



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA**

**MAPEAMENTO GENÉTICO DE QTLs DE RESISTÊNCIA AO  
AGENTE CAUSAL DA BRUSONE (*Magnaporthe oryzae*) E  
AVALIAÇÃO DE MULTILINHAS DE ARROZ RESISTENTES  
AO PATÓGENO**

**JUSTINO JOSÉ DIAS NETO**

**Brasília – DF  
2013**

**JUSTINO JOSÉ DIAS NETO**

**MAPEAMENTO GENÉTICO DE QTLs DE RESISTÊNCIA AO AGENTE CAUSAL  
DA BRUSONE (*Magnaporthe oryzae*) E AVALIAÇÃO DE MULTILINHAS DE  
ARROZ RESISTENTES AO PATÓGENO**

Tese apresentada à Universidade de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Fitopatologia pelo Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia

**Orientador**

Prof. Márcio Elias Ferreira, Ph.D.

**BRASÍLIA  
DISTRITO FEDERAL - BRASIL  
2013**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Dias Neto, Justino José.

Mapeamento genético de QTLs de resistência ao agente causal da brusone (*Magnaporthe oryzae*) e avaliação de multilinhas de resistentes ao patógeno/ Justino José Jias Neto.

Brasília, 2013.

Número de páginas p. 185: il.

Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília.

1. Brusone do Arroz – Melhoramento genético.

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Título.

*Aos meus pais Lindiomar (in memorian) e Oldmares;  
Aos meus irmãos (Delmira, Adelaide e Ângelo);  
Aos sobrinhos (Paulo Victor, Bruna e Daniel);  
Ao meu companheiro Sebastião Rocha.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e principalmente pelas oportunidades e por permitir a realização dos meus sonhos e objetivos.

Aos meus pais por todos os esforços, compreensão, amor e confiança em mim depositados ao longo dos anos e principalmente pela educação que me proporcionaram. Pai, Mãe, agradeço do fundo do meu coração a Deus por ter me dado a oportunidade de evoluir ao lado de vocês.

Aos meus irmãos pelo companheirismo, incentivos e grande amizade.

Ao meu companheiro Sebastião, pelo amor, carinho e compreensão.

Aos meus cunhados, sobrinhos e familiares pela amizade, torcida e orações.

À Universidade de Brasília, pela oportunidade de realização do curso.

Ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Professor Dr. Márcio Elias Ferreira, pela orientação e ensinamentos transmitidos e por sua amizade.

Ao Dr. Paulo Hideo Nakano Rangel, pelas oportunidades, orientações e principalmente pela amizade e apoio.

À Embrapa CENARGEN e ARROZ E FEIJÃO por disponibilizar suas estruturas.

À amiga Liamar, pelo companheirismo, dedicação, compreensão e pela grande amizade.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos e amizade, especialmente Marisa Ferreira, Alice Nagata, Café-Filho, Helson, Blum, Juvenil, Renato, Cláudio e Uesug.

Aos colegas de doutorado e mestrado, em especial Daniel, Natália, Mônica, Mikhail, Kamila, Érica, Cecília, Ana Paula, Glaucia, Jessica, Reinaldo, Andressa, Maria do Desterro, Claudênia, Bruno, Nara, Naiara, Maíra, Pablo, Esdras, Ana Cristina, Kadia pelo companheirismo e pelos momentos agradáveis nos últimos quatro anos.

Ao grande amigo Silvio, principalmente pela amizade.

Aos estagiários Pedro e Rayssa, pela amizade, ajuda no desenvolvimento dos trabalhos.

Aos amigos do laboratório LGV, Andrea Branco, Leandro, Lorena, Neide, Marcão, Vânia, Rodrigo, Ediêne, Dione, Bruna, Marília e Viviane.

Aos velhos e inesquecíveis amigos de Mestrado e da graduação.

Aos funcionários da Embrapa Cenargen e da Universidade de Brasília.

Às pessoas que me acompanharam no decorrer dos anos e que, de alguma forma, contribuíram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do **Dr. Márcio Elias Ferreira**, com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (EMBRAPA CENARGEN).

**MAPEAMENTO GENÉTICO DE QTLS DE RESISTÊNCIA AO AGENTE CAUSAL DA BRUSONE (*Magnaporthe oryzae*) E AVALIAÇÃO DE MULTILINHAS DE ARROZ RESISTENTES AO PATÓGENO**

**JUSTINO JOSÉ DIAS NETO**

TESE APROVADA em 29/11/2013 por:

---

Dr. Paulo Hideo Nakano Rangel (Embrapa Arroz e Feijão),  
Examinador Externo

---

Dr. Cláudio Lúcio Costa (Emérito – FIT/UnB)  
Examinador

---

Dr. Luiz Eduardo Bassay Blum (FIT/UnB)  
Examinador

---

Dr. Helson Mario Martins do Vale (FIT/UnB)  
Examinador

---

Márcio Elias Ferreira, Ph.D. (Embrapa Cenargen)  
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL  
BRASIL - 2013

## Índice

LISTA DE TABELAS .....	ix
LISTA DE FIGURAS .....	xi
LISTA DE ANEXOS .....	xiii
RESUMO GERAL .....	xiv
ABSTRACT .....	xv
REVISÃO DE LITERATURA .....	1
A cultura do arroz.....	2
O arroz.....	2
Origem e domesticação .....	2
Importância econômica .....	4
O Arroz no Brasil .....	6
Doenças do arroz.....	9
A Brusone do Arroz .....	10
Histórico.....	10
Importância da doença.....	11
Sintomatologia.....	13
Epidemiologia .....	15
Manejo da doença.....	19
Taxonomia e biologia do patógeno .....	21
Hospedeiros.....	23
Especialização fisiológica de <i>M. oryzae</i> e diversidade racial do patógeno .....	24
Mecanismos de variabilidade genética.....	27
Melhoramento genético para resistência à Brusone .....	30
Mapeamento de genes de resistência à brusone .....	36
Uso de multilinhas no controle da brusone .....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42
OBJETIVOS.....	56
HIPÓTESES.....	57
FLUXOGRAMA DA TESE .....	58
FLUXOGRAMA DA TESE .....	59
CAPÍTULO 2 .....	60
GENÉTICA DE RESISTÊNCIA: MAPEAMENTO DE GENES DE RESISTÊNCIA À BRUSONE EM CRUZAMENTO ENTRE VARIEDADES TRADICIONAIS DE ARROZ DE SEQUEIRO DO BRASIL.....	60

RESUMO .....	61
ABSTRACT .....	62
INTRODUÇÃO .....	63
MATERIAIS E MÉTODOS .....	65
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	76
CONCLUSÕES.....	93
REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS.....	94
CAPÍTULO 3 .....	98
DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS QUASE-ISOGÊNICAS DE ARROZ IRRIGADO PARA CONTRUÇÃO E TESTE DE MULTILINHAS PARA RESISTÊNCIA À BRUSONE.....	98
RESUMO .....	99
ABSTRACT .....	100
INTRODUÇÃO .....	101
MATERIAL E MÉTODOS.....	105
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	116
CONCLUSÕES.....	133
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	134
ANEXOS.....	137



## LISTA DE TABELAS

<b>Capítulo 1</b>	
Tabela 1. Reações diferenciais compatível (+) e incompatível (-), possíveis entre plantas diploides detentoras de genes de resistência (RR, Rr) e susceptibilidade (rr), e isolado (raça) do patógeno contendo um gene de avirulência (Avr) ou de virulência (avr), de acordo com a teoria gene-a-gene.....	32
<b>Capítulo 2</b>	
Tabela 1. Relação de isolados de <i>M. oryzae</i> pertencentes às raças fisiológicas mais frequentes na região de Formoso do Araguaia, Lagoa da Confusão e Dueré no Estado do Tocantins, Luiz Alves em Goiás e Paragominas no Pará utilizados na análise preliminar de isolados de diferentes raças na interação com variedades parentais Chorinho e Puteca.....	66
Tabela 2. Valores estatísticos para evidência de ligação entre locos microssatélites e SNPs, localizados no Cromossomo 6, e resistência ao isolado <i>M. oryzae</i> 623 com base em valores estimados de $\chi^2$ (com correção de Yates) e de testes exatos de Fisher.....	79
Tabela 3. Resultados da análise de mapeamento de QTL por SMA ( <i>Single Marker Analysis</i> ). Os valores de LOD para evidência de associação entre o loco marcador e resistência ao isolado <i>M. oryzae</i> 623 foram estimados, assim como o percentual da variação fenotípica observada (PVE%), o valor aditivo (Adit) do efeito de substituição alélica no loco, assim como os valores médios fenotípicos para os alelos em homozigose em cada loco (M(QQ); M(qq)).....	80
<b>Capítulo 3</b>	
Tabela 1. Identificação dos 34 acessos de arroz utilizados no desenvolvimento das linhagens quase-isogênicas. Treze linhagens são oriundas da cultivar BRS Formoso, duas da cultivar Diamante e onze da linhagem CNA 8502.....	106
Tabela 2. Relação dos isolados de <i>M. oryzae</i> utilizados para a identificação do espectro de resistência das novas linhagens de arroz irrigado em condições controladas.....	108
Tabela 3. Relação dos isolados de <i>M. oryzae</i> utilizados na inoculação em campo.....	113
Tabela 4. Produtividade média de grãos das linhagens resistentes à brusone e dos respectivos genitores recorrentes na média dos três anos agrícolas (PRODM), nos anos agrícolas individualmente: 2006-07 (PROD2006-07), 2007-08 (PROD2007-08) e 2008-09 (PROD2008-09) .....	117
Tabela 5. Média das características floração média (FLO), altura de planta (ALT) e acamamento (ACA) avaliadas nos genitores e nas linhagens em ensaios de campo nos anos agrícolas 2007/08, 2008/2009 e 2009/2010.....	118
Tabela 6. Rendimento de grãos inteiros (INT%) e total (TOT%), teor de amilose (TA), temperatura de gelatinização (TG), centro branco (CB) e cocção das linhagens e seus genitores recorrentes.....	120
Tabela 7. Descrição dos pais recorrentes e fontes de resistência usados para desenvolver linhagens quase-isogênicas resistente à <i>Magnaporthe oryzae</i> . As linhagens quase-isogênicas são listadas sob o nome de cada parental recorrente (BRS Formoso, Diamante e CNA 8502).	

O Código identifica sequencialmente as linhagens quase-isogênicas derivadas de cada um dos pais recorrente. O ranking é uma estimativa da média usado para classificar as linhagens e diferenciar aquelas cujas notas da interação fenotípica são significativamente diferentes, o valor F é estimado pelo teste de Friedman (F) (p-value).....	122
Tabela 8. Reação de suscetibilidade (S) e resistência (R) a raças de <i>M. oryzae</i> em linhagens de arroz irrigado, em condições de casa telada, através da análise visual do fenótipo da interação patógeno-hospedeiro utilizando a escala de 0 a 9 (LEUNG <i>et al.</i> , 1988).....	124
Tabela 9. Multilinhas e linhagens utilizadas na avaliação da resistência à brusone com inoculação artificial em condições de campo.....	126
Tabela 10. Diferenciação de multilinhas e linhagens de arroz para resistência à brusone em experimento de campo, avaliado em dois momentos na fase vegetativa (Avaliação 1 e Avaliação 2). A bordadura do experimento foi inoculada com uma mistura de 15 raças do patógeno e o fenótipo da interação entre <i>M. oryzae</i> e os acessos avaliada por uma escala de notas (0-9). Os valores de F foram obtidos pelo Teste de Friedman.....	129
Tabela 11. Médias das notas (0 a 9) de duas avaliações de brusone na folha e de brusone na panícula em multilinhas e linhagens de arroz avaliadas de campo com inoculação artificial da bordadura com uma mistura de inóculo de dez raças de <i>M. oryzae</i> .....	131
Tabela 12. Percentual de recuperação do genoma genitor recorrente nas linhagens que compõem a multilinha 3, estimado com base na análise de polimorfismo de DNA em locos de marcadores SNPs distribuídos nos 12 cromossomos de arroz.....	132

