foi possível pela ACP reduzir a dimensão das variáveis iniciais em três componentes principais (CP's), os quais explicaram 67,1% da variação fenotípica total (Tabela 2). A porcentagem da variância fenotípica acumulada nos três primeiros componentes principais foi adequada, sendo semelhante ao encontrado por Benin et al. (2005) na avaliação de genótipos de aveia branca e por Ogunbayo et al. (2005) em diferentes acessos de arroz.

A partir da variância explicada para cada CP pode-se verificar que o 1º, 2º e 3º componente demonstraram autovalores de 26,8; 22,7 e 17,6%, respectivamente (Tabela 2). É possível através dos coeficientes dos autovetores identificar quais variáveis foram mais importantes para a formação de cada componente principal. O sinal dos autovetores (+ ou -), indica que os genótipos com maiores escores positivos (+) terão desempenho superior para as características com autovetores (+) e menor expressividade para as variáveis com autovetores (-), e vice-versa.

Tabela 2 - Estimativas dos autovalores λ_j associados aos componentes principais, importância relativa (λ_j %) e a variância fenotípica total acumulada (%). Ponta Grossa, 2015.

Componentes	λ_j	λ_j %	% Variância acumulada
CP1	1,88	26,8	26,8
CP2	1,59	22,7	49,5
CP3	1,23	17,6	67,1
CP4	1,08	15,4	82,5
CP5	0,68	9,8	92,2
CP6	0,54	7,8	100,0

Os coeficientes dos autovetores no CP1 evidenciaram que as características fenotípicas: peso de 1000 grãos (0,59), vigor (0,44) e peso do hectolitro (0,37) foram positivamente associadas e o ciclo vegetativo (- 0,48) e reprodutivo (- 0,20) negativamente associados ao CP1, sendo estas 5 características as que mais influenciaram na formação do CP1 (Tabela 3). Neste sentido, os genótipos de trigo com os maiores escores positivos no CP1, serão aqueles que evidenciarão a melhor

qualidade dos grãos bem como a maior precocidade. No CP2 os maiores coeficientes de autovetores foram obtidos para o rendimento de grãos (0,69), com associação positiva ao componente principal. Assim, os genótipos de trigo com maiores escores no CP2, são aqueles que evidenciaram o maior potencial de rendimento de grãos nos três experimentos avaliados. E finalmente, no CP3 o maior coeficiente de autovetor foi obtido para a estatura de plantas (- 0,84), associado negativamente ao componente principal (Tabela 3).

Tabela 3 - Autovetores dos três primeiros componentes principais e importância relativa de cada variável fenotípica para a formação do componente principal. Ponta Grossa, 2015.

Variáveis	CP1		CP2		CP3	
	Autovetor	%	Autovetor	%	Autovetor	%
Vigor (nota)	0,44	19,67	- 0,33	11,55	- 0,25	6,42
DEF (dias)	- 0,48	23,27	0,06	0,41	- 0,39	15,45
DEM (dias)	- 0,20	4,19	0,37	14,34	0,14	2,06
EST (cm)	- 0,01	0,02	0,10	1,08	- 0,84	72,08
P1000 (g)	0,59	35,11	0,39	15,42	0,03	0,11
PH (kg hl ⁻¹)	0,37	13,76	- 0,29	8,76	- 0,15	2,35
REND (kg ha ⁻¹)	0,19	3,95	0,69	48,42	- 0,12	1,51

(VIGOR) vigor inicial, (DEM) ciclo vegetativo, (DEF) ciclo reprodutivo, (EST) estatura de planta, (P1000) peso de mil grãos, (PH) peso do hectolitro, (REND) rendimento de grãos.

A partir das projeções dos três componentes principais (Figura 1) foi possível visualizar a formação de grupos de genótipos de trigo mais similares fenotipicamente. As linhagens L2, L5, L13, L27 e L40 foram as que apresentaram desempenho fenotípico mais similar a cultivar comercial Safira[®]. Adicionalmente, os resultados da análise de CP's evidenciaram a maior divergência de duas linhagens em relação ao demais genótipos, sendo a L33, caracterizada com baixa qualidade de grãos e ciclo tardio e a L37, com porte alto e baixo rendimento de grãos (Figura 1). A grande maioria dos genótipos (28) foi agrupado pela maior qualidade de grãos e precocidade, seguido pelas linhagens L12, L23, L24, L28, L35 e L36 destacando-se também pelo porte mais reduzido. O resultado tridimensional da distribuição dos genótipos em relação aos três componentes principais, evidenciou que as linhagens agrupadas com a cultivar comercial Safira[®] apresentaram o melhor desempenho em relação ao rendimento de grãos. Em contrapartida essas linhagens obtiveram performance inferior quanto a qualidade de grãos e a precocidade, características agrônômicas importantes para a cultura do trigo.

Para obter genótipos de trigo com o maior número de características favoráveis, recomenda-se a utilização de cruzamentos artificiais entre os grupos que evidenciaram maior rendimento com aqueles genótipos com melhor qualidade de grãos, precocidade e porte baixo. Deste modo, a possibilidade de serem obtidas populações segregantes superiores para as características de interesse é maximizada. Neste sentido, estimativas da dissimilaridade genética entre genótipos juntamente com desempenho agrônomo favorável à campo são de fundamental importância aos programas de melhoramento (BERTAN et al., 2006).

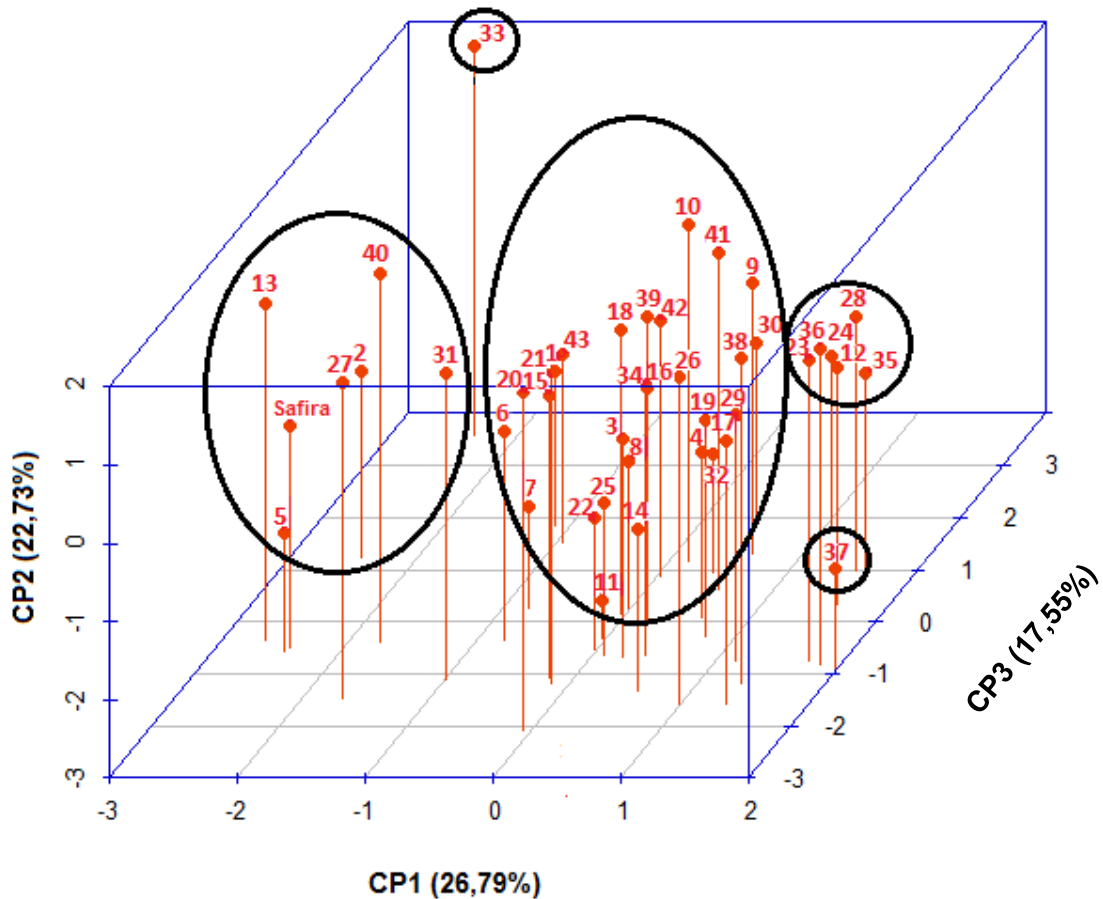


Figura 1 - Escores dos 44 genótipos de trigo (43 linhagens e a cultivar Safira®) para os três primeiros componentes principais. Ponta Grossa, 2015.

Genotipagem molecular

Dos 62 locos microssatélites (SSR) testados, 20 foram polimórficos, sendo utilizados para genotipar e estimar a diversidade genética entre os 44 genótipos de

trigo. Na genotipagem molecular foram detectados 38 alelos, com variação de 1 a 4 alelos por loco e tamanho aproximado de 120 a 650 pares de bases (pb) (Tabela 4). Estes resultados foram semelhantes aos encontrados por Drikvand et al. (2013) e Casassola et al. (2013), que relataram em média de 2 a 2,8 alelos por loco, respectivamente. Neste trabalho, o maior número de alelos foi observado no genoma D (9 alelos), seguido do genoma A (6 alelos) e do B (5 alelos), retratando para este conjunto de genótipos de trigo a maior diversidade genética para o genoma D. Estes resultados foram similares aos relatados por Chen e Li (2007) para trigos hexaplóides e por Wang et al. (2013). Por outro lado, nos trabalhos de Chao et al. (2007), o maior polimorfismo foi associado ao genoma B, seguido do D e do genoma A.

Tabela 4 - Locos microssatélites polimórficos genotipados nos 44 genótipos de trigo. Ponta Grossa, 2015.

Nº	Loco SSR	Genoma	Cromossomo	Nº de alelos	Tamanho (pb)
1	GluA3a	A	1	2	300 – 450
2	UMN19	A	1	2	300 – 400
3	GluA3c	A	1	2	500 – 600
4	GluA3f	A	1	1	552
5	PPO33	A	2	1	400
6	Xgwm276	A	7	2	120 - 145
7	ZSBy8	B	1	2	550 - 650
8	Xgwm493	B	3	2	150 - 200
9	Xgwm408	B	5	2	150 - 190
10	Xgwm443	B	5	2	150 - 200
11	Xgwm626	B	6	2	120 - 150
12	DX5	D	1	1	478
13	GluD1-d	D	1	1	450
14	Xgwm337	D	1	2	200 - 250
15	Xgwm261	D	2	1	180
16	Xgwm161	D	3	2	170 - 200
17	Xgwm645	D	3	2	150 - 200
18	Xgwm194	D	4	3	130 - 290
19	Xgwm325	D	6	2	160 - 180
20	Cssfr34	D	7	4	160 - 450
Total				38	

A matriz de dissimilaridade genética estimada pelo coeficiente de Jaccard para o marcador SSR evidenciou distâncias variando de 0,08 (L4 e L14) a 0,74 (L32 e a cultivar Safira®), com dissimilaridade média de 0,47 entre todas as comparações dos genótipos de trigo. Os resultados deste trabalho evidenciaram baixa divergência

genética quando comparados a outros germoplasmas de trigo, como observado por Prasad et al. (2000) que relataram dissimilaridade genética média de 0,77 a partir de genótipos elite de trigo originários de 29 países e de 0,60 entre 90 acessos de trigo Chinês (CHEN et al., 2012). No presente trabalho, a similaridade genética entre os genótipos de trigo, possivelmente esteja relacionada com a genealogia das linhagens, as quais compartilham de um mesmo grupo de genótipos parentais (Tabela 1). Os maiores índices de dissimilaridade genética foram estimados entre a cultivar Safira® x L32 (0,74), L32 x L10 (0,74) e L35 x L26 (0,72).

Das 10 combinações de primers do marcador AFLP foram gerados 689 fragmentos, com tamanho variando de 66 a 455 pb. Dos fragmentos amplificados, 32,5% foram polimórficos com média de 22,4 fragmentos polimórficos por combinação de primers, variando de 11 (E-AAC/M-CTA) a 32 (E-ACT/M-CTC) fragmentos (Tabela 5). Estes resultados estão de acordo com os relatados por Altintas et al. (2008) e por Hazen; Leroy e Ward (2002) para acessos de trigo comum. A dissimilaridade genética entre os genótipos de trigo para o marcador AFLP revelou amplitude de 0,26 (L18 x L26) a 0,70 (L1 x L10), com dissimilaridade genética média de 0,49 para todas as comparações entre os genótipos de trigo. Dissimilaridade genética semelhante foi relatada por Eivazi et al. (2008) com média de 0,50 entre 10 acessos de trigo Iranianos.

Tabela 5 - Número de fragmentos amplificados (monomórfico e polimórfico) e porcentagem de polimorfismo para 10 combinações de *primers* EcoRI + MseI do marcador AFLP genotipadas nos 44 genótipos de trigo. Ponta Grossa, 2015.

Nº	Código Primer	Combinação EcoRI + MseI	Fragmentos	Monomórfico	Polimórfico	Polimorfismo (%)
1	E42M61	E-AGT/M-CTG	78	59	19	24,3
2	E40M56	E-AGC/M-CGC	83	59	24	28,9
3	E40M53	E-AGC/M-CCC	68	44	24	35,3
4	E32M59	E-AAC/M-CTA	67	56	11	16,4
5	E34M62	E-AAT/M-CTT	60	43	17	28,3
6	E34M58	E-AAT/M-CGT	62	31	31	50,0
7	E38M60	E-ACT/M-CTC	64	32	32	50,0
8	E45M60	E-ATG/M-CTC	61	38	23	37,7
9	E41M48	E-AGG/M-CAC	75	53	22	29,3
10	E41M49	E-AGG/M-CAG	71	50	21	29,5
Total			689	465	224	
Média			68,9	46,5	22,4	32,5

Genealogia e caracterização agronômica

Os índices de dissimilaridade genética a partir do coeficiente de parentesco variaram de 0,5 a 1,0, com média de 0,84 entre todas as combinações de genótipos de trigo. Bered; Barbosa-Neto e Carvalho (2002) estimaram em 0,93 a dissimilaridade genética entre acessos de trigo, sendo bastante similar ao encontrado no presente trabalho.

A partir da caracterização agronômica dos 44 genótipos de trigo nas safras de 2010, 2011 e 2012 foi determinada a distância quadrada generalizada de Mahalanobis (D^2) entre os genótipos, gerando a matriz de dissimilaridade. Os resultados demonstraram a maior dissimilaridade entre a linhagem L34 e a cultivar Safira® (495,52) e a menor entre as linhagens L22 e L25 (1,59), com distância média entre os genótipos de 66,94.

Agrupamento pelo método UPGMA

Os dendrogramas baseados nos índices de dissimilaridade genética através dos marcadores moleculares (SSR e AFLP), da genealogia e da caracterização agronômica foram utilizados para a análise de agrupamento dos genótipos de trigo pelo método UPGMA.

Para o dendrograma gerado pela dissimilaridade genética com base na genealogia dos genótipos, foi estimado coeficiente de correlação cofenética de 0,78 e significativo a 1% pelo teste de Mantel (MANTEL, 1967), indicando a boa representação das distâncias genéticas dos genótipos no dendrograma. Considerando um corte no dendrograma com dissimilaridade genética de 0,77, evidencia-se a formação de cinco grupos de genótipos de trigo. O G I e G II foram constituídos por um (Safira®) e por dois genótipos (L27 e L28), respectivamente, destacando-se que estes genótipos possuem um dos parentais em comum, a cultivar comercial OR1 (Tabela 1). O G III, agrupou 13 genótipos (29,5%), em que todos possuem parentais em comum, oriundos da EMBRAPA trigo (BRS208 e ou BRS210) (Tabela 1). No G IV, nove genótipos foram agrupados, sendo todos provenientes de cruzamentos envolvendo a cultivar comercial da EMBRAPA BRS220. E por último o G V, com 19 genótipos (43%), agrupando as linhagens originadas de cruzamentos com a cultivar comercial Alcover (Figura 2). De maneira

geral, o agrupamento dos genótipos de trigo através dos dados de genealogia, prioritariamente agrupou genótipos de acordo com a presença de parental em comum no respectivo cruzamento. Como por exemplo, nos grupos G III (BRS208 e/ou BRS210), G IV (BRS220) e G V (Alcover) (Figura 2).

O dendrograma construído a partir da dissimilaridade genética obtida pelo marcador SSR evidenciou coeficiente de correlação cofenética de 0,71, significativo a 1% pelo teste de Mantel (MANTEL, 1967). Considerando um corte no dendrograma na dissimilaridade de 0,41 visualiza-se a formação de oito grupos. No G I, foram agrupadas as linhagens L35 e L37. No G II as linhagens L9, L29, L30, L31, L32, L34 e L36 (16%). No G III, constituído pela grande maioria das linhagens de trigo (16). No G IV foram alocadas as linhagens L12, L38, L39 e L41. O G V, constituído por 11 genótipos, sendo dez linhagens de trigo e a cultivar comercial Safira®. O G VI e G VII foi formado apenas pelas linhagens L8 e L33, respectivamente. E finalmente no G VIII agruparam-se as linhagens L19 e L23 (Figura 3). Percebe-se a partir dos resultados desta análise algumas diferenças em relação ao agrupamento gerado pelos dados de genealogia. Por exemplo, pares de linhagens de trigo obtidas de um mesmo cruzamento como: L 11 e L 12 (Alcover / BR18), L16 e L17 (BRS 210 / BRS 208), L22 e L23 (BRS 210 / Alcover) e a L41 e L43 (Alcover / OR1), foram alocadas em grupos distintos através dos dados do marcador molecular SSR, demonstrando que apesar de possuírem parentais em comum apresentam divergência molecular. Possivelmente, este fato pode ser explicado pelas linhagens de trigo terem sido submetidas a vários ciclos de seleção ao longo dos anos, o que pode ter indiretamente selecionado regiões genômicas específicas nestas linhagens de trigo. Embora, possa ser observado para o G II e G IV, que os genótipos de trigo nestes grupos apresentam um parental em comum, a cultivar comercial Alcover.

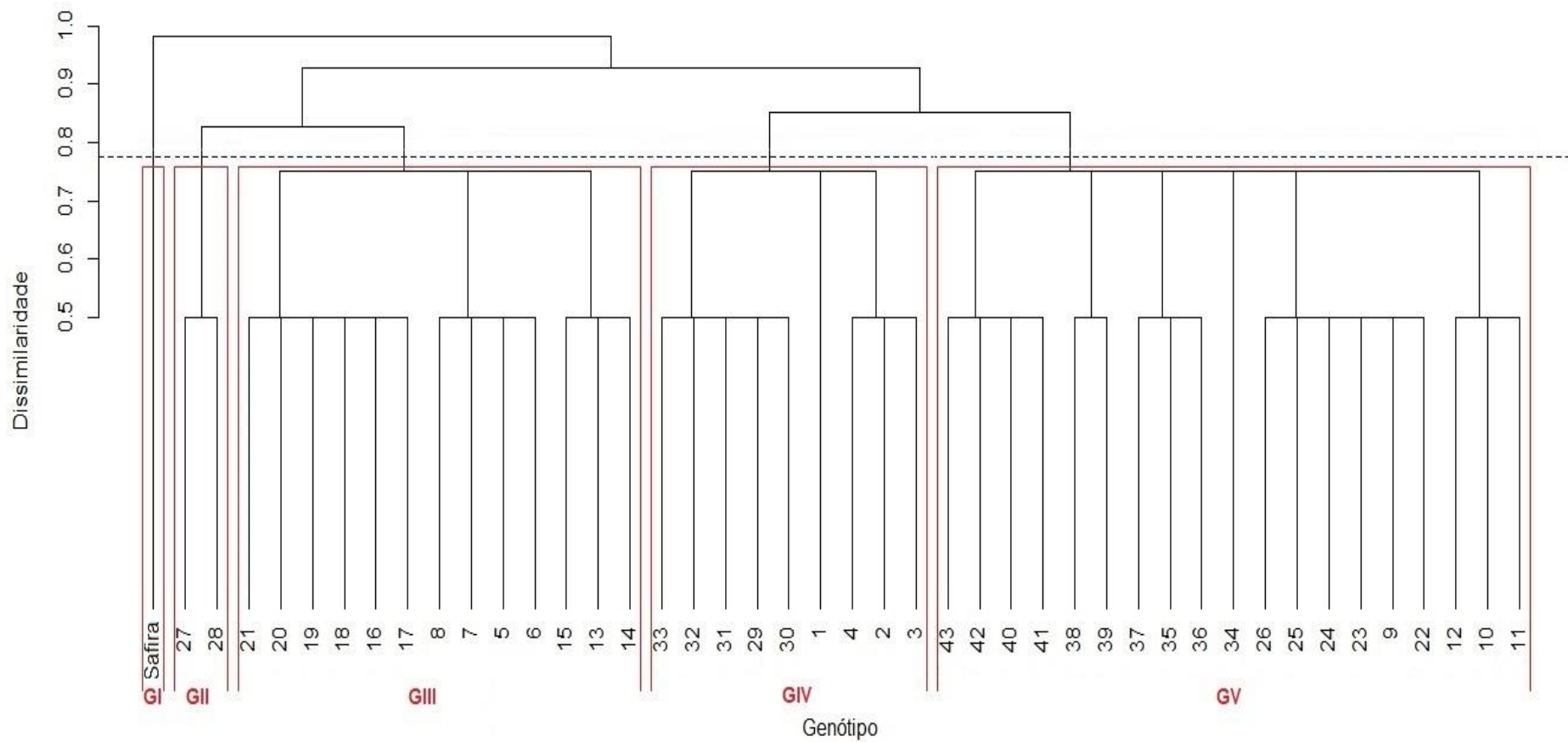


Figura 2 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através dos dados da genealogia. Ponta Grossa, 2015.

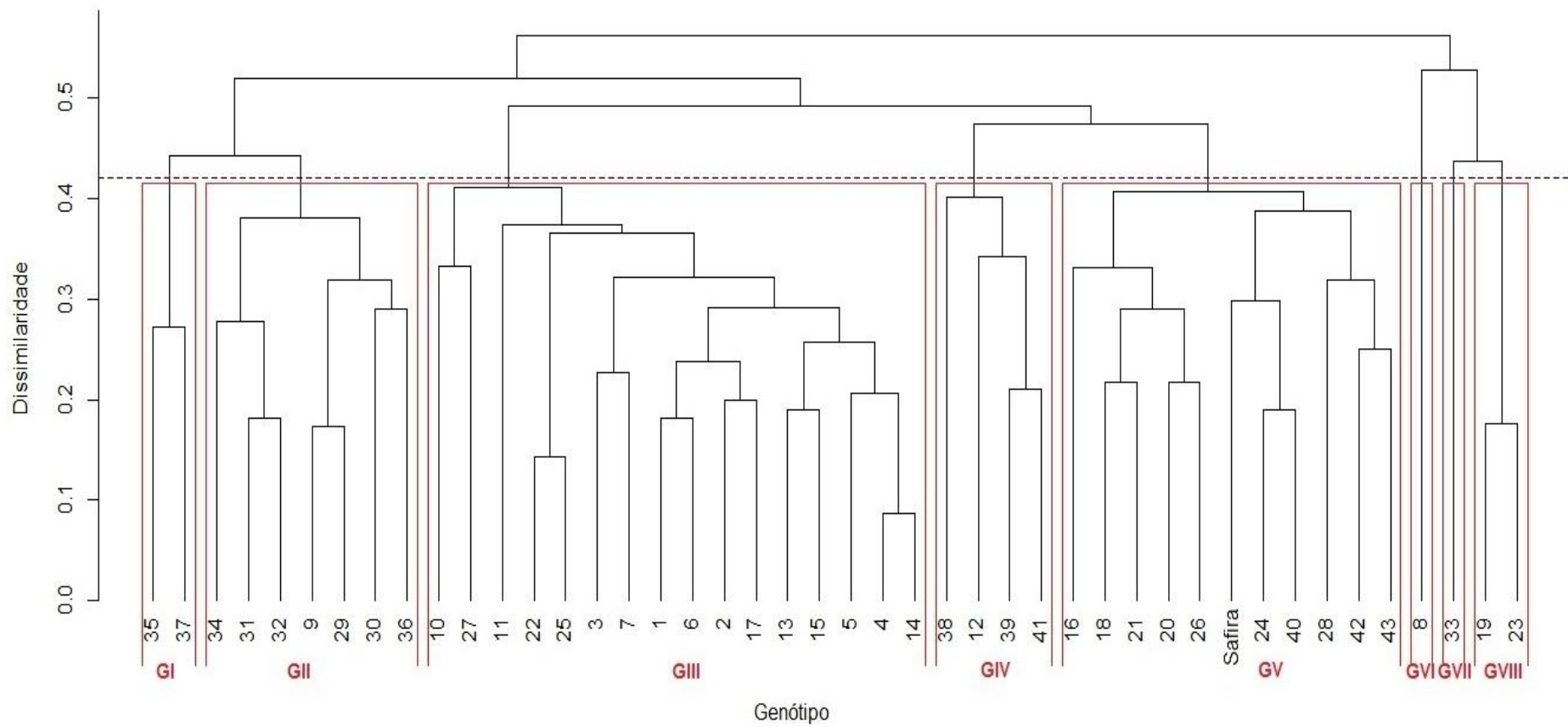


Figura 3 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através do marcador SSR. Ponta Grossa, 2015.

Para o dendrograma do marcador AFLP, o coeficiente de correlação cofenética foi de 0,74 e significativo a 1% pelo teste de Mantel (MANTEL, 1967). Partindo de um ponto de corte de 0,43 no dendrograma, verifica-se a formação de oito grupos de genótipos. O G I, formado apenas pela linhagem L1, considerado o genótipo mais dissimilar da análise. Os grupos G II (L10 e L12), G III (L7 e L14), G IV (L15 e L17), e G V (L27 e L40) foram constituídos por apenas duas linhagens de trigo. No G VI foram alocadas as linhagens L9, L20, L31 e L41 e no G VII as linhagens L16, L18, L19, L21, L23, L26 e L28. O G VIII, maior grupo com 24 genótipos (54,5%), sendo 23 linhagens juntamente com a cultivar comercial Safira® (Figura 4). Da mesma forma que o SSR, para o marcador AFLP a análise evidenciou discrepância na topologia dos dendrogramas quando comparado com os dados da genealogia dos genótipos de trigo. Adicionalmente, quando se compara os dendrogramas do SSR e do AFLP, verifica-se a baixa correlação entre os mesmos. Da mesma maneira, Pagnotta; Mondini e Atallah (2005), não observaram correlação entre os marcadores na análise de diversidade genética. Reforçam que as diferenças justificam-se pelo número diferenciado de fragmentos amplificados entre os marcadores e também pelo marcador SSR detectar regiões mais específicas do genoma quando comparado ao AFLP. A ampla distribuição dos fragmentos do marcador AFLP no genoma do trigo foi avaliado por Huang et al. (2000). Os resultados evidenciaram fragmentos amplificados associados em todos os cromossomos do trigo e com distribuição bastante similar entre os genomas, sendo 38, 31,7 e 30,3% no genoma B, A e D, respectivamente.

O dendrograma obtido a partir da matriz de dissimilaridade da distância de Mahalanobis (D^2) evidenciou coeficiente de correlação cofenética de 0,68 e também significativo pelo teste de Mantel a 1% (MANTEL, 1967). A análise evidenciou a formação de oito grupos de genótipos de trigo (Figura 5). Isoladamente, a L37 (G I) destacou-se entre os genótipos pela precocidade (ciclo vegetativo e reprodutivo) e também pela maior qualidade dos grãos através do peso do hectolitro (PH= 76) e a L33 (G IV) com o menor porte e ciclo tardio (Tabela 6 e Figura 5). Estes resultados foram similares a análise de componentes principais, reforçando a divergência fenotípica destas linhagens em relação aos demais genótipos estudados.