## LISTA DE FIGURAS

<b>Capítulo 1</b>	
Figura 1. Mapa indicativo dos 115 Países onde o arroz é produzido no mundo. Quanto maior a área do círculo, maior a produção no país (FAO, 2011).....	5
Figura 2. Mapa indicativo das regiões produtoras de arroz e localização dos sistemas de produção irrigado e sequeiro. Fonte: IBGE 2008, adaptado.....	8
Figura 3. Sintomas da brusone do arroz. A e B – Lesões características de brusone nas folhas; C e D – Campos de arroz mostrando alta severidade de brusone na fase inicial de cultivo; E – Colmo infectado apresentando lesão esporulativa; F – Lesão característica no nó da panícula; G e H – Panículas apresentando brusone do pescoço; I – Grãos de arroz manchados (associação de fungos, incluindo <i>M. oryzae</i> ); J – Campo com brusone nas panículas; K e L – Lesões nas raízes e no colmo de plântulas. Fotos: K e L (Sesma & Osbourn, 2004).....	14
Figura 4. Ciclo de infecção de <i>Magnaporthe oryzae</i> em arroz. Linhas verdes representam o desenvolvimento vegetativo do fungo. Linhas vermelhas representam desenvolvimento assexuado do fungo. Linhas azuis indicam o ciclo de infecção do fungo (Jeon et al. 2007).....	17
Figura 5. Fases críticas da brusone nas fases vegetativa e reprodutiva do arroz. Fonte: Adaptada de Counce et al., (2000).....	18
<b>Capítulo 2</b>	
Figura 1. Fenótipo da interação patógeno-hospedeiro entre o isolado monospórico <i>M. oryzae</i> 623 e as linhagens parentais da população de linhagens puras recombinantes: (A) Puteca (resistente, à esquerda) e (B) Chorinho (suscetível, à direita).....	67
Figura 2. Ensaio de avaliação do fenótipo da interação entre o isolado 623 de <i>M. oryzae</i> e a população de linhagens puras recombinantes derivada do cruzamento entre as variedades de arroz Chorinho e Puteca.. ..	68
Figura 3. Montagem do experimento de avaliação de resistência à brusone do arroz em população de linhagens puras recombinantes CNAx13201, derivada do cruzamento entre as variedades tradicionais Chorinho x Puteca.....	68
Figura 4. Indução de esporulação em isolados de <i>M. oryzae</i> . (A) Cultura em meio de aveia de isolado de <i>M. oryzae</i> ; (B) Raspagem superficial do micélio com alça de alumínio para indução de esporulação; (C) Detalhe de cultura esporulada; (D) Quantificação de esporos e preparo de inóculo para avaliação do fenótipo da interação patógeno-hospedeiro. ....	69
Figura 5. Incubação de plantas de arroz recém-inoculadas com <i>M. oryzae</i> em câmara úmida.....	70
Figura 6. Escala de notas usada na análise do fenótipo da interação entre isolados de <i>Magnaporthe oryzae</i> e plantas de arroz. As notas 0 a 3 são dadas para reações de resistência e as notas 4, 5, 7 e 9 para reações crescentes de susceptibilidade do hospedeiro ao patógeno (Ohse, 2008, modificado).....	71

<p>Figura 7. Mapa genético composto de 192 marcadores microssatélites e SNPs, baseado na análise de segregação de 169 linhagens puras recombinantes derivadas do cruzamento entre as variedades Chorinho e Puteca. A denominação e orientação dos cromossomos segue o mapa físico de arroz (<a href="http://www.gramene.org">www.gramene.org</a>). Em cada cromossomo é representada a distância entre marcadores em centimorgans (esquerda) e a identidade dos locos de marcadores moleculares (direita). Marcadores SNP iniciam com a letra S enquanto marcadores microssatélites são identificados pelas letras iniciais RM, OG e OSR.....78</p>
<p>Figura 8. Distribuição dos valores estimados de LOD para associação entre marcadores moleculares (SNP e SSR) e resistência ao isolado <i>M. oryzae</i> 623 no genoma de arroz.....85</p>
<p>Figura 9. Distribuição dos valores estimados de LOD para associação entre marcadores moleculares (SNP e SSR) e resistência ao isolado <i>M. oryzae</i> 623 no genoma de arroz pela análise de intervalo simples. (a) Curva de distribuição dos valores de LOD em cada intervalo de mapa nos 12 cromossomos de arroz; (b) Evidência de associação significativa entre o intervalo dos marcadores S6_24269 e RM7213, no Cromossomo 6, e resistência à brusone.....86</p>
<p>Figura 10. Distribuição dos valores estimados de LOD para associação entre marcadores moleculares (SNP e SSR) e resistência ao isolado <i>M. oryzae</i> 623 no genoma de arroz pela análise de intervalo composto. (a) Curva de distribuição dos valores de LOD em cada intervalo de mapa nos 12 cromossomos de arroz; (b) Evidência de associação significativa entre o intervalo dos marcadores S6_24269 e RM7213, no cromossomo 6, e resistência à brusone.....87</p>
<p>Figura 11. Representação da região do mapa físico de arroz que contém o marcador RM7213, associado ao controle genético de resistência ao isolado <i>M. oryzae</i> 623.....90</p>
<p><b>Capítulo 3</b></p>
<p>Figura 1: Ensaio de avaliação de multilinhas de arroz irrigado em Formoso do Araguaia, TO: a) vista do experimento de avaliação de multilinhas de arroz irrigado; b) Detalhes da bordadura utilizada no ensaio; c) inoculação da bordadura com uma mistura de isolados das 15 raças de <i>M. oryzae</i> mostradas na Tabela 3; d) detalhe do barbante utilizado na parcela marcando uma planta em que foi feita a leitura de incidência de brusone na folha; e) vista do experimento com a bordadura totalmente infectada por brusone.....111</p>
<p>Figura 2 – Distribuição de notas de sintomas de brusone observadas em 60 amostras aleatórias obtidas na bordadura do experimento, em duas avaliações separadas por 10 dias. Avaliação 1 (esquerda); Avaliação 2 (direita).....127</p>

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Notas de severidade dos 15 isolados na serie internacional de diferenciadoras. A - Raminad Str-3; B -Zenith; C - NP-125; D - Usen; E - Dular; F - Kanto 51; G - Sha-tiao-tsau e H - Caloro.....	138
Anexo 2. Notas de severidade dos 15 isolados nas cultivares parentais e suscetíveis. 01 – Chorinho; 02 – Puteca; 03 – IAC 165; 04 – Primavera; 05 – Moroberekan; 06 – Ligeiro; 07 – Azucena; 08 – Catetão; 09 – Oryzica Llanos 5; 10 – Amaroo; 11 – Oryzica Llanos 4 e 12 – Formoso.....	139
Anexo 3. Avaliação da severidade nas 186 linhagens derivadas do cruzamento Chorinho x Puteca e das cultivares Chorinho e Puteca inoculadas com a raça IA-1, isolado <i>M. oryzae</i> 623.....	140
Anexo 4. Dados de campo para produtividade ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ) dos 13 tratamentos (10 linhagens e 3 testemunhas) de linhagens de arroz irrigado.....	144
Anexo 5. Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (1º avaliação, repetições 1 e 2) avaliado em 06/01/2012. Arroz Irrigado.....	145
Anexo 6. Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (1º avaliação, repetições 3 e 4) avaliado em 06/01/2012. Arroz Irrigado.....	146
Anexo 7. Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (2º avaliação, repetições 1 e 2) avaliado em 16/01/2012. Arroz irrigado.....	147
Anexo 8 Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (2º avaliação, repetições 3 e 4) avaliado em 16/01/2012. Arroz Irrigado.....	148
Anexo 9. Dados de campo para incidência de brusone nas panículas (repetições 1 e 2) avaliado em 15/03/2012. Arroz Irrigado.....	149
Anexo 10. Dados de campo para incidência de brusone nas panículas (repetições 3 e 4) avaliado em 15/03/2012. Arroz Irrigado.....	150
Anexo 11. Genótipos observados nos locos microssatélites e SNPs para as linhagens puras recombinantes derivadas do cruzamento entre Chorinho x Puteca. Onde: 2= alelo de Puteca; 0= alelo de Chorinho; 1= heterozigoto; -1= dado faltante; colunas= código das linhagens RILs; linhas: marcador molecular. ....	151
Anexo 12. Testes de distorção de segregação Mendeliana dos marcadores utilizados na análise.....	119

## RESUMO GERAL

DIAS NETO, Justino José. **Mapeamento genético de QTLs de resistência ao agente causal da brusone (*Magnaporthe oryzae*) e avaliação de multilinhas de resistentes ao patógeno.** 2013. 185p.

Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

A brusone do arroz, causada por *Magnaporthe oryzae*, é uma das mais importantes doenças da cultura, pela sua ampla distribuição geográfica e capacidade de destruição das lavouras. A doença é um desafio para os orizicultores e constitui-se em um dos fatores limitantes da produtividade do arroz, especialmente na região Central do Brasil, uma área de alta diversidade genética do patógeno. Nesta região, a resistência à brusone tem sido quebrada um a dois anos após o lançamento de uma nova cultivar. Um dos objetivos do presente trabalho foi o mapeamento de genes de resistência à brusone no genoma de arroz para intensificar o desenvolvimento de estratégias de emprego de genes de resistência completa e/ou parcial no desenvolvimento de variedades melhoradas. Neste estudo, a avaliação da interação entre isolados de *Magnaporthe oryzae* coletados na região do Vale do Rio Araguaia e genitores de uma população de linhagens puras recombinantes de arroz (*RILs* – *Recombinant Inbred Lines*), possibilitou a seleção do isolado 623, raça fisiológica IA-1, apresentando reação de incompatibilidade (resistência) com a variedade tradicional *japonica* tropical Puteca, e de compatibilidade (suscetibilidade) com a variedade tradicional *japonica* tropical Chorinho. A análise de polimorfismo de DNA em 192 locos microssatélites e SNPs distribuídos pelo genoma de arroz permitiu a construção de um mapa genético com 1074,19 cM e distância de recombinação média entre marcadores de 5,59 cM. A fenotipagem da população RIL e testes de ligação possibilitou a identificação do loco RM7213, próximo ao centrômero do Cromossomo 6, significativamente associado ao controle de resistência ao isolado *M. oryzae* 623. O gene mapeado foi provisoriamente denominado *Pi-Put1*. A região do marcador RM7213 possui aglomerados de genes de resistência à brusone, muitos deles de amplo espectro de resistência. Esta região gênica pode ser explorada pelo programas de melhoramento genético na obtenção de cultivares resistentes ao patógeno. Uma das alternativas para o desenvolvimento de cultivares resistentes é a piramidização indireta, baseada na exploração de linhagens quase-isogênicas com diferentes genes de resistência para compor multilinhas. Outro objetivo do presente trabalho foi, portanto, avaliar linhagens quase-isogênicas de arroz com diferentes genes de resistência à brusone e construir multilinhas para testar resistência ao patógeno em condições de campo. As linhagens obtidas apresentaram características agrônomicas (ex. produtividade, porte baixo, ciclo, resistência a acamamento, qualidade de grãos, etc.) muito semelhantes às observadas nos seus respectivos genitores recorrentes. As linhagens apresentaram ganho de resistência a diferentes raças de *M. oryzae*. O efeito de multilinha na contenção da epidemia de brusone no campo foi detectado em experimento baseado na inoculação da bordadura com uma mistura de 15 raças do patógeno e avaliação de sintomas nas linhagens e multilinhas. Observou-se uma redução significativa na taxa de infecção da doença nos tratamentos suscetíveis, atribuída ao emprego de multilinhas. Este resultado sugere que o emprego de multilinhas na produção de arroz no Brasil pode contribuir para a obtenção de resistência mais durável a *M. oryzae* em regiões com alta diversidade de raças do patógeno.

**Palavras-chave:** Arroz, brusone do arroz, *Magnaporthe oryzae*, multilinhas, resistência genética,

**Orientador** –Márcio Elias Ferreira, Ph.D – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

## ABSTRACT

DIAS NETO, Justino José. **Linkage mapping of QTLs associated with resistance to the rice blast causal agent (*Magnaporthe oryzae*) and evaluation of rice multilines resistant to the pathogen.** 2013. 185p. Thesis (Doctorate in Phytopathology) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

Rice blast, caused by *Magnaporthe oryzae*, is one of the most important diseases of rice, due to its broad geographic distribution and capacity to destroy the crop. This disease is a challenge to rice farmers and one of the factors which limit rice yield, especially in the Central Region of Brazil, which is considered an area of high genetic diversity of the pathogen. In this region, rice blast resistance has been overcome only one or two years after a new resistant cultivar is commercially released. One of the objectives of the present work was to map blast resistance genes in the rice genome in order to intensify the development of strategies to use genes conferring major or partial resistance by breeding programs. In this study, the evaluation of the phenotypic interaction between *M. oryzae* isolates collected in the Araguaia River Valley and parents of a population of recombinant inbred lines (RIL) allowed the identification of isolate 623, physiological race IA-1, which is able to induce incompatibility reaction (resistance) in the traditional tropical *japonica* variety Puteca, and compatibility (susceptibility) in the traditional tropical *japonica* variety Chorinho. DNA polymorphism analysis in 192 microsatellite and SNP loci, distributed in the rice genome, allowed the construction of a genetic map with 1074.19 cM and average recombination distance of 5.59 cM between markers. Interaction phenotype and linkage analysis allowed the identification of microsatellite locus RM7213, located near the centromere region of chromosome 6, significantly associated with resistance to *M. oryzae* 623. This gene was temporarily called *Pi-Put1*. The region of marker RM7213 has a cluster of blast resistant genes, some of them with broad resistance to blast races. This region can be further explored by breeding programs in order to obtain new cultivars resistant to the pathogen. One of the alternatives for the development of blast resistant cultivars is indirect gene pyramiding, based on the exploration near-isogenic lines with different resistant genes to compose multilines. Another objective of this work was to evaluate near isogenic lines with different resistant genes and build multilines to test for blast resistance in the field. The lines showed agronomic traits (eg. yield, plant height, cycle, lodging resistance, grain quality, etc.) very similar to their respective recurrent parents. The lines also presented additional resistance to different races of *M. oryzae* in relation to their recurrent parents. The effect of multilines to deter blast epidemics in the field was detected in an experiment based on the inoculation of the experimental borders with a mixture of 15 races of *M. oryzae*, followed by phenotypic evaluation of the lines and multilines during the epidemics. A significant reduction in the rate of disease infection in susceptible controls was attributed to the use of multilines. This result suggests that the use of multilines in rice production in Brazil could contribute to obtain durable resistance to *M. oryzae* in regions with high genetic diversity of the pathogen.