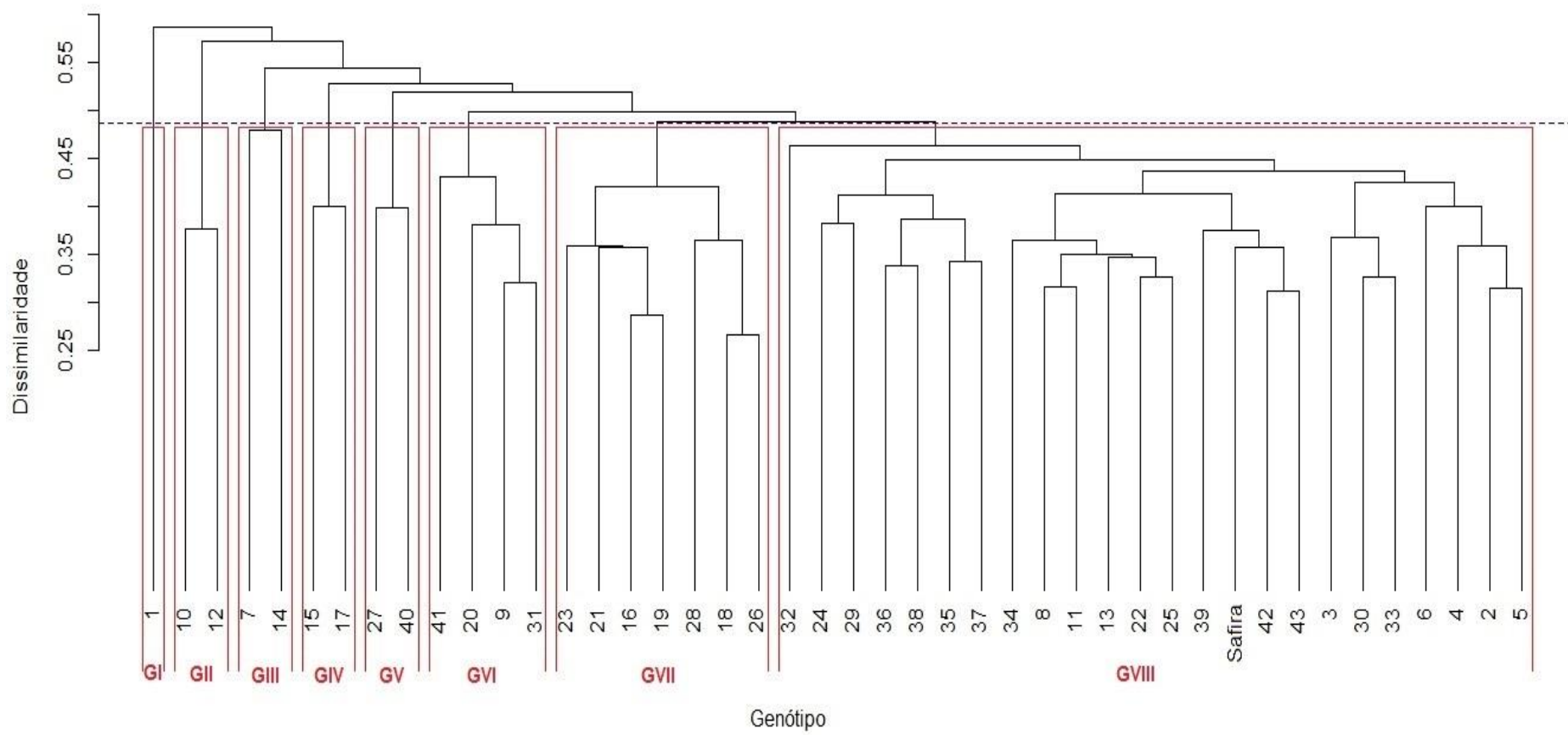


Figura 4 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através do marcador AFLP. Ponta Grossa, 2015.

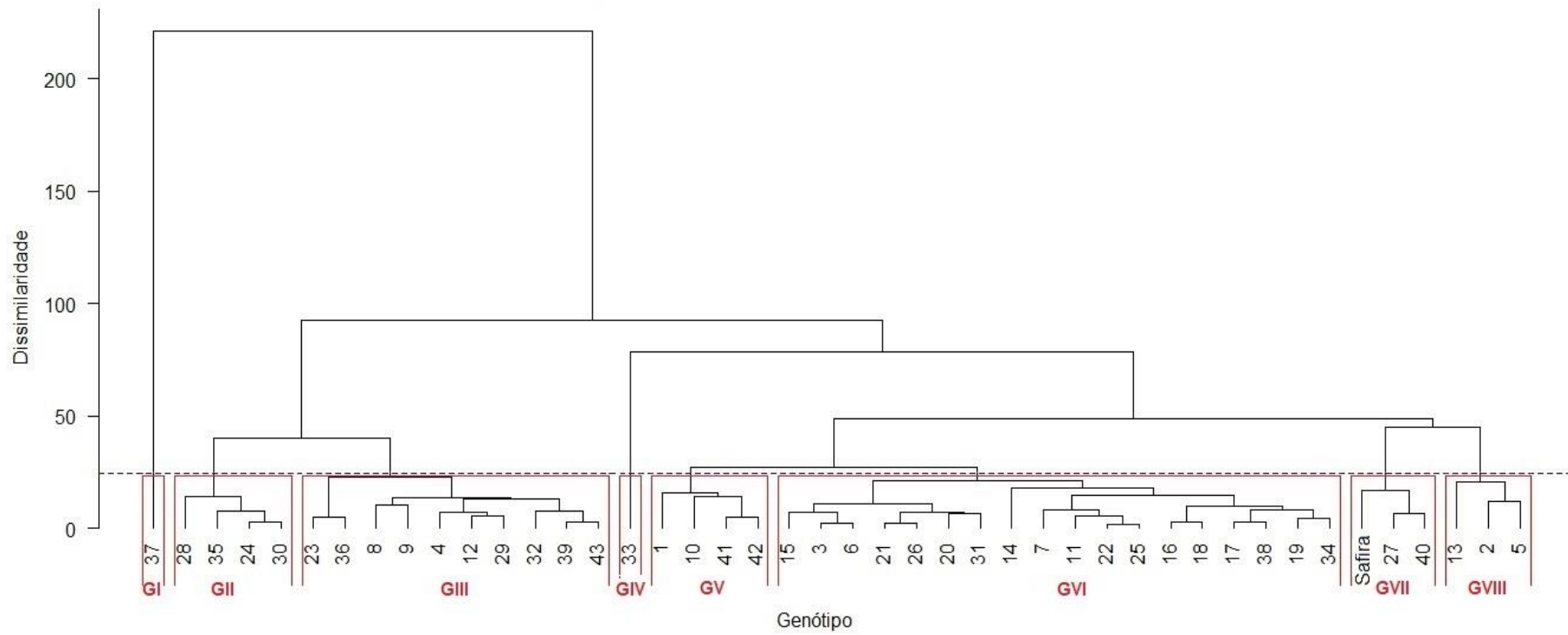


Figura 5 - Dendrograma produzido a partir da dissimilaridade genética existente entre os 44 genótipos de trigo através dos caracteres agrônômicos. Ponta Grossa, 2015

O G II composto pelas linhagens L24, L28, L30 e L35 e o G III pelas linhagens L4, L8, L9, L12, L23, L29, L32, L36, L39 e L43 destacaram-se também em relação ao ciclo vegetativo com média de 61 e 65 dias, e ao ciclo reprodutivo com 110 e 114 dias, respectivamente (Tabela 6 e Figura 5). O G V, constituído pelas linhagens L1, L10, L41 e L42, teve destaque para a estatura de planta (70,8 cm) e para o peso de mil grãos (44 g) (Tabela 6 e Figura 5). O porte de plantas em trigo está diretamente relacionado com a resistência ao acamamento, principalmente quando se utiliza da maior densidade de plantas por unidade de área, bem como pelo incremento na quantidade de adubo (CONDÉ et al., 2010). O G VI, com 18 genótipos (40,9% das linhagens) evidenciou maior vigor (3,3), além de alto peso do hectolitro (75,8 kg hl⁻¹) e rendimento de grãos (4290,1 kg ha⁻¹) (Tabela 6 e Figura 5). O elevado potencial produtivo associado à qualidade de grãos tornam estas linhagens fortes candidatas a serem recomendadas no futuro como novas cultivares para a região dos Campos Gerais. O G VII, representado pelos genótipos L27, L40 e a cultivar Safira[®] foi o grupo que apresentou o melhor desempenho para o rendimento de grãos (4515,1 kg ha⁻¹), da mesma forma evidenciada pela análise de componentes principais. Por outro lado, o G VIII com as linhagens L2, L5 e L13 demonstrou o pior desempenho agrônômico, com ciclo mais longo (vegetativo com 72 e reprodutivo com 122 dias) e rendimento de grãos inferior à média do experimento (3249,8 kg ha⁻¹) (Tabela 6 e Figura 5).

Tabela 6 - Desempenho médio de sete variáveis fenotípicas para cada grupo de genótipos obtidos pelo método de agrupamento UPGMA. Ponta Grossa, 2015.

Grupos	VIGOR	DEF	DEM	EST	P1000	PH	REND
I	3,1	58	107	89,5	43,1	76,0	3711,4
II	2,9	61	110	73,4	44,0	74,6	4048,6
III	3,0	65	114	77,1	42,9	75,7	4203,7
IV	2,3	69	123	64,2	45,7	69,6	3602,6
V	2,8	69	116	70,8	44,0	74,8	4162,3
VI	3,3	70	118	80,8	41,7	75,8	4290,1
VII	3,0	75	121	80,0	38,7	74,6	4515,1
VIII	2,6	72	122	81,9	40,7	73,8	3249,8

(VIGOR) vigor inicial, (DEM) ciclo vegetativo em dias, (DEF) ciclo reprodutivo em dias, (EST) estatura de planta em cm, (P1000) peso de mil grãos em gramas, (PH) peso do hectolitro em kg hl⁻¹, (REND) rendimento de grãos em kg ha⁻¹.

Ao comparar os agrupamentos gerados através das dissimilaridades genéticas dos genótipos de trigo a partir das características agrônômicas, dos dados de genealogia e dos marcadores moleculares, verifica-se que a distribuição dos

genótipos dentro dos grupos foi muito variável, evidenciando a baixa correlação entre as metodologias de análise. O coeficiente de correlação estimado entre as matrizes de dissimilaridade variou de 0,04 (agronômico x AFLP) a 0,24 (genealogia x AFLP) (Tabela 7). Diversos trabalhos disponíveis na literatura também obtiveram baixa correlação entre as matrizes de dissimilaridade. Por exemplo, Liu et al. (2007) evidenciaram correlação de apenas 0,038 entre as matrizes de dissimilaridade a partir da genotipagem de 30 genótipos de trigo comum com 24 locos SSR e da fenotipagem com 5 caracteres agronômicos. Sun et al. (2003) estimaram coeficiente de correlação de 0,104 a partir de dados moleculares e análise de pedigree. Maric et al. (2004) estudando 14 cultivares de trigo, estimaram coeficientes de correlação de 0,121; 0,198 e 0,262 para marcador molecular x caracteres agronômicos, coeficiente de parentesco x marcador molecular e de coeficiente de parentesco x caracteres agronômicos, respectivamente. Da mesma forma, Bertan et al. (2007) estimaram coeficiente de correlação de apenas 0,13 entre caracteres agronômicos e coeficiente de parentesco.

Tabela 7 - Valores de correlação entre as matrizes de dissimilaridade dos marcadores moleculares (SSR e AFLP), caracteres agronômicos e genealogia dos genótipos de trigo. Ponta Grossa, 2015.

Matriz	SSR	AFLP	Agronômicos
AFLP	0,13	-	-
Agronômicos	0,16	0,04	-
Genealogia	0,23	0,24	0,11

As baixas correlações estimadas (Tabela 7) podem ser em decorrência de diferentes fatores envolvendo as metodologias de análise utilizadas. Em relação a correlação do coeficiente de parentesco com as demais metodologias, as baixas correlações podem ser em função da análise não levar em consideração a seleção, a qual pode direcionar para maior frequência de alelos de um parental em relação ao outro (WANG; LU, 2006). Além disso, a análise assume que os parentais sejam independentes, mas é possível que alguns ancestrais possam ser relacionados geneticamente, levando a um desvio do verdadeiro valor do coeficiente de parentesco (BARRETT; KIDWELL; FOX, 1998).

A baixa correlação observada neste trabalho entre a genealogia dos genótipos e os marcadores moleculares, pode estar associada a semelhança do fragmento amplificado entre os genótipos, porém oriundos de parentais divergentes (MARIC et al., 2004). Em relação à correlação entre a genealogia com os caracteres agrônômicos, Condé et al. (2010) descrevem que dois genótipos oriundos do mesmo cruzamento, podem ser totalmente diferentes morfológicamente, principalmente quando os parentais apresentam alta divergência genética, devido a possibilidade de seleção para diferentes características nos genótipos. Assim, genótipos aparentados, podem diferir amplamente para uma série de outras características.

Provavelmente, a baixa correlação dos dados moleculares com os morfológicos, esteja relacionada ao fato dos marcadores moleculares possibilitarem uma amostragem ampla do genoma, regiões codantes e não codantes (SEMAGN, 2002). Além disto, as regiões genômicas amostradas pela genotipagem molecular (SSR e AFLP) podem não estar necessariamente próximas aos genes que controlam as variáveis fenotípicas que foram avaliadas no presente trabalho.

Outros fatores que influenciam a baixa correlação entre os caracteres agrônômicos e os dados moleculares, é que, por mais que dois indivíduos apresentem semelhanças nos fenótipos, podem ser determinadas por diferentes genes, sendo fenotipicamente similar, mas geneticamente dissimilar (KUCZYNSKA et al., 2007). Por outro lado, podem ser semelhantes geneticamente, porém o ambiente pode causar variação fenotípica muitas vezes não observada a nível molecular (SALEM; EL-ZANATY; ESMAIL, 2008).

Apesar dos baixos coeficientes de correlação, pode-se afirmar que as metodologias utilizadas foram eficientes em captar a dissimilaridade entre os genótipos de trigo. Foi possível destacar quais os genótipos de trigo foram os mais divergentes geneticamente e com destaque para características agrônômicas de interesse econômico para a triticultura nacional. Para o rendimento de grãos, as linhagens L3, L6, L7, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20, L21, L22, L25, L26, L27, L31, L34, 38, L40 e a cultivar Safira[®] demonstraram o melhor desempenho independente da análise utilizada (modelo hierárquico ou componentes principais). Além disso, é possível observar por meio dos agrupamentos gerados pelos marcadores moleculares (SSR e AFLP), que essas linhagens apresentam certa dissimilaridade genética, o que pode ser resultado de diferentes alelos controlando este caráter. De acordo com Schmidt et al. (2009), visando o acúmulo de alelos

favoráveis para o rendimento de grãos, essas linhagens poderiam ser utilizadas como parentais em novos blocos de cruzamento, com a finalidade de obter populações segregantes com alta diversidade genética e elevado potencial produtivo, possibilitando incrementar os ganhos com a seleção artificial nos programas de melhoramento genético de trigo.

5 ADAPTABILIDADE E ESTABILIDADE DE GENÓTIPOS DE TRIGO PELO MÉTODO GGE BILOT

RESUMO

A ocorrência de interação entre genótipos x ambientes dificulta a recomendação de linhagens de trigo superiores, portanto, é necessário estimar a adaptabilidade e estabilidade fenotípica dos genótipos para os diversos ambientes de cultivo. Neste sentido, os objetivos deste trabalho foram estimar a adaptabilidade e estabilidade de genótipos de trigo no município de Ponta Grossa através da metodologia GGE biplot. Foram avaliados 44 genótipos de trigo, sendo 43 linhagens do programa de melhoramento de trigo da UEPG e a cultivar comercial Safira®. Os experimentos foram implantados nas safras agrícolas de 2010, 2011 e 2012 na Fazenda Escola "Capão da Onça". O delineamento experimental foi de blocos aleatorizados com três repetições. Os genótipos foram avaliados para as características estatura de planta em cm, ciclo reprodutivo em dias e rendimento de grãos em kg ha⁻¹. Os resultados da análise de variância conjunta dos experimentos para as três variáveis fenotípicas evidenciaram que o efeito da interação genótipo x ambiente foi altamente significativo ($p < 0,01$), indicando desempenho diferenciado dos genótipos de trigo às safras agrícolas estudadas. Na análise GGE biplot, os dois primeiros componentes principais explicaram grande parte da variação total G + GE, com variação acumulada de 95,2, 93,7 e 91,6% para as características ciclo reprodutivo, estatura de planta e rendimento de grãos, respectivamente. Por meio da análise gráfica, foi possível identificar os genótipos ideais, caracterizados pela alta adaptação agrônômica associado a estabilidade fenotípica. Para o rendimento de grãos, os genótipos ideais foram as linhagens L8, L15, L17, L31, L34, L38 e a L40. Essas linhagens de trigo apresentaram potencial produtivo superior a cultivar comercial Safira® tornando-as fortes candidatas como novas cultivares comerciais para o município de Ponta Grossa. A metodologia GGE biplot demonstrou-se eficiente na estimação da adaptação e estabilidade fenotípica dos genótipos nos ambientes testados, bem como identificou os genótipos de trigo mais promissores para a região de estudo.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*. Genótipo x ambiente. Rendimento de grãos.

ABSTRACT

The occurrence of interaction between the genotype x environment difficult the recommendation of higher wheat lines, so it is necessary to estimate the phenotypic stability and adaptability of genotypes for various cultivation environments. In this sense, the objectives of this study were to estimate the adaptability and stability of wheat genotypes in Ponta Grossa by GGE biplot methodology. It was evaluated 44 wheat genotypes, 43 strains of wheat breeding program of UEPG and cultivating commercial Safira[®]. The experiments were implanted in the agricultural crop of 2010, 2011 and 2012 in the Fazenda Escola "Capão da Onça." The experimental design was randomized blocks with three replications. The genotypes were evaluated for the characteristics plant height in cm, reproductive cycle in days and grain yield in kg ha⁻¹. The results of variance analysis of the experiments for the three phenotypic variables showed that the effect of genotype x environment interaction was highly significant ($p < 0.01$), indicating different performance of wheat genotypes to agricultural crops studied. In GGE biplot analysis, the first two principal components explained majority G + GE total variation, with accumulated variation of 95.2, 93.7 and 91.6% for the characteristics reproductive cycle, plant height and grain yield, respectively. Through the graphical analysis, it was possible identify the ideals genotypes characterized by high agronomic adaptation associated with phenotypic stability. For grain yield, the ideals genotypes were the lines L8, L15, L17, L31, L34, L38 and L40. These wheat lines showed higher productive potential than that commercial cultivar Safira[®] making them strong candidates as new commercial cultivars for the municipality of Ponta Grossa. The GGE biplot methodology was efficient in the estimation of adaptation and phenotypic stability of genotypes in the tested environments, and identified the most promising wheat genotypes for the study region.

Keywords: *Triticum aestivum*. Genotype x environment. Grain yield.

INTRODUÇÃO

O trigo é o cereal de inverno mais cultivado no mundo. Neste segmento, o Brasil, produz anualmente em torno de 5,9 milhões de toneladas de grãos. O estado do Paraná, principal produtor nacional deste cereal, apresentou um rendimento médio de 2731 kg ha⁻¹ na safra 2014, com crescimento de 21% no rendimento em relação à safra de 2004 (CONAB, 2015). O incremento no rendimento de grãos da cultura pode ser associado aos avanços tecnológicos nos programas de melhoramento genético, como a liberação de novas cultivares mais adaptadas às diferentes regiões de cultivo, com alto potencial no rendimento de grãos, maior resistência a pragas e doenças e com qualidade de panificação superior (SHIFERAW et al., 2013).

Apesar de o estado do Paraná ser o líder nacional na produção de trigo, a alta variabilidade para o rendimento de grãos ainda é observada. De maneira geral, as discrepâncias no rendimento de grãos estão relacionadas as diferenças climáticas nas regiões de cultivo e também pela utilização de cultivares com baixa adaptação aos ambientes de cultivo no estado. Portanto, torna-se necessário maiores esforços científicos no sentido de melhorar as estratégias de seleção artificial pelos programas de melhoramento da cultura, com o intuito de identificar nas populações segregantes genótipos mais promissores para o potencial produtivo, com adaptação aos ambientes bem como maior estabilidade produtiva ao longo das safras agrícolas. Neste contexto, a análise de adaptabilidade e estabilidade de características agronomicamente importantes para a cultura, como por exemplo, o rendimento de grãos, o ciclo reprodutivo e a estatura de plantas, poderiam melhorar a eficiência na recomendação de cultivares pelos programas de melhoramento, possibilitando através do conhecimento da interação genótipo x ambiente a forma mais adequada de recomendação, seja com adaptação ampla ou específica (regionalização) para as diferentes regiões edafoclimáticas do estado do Paraná (FRANCESCHI et al., 2010).

Diferentes metodologias estatístico-genéticas vêm sendo utilizadas para avaliar a adaptação e a estabilidade de genótipos, podendo ser realizada por meio da análise de variância (SHUKLA, 1972), análise de regressão linear (EBERHART; RUSSEL, 1966) regressão linear bissegmentada (CRUZ et al., 1989), estatísticas não paramétricas (LIN; BINNS, 1988) ou análises multivariadas (YAN et al., 2000).

Entretanto, novas metodologias vêm sendo propostas, dentre as quais destaca-se a análise GGE biplot (*genotype main effects + genotype environment interaction*), proposta por Yan et al. (2000), na qual se considera o efeito principal de genótipo associado à interação genótipo x ambiente.

A metodologia GGE biplot é uma técnica que facilita a visualização e a interpretação dos dados obtidos, em que os genótipos podem ser avaliados quanto ao seu desempenho em um ambiente determinado, ou em diferentes ambientes de avaliação, além de informar a adaptação específica ou ampla dos genótipos (MOHAMMADI; AMRI, 2012). Frequentemente, diferentes trabalhos têm utilizado o GGE biplot na determinação da adaptabilidade e estabilidade de genótipos, como, por exemplo, em trigo (AYALEW; WONDALE; TESHAGER, 2014; HAGOS; ABAY, 2013; MOHAMMADI; AMRI, 2012; RAD et al., 2013), milho (OLIVEIRA et al., 2010; TONK; ILKER; TOSUN, 2011), cana-de-açúcar (MATTOS et al., 2013), alface (JENNI; HAYES, 2010) e feijão (RODIÑO et al., 2011).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a adaptabilidade e estabilidade fenotípica de 43 novas linhagens melhoradas de trigo provenientes do programa de melhoramento genético da Universidade Estadual de Ponta Grossa através da metodologia GGE biplot.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e experimentos de campo

Foram utilizados 44 genótipos de trigo, sendo 43 linhagens do programa de melhoramento genético da Universidade Estadual de Ponta Grossa e a cultivar comercial Safira® como testemunha (OR Melhoramento de Sementes LTDA e Biotrigo Genética LTDA). Os experimentos, instalados nas safras agrícolas de 2010, 2011 e 2012, foram desenvolvidos na área experimental da Fazenda Escola “Capão da Onça”, da UEPG. O delineamento experimental foi de blocos completos aleatorizados com três repetições. A parcela experimental foi composta por nove linhas de quatro metros de comprimento e 0,17m na entrelinha, com população de plantas de aproximadamente 350 plantas aptas por m⁻². Os genótipos de trigo foram avaliados para as seguintes características: estatura de planta em cm, ciclo reprodutivo em dias e rendimento de grãos em kg ha⁻¹ (corrigido para 13% de umidade).

Análises estatísticas

Os dados coletados das variáveis fenotípicas dos três experimentos foram submetidos à análise de variância individual no programa GENES (CRUZ, 2006). Após verificar a homocedasticidade das variâncias residuais, pelo teste F máximo, realizou-se a análise de variância conjunta dos experimentos, considerando efeito de genótipos fixo e de ambientes aleatório. Na presença de interação genótipos x ambientes significativa pela análise de variância conjunta, procedeu-se a análise de adaptabilidade e estabilidade fenotípica através da metodologia GGE biplot, de acordo com o seguinte modelo:

$$\bar{Y}_{ij} - \mu_j = \lambda_1 \gamma_{i1} \alpha_{j1} + \lambda_2 \gamma_{i2} \alpha_{j2} + \bar{\epsilon}_{ij}$$

Em que:

\bar{Y}_{ij} : é a produtividade média do i-ésimo genótipo no j-ésimo ambiente;

μ_j : é a produtividade média geral no j-ésimo ambiente;

$\lambda_1 \gamma_{i1} \alpha_{j1}$: é o primeiro componente principal, do efeito de genótipos + interação genótipo x ambiente;

$\lambda_2\gamma_{i2}\alpha_{j2}$: é o segundo componente principal, do efeito de genótipos + interação genótipo x ambiente;

λ_1 e λ_2 : são os valores singulares associados ao primeiro e segundo componente principal respectivamente;

γ_{i1} e γ_{i2} : vetor singular do primeiro e segundo componente principal respectivamente, para o i-ésimo genótipo;

α_{j1} e α_{j2} : vetor singular do primeiro e segundo componente principal respectivamente, para o j-ésimo ambiente;

$\bar{\epsilon}_{ij}$: é o erro do modelo associado com o i-ésimo genótipo e j-ésimo ambiente (YAN, 2001).

A análise de GGE biplot (*genotype main effects + genotype environment interaction*) (YAN, 2001) foi realizada com a função GGEBiplot () do software R versão 3.1.3 (R CORE TEAM, 2012). Para gerar o biplot foi utilizado centering = 2 – corresponde ao modelo GGE. Optou-se pela decomposição com SVP = 1, ou seja, o particionamento em valor singular foi centrado no genótipo. O módulo “*Which-won-where*” (“quem venceu onde”) foi utilizado para possível identificação dos genótipos com o melhor desempenho em cada mega-ambiente e o módulo “*Mean vs. Stability*” (“média versus estabilidade”) para avaliação da adaptabilidade e estabilidade dos genótipos de trigo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise conjunta

A partir dos resultados das análises de variância individuais dos três experimentos, testou-se a homocedasticidade das variâncias residuais para as três variáveis fenotípicas avaliadas. Para todas as características avaliadas a relação $\frac{> QM_{Resíduo}}{< QM_{Resíduo}}$ foi inferior a 7. Atendida a pressuposição estatística, os experimentos foram considerados com variâncias residuais homogêneas e então foi realizada a análise de variância conjunta dos experimentos (PIMENTEL-GOMES, 2009).

Os resultados da análise de variância conjunta dos experimentos para as variáveis ciclo reprodutivo (dias), estatura de planta (cm) e rendimento de grãos (kg ha⁻¹) dos 44 genótipos de trigo nos três ambientes (safras) de avaliação são apresentados na Tabela 8. As análises estatísticas demonstraram que os efeitos de genótipos (G), de ambientes (A) e da interação (G x A) foram altamente significativos ($p < 0,01$), evidenciando desempenho diferenciado dos genótipos de trigo nas três safras agrícolas de avaliação, justificando a necessidade de estimar e conhecer a magnitude da interação genótipo x ambiente para este conjunto de genótipos de trigo do programa de melhoramento da UEPG.

Tabela 8 - Resumo da análise de variância conjunta para as variáveis ciclo reprodutivo (DEM), estatura de planta (EST) e rendimento de grãos (REND) em função dos ambientes, dos genótipos e da interação genótipo x ambiente (G x A) nas safras de 2010, 2011 e 2012. Ponta Grossa, 2015.

Fontes de variação	Quadrado Médio (QM)			
	GL	DEM (dias)	EST (cm)	REND (kg ha ⁻¹)
Blocos (ambiente)	6	3,150	186,239	90522,66
Ambientes (A)	2	15732,410 **	10752,608 **	37092470,68 **
Genótipos (G)	43	119,795 **	336,462 **	1539880,28 **
G x A	86	22, 243 **	37,643 **	594812,18 **
Resíduo	258	1,640	11,367	142277,77
Média		116,5	78,2	4152,5
C.V. (%)		1,1	7,5	9,1

** significativo a 1 de probabilidade.

Os coeficientes de variação (CV%) foram de baixa magnitude, com amplitude de 1,1 para o ciclo reprodutivo (DEM) a 9,1% para o rendimento de grãos (REND), evidenciando de certa forma a boa precisão experimental. O desempenho médio das variáveis fenotípicas avaliadas nos três ambientes (2010, 2011 e 2012) dos genótipos de trigo são apresentados na Tabela 9. De maneira geral, evidencia-se que independentemente da safra agrícola várias linhagens de trigo do programa de melhoramento da UEPG foram agronomicamente superiores à cultivar comercial Safira® (Tabela 9). Para o ciclo reprodutivo (DEM) foram encontradas linhagens de trigo, L30 (2010) e L37 (2012) com ciclo reprodutivo 12 dias mais precoce que a cultivar testemunha Safira®, sendo que a amplitude do ciclo reprodutivo entre os genótipos, nas três safras agrícolas, variou de 95 a 142 dias (Tabela 9). Para a estatura, são observadas linhagens de trigo com porte variando desde 58,2 (L1 – 2012) a 106,7 cm (L20 – 2011). Mesmo assim, foram encontradas linhagens mais baixas que a própria cultivar Safira®, com redução de até 15,7 cm na estatura (L43 – 2010) (Tabela 9).