**Keywords:** Arroz, brusone do arroz, *Magnaporthe oryzae*, multilinhas, resistência genética,

Guidance Committee –Márcio Elias Ferreira, Ph.D – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia





# CAPÍTULO 1

---

---

REVISÃO DE LITERATURA

## **A cultura do arroz**

### **O arroz**

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma gramínea herbácea anual, autógama, pertencente à Divisão Magnoliophyta (Angiospermae), Classe Liliopsida (Monocotiledônea), Ordem Poales, Família Poaceae (Gramineae), Subfamília Oryzoideae (Bambusoideae), Tribo Oryzeae, Gênero *Oryza*. O Gênero *Oryza* apresenta 23 espécies descritas (duas cultivadas e 21 silvestres). Dentro da sessão *Oryza* encontra-se o complexo *Oryza sativa* que compreende cinco espécies silvestres e as duas espécies cultivadas, *Oryza glaberrima* e *Oryza sativa*, ambas diplóides ( $2n=24$ ), com genoma AA (Khush, 1997).

O arroz foi a primeira espécie vegetal de importância agrícola a ter o genoma inteiramente seqüenciado e contém aproximadamente 430 milhões de pares de bases com um número estimado de 46 a 56 mil genes para a subespécie *indica*, e de 32 a 50 mil genes para a subespécie *japonica* (Goff et al., 2002; Yu et al., 2002), distribuídos em 12 cromossomos. A espécie é considerada um modelo em investigação científica, possuindo o menor genoma entre os cereais cultivados (Matsumoto et al., 2005). As evidências sugerem que cerca de 30.000 locos de arroz são expresso, sendo potenciais codificadores de proteínas (Itoh, et al., 2007).

### **Origem e domesticação**

O processo evolutivo e de domesticação do arroz fez surgir inúmeros tipos divergentes geneticamente adaptados aos mais variados ambientes. A espécie é hoje cultivada em quase todos os continentes, em países com regiões de clima temperado, tropical e subtropical. A espécie *O. sativa* é considerada polifilética, resultante do cruzamento de formas espontâneas

variadas e é originária da Ásia, sendo classificada nas subespécies *indica* e *japonica* (Kato et al., 1928). Mais tarde, um terceiro grupo – *javanica* – foi identificado e atualmente denominado *japonica tropical*, um subgrupo da *japonica* (Matsuo, 1952; Glaszmann, 1987; Garris et al., 2005). As duas subespécies (*indica* e *japonica*) possuem características morfológicas distintas e grande diversidade genética devido a processos diferentes de domesticação e seleção (Matsuo et al., 1997). Segundo Sweeney & McCouch (2007) a provável separação das subespécies se deu devido a barreiras geográficas e reprodutivas entre elas. Jiayang et al. (2012) demonstraram através de análises genômicas que o arroz da espécie *O. sativa* subespécie *japonica* foi domesticado primeiro a partir de uma população selvagem específica de *O. rufipogon* no sul da China, e que depois o arroz *japonica* foi cruzado com arroz silvestre originário do Sul e Sudeste asiático, dando origem ao arroz da subespécie *indica*.

Os genomas estruturais das subespécies *indica* e *japonica* foram completamente sequenciados. Análises comparativas indicam que somente 2 a 3% dos genes pertencem a uma ou outra subespécie, mas existem grandes diferenças de sequência na regiões intergênicas dos dois genomas (Yu et al. 2005). O arroz da subespécie *indica* apresenta alta capacidade de perfilhamento, folhas e colmos longos, ciclo mais curto (variação de 100 a 140 dias) com cultivo em sistema irrigado distribuídos em regiões de clima temperado. A subespécie *japonica* tem capacidade média de perfilhamento, folhas e colmos curtos e apresenta ciclo entre 110 e 155 dias. Os cultivares *japonica* são plantados nas regiões de clima temperado, enquanto subgrupo *japonica tropical* é tipicamente produzido em sistema sequeiro ou de terras altas (Guimarães & Yokoyama, 2003). A variação na duração do ciclo da cultura está relacionada com o genótipo da cultivar utilizada, época de semeadura, região de cultivo e condições de fertilidade do solo.

## **Importância econômica**

A cultura do arroz é considerada a base da alimentação da maior parte da população mundial e um dos mais importantes grãos em termos de valor econômico e social (Vaughan et al., 2005). Segundo a FAO (2012) o arroz é a principal fonte de energia para mais da metade da população mundial. Em países como Camboja, China, Japão e Guiné Bissau o arroz é responsável por fornecer 73,29%, 29,99%, 23,06% e 42,17% respectivamente, da fonte de energia da população. No Brasil, o arroz representa 12,09% da fonte de energia para a população.

Rico em carboidratos, o arroz, na sua forma natural, é um alimento essencialmente energético, mas pode ser também uma importante fonte de proteínas, sais minerais (principalmente fósforo, ferro e cálcio) e vitaminas do complexo B, como a B1 (tiamina), B2 (riboflavina) e B3 (niacina). Além do consumo do grão pelo homem, onde reside a sua maior importância, o arroz é utilizado e/ou transformado numa grande variedade de produtos. A palhada após a colheita do grão serve como pastagem. A casca do grão é utilizada como combustível para queima (*in natura* ou pellet), ração animal (volumoso), meio de crescimento de cogumelos, e na produção de papel. O farelo é extremamente nutritivo e é usado na extração de óleo comestível de alta qualidade e também na alimentação animal. O arroz quebrado durante o beneficiamento é utilizado na produção de ingredientes ou na produção de “noodles” instantâneos, aperitivos e bebidas alcoólicas. A farinha de arroz, produzida a partir do arroz quebrado, é utilizada na produção de pasta de arroz, aperitivos e cereais (Alcochete, 2005).

Atualmente o arroz é a terceira maior cultura cerealífera do mundo, representando 18,8% da produção mundial de grãos, superada pelo milho 34,1% e pelo trigo 26,9% (USDA,

2010). Dos 193 países reconhecidos pela ONU (2013) a cultura do arroz é produzida em 115 deles (FAO, 2011) (Figura 1).

A Ásia é a principal produtora, responsável por mais de 90% da produção mundial. Os países que se destacam são: China, Índia e Indonésia, que respondem, respectivamente, por 30%, 23% e 8% da produção mundial. Conforme o relatório *Rice Market Monitor* (RMM), publicado pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), a produção mundial de arroz em 2020 deverá ultrapassar 730 milhões de toneladas de arroz em casca (487 milhões de toneladas de arroz beneficiado), numa área plantada equivalente a 165 milhões de hectares (FAO, 2013). A produção mundial de arroz não vem acompanhando o crescimento do consumo. Nos últimos seis anos, a produção mundial aumentou cerca de 1,09% ao ano, enquanto a população cresceu 1,32% e o consumo 1,27%, havendo grande preocupação em relação a estabilização da produção mundial nos próximos anos (USDA, 2010).

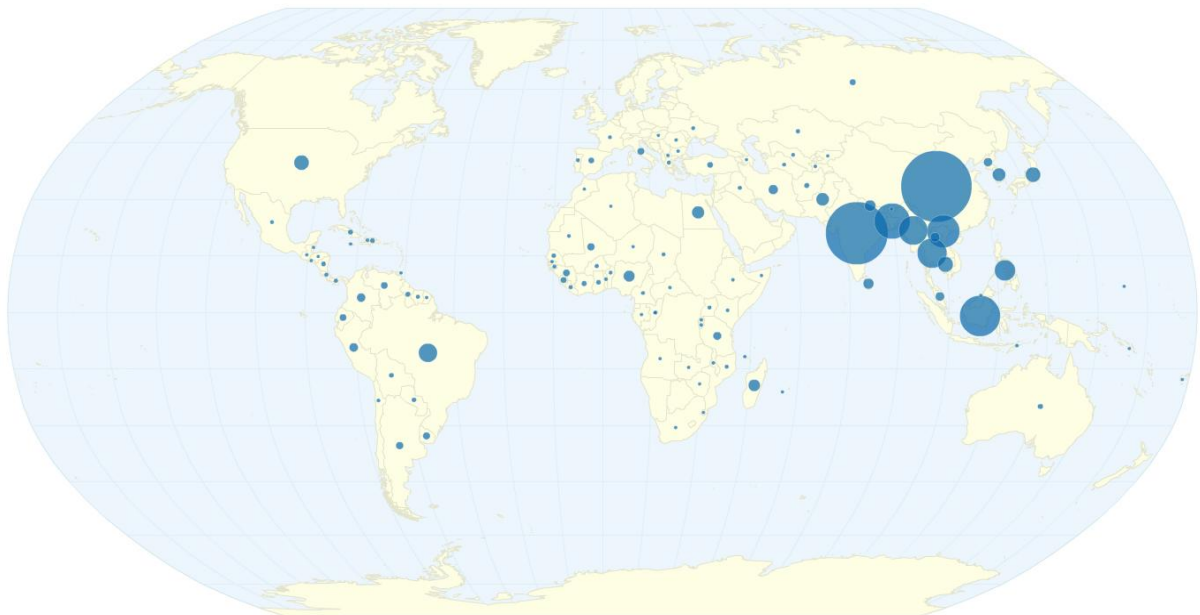


Figura1. Mapa indicativo dos 115 Países onde o arroz é produzido no mundo. Quanto maior a área do círculo, maior a produção no país (FAO, 2011).

Além de sua importância econômica e alimentar, a planta do arroz destaca-se, atualmente como um importante modelo biológico de estudos genômicos em monocotiledôneas. As características que contribuíram para o arroz se tornar um modelo estão relacionadas com a duração e seu ciclo, o número de sementes produzidas, por ser uma espécie diplóide, por apresentar um genoma pequeno (430 Mb) em relação a outras gramíneas, pela capacidade de multiplicação em diferentes ambientes, facilidade de manipulação da polinização (direcionamento de cruzamentos), capacidade de cultivo *in vitro* e com a disponibilidade de informações já existentes (banco de dados para a espécie) (Matsumoto et al., 2005). Alcochete (2005) cita em sua revisão diversos trabalhos mostrando características que colocaram o arroz como espécie modelo de estudos genômicos, como apresentar sintenia de seu genoma com os de outros cereais, possuir um mapa molecular com mais de 10.000 marcadores, ter os genomas das subespécies *indica* e *japonica* sequenciados, e possuir uma vasta fonte de recursos genéticos (mutantes, espécies silvestres, cultivares, linhagens, linhas quase-isogênicas) e populações mapeadas. Diversos projetos de re-sequenciamento do genoma do arroz foram realizados, gerando grande número de sequências depositado em bancos de genes. Esses avanços conseqüentemente trazem informações relevantes para o melhoramento genético.

## **O Arroz no Brasil**

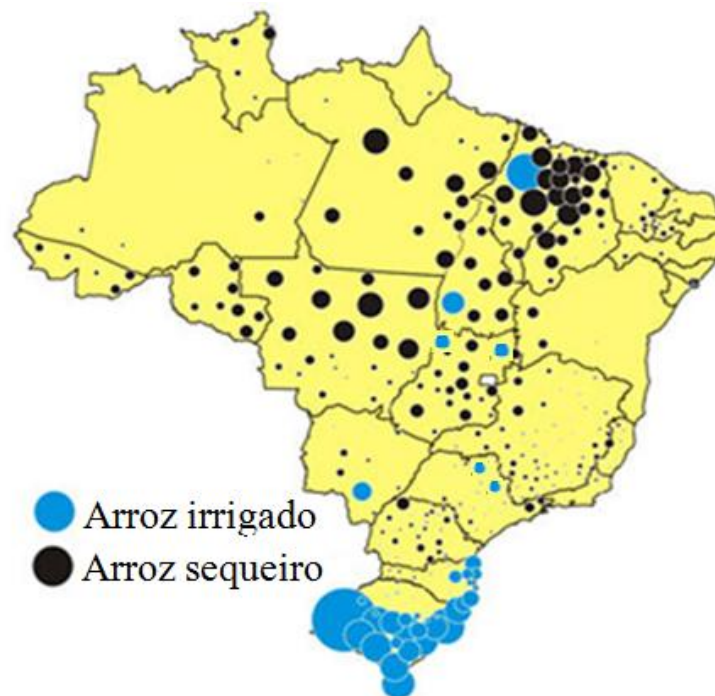
O Brasil ocupa hoje a 9ª posição no ranking mundial de países produtores, destacando-se como o maior produtor fora do continente asiático (USDA, 2010; FAO, 2012). A cultura de arroz abrange uma área de 2,46 milhões de hectares e uma produção calculada em 11,5 milhões de toneladas (IBGE, 2012). A produtividade média das lavouras irrigadas e de sequeiro foi estimada em 4,89 t/ha, 2,5% superior à safra 2012. Destacam-se como maiores produtores Rio Grande do Sul, que concentra 64,3% da produção, Santa Catarina (9,2%), Maranhão (5,6%), Tocantins (3,8%) e Mato Grosso com 3,7% da produção nacional

(FIGURA 2). Segundo MAPA (2012), as projeções de 2011/2012 a 2021/2022 de produção e consumo de arroz mostram uma situação apertada entre essas duas variáveis, havendo necessidade de importações de arroz nos próximos anos. A produção projetada para 2021/2022 é de 15,2 milhões de toneladas, que equivale a um crescimento anual da produção de 1,4%. Esse acréscimo de produção deverá ocorrer especialmente por meio do crescimento do arroz irrigado, já que o arroz de sequeiro tem reduzido sua expansão no Brasil devido à menor incorporação de novas terras em áreas de fronteira agrícola. O consumo de arroz deverá crescer pouco abaixo da produção. Projeta-se uma taxa anual para os próximos anos de 1,0% de aumento de consumo, atingindo o volume de 13,9 milhões de toneladas em 2021/2022. Assim, o consumo em 2021/2022 poderá ser atendido por estoques privados e públicos e importações, atingindo 800 mil toneladas anuais. As estimativas para a projeção de área plantada de arroz mostram que deverá ocorrer redução de área nos próximos anos. A área de arroz vem caindo ano a ano para o plantio de sequeiro, mas no Rio Grande do Sul (plantio irrigado) observa-se ligeira tendência de aumento. A produtividade deverá ser a principal variável no comportamento desse produto nos próximos anos.