Para o rendimento de grãos nas três safras agrícolas, evidenciou-se linhagens de trigo com elevado potencial de rendimento de grãos. A amplitude do rendimento nas três safras foi de 2376,5 (L5 - 2011) a 5423,2 kg ha⁻¹ (L41 – 2010) (Tabela 9). Maior destaque deve ser atribuído as linhagens de trigo com rendimento médio superior a cultivar testemunha Safira®, como por exemplo na safra 2010 a L41 apresentou um incremento em relação a testemunha de 68,3 kg ha⁻¹ (+ 1,3%), em 2011 a linhagem L36 com 1647 kg ha⁻¹ (+ 44,4%) e na safra de 2012 a L21 com 560,6 kg ha⁻¹ (+ 14,8%) (Tabela 9).

Tabela 9 - Desempenho médio dos 44 genótipos de trigo para as variáveis ciclo reprodutivo (DEM), estatura de planta (EST) e rendimento de grãos (REND) nas safras de 2010, 2011 e 2012. Ponta Grossa, 2015.

Genótipos	DEM (dias)			EST (cm)			REND (kg ha ⁻¹)		
	2010	2011	2012	2010	2011	2012	2010	2011	2012
L1	127	119	105	63,7	82,6	58,2	3643,4	3900,0	2821,7
L2	133	125	109	74,0	84,6	64,6	3481,3	3168,6	2463,2
L3	126	120	109	76,7	92,5	71,9	4197,1	4411,8	3164,8
L4	118	121	98	71,0	93,3	71,3	4053,5	4405,9	3575,4
L5	133	125	106	82,2	91,7	76,2	4038,9	2376,5	2965,7
L6	129	121	105	75,0	87,5	74,2	4265,8	4003,9	3336,4
L7	121	120	105	73,7	83,2	65,7	4195,9	4119,6	3296,6
L8	120	120	99	74,5	81,1	67,5	4476,9	4564,7	3694,8
L9	120	117	104	63,5	79,9	67,2	4575,3	4976,5	3829,6
L10	129	121	106	68,2	77,9	65,3	4852,1	4147,0	3832,7
L11	122	121	106	74,5	81,9	68,6	4541,1	2927,4	3401,3
L12	122	117	104	74,0	89,2	67,6	4153,1	4552,9	3581,5
L13	142	120	104	82,5	103,1	78,4	2531,0	4460,8	3762,2
L14	128	121	107	81,7	96,6	78,2	3649,1	4911,8	3428,3
L15	126	121	106	74,7	93,3	74,9	5095,8	5337,2	3376,2
L16	127	122	104	70,5	91,7	67,5	4464,7	4966,7	3550,8
L17	124	121	106	81,7	99,3	73,7	4825,1	4998,0	3548,4
L18	129	121	109	72,2	86,9	67,4	5035,3	4390,2	3860,3
L19	123	120	103	73,2	89,4	71,2	4341,6	5098,0	3431,4
L20	131	123	108	87,0	106,7	77,4	4762,7	5235,3	3578,4
L21	130	121	105	83,2	98,7	77,0	4638,2	5018,1	4347,4
L22	124	121	105	78,0	84,5	67,7	4863,5	4296,1	3553,9
L23	126	118	103	76,7	93,5	78,6	4724,9	5149,0	3826,6
L24	118	115	98	64,0	81,3	68,2	3893,4	4531,4	3180,1
L25	126	121	106	76,0	85,3	68,6	4917,2	4233,3	4197,3
L26	129	122	107	84,0	98,7	75,8	4493,5	5356,9	3835,8
L27	131	126	109	82,2	98,5	75,7	5203,2	4278,4	3918,5
L28	125	116	98	71,7	83,5	71,9	3912,5	5251,0	3275,1
L29	121	117	103	79,7	92,0	78,5	4363,1	5129,4	3281,2
L30	116	113	96	71,5	75,1	65,5	4192,5	4009,8	3348,6
L31	127	121	108	84,0	95,5	76,2	5007,4	4809,8	3370,1
L32	121	116	104	73,7	80,0	68,7	4080,9	4011,8	3265,9
L33	142	121	106	62,5	69,0	60,9	4169,2	3737,2	2901,3
L34	123	119	108	80,2	89,0	72,9	5119,0	4866,7	3673,4
L35	118	115	98	72,5	82,0	73,8	4879,1	4561,8	3547,8
L36	126	121	103	78,7	95,8	78,5	4842,7	5358,8	4010,4
L37	115	112	95	89,0	93,4	86,0	4152,6	3590,2	3391,5
L38	125	120	105	81,0	99,5	72,6	5069,9	4988,2	3946,1
L39	126	117	101	66,5	83,5	71,9	3892,7	4262,7	3816,2
L40	131	123	109	78,0	86,3	70,2	5227,3	5052,9	4102,3
L41	123	116	105	74,0	81,6	66,1	5423,2	4521,6	3805,1
L42	125	118	105	66,7	80,9	64,2	4076,7	4892,1	4031,9
L43	122	116	102	63,0	84,7	69,2	3573,1	4511,8	3569,2
Safira®	128	122	107	78,7	83,9	66,2	5354,9	3711,8	3786,8
Média	126	120	104	75,2	88,4	71,2	4437,5	4479,2	3556,4
Diferença	- 12	- 9	- 12	- 15,7	- 14,9	- 8,0	+ 68,3	+ 1647,0	+ 560,6

GGE biplot

A análise GGE biplot foi baseada nos dados fenotípicos médios das características estudadas a partir do estabelecimento dos componentes principais

(CP's) que melhor explicaram os dados obtidos. Para o ciclo reprodutivo, os dois primeiros CP's explicaram grande parte da variação total G + GE, com 95,2% da variação acumulada. Para a estatura de planta, a variação acumulada do CP1 + CP2 foi de 93,7% e para o rendimento de grãos somente o CP1 explicou 60,9%, somando-se ao CP2, a variação acumulada nos dois primeiros CP's equivaleu a 91,6% da variação total G + GE (Tabela 10). Assim fica evidente pela elevada porcentagem da variação acumulada nos dois primeiros componentes principais deste trabalho que a utilização do CP1 e CP2 para interpretar graficamente os dados através da análise GGE biplot é o mais indicado. Segundo Oliveira; Duarte e Pinheiro (2003) é nos primeiros componentes principais que se tem a maior porcentagem da variação total correta. A medida que aumenta-se o número de componentes principais selecionados, a porcentagem de erro é incrementada, reduzindo-se assim a confiabilidade nos resultados obtidos.

Tabela 10 - Proporção explicada e acumulada dos três primeiros componentes principais (CP's) para as variáveis ciclo reprodutivo (DEM), estatura de planta (EST) e rendimento de grãos (REND). Ponta Grossa, 2015.

Componentes	DEM (dias)		EST (cm)		REND (kg ha ⁻¹)	
	Varição Explicada (%)	Varição Acumulada (%)	Varição Explicada (%)	Varição Acumulada (%)	Varição Explicada (%)	Varição Acumulada (%)
CP1	81,5	81,5	84,7	84,7	60,9	60,9
CP2	13,7	95,2	9,0	93,7	30,7	91,6
CP3	4,8	100,0	6,3	100,0	8,5	100,0

As Figuras 6A, 7A e 8A representam a opção gráfica da metodologia de análise GGE biplot denominada “*Which-won-where*” (“quem venceu onde”). Esta é uma ferramenta importante para os programas de melhoramento genético, pois fornece a melhor maneira de visualizar os padrões de interação entre genótipos e ambientes, bem como a facilidade de interpretar os resultados na forma gráfica (YAN; TINKER, 2006). Para os dados de rendimentos de grãos, o polígono irregular é formado ligando os genótipos que estão mais afastados da origem do biplot, sendo, neste caso, as linhagens L26, L36, L40, L41, cultivar Safira®, L5, L2 e L13 (Figura 6A). Posteriormente, linhas perpendiculares às retas do polígono com origem no centro do biplot foram traçadas, dividindo o gráfico em setores. Estes setores, também chamados de mega-ambientes (YAN, 2001), englobam um conjunto de

ambientes que são positivamente correlacionados. Para o rendimento de grãos é possível observar a formação de 9 setores, sendo que cada ambiente foi alocado em um setor diferente (Figura 6A). O setor 2 foi representado pelas linhagens L18, L35 e L41, mais adaptadas a safra de 2010. O terceiro setor incluiu as linhagens L15, L17, L31, L34, L38, e a L40 positivamente relacionadas à safra 2012. Para o quarto setor (Setor 4), as linhagens de trigo L8, L9, L16, L20, L21, L23, L26 e L36 foram mais adaptadas para a safra agrícola de 2011 (Figura 6A). As demais linhagens do programa de melhoramento da UEPG e a cultivar comercial Safira[®], não foram incluídas em nenhum dos ambientes, sendo consideradas desfavorecidas pelos ambientes testados (safras 2010, 2011 e 2012) (Figura 6A). Isto demonstra, que são genótipos com desempenho produtivo inferior em algum ou na maioria dos ambientes, indicando a falta de adaptação destes genótipos às diferentes condições ambientais que foram submetidos nas safras de 2010, 2011 e 2012 no município de Ponta Grossa-PR.

Na Figura 6B, é apresentado o gráfico “*Mean vs. Stability*” (média versus estabilidade), em que é possível avaliar simultaneamente o potencial produtivo dos genótipos bem como a sua estabilidade por meio da coordenada do ambiente médio (AEC – *average environment coordination*). Inicialmente, o ambiente ideal é definido através da média dos escores de todos os ambientes para o primeiro e o segundo componente principal, o qual é representado por um pequeno círculo. A linha AEC passa pela origem do biplot e pelo ambiente ideal, sendo esta chamada de AEC abcissa. Já a linha AEC ordenada, é o eixo que passa pela origem do biplot e é perpendicular a AEC abcissa, relacionado com a interação genótipo x ambiente. Assim quanto maior o vetor do genótipo, maior é a interação com o respectivo ambiente, sendo, conseqüentemente menos estável (MATTOS et al., 2013). Neste contexto, o primeiro componente principal (CP1) indica a adaptabilidade dos genótipos, altamente correlacionada com o rendimento, no qual os genótipos mais distantes do eixo y em direção à seta são os mais produtivos (YAN, 2001). A análise gráfica demonstrou que as linhagens de trigo L40, L36, L15, L38, L41, L34, L21, L23, L20, L26, em ordem decrescente, foram as dez linhagens que mais se destacaram para o rendimento de grãos nas três safras agrícolas. Em contrapartida, os genótipos menos produtivos foram as linhagens L2, L5, L13, L1, L11, L33, L37, L32, L30 e L43, por estarem mais distantes e em sentido oposto da seta.

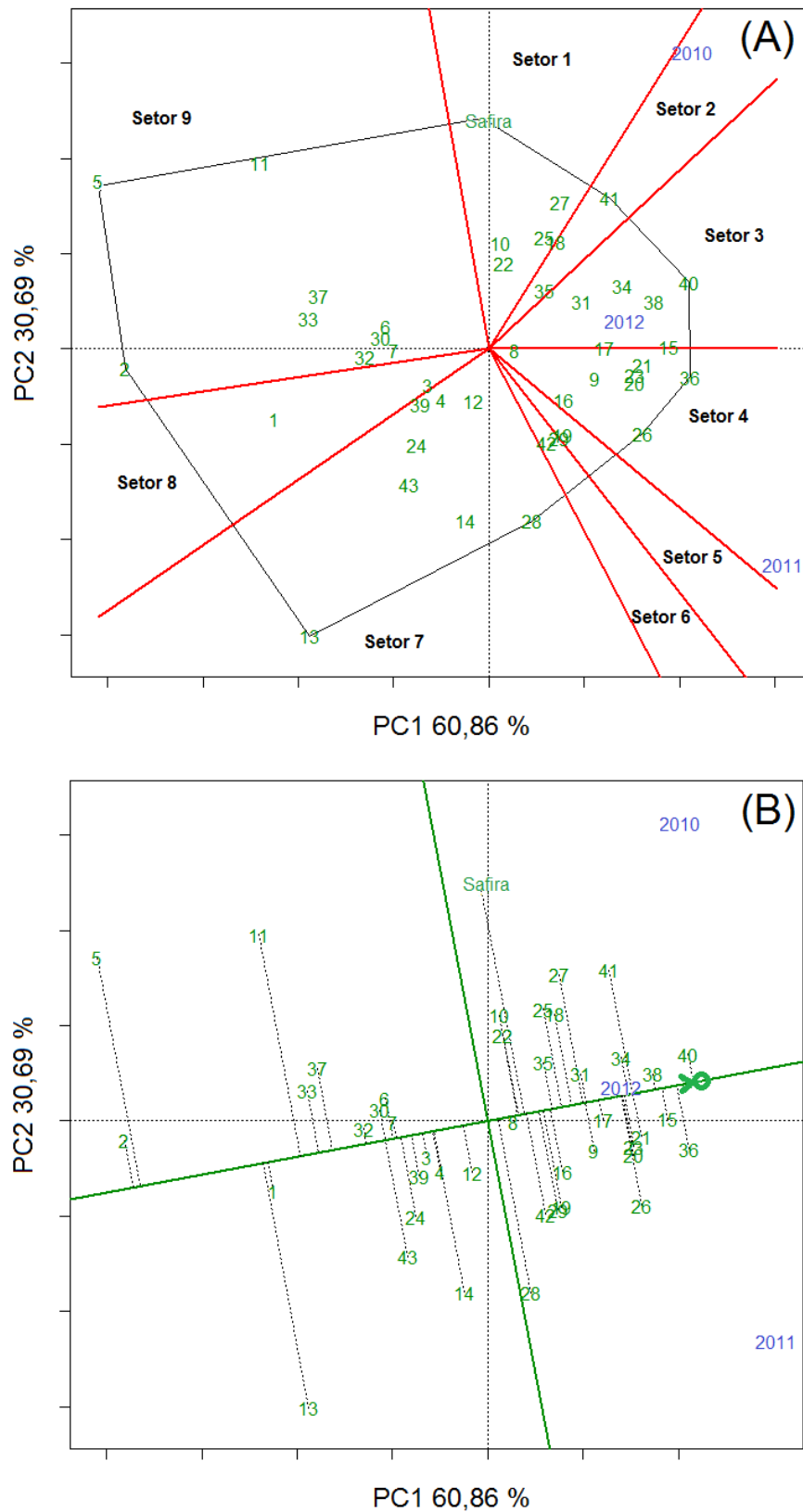


Figura 6 - Caracterização das linhagens de trigo por componentes principais (CP1 e CP2). (A) Visualização do polígono formado pela análise GGE biplot (“wich-won-were”). (B) AEC (“average environment coordination”) mostrando a performance média e estabilidade dos 44 genótipos de trigo em função do rendimento de grãos em kg ha^{-1} nas safras 2010, 2011 e 2012. Ponta Grossa, 2015.