As formas de cultivo são diferenciadas conforme o relevo, os tipos e as condições dos solos, a temperatura, a pluviometria e a tecnologia empregada. O arroz é cultivado no Brasil nos sistemas irrigado, várzeas (sub-irrigado) e de terras altas (sequeiro). No ecossistema de várzeas, os sistemas de cultivo principais são arroz irrigado por inundação contínua e controlada, com manutenção de lâmina de água até a maturação dos grãos, e arroz de várzea úmida, cultivado em baixadas sem irrigação controlada. As principais áreas de cultivo em várzeas, irrigadas sob o sistema de inundação, estão nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Outras áreas geográficas de várzeas estão localizadas em alguns Estados do Sudeste, Centro-Oeste, Norte e Nordeste. A maior parcela de produção é proveniente do sistema irrigado, como 69% da produção nacional, uma vez que não é tão dependente das

condições climáticas em relação ao cultivo de terras altas (Guimarães et al., 2006). O ecossistema de terras altas é cultivado em terrenos mais drenados, principalmente em solos de cerrado. Em áreas onde há períodos de estiagem, mesmo durante a estação chuvosa, alguns produtores de ponta utilizam a irrigação por aspersão como alternativa para solucionar o problema de veranicos, e garantir estabilidade à produção, podendo ainda aumentar a produtividade e melhorar a qualidade dos grãos.

No final da década de 60, a planta de arroz foi objeto de expressivas modificações, não só fenotípicas como genotípicas, o que contribuiu para proporcionar ganhos importantes em qualidade e produtividade. A produtividade final da cultura do arroz depende da cultivar utilizada, da quantidade de insumos e das técnicas de manejo empregadas. A média nacional do arroz irrigado da safra 2011/2012 foi de 6.954 kg/ha., enquanto que a produtividade média do arroz de sequeiro atingiu aproximadamente 2.186 kg/ha (CONAB, 2012).



**Figura 2.** Mapa indicativo das regiões produtoras de arroz e localização dos sistemas de produção irrigado e sequeiro. Fonte: IBGE 2008, adaptado.



## Doenças do arroz

A cultura do arroz durante todo seu ciclo de cultivo é afetada por diversas doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides, sendo registrado na literatura mais de 80 doenças em diferentes países (EMBRAPA, 2005). Dentre as doenças do arroz destaca-se a brusone, importante pela sua ampla distribuição geográfica, pelos danos causados e dificuldade de controle, sendo considerado um obstáculo ao incremento de produtividade no campo (Nunes, et al., 2007; Dean et al., 2005). A doença tem sido um desafio para os orizicultores e representa um dos fatores limitantes da produtividade do arroz irrigado (várzeas) e de sequeiro (terras altas), em todo o território brasileiro e nas regiões produtoras de arroz em todo o mundo (Igarashi et al., 1986), sendo considerada uma ameaça à segurança alimentar.

Outras doenças comuns no Brasil em ordem de importância são: Mancha parda (*Drechslera oryza*); Escaldadura (*Microdochium oryzae*); Manchas nos grãos (incluem: Fungos - *Phoma sorghina*, *Drechslera oryzae*, *Alternaria padwickii*, *Microdochium oryzae*, *Sarocladium oryzae*, *Drechslera* spp., *Curvularia* spp., *Nigrospora* sp., *Fusarium* spp. e outros; Bactérias *Pseudomonas fuscovagina* e *Erwinia* spp.); Queima da bainha (*Rhizoctonia solani*); Mancha da bainha (*Rhizoctonia oryzae*); Mancha estreita (*Cercospora janseana*); Mancha circular (*Alternaria padwickii*); Podridão de bainha (*Sarocladium oryzae*); Podridão do colmo (*Nakataea sigmoidea*); Carvão da folha (*Entyloma oryzae*); Carvão (*Tilletia barclayana*); Falso carvão (*Ustilaginoidia virens*); Ponta branca (*Aphelenchoides besseyi*); Nematóide formador de galhas (*Meloidogyne javanica*); Mal do colo (*Fusarium oxysporum*); Lista parda (*Erwinia* sp.); mal-do-pé (*Gaeumannomyces graminis* var. *graminis*).

## **A Brusone do Arroz**

O agente causal da brusone do arroz é o fungo *Magnaporthe oryzae*, anteriormente conhecido como *Magnaporthe grisea* (Barr) [anamorfo *Pyricularia oryzae* (anteriormente chamada *P. grisea* (Cooke) Sacc)], (Couch & Kohn, 2002).

## **Histórico**

Os primeiros registros da ocorrência da brusone datam de 1600 e foram feitos na China e Japão, sendo descrita como “febre do arroz” já em 1637. A denominação “brusone” foi cunhada na Itália em 1828. Mais tarde, em 1906, a brusone foi registrada como “*blast*” em inglês, nos EUA (Bedendo, 1997). No Brasil, a brusone foi relatada pela primeira vez em 1912 no Estado de São Paulo. Em seguida, no ano de 1918, foi descrita no Rio Grande do Sul e em 1935 no Paraná. Nas décadas de 40 e 50 a doença ficou bastante conhecida em várias partes do país. Em 1946 foi registrada no Nordeste, sendo descrita como uma doença comum desde a Bahia até estados do norte do Brasil. Grandes surtos da doença foram descritos em 1953 no Rio Grande do Sul e em 1955 no Pará. A partir de 1957 iniciaram-se os trabalhos de desenvolvimento de resistência de cultivares à brusone e seu controle. Em 1960 foi registrado a primeira cultivar resistente à brusone no Estado do Rio Grande do Sul. A partir de 1963 foram intensificados os trabalhos na busca de fontes de resistência no IRGA (Instituto Rio Grandense do Arroz), IPEAS - RS (Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Sul), IAC (Instituto Agrônomo de Campinas) e IB - SP (Instituto Biológico). Em 1971 nos Estados de Rio Grande do Sul e São Paulo foi relatada a ocorrência de raças fisiológicas no Brasil (Prabhu & Filippi, 2006). A partir das décadas de 60 e 70 se intensificaram trabalhos na busca de conhecimento das fases da doença e do patógeno, e de métodos adequados ao seu controle.

Diversos pesquisadores e instituições de pesquisa em todo mundo têm estudado o fungo causador da brusone. Segundo Prabhu & Filippi (2006), não há na história da Fitopatologia um patógeno como o *M. oryzae*, que causa tantos impactos em abrangência mundial para a cultura do arroz e, em menor escala, para outras gramíneas. Por estas razões, a brusone vem sendo intensivamente estudada desde o início do século passado.

A brusone do arroz é, sem dúvida, uma das principais doenças do arroz. É encontrada em qualquer lugar onde o arroz é cultivado, sendo sempre importante e uma constante ameaça à produção. A doença foi identificada em 85 países produtores de arroz em zonas tropicais e temperada (Roca et al., 1996). Quebras de safras de lavouras inteiras de arroz têm resultado do ataque severo de epidemias de brusone. O desafio para a pesquisa continua sendo a produção de alimento de alta qualidade em uma grande e crescente escala, e a custos baixos, na presença do patógeno. Todas as estratégias e técnicas de manejo que têm sido geradas pela pesquisa têm sido empregadas para combater a brusone do arroz, mas com sucesso limitado (TeBeest et al., 2012). A brusone nunca foi completamente eliminada de qualquer região onde arroz é cultivado, e uma única mudança na forma em que o arroz é produzido ou na forma como os genes de resistência são empregados pode resultar em significativas perdas mesmo após anos de sucesso no manejo da doença.

### **Importância da doença**

O potencial destrutivo causado pela brusone incentivou países como os Estados Unidos a efetuarem pesquisas com o patógeno para uso contra o Japão durante a Segunda Guerra Mundial. O objetivo seria o emprego de uma arma biológica anti-planta para comprometer a produção de alimentos do país inimigo. Porém, no fim da Segunda Guerra Mundial, esta arma biológica não se encontrava pronta para uso no campo de batalha (Croddy & Wirtz, 2005).

A brusone do arroz causa anualmente perdas de colheitas economicamente significativas, estimando-se que em cada ano a doença destrua arroz suficiente para alimentar 60 milhões de pessoas (Zeigler et al., 1994). Nos últimos anos, segundo Wilson e Talbot (2009), grandes epidemias da brusone do arroz ocorreram na China (onde 5.7 milhões de hectares do arroz foram destruídos entre 2001 e 2005), Coréia, Japão, Vietnã e os Estados Unidos. A potencial ameaça de quebra de safra pela brusone a destaca entre as mais importantes doenças de plantas cultivadas. Milhões de pessoas em todo mundo dependem do arroz na alimentação básica e a quebra de safra, por qualquer motivo, representa uma real ameaça à segurança alimentar.

No Brasil a brusone ocorre em todos os estados produtores de arroz, sendo mais problemática na Região Central do País (Cordeiro & Rangel, 2011; Scheuermann & Eberhardt, 2011). As perdas causadas pela brusone são muito variáveis em função da pressão do inóculo, que é dependente das condições climáticas, do sistema de produção e das práticas culturais, do grau de resistência da cultivar utilizada, da ocorrência de populações virulentas do patógeno e da época de incidência da doença. A cada 1% de severidade nas folhas e panículas, estima-se que as perdas de produtividade variem de 2,7 a 1,5%, em cultivares de ciclo precoce e tardio, respectivamente (Prabhu et al., 1989). E quando em baixos níveis de infecção há relação entre a severidade de doença na folha e a infecção nas panículas (Prabhu & Faria, 1982). Alguns dados revelam perdas no peso de grãos da ordem de 8-14%, enquanto índices de 19-55% de espiguetas vazias foram observados em experimentos conduzidos em condições de campo (Berni & Prabhu, 2003; Prabhu et al., 1989). Noutros estudos, quando as condições ambientais são favoráveis e as cultivares apresentam alta suscetibilidade, as perdas podem chegar a 100% (Prabhu & Filippi, 2006). As epidemias de brusone oneram os custos de produção de grãos em cerca de 15 a 18% (Rangel, 2009).

A redução no rendimento de grãos é causada por efeito direto no desenvolvimento da planta durante a fase vegetativa, afetando a estatura da planta e o número de perfilhos. O fungo causa a redução do número e peso de grãos, comprometendo o enchimento dos grãos pelo bloqueio de seiva causada pela infecção do nó da base da panícula (Prabhu et al., 1986). As perdas indiretas de rendimento são ocasionadas pela redução da fotossíntese e da respiração durante o ciclo da cultura, afetando conseqüentemente a produtividade (Sun et al., 1986).

### **Sintomatologia**

Os sintomas da brusone do arroz (Figura 3) incluem lesões que podem ser encontradas em toda parte aérea da planta, incluindo folhas, bainha das folhas, pescoço, panículas, pedicelos e sementes. Relatos recentes mostram que as raízes também podem ser infectadas (Sesma & Osbourn, 2004).

Os sintomas nas folhas iniciam-se com a formação de pequenas lesões necróticas, de coloração marrom, que evoluem para um formato elíptico com margem marrom e centro cinza ou esbranquiçado. As lesões crescem no sentido das nervuras e, às vezes, são circundadas por um halo amarelado. A forma, tamanho e cor das manchas variam em função das condições ambientais, idade da planta e grau de resistência da cultivar. Em condições favoráveis, quando a doença ocorre severamente nos estádios iniciais de desenvolvimento da planta, as lesões coalescem, podendo tomar áreas significativas do limbo foliar, causando morte das folhas ou da própria planta (FIGURA 3- A, B, C, D e J). Nas variedades altamente resistentes formam-se pontuações ou manchas marrons de tamanho pequeno, caracterizadas por reação de hipersensibilidade que impede o desenvolvimento da doença. Nas variedades de resistência moderada as manchas podem se tornar circulares ou elípticas, mas sempre com

restrição de tamanho e ausência de esporulação do patógeno. A margem marrom está diretamente ligada com a resistência da planta (Cardoso & Kimat, 1980).



**Figura 3.** Sintomas da brusone do arroz. A e B – Lesões características de brusone nas folhas; C e D – Campos de arroz mostrando alta severidade de brusone na fase inicial de cultivo; E – Colmo infectado apresentando lesão esporulativa; F – Lesão característica no nó da panícula; G e H – Panículas apresentando brusone do pescoço; I – Grãos de arroz manchados (associação de fungos, incluindo *M. oryzae*); J – Campo com brusone nas panículas; K e L – Lesões nas raízes e no colmo de plântulas. Fotos: K e L (Sesma & Osbourn, 2004).

A infecção do nó da base da panícula é mais conhecida como brusone de pescoço. A brusone afeta também todas as ramificações da panícula, causando o chochamento das espiguetas. Os sintomas nos nós e entrenós aparecem, geralmente, na fase de maturação dos grãos (FIGURA 3- E, F, G e H). A infecção na região dos nós é frequentemente encontrada somente em cultivares suscetíveis de arroz irrigado (EMBRAPA, 2005; Ou, 1985).

Nos entrenós, os sintomas evidenciam-se na forma de manchas elípticas escuras com centro cinza e bordos marrom-avermelhados. As manchas crescem no sentido do comprimento do colmo. Os sintomas característicos dos nós são lesões marrons, que rompem o tecido da região nodal causando a morte das partes acima deste ponto e a quebra do colmo que, no entanto, permanece ligado à planta (Bedendo, 1997).

As manchas não apresentam forma definida e podem atingir qualquer parte da panícula. Infecções que ocorrem entre a fase de emissão das panículas até a fase de grãos leitosos podem causar o chochamento total dos grãos, tornando as panículas esbranquiçadas (FIGURA 3- G, H e I). Quando a doença afeta as panículas em fase mais tardia do desenvolvimento ocorre a redução do peso dos grãos, levando à quebra das panículas na região afetada (Prabhu & Filippi, 2006).

As sementes contaminadas podem levar à doença por meio da colonização radicular e posterior formação de lesões na parte aérea (Sesma & Osbourn, 2004). O fungo desenvolve longas hifas que formam um "emplastro" de infecção para conseguir o acesso ao interior da raiz, podendo também invadir o sistema vascular da planta, crescendo no xilema e floema e bloqueando o transporte de nutrientes e água desde as raízes. As raízes infectadas apresentam lesões necróticas de coloração marrom (FIGURA 3- K e L).

## **Epidemiologia**

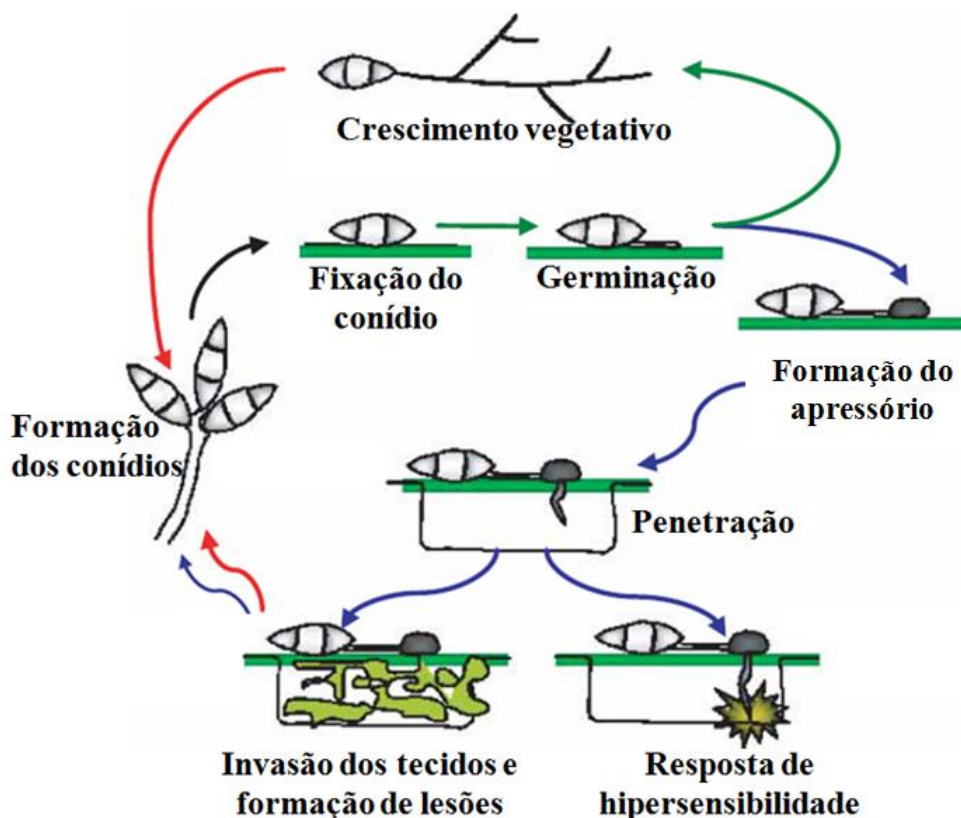
O grande número de hospedeiros alternativos favorece a disseminação dos conídios de *M. oryzae* pela ação do vento (Ribeiro, 1985), fazendo com que a doença se distribua de forma generalizada na lavoura. A disseminação aérea é considerada o mais importante meio de dispersão da doença. Esporos de *M. oryzae* foram encontrados causando brusone à distância de pelo menos 700 metros da fonte de inóculo no Japão (Ishiguro et al., 2002). No Brasil, Urashima et al. (2007) demonstraram que esporos de *M. oryzae* podem atingir campos

distantes a pelo menos 1 km do foco da doença. Nos dois estudos, porém, distâncias maiores do que a máxima observada não foram amostradas.

Outra forma de disseminação da brusone é através de sementes contaminadas. O patógeno pode também permanecer na área infectada e sobreviver na forma de micélio ou conídio em plantas hospedeiras secundárias, restos culturais, sementes e plantas de arroz que permanecem no campo, até que as condições ambientais sejam favoráveis ao seu desenvolvimento, ocorrendo sua disseminação e infecção (Dias Martins, 2004; Cornélio *et al.*, 2000; Igarashi & Balan, 2004).

A infecção ocorre quando os conídios são depositados e se fixam sobre tecidos da planta através da mucilagem que se encontra no ápice do conídio e tem como função permitir sua aderência na superfície da planta, mesmo na presença de água. Após a aderência dos conídios à superfície foliar, ocorre a germinação da célula basal ou da célula apical, produzindo um tubo germinativo e, em seguida, o apressório. O apressório é uma estrutura melanizada e dela se desenvolve a hifa de penetração “*peg*” que penetra no tecido. Após a penetração, a hifa de infecção primária dá origem a hifas secundárias e subsequentes dentro das células da epiderme e do mesófilo, resultando na colonização do tecido invadido e na formação das lesões (FIGURA 4). O crescimento dentro do tecido de cultivares resistentes é frequentemente inibido. As lesões em arroz são visíveis 72 horas após a inoculação e em 144 horas sob condições de alta umidade produzem esporos em abundância, os quais são liberados e dispersos pelo vento, fornecendo o inóculo para um ciclo de infecção subsequente (Ribeiro, 1985; Mendgen *et al.*, 1996; Prabhu & Filippi, 2006).

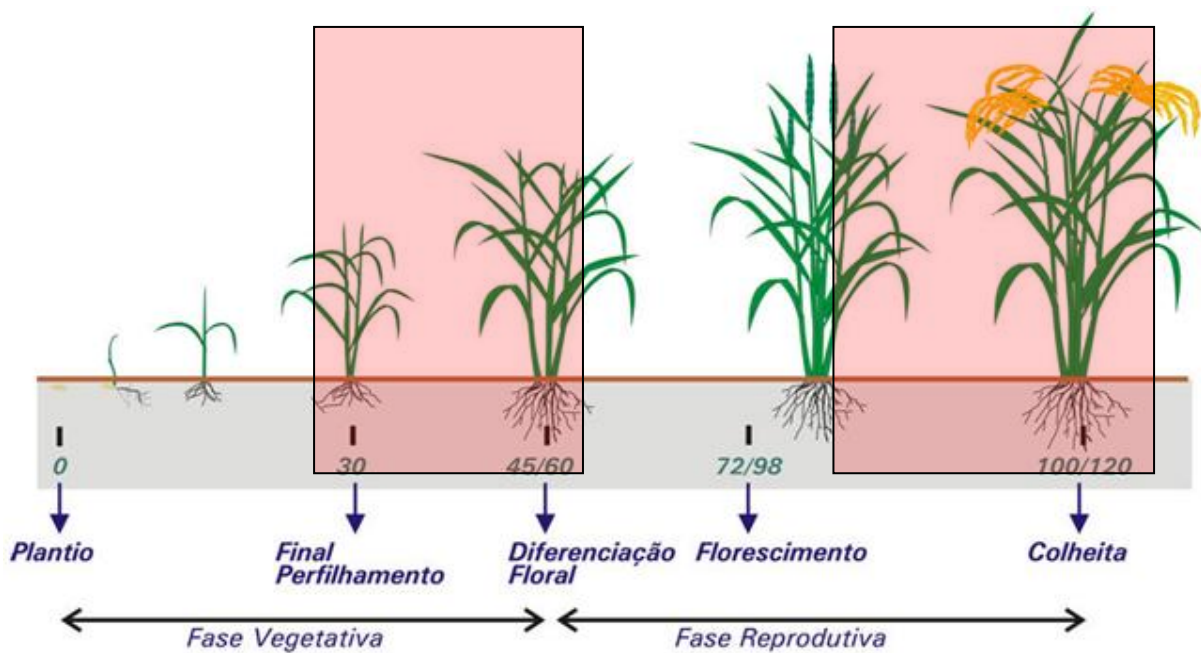




**Figura 4.** Ciclo de infecção de *Magnaporthe oryzae* em arroz. Linhas verdes representam o desenvolvimento vegetativo do fungo. Linhas vermelhas representam desenvolvimento assexuado do fungo. Linhas azuis indicam o ciclo de infecção do fungo (Jeon et al. 2007).

Esporos produzidos como inóculo primário em tecidos hibernais produzem as infecções iniciais em plântulas quando os esporos que são depositados nas folhas germinam e invadem os tecidos da folha. A severidade da doença é frequentemente correlacionada com a quantidade de material infestado. Lesões em plantas jovens aparecem dentro de alguns dias após a infecção. Estas lesões secundárias produzem mais esporos que são prontamente disseminados pelo vento para tecidos de folhas saudáveis ao redor. Os ciclos secundários podem ser repetidos várias vezes durante a estação de cultivo. As epidemias no campo são policíclicas. O número de ciclos e o número de esporos que são produzidos em cada lesão individual podem ser influenciados por diversos fatores incluindo temperatura, chuva, a altura da lâmina de inundação, a quantidade de nitrogênio utilizado na adubação e o nível de resistência genética da cultivar atacada. Em regiões temperadas podem ocorrer de 7 a 8 ciclos

da doença, enquanto em regiões tropicais podem ocorrer de 10 a 15 ciclos por estação de cultivo (Teng, 1994). A doença pode ocorrer desde os estádios iniciais de desenvolvimento até a fase final de produção de grãos, sendo mais crítica a infecção nas folhas entre 20 e 50 dias de idade. Nas panículas a doença é crítica na fase de enchimento dos grãos, entre grão leitoso e pastoso, entre 10 a 20 dias após a emissão das panículas, conforme a Figura 5 (Bedendo, 1997).



**Figura 5.** Fases críticas da brusone nas fases vegetativa e reprodutiva do arroz. Fonte: Adaptada de Counce et al., (2000).

Dentre os fatores ambientais, a umidade e a temperatura são os mais importantes para o desenvolvimento da doença (Reis *et al.*, 1988). A temperatura ótima para esporulação está em torno de 28°C, embora possa ocorrer esporulação desde 10 até 35°C. A liberação de esporos não é muito influenciada pela temperatura e normalmente ocorre na faixa de 15 a 35°C. Para germinação, temperaturas entre 25 e 28°C favorecem o processo. Quanto à umidade, a produção de conídios sobre as lesões tem início quando a umidade relativa atinge no mínimo 93%. Para a germinação, há necessidade de água livre, pois raramente o esporo germina sob condições de ar seco (Ou, 1972). O desenvolvimento do micélio é favorecido por

umidade relativa próxima de 93%. A luz também pode ter influência sobre o micélio e os esporos. Embora o crescimento do micélio, a germinação de conídios e a alongação do tubo germinativo sejam processos inibidos pela luz, a alternância da mesma tem um papel importante sobre a produção de esporos. Estes começam a ser liberados tão logo escureça, alcançam um máximo de liberação em poucas horas e praticamente cessam na alvorada. A esporulação cai a níveis muito baixos sob condições de luz ou escuro contínuo, voltando a aumentar quando os períodos de luz e escuro novamente voltarem a se alternar (Bedendo, 1997; Ou, 1985). Dentre os fatores que condicionam o grau de severidade da doença, a nutrição mineral merece atenção, em especial o efeito causado pelo nitrogênio. De maneira geral, a condição nutricional que permite o máximo crescimento e desenvolvimento da planta também favorece a manifestação da doença (Freitas et al. 2010). Diversos estudos mostram que o aumento nos níveis de N na planta por causa da adubação nitrogenada desequilibrada levam a uma maior incidência e/ou severidade da brusone, isso por causa do aumento dos teores de açúcares nas folhas e também o aumento de turgidez (Long et al., 2000; Prabhu et al., 1996; Santos et al., 1986).