O segundo componente principal (CP2) é correlacionado com a estabilidade fenotípica. Desta forma, os genótipos com menor vetor, ou seja, mais próximos de zero são os que apresentam a maior estabilidade (YAN; TINKER, 2006). Os resultados da análise demonstram que as linhagens L1, L3, L6, L7, L8, L15, L17, L31, L32, L34, L38 e a L40 são aquelas que apresentaram a maior estabilidade fenotípica nas três safras agrícolas analisadas. Por outro lado, a cultivar comercial Safira® juntamente com as linhagens L5, L11, L13 e L28 obtiveram os maiores vetores, indicando a menor estabilidade nos diferentes ambientes de cultivo/avaliação.

A estabilidade fenotípica somente é vantajosa quando associada ao alto potencial produtivo. Yan e Tinker (2006), relatam que o genótipo ideal é aquele que evidencia alta performance para o rendimento de grãos aliado a alta estabilidade em todos os ambientes de avaliação. Desta forma, os genótipos mais produtivos e estáveis, deverão possuir escores elevados para o CP1, porém, próximos de zero para o CP2. Neste trabalho, ao analisar os dois parâmetros simultaneamente (CP1 e CP2), verifica-se que os genótipos com maior rendimento de grãos e melhor adaptados a região de Ponta Grossa foram as linhagens L40, L15, L38, L34, L17, L31 e L8. É importante destacar o bom desempenho agrônômico da maioria das linhagens do programa de melhoramento de trigo da UEPG quando confrontadas com a cultivar comercial Safira®, a qual demonstrou menor rendimento médio de grãos associado à baixa estabilidade. Similar a este trabalho, Caierão et al. (2006), avaliaram linhagens e cultivares comerciais de trigo para a adaptação e estabilidade para o rendimento de grãos em diferentes ambientes. Das sete linhagens avaliadas, duas (PF 990313 e PF 980524) se destacaram em relação ao potencial produtivo, sendo superior a duas cultivares comerciais analisadas (BRS194 e CEP 24), além de apresentarem estabilidade aos diversos ambientes testados. Os autores destacam que as novas linhagens de trigo vêm apresentando desempenho agrônômico superior em relação a cultivares existentes no mercado. Desta forma, fica claro que os programas de melhoramento devem intensificar esforços no sentido de buscar através da seleção artificial genótipos melhorados e com melhor adaptação as regiões de cultivo no Brasil. O alto potencial produtivo evidenciado pelas linhagens de trigo do programa de melhoramento genético da UEPG associado à estabilidade do rendimento de grãos, as tornam fortes candidatas ao posto de novas cultivares para a região de Ponta Grossa no estado do Paraná.

Ciclo reprodutivo e estatura de planta

Além do rendimento de grãos, outras características adaptativas são importantes na cultura do trigo, como a estatura de plantas e o ciclo reprodutivo. De maneira geral, os programas de melhoramento genético almejam genótipos produtivos associados à precocidade e porte baixo. O ciclo está relacionado principalmente com o planejamento das áreas agrícolas, pois genótipos de trigo com ciclo demasiadamente longo, comprometem a instalação das lavouras subsequentes como a soja e o milho, as quais representam o maior aporte de renda com a atividade agrícola. A maior permanência da cultura do trigo no campo aumenta a probabilidade de prejuízos associados a excesso de chuvas no período da colheita, incrementando a incidência de pragas e doenças de espiga/grãos, reduzindo sensivelmente a qualidade dos grãos obtidos. Com a mesma importância, genótipos de trigo de porte baixo, garantem ao agricultor maior resistência ao acamamento, podendo-se fazer uso de maiores doses de adubação nitrogenada e densidade de plantas, além de diminuir as perdas durante a colheita mecanizada (CONDÉ et al., 2010). Desta forma, justifica-se o estudo desses caracteres agrônômicos visando estimar a estabilidade dos genótipos de trigo para os diferentes ambientes de avaliação.

Nesta análise, semelhante ao rendimento de grãos, optou-se pela utilização da técnica “*Which-won-where*” para as características ciclo reprodutivo e estatura de planta. Entretanto, o gráfico obtido foi construído em escala inversa, uma vez que os genótipos de trigo mais promissores para estas variáveis apresentam redução no valor das características. Para o ciclo reprodutivo, o gráfico “*Which-won-where*” (Figura 7A), demonstrou que os genótipos das extremidades responsáveis pela formação do polígono foram as linhagens L11, L37, L13, L33, L2 e a L27, o qual foi dividido em 7 setores. No setor 3, foram alocados os 3 ambientes de avaliação (safras de 2010, 2011 e 2012), indicando, portanto, que não houve influência ambiental sobre o ciclo reprodutivo, sendo as diferentes safras de avaliação consideradas como um mega-ambiente (YAN et al., 2007). Neste mesmo setor, 18 linhagens (L4, L7, L8, L9, L12, L19, L23, L24, L28, L29, L30, L32, L35, L37, L39, L41, L42 e L43) foram agrupadas com o melhor desempenho, ou seja, maior precocidade nas três safras de avaliação (Figura 7A).

No gráfico “*Mean vs. Stability*” (Figura 7B), pode-se observar que os genótipos de trigo com maiores escores no CP1, foram aqueles com ciclo mais precoce, destacando-se, em ordem decrescente, as linhagens L37, L30, L35, L24, L4, L8, L28, L43, L29, L9, L32, L12, L39, L41, L7, L19, L42, L23 e L38. Em contrapartida, as linhagens L33, L13, L2, L27, L5, L40 e L20 foram identificadas como as mais tardias. A cultivar Safira[®] foi alocada entre os genótipos mais tardios. Em relação ao eixo AEC ordenada, referente à interação genótipo x ambiente, pode-se notar que os genótipos mais estáveis foram as linhagens L1, L14, L15, L16, L18, L23, L25, L26, L27, L31, L36, L37, L40, L41, L42, L43 e a cultivar Safira[®]. Por outro lado, maior interação com o ambiente, foi observada para as linhagens L7, L9, L11, L13, L28, L33 e L34. Os genótipos considerados ideais, ou seja, com ciclo precoce e alta estabilidade, foram às linhagens L23, L37, L41, L42 e L43, pois obtiveram os maiores escores no CP1 e escores quase nulos em CP2.

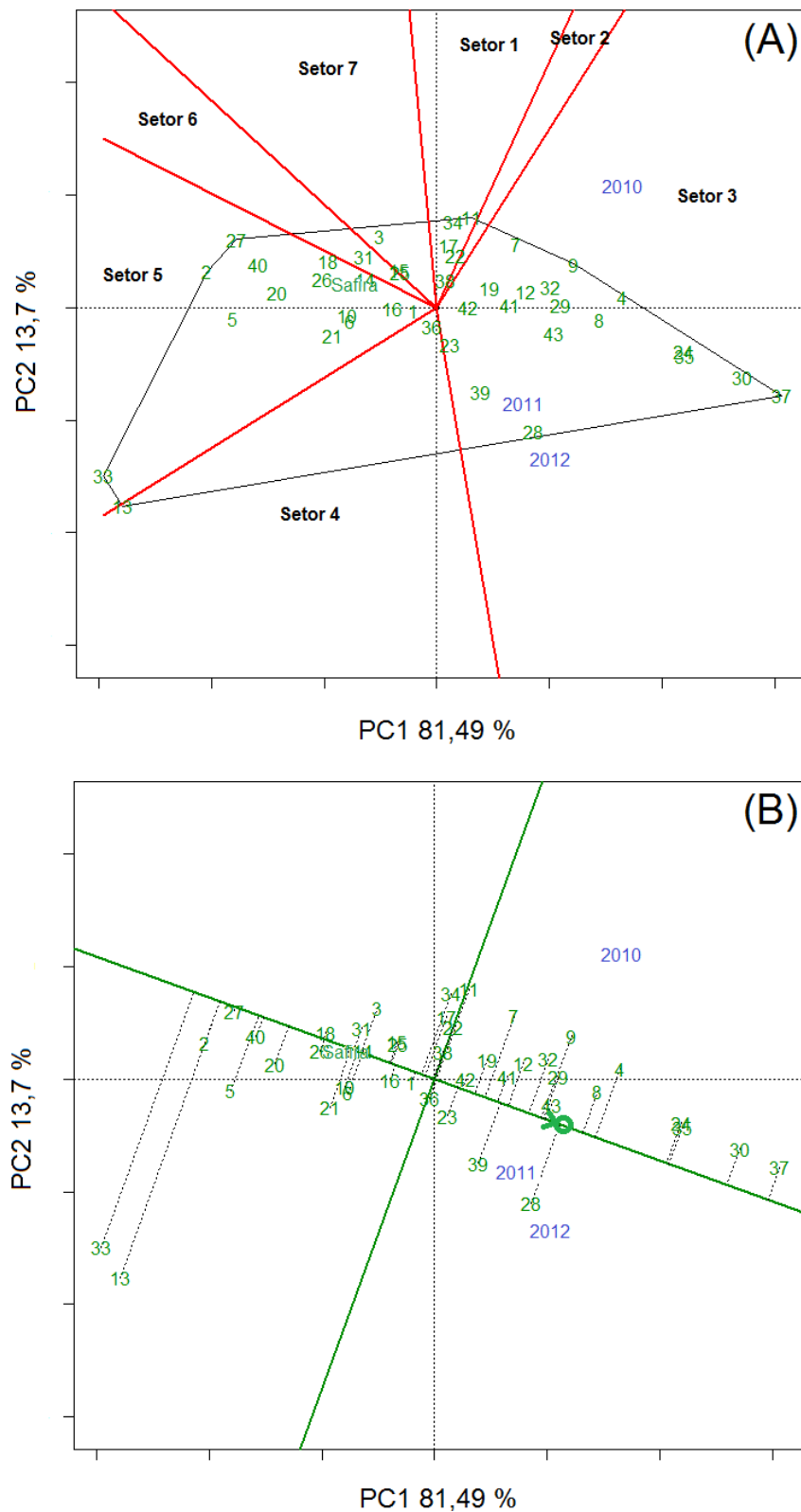


Figura 7 - Caracterização das linhagens de trigo de acordo com os componentes principais (CP1 e CP2). (A) Visualização do polígono formado pela análise GGE biplot (“wich-won-were”). (B) AEC (“average environment coordination”) mostrando a performance média e estabilidade para 44 genótipos de trigo em função da característica ciclo reprodutivo em dias. Ponta Grossa, 2015.

Para a estatura de planta, o gráfico do GGE biplot “*Which-won-where*” (Figura 8A) o polígono foi formado a partir das linhagens L37, L20, L4, L16, L1, L33 e L30, com a visualização de sete setores. A safra agrícola de 2010 foi alocada no setor 5, no qual as linhagens L12, L16 e L19 foram agrupadas. O setor 6, agrupou a maioria dos genótipos (47,7%), juntamente com as safras de 2011 e 2012, indicando pouca variação no desempenho destas linhagens em função dos ambientes de avaliação. Para os genótipos que não foram alocados com nenhuma das safras agrícolas, indica os piores genótipos de trigo em relação à estatura de planta em alguns ou em todos os ambientes (2010, 2011 e 2012).

No gráfico “*Mean vs. Stability*” (Figura 8B), pode-se observar que os genótipos com estatura mais baixa em relação à média, são aqueles alocados no sentido da seta na reta AEC abscissa, destacando-se as linhagens L33, L1, L9, L42, L10, L24, L30, L43, L39 e L41, sendo considerados os dez melhores genótipos de trigo em ordem decrescente. Os genótipos L14, L27, L20, L21, L13, L37 e L20, foram os que apresentaram porte mais alto (Figura 8B). Em relação a interação genótipo x ambiente, observa-se que os genótipos mais estáveis foram as linhagens L2, L6, L9, L14, L18, L24, L28, L29, L31, L39 e L42. Os genótipos considerados ideais, ou seja, aqueles que apresentaram porte baixo associado a alta estabilidade foram as linhagens de trigo L2, L9, L18, L24, L28, L39 e L42. Da mesma forma, é possível evidenciar maior destaque para as linhagens do programa de melhoramento da UEPG em relação a cultivar comercial Safira®.

Através dos resultados obtidos com a metodologia de análise GGE biplot foi possível confirmar a adaptação e estabilidade dos genótipos de trigo do programa de melhoramento da UEPG para as três características consideradas importantes para a adaptação deste cereal. Mohammadi e Amri (2012) enfatizam que as estimativas da adaptação e da estabilidade dos genótipos são extremamente úteis aos melhoristas, pelo fato de poder identificar genótipos mais promissores para serem recomendados como novas cultivares, ou ainda para serem utilizados como parentais nos blocos de cruzamentos. Na análise do rendimento de grãos, foram identificados sete genótipos ideais, as linhagens L8, L15, L17, L31, L34, L38 e a L40 com potencial produtivo para serem recomendadas como novas cultivares comerciais. Destaca-se que estas novas linhagens evidenciaram desempenho superior a cultivar comercial (Safira®), embora ainda não estejam no grupo dos genótipos ideais para as características estatura de planta e ciclo reprodutivo.