### **Manejo da doença**

O controle da brusone é complexo. A resistência genética é a estratégia que tem sido a base do sucesso da produção arrozeira, embora a maior dificuldade no controle da brusone com o uso da resistência genética esteja no fato da população do patógeno ser altamente variável e dinâmica. Este é um dos fatores que tornam o controle da brusone um grande desafio. A alta diversidade genética do patógeno é provavelmente uma das principais razões para a quebra da resistência de variedades recém-lançadas em um curto período de tempo (Valent, 1990; Ou, 1980). Os programas de melhoramento genético de arroz não têm sido eficazes no desenvolvimento de cultivares com resistência durável à brusone. A quebra de resistência geralmente ocorre de um a três anos após o lançamento da nova variedade,

principalmente nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil (Rangel *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2005). O desenvolvimento de variedades que possuam um número maior de genes de resistência através de piramidização direta, ou multilinhas compostas por linhagens quase-isogênicas com diferentes genes de resistência (piramidização indireta) são estratégias importantes e ainda pouco exploradas para a obtenção de resistência mais estável, durável e efetiva à brusone.

Métodos de controle químico podem completar o uso de resistência genética. O controle químico pode ser aplicado em tratamento de sementes para prevenir a infecção de plântulas após a germinação, visando o controle de brusone nas folhas (Lobo, 2008). Na fase reprodutiva é comum a pulverização da parte aérea da planta, através da aplicação de um ou mais tratamentos com fungicidas nas folhas para proteção das panículas durante sua emergência. O controle químico visa promover a redução da incidência de brusone sobre o pescoço das panículas e das panículas. Contudo, deve ser enfatizado que o controle químico tem se mostrado oneroso e ineficaz quando não executado rigorosamente de acordo com as recomendações técnicas da pesquisa, e pode ser antieconômico em lavouras formadas por variedades suscetíveis.

O controle químico da brusone abrange um vasto mercado de fungicidas e antibióticos e vem sendo utilizado por várias décadas, tanto no Brasil quanto em outros países. Os fungicidas registrados para controle geralmente apresentam baixa atividade residual e alguns estão sendo utilizados há mais de vinte anos e já não apresentam a eficiência desejada (Santos *et al.*, 2003). Hoje estão registrados no Ministério da Agricultura vinte e nove produtos recomendados para o controle de brusone. Segundo Scheuermann (2001), observa-se que entre esses, apenas um número restrito de produtos é utilizado na prática, sendo na maioria fungicidas com sítio específico de ação, como triazóis e estrobilurinas. Fungicidas com estas

características, se utilizados de forma continuada para o controle de um patógeno com elevada variabilidade genética, como é o caso de *M. oryzae*, pode resultar na seleção de isolados resistentes a estes produtos (Adame e Koller, 2003). A utilização indiscriminada de fungicidas pode contribuir para contaminação de ambientes aquáticos, como relatado por Notteghem et al. (1993).

Outras estratégias culturais para manejar a brusone incluem algumas práticas culturais, como a nutrição das plantas (adubação equilibrada), utilização de silício, aplicação de formas corretas de irrigação, preparo do solo, utilização de sementes inspecionadas, escalonamento de cultivo, uso de densidade recomendada de plantas na lavoura, controle de plantas daninhas e rotação de culturas.

### **Taxonomia e biologia do patógeno**

O gênero *Pyricularia* foi estabelecido por Saccardo em 1880, nos Estados Unidos, sendo definido *Pyricularia grisea* (Cook) Sacc. como espécie-tipo do gênero. O gênero *Pyricularia* foi descrito em arroz por Cavara em 1891, na Itália, causando a brusone. Mais tarde foram diferenciados erroneamente *P. oryzae* de *P. grisea*. Entretanto, Kawakami (1901, 1902) mostrou tratar-se da mesma espécie. Sawada (1917), através de testes de patogenicidade, estabeleceu duas espécies: *Dactylaria oryzae* (*P. oryzae*) infectando arroz, milho, cevada e trigo, e *Dactylaria grisea* (*P. grisea*) em *Digitaria sanguinalis* e milho. Thomas (1940) demonstrou a patogenicidade de *P. oryzae* de arroz em trigo, cevada, aveia, milho e milho, enquanto que o isolado de milho não infectou arroz. Comparações morfológicas entre diversos isolados de *Pyricularia* de uma gama de hospedeiros diferentes não mostraram diferenças entre si (Ou 1987; Rossman et al., 1990). A literatura atual se mostra confusa quanto a utilização do epíteto “*grisea/oryzae*”. Segundo Asuyama (1965), deve-se usar o binômio específico para designar a espécie, subdividida de acordo com sua

patogenicidade. Asuyama (1965) afirma ainda que, segundo as regras de nomenclatura, *P. grisea* teria precedência sobre *P. oryzae*, mas como a maior parte de uma volumosa literatura já adotou *P. oryzae*, este nome deve ser mantido (Purchio-Muchovej & Murchovej, 1994).

O teleomorfo *Ceratosphaeria grisea* foi descoberto por Hebert (1971), estudando isolado de *Pyricularia grisea* proveniente de *Digitaria sanguinalis*. Mais tarde, Barr (1977) transferiu a espécie para *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr, sendo esta também a forma perfeita de *P. oryzae*, conforme Kato & Yamaguchi (1982).

O fungo *Magnaporthe oryzae* pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Magnaporthales, classificado na recém-surgida família Magnaporthaceae, gênero *Magnaporthe*. Os ascósporos são longos, fusiformes, curvos, tricelulares, ligeiramente constrictos no septo, hialinos ou cor marrom-amarelado na maturidade; ascos unitunicados de parede fina, dissolvendo-se na maturidade (Krause & Webster, 1972). O fungo é heterotático com controle bipolar para compatibilidade de cruzamento, possuindo genes em diversos locos que controlam o ciclo sexual (Webster e Gunnel, 1994). Não foi verificado até o momento a presença do teleomorfo na natureza (Ebbole, 2007).

*Pyricularia oryzae* pertence à classe Deuteromycete (fungos Mitospóricos), subclasse Hyphomycetidae, ordem Moniliales, família Moniliaceae, gênero *Pyricularia* (Menezes & Oliveira, 1993). O gênero *Pyricularia* produz conídios piriformes, apresentando a base arredondada e o ápice mais estreito, hialinos, normalmente com dois septos (podendo ocorrer 2 ou 3). O conídio geralmente germina a partir da célula apical ou basal. As colônias são muito variáveis quanto à densidade e à cor do micélio: são encontradas desde colônias ralas até cotonosas e desde colônias esbranquiçadas até acinzentadas escuras, em função do meio de cultura e do isolado do fungo (Ou, 1985). A fase anamórfica é composta por raças fisiológicas.

O fungo *M. oryzae* é diplóide e recentemente teve seu genoma sequenciado (Dean et al., 2005). O tamanho do genoma é estimado em 40 Mb, o que é considerado um genoma relativamente pequeno para um fungo, mas com um grande número genes (11.109) distribuídos nos 7 cromossomos da espécie (Dean et al., 2005). O genoma do fungo é capaz de gerar variação genética considerável mesmo na ausência de reprodução sexual.

## **Hospedeiros**

O patógeno já foi observado em plantas em mais de 80 gêneros vegetais, tendo sido identificado em espécies cultivadas e espontâneas das famílias Poaceae, Cannaceae, Zingiberaceae, Musaceae, Ciperaceae e Commelineaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Polygonaceae, Lauraceae, Juncaceae, Sterculiaceae e Marantaceae (Purchio-Muchovej & Muchovej, 1994). Merece destaque as plantas da família das gramíneas, onde o fungo foi descrito causando infecção em mais de 50 espécies cultivadas (cerealíferas e forragens), ornamentais e daninhas (EMBRAPA, 2005).

Dentre os vários hospedeiros, o arroz é a espécie mais importante, sendo a brusone de ocorrência generalizada nesta cultura agrícola. O fungo *M. oryzae* também causa a mancha de grãos, outra doença importante na cultura, cuja etiologia é complexa, e envolve geralmente vários fungos simultaneamente (Malavolta *et al.*, 2007). A extensão dos sintomas varia de acordo com o patógeno predominante, condições climáticas e localidade (Ou, 1985), assim como seus efeitos nos componentes da produção (Sing et al., 1978).

No Brasil, durante a década de 80, surgiu o primeiro relato do fungo em trigo (*Triticum* spp.) sob condições naturais (Igareshi *et. al* 1986). O potencial de dano em trigo pode ser observado por Goulart & Paiva (2000), que relataram queda de 51% do rendimento de grãos e incidência de 86% no Mato Grosso do Sul. No ano de 1995 foram observadas lavouras comerciais de triticales (*X. Triticosecale*) da região Centro-Sul do Paraná infectadas

com brusone, com danos de até 60% na produtividade (Mehta & Baier, 1998). Posteriormente, a brusone atingiu proporções epidêmicas em extensas áreas de triticales no estado de São Paulo no ano de 2001, com severas quedas de produtividade. Em cevada (*Hordeum vulgare* L.) a doença foi verificada pela primeira vez em 1998 em condições naturais na região de Brasília (Anjos & Charchar, 2000). Mais recentemente a doença foi constatada em azevém (*Lolium multiflorum* Lam.), uma importante gramínea utilizada em pastagens no sul do país, com prejuízos de até 100% em determinadas áreas de produção de sementes no Rio Grande do Sul (Nunes et. al, 2002). A partir de 2005, *M. oryzae* foi observado em *Brachiaria brizantha* cv. *marandu* (Marchi et al. 2005). Outras culturas citadas na literatura são: aveia, cana-de-açúcar, centeio, sorgo, milho e banana.

### **Especialização fisiológica de *M. oryzae* e diversidade racial do patógeno**

Raças fisiológicas são variantes de uma espécie, definidas com base em seu espectro de ação contra um conjunto de variedades. São, portanto, patógenos de uma mesma espécie, que apresentam morfologia similar ou idêntica, mas com diferentes níveis de virulência contra variedades da espécie hospedeira (Morém e Miranda, 2009). As raças fisiológicas são identificadas ou diferenciadas pela reação que causam num grupo selecionado de variedades do hospedeiro, cujos componentes são denominados variedades diferenciadoras. No caso da brusone de arroz, as reações compatíveis (suscetíveis) ou incompatíveis (resistentes) entre isolados do patógeno e variedades que compõem a Série Internacional de Diferenciadoras (SID) constituem a base para a classificação dos isolados de brusone em raças fisiológicas (Ling e Ou, 1969). O número de raças de um patógeno (R) que pode ser identificado por certo número de variedades diferenciadoras (N) é dado pela fórmula:  $R = 2^N$ .

Pesquisas sobre diversidade racial de *M. oryzae* em lavouras de arroz irrigado na Região Central do Brasil, geralmente mostraram baixa diversidade de raças do patógeno.



Prabhu et al. (2002) estudando 53 isolados de *M. oryzae* identificaram apenas cinco raças de *M. oryzae* pertencentes apenas a um grupo de patótipo (IB). Filippi e Prabhu (2001) estudando 87 isolados de *M. oryzae* coletados na variedade Metica 1 identificaram oito raças de *M. oryzae* pertencentes a cinco grupos de patótipos (IA, IB, ID, IG e II). Outros estudos sobre a diversidade racial do *M. oryzae* infectando arroz irrigado no Brasil também não detectaram extensa diversidade.

Contrastando com esses resultados, uma primeira indicação de possíveis altos níveis de diversidade racial de *M. oryzae* no Brasil Central foi relatada por Garrido (2001). A diversidade genética de isolados de *M. oryzae* oriundos da região Central do Brasil, especialmente do Estado do Tocantins, tem sido considerada alta em comparação com amostras de outras regiões do país, como a região Sul (Brondani *et al.*, 2000; Garrido, 2001). Dias Neto et al., (2010), de um total de 479 isolados monospóricos obtidos em áreas de arroz irrigado do Brasil Central (Vale do Rio Araguaia) identificaram 61 raças de *M. oryzae*, sendo 45 raças em viveiros armadilhas e 33 raças nas cultivares comerciais. No mesmo estudo foram identificadas raças fisiológicas pertencentes a oito grupos de patótipos (AI-IG e II). Este é o primeiro relato da ocorrência da maioria dos grupos de patótipos de *M. oryzae* em um único local no Brasil durante a mesma estação de cultivo e em áreas de amostragem tão pequenas. Isso indica que o arroz irrigado das novas áreas produtoras de arroz do Brasil Central são pontos de alta diversidade (“*hot spots*”) de *M. oryzae*.

Em arroz de sequeiro, Santos (2012) e colaboradores também verificaram alta variabilidade de raças fisiológicas no Estado do Tocantins. De um total de 119 isolados monospóricos, foram identificadas 21 raças distribuídas em seis dos nove grupos de raças possíveis para identificação por meio das diferenciadoras internacionais.

Trabalhos realizados em diversas regiões do país relatam a ocorrência de todos os nove grupos de raças de *M. oryzae* no Brasil, tanto em cultivares de terras altas quanto em sistemas irrigados (Prabhu & Filippi, 2001; Prabhu *et al.*, 2002). Porém, não há registros da ocorrência de todos os grupos de raças em uma única região.