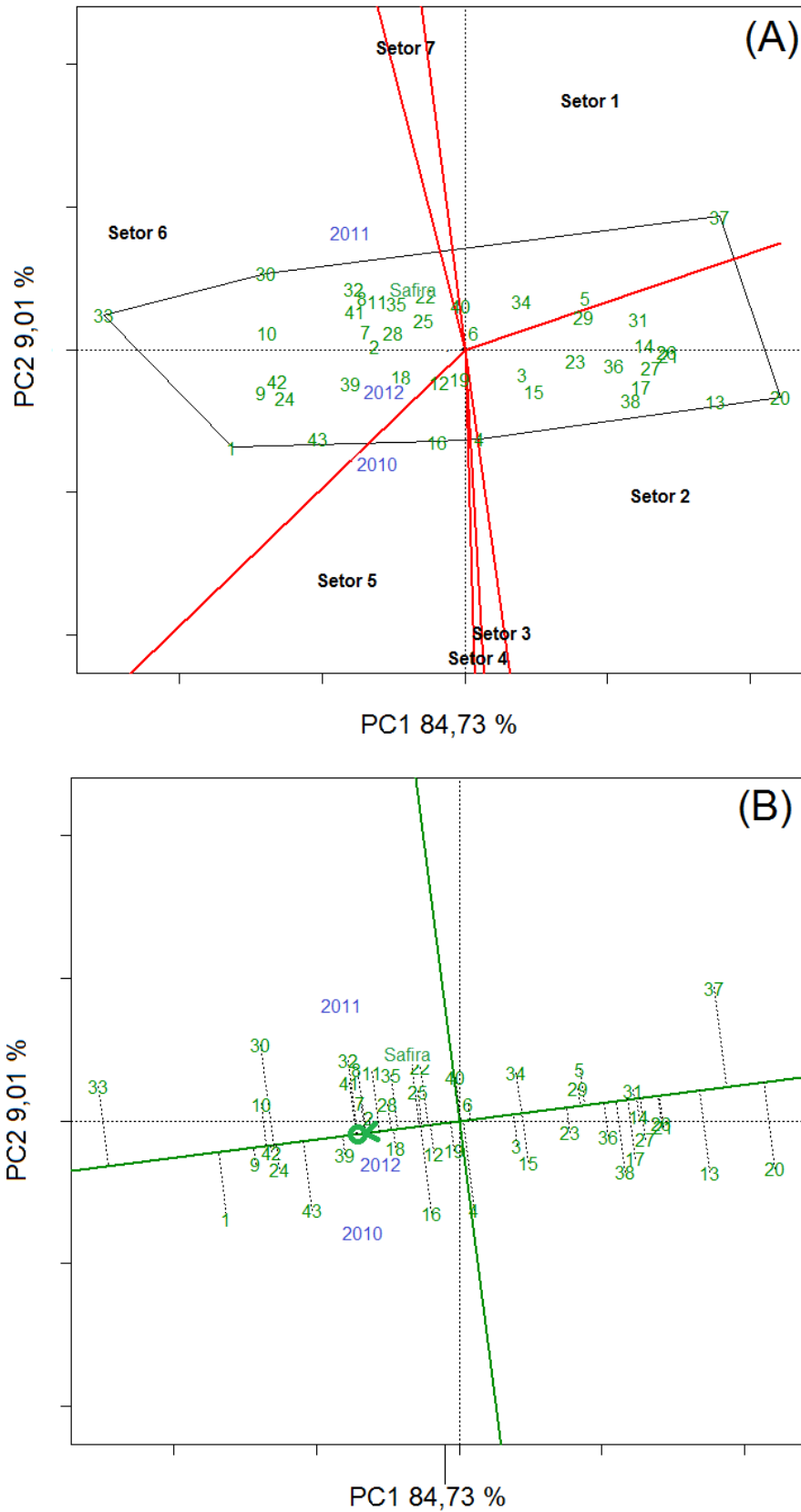


Figura 8 - Caracterização das linhagens de trigo de acordo com os componentes principais (CP1 e CP2). (A) Visualização do polígono formado pela análise GGE biplot ("wich-won-were"). (B) AEC ("average environment coordination") mostrando a performance média e estabilidade para 44 genótipos de trigo em função da característica estatura de plantas. Ponta Grossa, 2015.

A metodologia de análise dos dados por GGE biplot foi considerada eficiente na identificação dos genótipos de trigo mais adequados em função da maior adaptabilidade e estabilidade. Nesta perspectiva, as análises possibilitaram incrementar as informações relativas ao conjunto de novas linhagens de trigo do programa de melhoramento da UEPG bem como estabelecer critérios para a seleção de novos genótipos adaptados à região dos Campos Gerais do Paraná. No trabalho de Ayalew, Wondale e Teshager (2014), a metodologia GGE biplot foi utilizada para avaliar 12 linhagens de trigo em relação ao peso do hectolitro em seis locais por dois anos agrícolas. Os autores evidenciaram que dois dos 12 genótipos avaliados, apresentaram alta estabilidade e adaptabilidade aos ambientes testados, possibilitando a recomendação destas linhagens como novas cultivares. Além disso, os autores salientam que a metodologia permite estimar com segurança a presença de interação genótipos x ambientes. Hagos e Abay (2013) avaliaram a adaptação e a estabilidade de dez genótipos de trigo em cinco ambientes na Etiópia, através da metodologia GGE biplot. Os autores relataram a importância desta metodologia de análise por permitir de forma simples a fácil visualização dos resultados da interação genótipos x ambientes através da análise gráfica, além da rapidez na interpretação dos resultados. Farshadfar et al. (2012) também demonstraram como a metodologia GGE biplot, pode ser uma ferramenta útil e eficaz na avaliação da interação genótipos x ambientes, possibilitando identificar genótipos com alto potencial produtivo e estáveis para as regiões de cultivo de trigo.

6 CONCLUSÕES

As estimativas da dissimilaridade genética permitiram identificar considerável variabilidade genética entre as linhagens de trigo do programa de melhoramento da UEPG independentemente da metodologia utilizada para estimar.

A análise de componentes principais (ACP) possibilitou a redução do conjunto de caracteres agrônômicos em três componentes principais explicando 67% da variância fenotípica total. O CP1 foi mais relacionado a qualidade de grãos (peso de mil grãos e peso do hectolitro) e ao ciclo vegetativo. O CP2 na maior parte influenciado pelo rendimento de grãos (48,4%) e o CP3 associado negativamente com a estatura de plantas de trigo (72,08%).

Os agrupamentos dos genótipos de trigo pelo método UPGMA a partir da genotipagem molecular (SSR e AFLP) e da caracterização agrônômica formaram oito grupos, enquanto pelo coeficiente de parentesco apenas cinco grupos. As diferenças na topologia dos dendrogramas se devem a baixa correlação entre as matrizes de dissimilaridade genética.

As linhagens de trigo L3, L6, L7, L14, L15, L16, L17, L18, L19, L20, L21, L22, L25, L26, L27, L31, L34, L38, L40 e a cultivar Safira[®] evidenciaram alto potencial de rendimento de grãos e dissimilaridade genética a partir dos marcadores moleculares (SSR e AFLP), sendo, portanto, considerados os genótipos mais promissores para gerar novas populações segregantes.

As linhagens do programa de melhoramento da UEPG L8, L15, L17, L31, L34, L38 e L40 evidenciaram alta adaptação agrônômica e estabilidade fenotípica para o rendimento de grãos. Esse grupo de linhagens de trigo apresentou potencial produtivo superior a cultivar comercial Safira[®], tornando-as no futuro fortes candidatas como novas cultivares comerciais recomendadas para o município de Ponta Grossa.

A análise GGE biplot possibilitou uma fácil interpretação gráfica dos resultados da interação genótipos x ambientes, permitindo identificar de forma segura as linhagens de trigo mais promissores para cultivo na região de Ponta Grossa em função da adaptabilidade e da estabilidade fenotípica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMANZA-PINZÓN, M. I. et al. Comparison of molecular markers and coefficients of parentage for the analysis of genetic diversity among spring bread wheat accessions. **Euphytica**, v.130, p.77-86, 2003.

ALTINTAS, S. et al. Estimating genetic diversity in durum and bread wheat cultivars from Turkey using AFLP and SAMPL markers. **Plant Breeding**, v.127, p.9-14, 2008.

ARORA, A. et al. Population structure and genetic diversity among Indian wheat varieties using microsatellite (SSR) markers. **Australian Journal of Crop Science**, v.8, n.9, p.1281-1289, 2014.

AYALEW, H.; WONDALÉ, L.; TESHAGER, A. GGE biplot analysis on the performance of wheat genotype for hectolitre weight and mega environments identification in north eastern Ethiopia. **Australian Journal of Crop Science**, v.8, n.10, p.1435-1440, 2014.

BABAY, E. et al. Diversity of tunisian bread wheat genotypes revealed by morpho-agronomical and microsatellite markers. **Bioscience Journal**, v.31, n.3, p.701-708, 2015.

BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução de plantas cultivadas**. 1 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. 909p.

BARK, O. H. HAVEY, M. J. Similarities and relationships among populations of the bulb onion as estimated by nuclear RFLPs. **Theoretical and Applied Genetics**, v.90, p.407-414, 1995.

BARRETT, B. A.; KIDWELL, K. K.; FOX, P. N. Comparison of AFLP and pedigree-based genetic diversity assessment methods using wheat cultivars from the Pacific Northwest. **Crop Science**, v.38, n.5, p.1271-1278, 1998.

BENIN, G. et al. Adaptabilidade e estabilidade em aveia em ambientes estratificados. **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.295-302, 2005.

BENIN, G. et al. Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. **Ciência Rural**, v.33, n.4, p.657-662, 2003.

BERED, F.; BARBOSA-NETO, J. F.; CARVALHO, F. I. F. Genetic variability in common wheat germplasm based on coefficients of parentage. **Genetics and Molecular Biology**, v.25, n.2, p.211-215, 2002.

BERED, F.; CARVALHO, F. I. F.; BARBOSA NETO, J. F. Variabilidade genética em trigo. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.14, p.22-25, 2000.

BERTAN, I. et al. Dissimilaridade genética entre genótipos de trigo avaliados em cultivo hidropônico sob estresse por alumínio. **Bragantia**, v.65, p.55-63, 2006.

BERTAN, I. et al. Variabilidade genética em trigo aferida por meio da distância genealógica e morfológica. **Scientia Agraria**, v.8, n.1, p.67-74, 2007.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, 2009. 532p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6.ed. Viçosa, MG: UFV, 2013.

BRAMMER, S. P. **Marcadores moleculares: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2000. 7p.html. Embrapa Trigo. Documentos Online 3. Disponível: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_do03.htm.

BRUM, A. J. **Modernização da agricultura: Trigo e Soja**. 1 ed. Ijuí, RS: Vozes, 1988. 200p.

BRUM, A. L.; MÜLLER, P. K. A realidade da cadeia do trigo no Brasil: o elo produtores/cooperativas. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.46, n.1, p.145-169, 2008.

BRYAN, G. J. et al. Isolation and characterization of microsatellites from hexaploid bread wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v.94, n.5, p.557-563, 1997.

BUSO, G. S. C. et al. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.30, p.46-50, 2003.

BUSSAB, W. O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. **Introdução à análise de agrupamentos**. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística, 1990. 105 p.

CAIERÃO, E. et al. Análise da adaptabilidade e estabilidade de genótipos de trigo como ferramenta auxiliar na recomendação de novas cultivares. **Ciência Rural**, v.36, n.4, p.1112-1117, 2006.

CARMONA, S. ALVAREZ, J. B. CABALLERO, L. Genetic diversity for morphological traits and seed storage proteins in Spanish rivet wheat. **Biologia Plantarum**, v.54, n.1, p.69-75, 2010.

CASASSOLA, A. et al. Parental selection of wheat lines based on phenotypic characterization and genetic diversity. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.13, p.49-58, 2013.

CHAO, S. et al. Evaluation of genetic diversity and genome-wide linkage disequilibrium among U.S. wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm representing different market classes. **Crop Science**, v.47, p.1018-1030, 2007.

CHEN, G.; LI, L. Detection of genetic diversity in synthetic hexaploid wheats using microsatellite markers. **Agricultural Sciences in China**, v.6, n.12, p.1403-1410, 2007.

CHEN, X. et al. Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium in elite chinese winter wheat investigated with SSR markers. **Plos One**, v.7, n.9, p.1-9, 2012.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, terceiro levantamento**. Séries históricas, 2015. Disponível em:<www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos>. Acesso em jul. 2015.

CONDÉ, A. B. T. et al. Divergência genética em trigo de sequeiro por meio de caracteres morfoagronômicos. **Revista Ceres**, v.57, n.6, p.762-767, 2010.

CONDIT, R. C. HUBBELL, S. P. Abundance and DNA sequence of two-base repeat regions in tropical tree genomes. **Genome**, v.34, n.1, 66-71, 1991.

CORREA, A. M.; GONÇALVES, M. C. Divergência genética em genótipos de feijão comum cultivados em Mato Grosso do Sul. **Revista Ceres**, v.59, n.2, p.206-212, 2012.

COX, J. C. et al. A theory of the term structure of interest rates. **Econometrica**, v.53, n.2, p.385-408, 1985.

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

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2 ed. Viçosa: UFV, 1997. 390p.

CRUZ, C. D.; TORRES, R. A.; VENCOSKY, R. An alternative approach to the adaptability analysis proposed by Silva and Barreto. **Revista Brasileira de Genética**, v.12, n.3, p.567-580, 1989.

CUNHA, G. R. et al. Zoneamento agrícola e época de semeadura para trigo no Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.9, n.3, p.400-414, 2001.

DESTRO, D.; MONTALVÀN, R. **Melhoramento Genético de Plantas**. Londrina: UEL, 1999. 749p.

DRIKVAND, R. et al. Investigation of genetic diversity among bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) using SSR markers. **Journal of Agricultural Science**, v.5, n.1 p.122-129, 2013.

EBERHART, S. A.; RUSSEL, W. A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**, v.6, p. 36-40, 1966.

EIVAZI, A. R. et al. Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity using quality traits, amplified fragment length polymorphisms, simple sequence repeats and proteome analysis. **Annals of Applied Biology**, v.152, p.81-91, 2008.

ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews Genetics**, v.5, p.435-445, 2004.

EMBRAPA SOJA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Trigo – dados econômicos**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br>>. Acessado em: Jun, 2015.

ETICHA, F. et al. Phenotypic diversity in tetraploid wheats collected from Bale and Wello regions of Ethiopia. **Plant Genetic Resources**, v.3, n.1, p.35-43, 2005.

FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. FAO Statistical Databases. Disponível em: <www.faostat.fao.org>. Acesso em ago. 2015.

FARSHADFAR, E. et al. GGE biplot analysis of genotype x environment interaction in wheat-barley disomic addition lines. **Australian Journal of Crop Science**, v.6, n.6, p.1074-1079, 2012.

FRANCESCHI, L. de. et al. Métodos para análise de adaptabilidade e estabilidade em cultivares de trigo no estado do Paraná. **Bragantia**, v.69, n.4, p.797-805, 2010.

FU, D. et al. Large deletions within the first intron in VRN-1 are associated with spring growth habit in barley and wheat. **Molecular Genetics and Genomics**, v.273, p.54-65, 2005.