As áreas de arroz irrigado no Brasil Central (Vale do Araguaia) têm a maior diversidade de *M. oryzae* no país. Isto pode explicar a quebra de resistência das novas variedades comerciais pouco tempo depois do lançamento (Dias Neto *et al.*, 2010). A diversidade de patótipos de *M. oryzae* detectado em campos de arroz irrigado do Vale do Rio Araguaia é semelhante ao descrito para outros locais de alta diversidade de *M. oryzae* utilizados como viveiros para a seleção de resistência para *M. oryzae* em outros países, como Pattambi, Estado de Kerala, Sul da Índia, várias localidades da África Ocidental (Singh *et al.*, 2000), e Yuan'an, na província de Hubei, China (Li *et al.*, 2008). Estas regiões estão em forte contrastes com a variabilidade racial encontrada em outras regiões produtoras de arroz em diferentes partes do mundo. Por exemplo, nos Estados Unidos, segundo Prabhu & Filippi (2006) somente 20 raças internacionais de *M. oryzae* foram identificadas no país desde 1950 até aquela data em seis estados. Xia *et al.* (2000), analisando 470 isolados coletados em 18 campos comerciais de arroz em nove municípios do Estado do Arkansas, identificaram apenas três raças de brusone.

O conhecimento da diversidade genética e a prevalência das raças em áreas de produção, especialmente na região dos Cerrados, é um passo importante para a elaboração de estratégias para desenvolvimento de cultivares resistentes à brusone no Brasil. Como a população do patógeno tem diferentes padrões de distribuição geográfica e é altamente variável e dinâmica, faz-se necessário uma amostragem e identificação das raças prevalentes para que os genes empregados nas novas cultivares sejam eficazes na conferência de resistência às principais raças do patógeno (Dias Neto, 2008).

## Mecanismos de variabilidade genética

A variabilidade genética é um dos fatores evolutivos dos seres vivos (Allard, 1960). Os fungos filamentosos, como *P. oryzae* (*M. oryzae*) apresentam mecanismos de variabilidade genética que lhes conferem maior adaptação ambiental e especificidade a hospedeiros distintos. A variabilidade patogênica do gênero *Pyricularia* foi demonstrada, entre outras formas, pela diferenciação de raças originárias de uma mesma lesão em arroz (Ou & Ayad, 1968), ou ainda pelas mudanças de raças patogênicas em um viveiro de brusone durante o período de um mês (Quamaruzzaman & Ou, 1970). São citados como mecanismos responsáveis pela variabilidade genética de *M. oryzae* a recombinação sexual e parassexual, heterocariose, anormalidades em cromossomos e aneuploidia. Essas anormalidades cromossômicas incluem deleções, transposição e rearranjos cromossômicos (Kumar et al., 1999; Zeigler et al., 1997).

A recombinação sexual em *M. oryzae* era considerada extremamente rara porque isolados de arroz coletados no campo tinham baixa fertilidade sexual e os estudos sobre a distribuição de tipos compatíveis (“mating type”) mostraram que somente um grupo de acasalamento predominava numa determinada região (Notteghem & Silué, 1992; Yaegashi & Yamada, 1986; Kato & Yamuguchi, 1982). No entanto, recentes descobertas de isolados com alta fertilidade, hermafroditas, de ambos tipos compatíveis em regiões próximas ao centro de origem do arroz, sugerem que a recombinação sexual pode contribuir para a variabilidade genética desse fungo (Kumar et al., 1999; Mekwatanakarn et al. 1999; Hayashi et al., 1997).

A existência da fase sexual é considerada vantajosa devido à maior capacidade de gerar diversidade genética através da meiose, o que conseqüentemente tem importância direta nas estratégias de controle de doenças. No Brasil, tipos compatíveis foram identificados por Galbieri & Urashima (2008) no mesmo campo e na mesma época, o que é uma condição

imprescindível para a ocorrência de reprodução sexual em fungos heterotálicos. Além disso, foram identificados isolados homotálicos que, quando cruzados com isolados de trigo, formaram todos os órgãos sexuais viáveis. Esses fatores foram considerados por Zeigler (1998) como condições necessárias para a recombinação sexual estar ocorrendo. A detecção de isolados fêmea e hermafrodita nesses campos é um indicativo de reprodução sexual, já que é a meiose que mantém o complexo aparato genético da característica feminina (Mekwatanakarn et al., 1999).

A recombinação parassexual é responsável por criar novas combinações de genes e representa uma alternativa ao ciclo sexual. A ocorrência de recombinação parassexual pode explicar o aparecimento de novas raças (Bergamin Filho, 1995). Xia et al. (1993) relatam que isolados de *M. oryzae* com padrões moleculares distintos originaram, espontaneamente, uma maior frequência de novos haplótipos quando cultivados concomitantemente do que em culturas puras. Zeigler et al. (1997), ao cultivarem simultaneamente isolados com características genéticas distintas, observaram a formação de tufo miceliais na região de encontro das colônias associados à formação de anastomoses. Estas quando analisadas revelaram, em alguns casos, indivíduos com características comuns a ambos os parentais, indicando a ocorrência de recombinação parassexual. A formação de anastomoses também foi observada entre isolados provenientes do campo, sendo um indício de que a recombinação parassexual esteja ocorrendo na natureza (Zeigler et al., 1997).

No Brasil existem evidências da ocorrência da recombinação parassexual de *M. oryzae* em Santa Catarina (Scheuermann, 2002). O ciclo parassexual inicia-se com a formação do heterocário, que consiste na existência de núcleos de composição genética distinta em um citoplasma comum. Um micélio heterocariótico é formado através da anastomose de hifas homocarióticas. O processo pode resultar na fusão de dois núcleos haplóides distintos, no interior das hifas heterocarióticas, originando um núcleo diplóide heterozigoto (Viaud et al.

1998 apud Scheuermann, 2002). Núcleos diplóides heterozigotos podem originar espontaneamente núcleos diplóides recombinantes, através do *crossing-over* mitótico, e/ou haplóides recombinantes, através dos processos de recombinação e haploidização (Stern, 1936 apud Scheuermann, 2002). Em resumo, hifas haplóides fundem-se (anastomose), resultando em células heterocarióticas contendo dois núcleos, que por sua vez, podem se fundir (cariogamia), originando uma célula diplóide. Esta célula diplóide divide-se por mitose, originando micélio e conídios também diplóides.

A variabilidade genética do fungo também pode ser ampliada por meio de um mecanismo denominado heterocariose, fenômeno em que por meio da fertilização ou da anastomose de hifas, dois núcleos distintos podem coexistir na mesma célula sem que haja sua fusão, permitindo aos fungos heterocarióticos uma capacidade de adaptação somática às condições ambientais. Em fungos heterotálicos, existem os chamados grupos de reação ou compatibilidade sexual, em que os cruzamentos só ocorrem entre indivíduos pertencentes a grupos diferentes, ocorrendo então fusões sexuais somente entre células de talos de diferentes grupos de acasalamento. A heterocariose complementa ou substitui o ciclo sexual, podendo ser a razão pela qual muitos fungos tornaram-se imperfeitos (Bergamin Filho et al., 1995).

Mutações na sequência de DNA também podem aumentar a virulência de raças existentes ou a agressividade, o que causa erosão de genes menores de resistência. A mutação como uma fonte de variação genética causa alterações na sequência do DNA de um gene individual, resultando em novos alelos na população. Populações com número maior de alelos têm maior diversidade de genes que populações com poucos alelos. Quando a mutação é combinada com a seleção direcional, os mutantes virulentos aumentam rapidamente em frequência, eliminando a efetividade dos genes de resistência. Patógenos como *M. oryzae*, com reprodução assexual e possivelmente recombinação parassexual e/ou anastomose hifal, têm tendência à produção de linhagens clonais com grupos de alelos coadaptados. A

capacidade dos esporos assexuais de persistirem e manterem-se viáveis de um ano para outro pode ter grande impacto na estrutura genética dessas populações (Prabhu & Filippi, 2006).

### **Melhoramento genético para resistência à Brusone**

A resistência genética tem sido a forma mais eficiente no controle de doenças de plantas, tanto pelas suas vantagens econômicas quanto ambientais. Porém, a obtenção de uma resistência duradoura que permanece efetiva ao longo do tempo enquanto um cultivar que a possui é cultivado em larga escala e em monocultivo (Johnson, 1981) é um grande desafio para melhoristas e fitopatologistas (Casela & Guimarães, 2005).

O arroz apresenta resistência do tipo horizontal (parcial) e vertical (completa) para *M. oryzae* (Marchetti 1983; Wang et al. 1994). A resistência do tipo horizontal representa uma forma mais complexa de resistência a doenças envolvendo herança quantitativa e vários genes de efeitos menores. Genes de menor efeito podem desempenhar um importante papel na manutenção de níveis aceitáveis de doença em condições de campo (resistência parcial). Tais genes são de difícil seleção na presença de genes maiores em função da ocorrência de interações epistáticas entre eles (Babujee & Gnanamanickam, 2000). A resistência horizontal parece ser mais durável, pois se mantém mesmo com o aparecimento de novas raças do patógeno, além de reduzir a taxa de desenvolvimento da doença, sem afetar significativamente o inóculo inicial. Fenotipicamente é expressa em características tais como capacidade de infecção reduzida e longo período de latência de modo que o número de lesões que se desenvolve em cultivares parcialmente resistentes é bem menor do que o que ocorre nas cultivares mais suscetíveis. A resistência horizontal está presente em maior ou menor grau em todas as espécies de hospedeiros. Os genes que determinam este tipo de resistência não são específicos, mas sim genes que normalmente existem em plantas saudáveis, regulando os processos fisiológicos normais. A resistência horizontal tende a ser perdida quando as culturas

são melhoradas para resistência vertical, ou quando elas são melhoradas sobre proteção de agroquímicos. Consequentemente, acredita-se que a maioria das cultivares modernas tem uma resistência horizontal consideravelmente menor que as cultivares mais antigas (Burdon, 1992).

A principal medida de controle da brusone do arroz é o uso de cultivares com resistência vertical, que são lançadas sequencialmente tanto para arroz irrigado quanto de sequeiro. Como a resistência vertical pode ser mais facilmente incorporada nos cultivares comerciais do que a resistência horizontal, o melhoramento do arroz tem se baseado majoritariamente neste tipo de estratégia (Ou, 1977). Entretanto, este tipo de resistência é governada por um ou por poucos genes, podendo ser mais facilmente quebrada pelo patógeno, contribuindo para a baixa durabilidade da resistência nas cultivares lançadas. A resistência completa para alguns genótipos de *M. oryzae* é conferida por genes maiores (genes de resistência R) que operam conforme a teoria gene-a-gene (Silué et al 1992; Valent e Chumley 1994). De acordo com o conhecimento atual da interação gene-a-gene, o alelo de avirulência (AV) codifica uma molécula elicitora que é reconhecido por um receptor específico (codificado pelo alelo de resistência R) na planta hospedeira. O reconhecimento da molécula elicitora inicia uma rota de transdução de sinais que ativam genes envolvidos na resposta de hipersensibilidade. Por outro lado, se o patógeno não possuir o gene de avirulência, este não será reconhecido pelo hospedeiro, resultando em interação compatível (suscetibilidade). A resistência só ocorre quando o hospedeiro possui o gene de resistência (R) e o patógeno o gene de avirulência (AV) correspondente. Qualquer outra situação resulta em susceptibilidade (flor, 1971) (Tabela 1).

**Tabela1.** Reações diferenciais compatível (+) e incompatível (-), possíveis entre plantas diploides detentoras de genes de resistência (RR, Rr) e susceptibilidade (rr), e isolado (raça) do patógeno contendo um gene de avirulência (Avr) ou de virulência (avr), de acordo com a teoria gene-a-gene.

Gene do patógeno	Gene do hospedeiro	
	R-	RR
Avr	-	+
avr	+	+

O fato de existirem muitas raças em uma população do patógeno, aliado aos mecanismos que promovem a variabilidade genética do fungo, contribui para a quebra de resistência de uma cultivar com resistência monogênica vertical ao patógeno. Por exemplo, a mutação de um gene de “avirulência” que produz um elicitor que induz a expressão da resistência em hospedeiros com o gene de resistência *Pi-ta*, resulta na formação de uma nova raça capaz de infectar plantas que carregam esse importante gene de resistência. Isso ocorre porque a planta não reconhece a nova raça do patógeno. Desse modo, a nova raça do fungo escapa a resistência, o que significa que as cultivares contendo esse importante gene de resistência são muito suscetíveis a essa nova raça, embora elas permaneçam resistentes as outras raças do fungo (TeBeest et al., 2012). A resistência completa é caracterizada pela prevenção da reprodução do fungo em interações incompatíveis entre hospedeiro e patógeno. De forma geral, a resistência vertical é de curta duração, pois os patógenos têm capacidade de quebrá-la, quando aparecem ou são introduzidas novas raças para as quais as cultivares não têm resistência.

A base genética da maioria das cultivares melhoradas de arroz é estreita, e os genes maiores com grandes efeitos fenotípicos foram largamente utilizados no melhoramento genético, visando à resistência à brusone. Os programas de melhoramento de arroz no Brasil desenvolveram várias cultivares resistentes à brusone ao longo dos anos, tanto para as condições de terras altas (sequeiro) como para arroz irrigado, utilizando doadores com amplo



espectro de resistência. A uniformidade genética e a monocultura trouxeram benefícios econômicos consideráveis para produtores de arroz, indústria de beneficiamento e consumidores. Por outro lado, o uso de poucas cultivares geneticamente homogêneas forneceu condições ideais para epidemias de brusone (Rangel et al., 2006).