GARLAND, S. H. et al. The use of microsatellite polymorphisms for the identification of Australian breeding lines of rice (*Oryza sativa* L.). **Euphytica**, v.108, p.53-63, 1999.

GAUCH, H.G. Statistical analysis of yield trials by AMMI and GGE. **Crop Science**, v.46, n.4, p.1488-1500, 2006.

GUARIENTI, E. M. Qualidade do trigo brasileiro: realidade versus necessidade. In: CUNHA, G. R. (Eds). **Oficina sobre trigo no Brasil**. Passo Fundo RS: Embrapa Trigo, 2009. 192p.

GUIMARÃES, C. T. et al. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.30, n.253, p.24-33, 2009.

GUPTA, P. K. et al. Wheat genomics: present status and future prospects. **International Journal of Plant Genomics**, v.2008, p.1-36, 2008.

HAGOS, H. G.; ABAY, F. AMMI and GGE biplot analysis of bread wheat genotypes in the northern part of Ethiopia. **Journal of Plant Breeding and Genetics**, v.01, p.12-18, 2013.

HAIR JR. et al. **Análise multivariada de dados**. 6 ed. São Paulo: Bookman, 2009. 688p.

HAZEN, P. S.; LEROY, P.; WARD, R. AFLP in *Triticum aestivum* L. Patterns of diversity and genome distribution. **Euphytica**, v.125, p.89-102, 2002.

HE, X. Y. et al. Allelic variation of polyphenol oxidase (PPO) genes located on chromosomes 2A and 2D and development of functional markers for the PPO genes in common wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v.115, p.47-58, 2008.

HOISINGTON, D.; KHAIRALLAH, M.; GONZÁLEZ DE LEON, D. **Laboratory protocols: CIMMYT applied molecular genetics laboratory**. 2. ed. México: CIMMYT, 1994. 51p.

HOFFMANN, L. V.; BARROSO, P. A. V. **Marcadores Moleculares como Ferramentas para Estudos de Genética de Plantas**. Campina Grande. Embrapa Algodão. Documentos online, 147. 2006. 35p.

HOTTELLING, H. Analysis of a complex of statistical variables into Principal Components. **Journal of Educational Psychology**, v.24, n.6, p.417-441, 1933.

HUANG, X. et al. Chromosomal location of AFLP markers in common wheat utilizing nulli-tetrasomic stocks. **Genome**, v.43, p.298-305, 2000.

JENNI, S. HAYES, R. J. Genetic variation, genotype 3 environment interaction, and selection for tipburn resistance in lettuce in multi-environments. **Euphytica**, v.171, p.427-439, 2010.

JOSHI, A. K. et al. Stay green trait: variation, inheritance and its association with spot blotch resistance in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). **Euphytica**, v.153, p.59-71, 2007.

KALIA, R. K. et al. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v.177, p.309-334, 2011.

KHERA, P. et al. Genetic variability in trait-specific rice germplasm groups based on coefficient of parentage, SSR markers and fertility restoration. **Plant Genetic Resources**, v.13, n.1, p.56-67, 2015.

KHODADADI, M.; FOTOKIAN, M. H.; MIRANSARI, M. Genetic diversity of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes based on cluster and principal component analyses for breeding strategies. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.1, p.17-24, 2011.

KRYSTKOWIAK, K. et al. Relationship between phenotypic and genetic diversity of parental genotypes and the specific combining ability and heterosis effects in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Euphytica**, v.165, p.419-434, 2009.

KUCZYNSKA, A. et al. Relationship between phenotypic and genetic diversity of parental genotypes and the frequency of transgression effects in barley (*Hordeum vulgare* L.). **Plant Breeding**, v.126, n.4, p.361-368, 2007.

LI, Z. L. NELSON, R. L. Genetic diversity among soybean accessions from three countries measured by RAPDs. **Crop Science**, v.41, n.1, p.1337-1347, 2001.

LIMA, M. L. A. et al. Analysis of genetic similarity detected by AFLP and coefficient of parentage among genotypes of sugar cane (*Saccharum* spp.). **Theoretical and Applied Genetics**, v.104, n.1, p.30-38, 2002.

LIN, C. S.; BINNS, M. R. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. **Canadian Journal of Plant Science**, v.68, n.1, p.193-198, 1988.

LITT, M.; LUTY, J. A. A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **The American Journal of Human Genetics**, v. 44, n.3, p. 398-401, 1989.

LIU, J. et al. Genetic diversity of wheat gene pool of recurrent selection assessed by microsatellite markers and morphological traits. **Euphytica**, v.155, p.249-258, 2007.

LOARCE, Y.; GALLEGRO, R.; FERRER, E. A comparative analysis of the genetic relationships between rye cultivars using RFLP and RAPD markers. **Euphytica**, v.88, p.107-115, 1996.

MALÉCOT, G. Les mathématiques de l'hérédité. **Masson & Cie**, 1948.

MANLY, B. F. J. **Métodos estatísticos multivariados**: uma introdução. 3 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. 229 p.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and generalized regression approach. **Cancer Research**, v. 27, n.2, p. 209-220, 1967.

MARIC, S. et al. Genetic diversity of hexaploid wheat cultivars estimated by RAPD markers, morphological traits and coefficients of parentage. **Plant Breeding**, v.123, n.1, p.366-369, 2004.

MARTYNOV, S. P.; DOBROTVORSKAYA, T. V. Genealogical analysis of diversity of Russian winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.53, n.1, p.379-386, 2006.

MATTOS, P. H. C. de. et al. Evaluation of sugarcane genotypes and production environments in Paraná by GGE biplot and AMMI analysis. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.13, n.1, p.83-90, 2013.

MENGARDA, L. H. G. et al. Diversity analysis of papaya (*Carica papaya* L.) genotypes related to seed quality. **Australian Journal of Crop Science**, v.9, n.3, p.223-231, 2015.

MEYER, A. da. S. **Comparação de coeficientes de similaridade usados em análises de agrupamentos com dados de marcadores moleculares dominantes**. 2002. 118f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

MIR, R. R. et al. A study of genetic diversity among Indian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars released during last 100 years. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.59, n.1, p.717-726, 2012.

MOHAMMADI, R.; AMRI, A. Analysis of genotype environment interaction in rain-fed durum wheat of Iran using GGE-biplot and non-parametric methods. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 92, n.1, p.757-770, 2012.

NAJAPHY, A.; PARCHIN, R. A.; FARSHADFAR, E. Comparison of phenotypic and molecular characterizations of some important wheat cultivars and advanced breeding lines. **Australian Journal of Crop Science**, v.6, n.2, p.326-332, 2012.

NAWAZ, M. et al. Estimation of genetic diversity in wheat using DNA markers. **American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture**, v.3, n.3, p.507-511, 2009.

OGUNBAYO, S. A. et al. Phylogenetic diversity and relationships among 40 rice accessions using morphological and RAPDs techniques. **African Journal of Biotechnology**, v.4, n.11, p.1234-1244, 2005.

OLIVEIRA, B. A. DUARTE, J. B.; PINHEIRO, J. B. Emprego da análise AMMI na avaliação da estabilidade produtiva em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.3, p.357-364, 2003.

OLIVEIRA, R. L. de. et al. Evaluation of maize hybrids and environmental stratification by the methods AMMI and GGE biplot. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.10, p.247-253, 2010.

PAGNOTTA, M. A.; MONDINI, L.; ATALLAH, M. F. Morphological and molecular characterization of Italian emmer wheat accessions. **Euphytica**, v.146, p.29-37, 2005.

PEARSON, K. One lines and planes of closest fit to systems of points in space. **Philosophical Magazine**, v.2, p.559-572, 1901.

PEIXOUTO, L. S. **Proposta de análise de fatores na matriz G+GA via modelos mistos em multiambientes**. 2013. 124 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

PETERNELLI, L. A. et al. Análise dos coeficientes de endogamia e de parentesco para qualquer nível de ploidia usando o pacote estatístico R. **Bragantia**, v.68, n.4, p.849-855, 2009.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 15ª Ed. Piracicaba: FEALQ, 2009. 451 p.

PRASAD, M. et al. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v.100, p.584-592, 2000.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2012). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

RAD, M. R. N. et al. Genotype \times environment interaction by AMMI and GGE biplot analysis in three consecutive generations of wheat (*Triticum aestivum*) under normal and drought stress conditions. **Australian Journal of Crop Science**, v.7, n.7, p.956-961, 2013.

RAMALHO, M. A. P et al. **Genética na Agropecuária**. 5 ed. Lavras: UFLA, 2012. 566p.

RANDHAWA, H. S. et al. Application of molecular markers to wheat breeding in Canada. **Plant Breeding**, v.132, n.5, p.458-471, 2013.

REGAZZI, A. J. **Análise multivariada, notas de aula INF 766**. Viçosa: Departamento de Informática da Universidade Federal de Viçosa, v. 2, 2000.

RÖDER, M. S. et al. A Microsatellite map of wheat. **Genetics**, v.149, p.2007-2023, 1998.

RODIÑO, A. P. et al. Variation for nodulation and plant yield of common bean genotypes and environmental effects on the genotype expression. **Plant and Soil**, v.346, p.349-361, 2011.

ROSSMANN, H. **Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípico de uma população de soja avaliadas em quatro anos**. 2001. 80f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2001.

ROY, J. K. et al. AFLP-based genetic diversity and its comparison with diversity based on SSR, SAMPL, and phenotypic traits in bread wheat. **Biochemical Genetics**, v.42, n.1, p.43-59, 2004.

SALEM, K. F. M.; EL-ZANATY, A. M.; ESMAIL, R. M. Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity using morphological characters and microsatellite markers. **World Journal of Agricultural Sciences**, v.4, p.538-544, 2008.

SALEM, K. F. M.; RÖDER, M. S.; BÖRNER, A. Assessing genetic diversity of Egyptian hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) using microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.62, n.5, p.377-385, 2015.

SANCHEZ-GARCIA, M. et al. Breeding effects on the genotype \times environment interaction for yield of bread wheat grown in Spain during the 20th century. **Field Crops Research**, v. 126, p.79-86, 2012.

SANTOS, M. dos. **Caracterização fenotípica e molecular de genótipos de fumo utilizados no Sul do Brasil**. 2002. 131f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

SCHMIDT, D. A. M. et al. Variabilidade genética em trigos brasileiros a partir de caracteres componentes da qualidade industrial e produção de grãos. **Bragantia**, v.68, n.1, p.43-52, 2009.

SEMAGN, K. Genetic relationships among ten endod types as revealed by a combination of morphological, RAPD and AFLP markers. **Hereditas**, v.137, p.149-156, 2002.

SEMAGN, K.; BJORNSTAD, A.; NDJIONDJOP, M. N. An overview of molecular marker methods for plants. **African Journal of Biotechnology**, v.5, n.25, p.2540-2568, 2006.

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.

SHOAIB, A.; ARABI, M. I. E. Genetic diversity among Syrian cultivated and landraces wheat revealed by AFLP markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.53, p.901-906, 2006.

SHUKLA, G. K. Some statistical aspects of partitioning genotype-environmental components of variability. **Heredity**, v.29, p.237-245, 1972.

SILVA, R. R. **Adaptabilidade, estabilidade e variabilidade do quociente fototermal para a cultura do trigo no estado do paraná.** 2011. 96 f. Disserta o (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.

SILVA, R. R.; BENIN, G. Análises Biplot: conceitos, interpreta es e aplica es. **Ciência Rural**, v. 42, p.1404-1412, 2012.

SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. **Genetics**, v.139, p.457-462, 1995.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification.** San Francisco, Freeman, 1973. 573 p.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11, n.2, p.30-40, 1962.

SOUZA, E. C. de. **Os métodos biplot e escalonamento multidimensional nos delineamentos experimentais.** 2010. 135 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SOUZA, L. B. de. **Diversidade fenotípica e molecular, correla es entre caracteres, adaptabilidade e estabilidade de genótipos de soja.** 2013. 142 f. Tese (Doutorado em Agronomia) –Universidade Federal de Uberlândia, Uberl ndia, 2013.

SQUILASSI, M. G. **Intera o de genótipos com ambientes.** Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2003. 47p.

SUN, G. et al. RAPD and pedigree-based genetic diversity estimates in cultivated diploid potato hybrids. **Theoretical and Applied Genetics**, v.107, p.110-115, 2003.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, v.17, n.16, p. 6463-6471, 1989.

TONK, F. A.; ILKER, E.; TOSUN, M. Evaluation of genotype x environment interactions in maize hybrids using GGE biplot analysis. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.11, p.1-9, 2011.

ULUTURK, Z. I.; FRARY, A.; DOGANLAR, S. Determination of genetic diversity in watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] germplasm. **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.13, p.1832-1836, 2011.

VALENTIN, J. L. **Ecologia numérica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos**. 1 ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. 118p.

VELLO, N. A. HIROMOTO, D. M. AZEVEDO-FILHO, A. J. B. V. Coefficient of parentage and breeding of Brazilian soybean germoplasma. **Brazilian Journal of Genetics**, v.11, n.3, p.6531-6535, 1988.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética Biométrica no Fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486 p.

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

WANG, L. et al. Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for Glu-A3 alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.). **Journal of Cereal Science**, v.51, p.306-312, 2010.

WANG, Y. et al. Genetic analysis of wheat (*Triticum aestivum* L.) and related species with SSR markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.60, p.1105-1117, 2013.

WEBER, J. L.; MAY, P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain-reaction. **American Journal of Human Genetics**, v.44, n.3, p.388-396, 1989.

YAN, W. GGE biplot - A windows application for graphical analysis of multienvironment trial data and other types of two-way data. **Crop Science**, v.93, p.1111-1118, 2001.

YAN, W. et al. Cultivar evaluation and megaenvironment investigation based on GGE biplot. **Crop Science**, v.40, p.597-605, 2000.

YAN W. et al. GGE biplot vs. AMMI analysis of genotype-by-environment data. **Crop Science**, v.47, n.2, p.643-655, 2007.

YAN, W.; TINKER, N. A. Biplot analysis of multi-environment trial data: Principles and applications. **Canadian Journal of Plant Science**, v.86, p.623-645, 2006.

YOU, Q. et al. Genetic diversity analysis of sugarcane parents in Chinese breeding programmes using SSR markers. **Scientific World Journal**, v.2013, p.1-11, 2013.

ZABEAU, M.; VOS, P. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. Publication 0534858A1. Munich, Germany: **European Patent Office** 92402629, 1993.