Exemplos de resistência durável em cultivares de arroz são raros em todo o mundo. Conforme já mencionado, uma das explicações para isto é que o fungo *M. oryzae* apresenta grande variabilidade para patogenicidade (Valent & Chumley, 1991; Ou, 1980) e, portanto, apresenta alta eficiência em mecanismos que lhe propiciam vantagens adaptativas na interação com o hospedeiro. Outras causas da quebra da resistência são geralmente atribuídos à mudança na composição das raças de uma população, ao aumento de frequência de uma raça compatível com o gene de resistência, a alteração na agressividade de isolados pertencentes a uma mesma raça (Ahn et al., 1996; Levy et al., 1993), a não detecção de uma raça patogênica durante o processo de seleção de uma linhagem (Correa-Victoria & Zeigler, 1993), à evolução do patógeno em resposta a pressão seletiva exercida pelo hospedeiro (monocultivo de cultivares portadoras de resistência vertical em grandes áreas), ao uso de fungicidas específicos, ou ainda à migração de populações do patógeno de uma região a outra (Leung et al., 1993). Inclui-se ainda entre as causas de quebra de resistência a exposição inadequada das gerações dos programas de melhoramento à diversidade populacional natural do patógeno nas diferentes etapas do programa, e a existência de uma base genética estreita das cultivares de arroz (Araujo & Prabhu, 2004; Nelson, 1996).

Exemplo de resistência durável, o cultivar Oryzica Llanos 5, oriunda da Colômbia, foi considerada até o momento como padrão de resistência de longo prazo a diferentes raças de brusone. De acordo com Lopez-Genera (2006), a resistência conferida pelo cultivar desde o seu lançamento em 1989, ainda permanece efetiva. Na Colômbia a interação deste cultivar

foi avaliada com centenas de isolados do fungo, que foram incapazes de estabelecer reação compatível com ele. Em trabalho realizado por Correa-Victoria & Zeigler (1993) utilizando 202 isolados oriundos de seis linhagens do IRRI, os autores constataram resistência do cultivar Oryzica Llanos 5 a todos eles. O pedigree deste cultivar é derivado de 4 fontes distintas de resistência à brusone, através de métodos de melhoramento convencional (Correa-Victoria et al., 2004). Na Colômbia, o cultivar Oryzica Llanos 5 mostrou amplo espectro de resistência nos testes International Rice Blast Nursery (IRBN) e alta estabilidade em lavouras comerciais e nas parcelas de plantio sequenciais (Prabhu & Fillipi, 2006). Segundo Roca et al., 2006 o cultivar se mantém com resistência durável na Colômbia, Brasil, Filipinas, Tailândia, Indonésia e Korea. Coréia. Contudo, recentemente (Ramos, 2009), em experimentos realizados em condições controladas de casa de vegetação com isolados provenientes da Região Central-Norte do País (Goiás, Tocantins e Pará), mostrou quebra de resistência genética do cultivar Oryzica Llanos 5 em 34% dos 32 isolados estudados. A quebra de resistência de Oryza Llanos 5 em testes em casa de vegetação com isolados da região Centro-Norte do Brasil alerta para a potencial quebra de resistência no campo em novos cultivares oriundos dos programas de melhoramento.

Os investimentos em tempo, recursos financeiros e de recursos humanos no desenvolvimento de uma nova cultivar são muito altos, geralmente necessitando de oito a dez anos de pesquisa, envolvendo milhões de reais, e dezenas de pesquisadores e técnicos (Rangel, 2009). Devido a isto, a busca por novos cultivares e estratégias visando a uma resistência estável à brusone tem sido um dos principais objetivos do melhoramento genético. O mercado de grãos de arroz necessita urgentemente, pois, de novas estratégias de melhoramento genético que acelerem o desenvolvimento varietal, minimizando o risco de epidemias e de perdas de produtividade devido à brusone.

Entre as estratégias baseadas no emprego de genes de resistência completa ou específica à brusone, destacam-se os métodos de piramidização de genes (Bonman et al., 1992), emprego de multilinhas em complementação ao uso de variedades (Abe, 2004), uso de mistura de variedades em plantios nas áreas infectadas (Zhu et al., 2000) e também estratégias baseadas no acúmulo de genes de resistência parcial (Bonman et al., 1992). O uso combinado de genes de resistência parcial e de resistência completa também tem sido sugerido (Bonman et al., 1992).

No processo de transferência de alelos de resistência, os marcadores moleculares do DNA podem ser uma ferramenta bastante útil. Esses marcadores, se estreitamente ligados aos alelos de resistência, podem ser usados na seleção assistida para facilitar e tornar mais eficiente o processo de desenvolvimento de linhagens resistentes. Nas etapas finais do programa de melhoramento, naturalmente as inoculações ou exposição da planta ao patógeno em condições de campo são imprescindíveis para confirmar a seleção indireta feita inicialmente por meio dos marcadores (Alzate-Marin et al., 2005; Milach, 1998).

O emprego de retrocruzamento assistido por marcadores moleculares, particularmente daqueles que flanqueiam o alelo de resistência, é importante estratégia no desenvolvimento de linhagens quase-isogênicas com genes de resistência oriundos de diferentes fontes. O retrocruzamento assistido por marcadores reduz consideravelmente o efeito de arraste por ligação de genes deletérios (“*linkage drag*”) em cruzamentos entre parental recorrente elite e fonte silvestre de genes de resistência. O retrocruzamento assistido facilita e acelera a recuperação do genoma do genitor recorrente. A cada geração de retrocruzamento assistido por marcadores as plantas resistentes são identificadas através de inoculação com o patógeno (ou de marcadores flaqueando o gene de resistência). Em seguida, as plantas resistentes são genotipadas com marcadores moleculares distribuídos pelo genoma da planta para identificar,

entre elas, as plantas resistentes com maior taxa de recuperação do genoma parental recorrente. Estas plantas são utilizadas na próxima etapa de melhoramento. Após três gerações de retrocruzamento o percentual de recuperação do genoma parental recorrente em plantas resistentes é, em geral, superior a 96%, equivalente a várias gerações de retrocruzamento convencional. A perspectiva é tornar mais eficiente a seleção pelo aumento de ganho genético por unidade de tempo (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

### **Mapeamento de genes de resistência à brusone**

Procedimentos como a localização e o mapeamento de genes de importância econômica, com base em mapas genéticos, passaram a representar complementos importantes a serem considerados em programas de melhoramento das mais variadas espécies vegetais (Lee, 1995). Uma das aplicações mais importantes dos mapas genéticos é a localização de genes que controlam características quantitativas, como produção de grãos, altura da planta, teor de proteína e resistência a doenças, que resultam da ação cumulativa de um conjunto de genes. Essas características são denominadas poligênicas ou de herança complexa, e os locos que as controlam são chamados de QTLs (*Quantitative Trait Loci*). O mapeamento de QTLs possibilita mensurar o número de locos quantitativos envolvidos na herança complexa, bem como suas localizações cromossômicas, modo de ação gênica (aditividade, dominância, heterose e epistasia), além de possibilitar a decomposição da interação genótipos por ambientes ao nível de cada QTL (Ferreira e Grattapaglia, 1996; Austin e Lee, 1998).

A disponibilidade de um grande número de marcadores microssatélites distribuídos no genoma de arroz viabiliza a rápida e eficiente construção de mapas genéticos, através do emprego de equipamentos de alta performance, como sequenciadores de DNA (Schmidt, 2009). A construção de um mapa genético baseia-se na verificação de desequilíbrio de ligação entre dois locos. O desequilíbrio de ligação é uma medida de associação entre alelos de dois

locos diferentes. Se dois alelos são encontrados juntos em uma população mais frequentemente do que seria esperado para os locos de segregação independente, os alelos estão em desequilíbrio de ligação. A construção de mapas genéticos é hoje geralmente baseada no polimorfismo de sequência de DNA entre dois genitores com fenótipo contrastante para a característica que se deseja mapear. Por isso a importância da escolha dos genitores para a obtenção de uma população segregante para a característica de interesse, de forma a maximizar o desequilíbrio de ligação entre um loco e a região genômica associada à característica de interesse (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A eficiência da identificação e isolamento de genes de características quantitativas via mapeamento genético depende, entre outros fatores, da herdabilidade da característica, da disponibilidade de marcadores moleculares distribuídos ao longo do genoma, da análise de um grande número de indivíduos em diferentes gerações de populações segregantes e de ensaios experimentais que possibilitem a mensuração do fenótipo de interesse. Limitações nestes fatores afetam diretamente a potencial detecção de QTLs de pequenos efeitos (Young, 1999; Stuber *et al.*, 1999; Risch, 2000 apud Schmidt, 2009).

Populações de linhagens puras recombinantes (*Recombinant Inbred Lines-RIL*) são comumente usadas no desenvolvimento de mapas de QTL e o desenvolvimento desse tipo de população permite a obtenção de uma população de linhagens imortalizadas, com potencial de uso para obtenção de dados genéticos em diferentes estudos (Collard *et al.*, 2005). O padrão de segregação dos locos polimórficos na população RIL é de 1:1.

O mapeamento de genes de resistência à brusone vem há muito sendo objeto de estudo. A síntese do conhecimento acumulado na identificação e mapeamento de genes de resistência à brusone é complexa. Os estudos com *M. oryzae* começaram no Japão em 1917. As tentativas de identificação de genes de resistência ocorreram logo em seguida e, pela

importância da doença, os estudos se intensificaram em todo o mundo. A nomenclatura dos genes de resistência à brusone identificados desde então é ampla e, muitas vezes, o mesmo gene de resistência recebeu diferentes denominações. Os primeiros QTLs de resistência à brusone foram mapeados por Wang et al. (1994). Desde então, um grande número de genes de resistência à brusone foi mapeado nos diferentes cromossomos de arroz, utilizando os mais diversos tipos de populações segregantes. Há pelo menos 85 locos de resistência descritos até o momento e cerca de 350 QTLs mapeados (Ballini et al., 2008). Os genes e QTLs identificados incluem regiões que conferem resistência completa ou parcial à brusone.

É limitada na literatura a descrição de estudos de mapeamento de genes de resistência à brusone com isolados de *M. oryzae* obtidos de lavouras de arroz em território nacional. (Ohse, 2009).

### **Uso de multilinhas no controle da brusone**

A constatação de estruturação em populações de isolados de *M. oryzae* do Centro-Norte do Brasil tem implicações imediatas para os programas de melhoramento genético visando resistência ao patógeno. A alta diversidade genética do patógeno implica na necessidade de adoção de metodologias que desfavoreçam o desenvolvimento de epidemias de brusone. O emprego de resistência vertical em programas clássicos de retrocruzamento tem levado à quebra de resistência nos novos cultivares logo após o lançamento (Rangel, 2006). Os riscos de grandes epidemias de brusone ao se trabalhar em grandes áreas com uniformidade genética são bem conhecidos. Segundo Bueno (2006), toda linha pura é um hospedeiro ideal para uma determinada raça do patógeno e, ao ser atacada por uma raça, esta se dissemina muito rapidamente. Por este motivo o uso de linhas puras como cultivares constitui um risco, principalmente em se tratando de casos de parasitas com grande variabilidade genética, como *M. oryzae*. Partindo do princípio de que uma linha pura

constitui-se num material bastante vulnerável, em virtude de sua uniformidade genética, e considerando a multiplicidade de raças do patógeno, várias sugestões foram apresentadas por diversos autores, todas elas baseadas na diversificação ou multiplicidade de genótipos das cultivares de espécies autógamas. Uma das alternativas para o controle de patógenos de alta variabilidade é a utilização de estratégias que aumentem a diversidade genética da população hospedeira, por meio do uso de misturas genéticas, que estabilizam a população do patógeno e previnem o surgimento ou a seleção de novas raças.

Uma alternativa muito interessante é o uso de multilinhas. Jensen (1952) propôs um sistema de estabelecimento de multilinha, formado com mistura de linhas puras superiores e compatíveis, uniformes na aparência, ciclo produtivo, altura de plantas, hábito de crescimento, coloração, tipo e tamanho dos grãos. De acordo com Browning & Frey (1981), multilinha é uma mistura de linhagens genotipicamente idêntica (quase isogênicas), mas que diferem uma da outra quanto ao gene de resistência a uma determinada raça do patógeno. Esta abordagem, originalmente sugerido por Jensen (1952) e Borlaug (1958), visa incorporar genes diferentes em linhas isogênicas por retrocruzamento, misturando as linhas em igual proporção, e liberar o resultado como um cultivar multilinha comercial. Se uma componente de linha torna-se susceptível esta cultivar, pode ser substituída por outra linha resistente. Quando nas multilinhas as diferenças se restringem ao(s) loco(s) de resistência tem-se com isto as chamadas linhas quase-isogênicas (Bueno, 2006).

O desenvolvimento e adoção de multilinhas parece ser uma alternativa interessante para ser explorada por programas de melhoramento em áreas com alta diversidade do patógeno (Ramos, 2009). O uso comercial de multilinhas é baseado principalmente no seu potencial em reduzir o impacto da doença e estabilizar a produtividade. No caso de doenças, a utilização de multilinhas faria com que no campo houvesse linhagens resistentes a diferentes

raças de um patógeno, já que cada linhagem seria resistente a uma ou mais raças, e dessa forma, a colonização por parte do patógeno não seria tão eficiente. A introdução de heterogeneidade sem sacrificar a produtividade e qualidade de grãos é benéfica, e o uso das multilinhas tem sido sugerido para a reintrodução dessa heterogeneidade genética em culturas autógamas desde o século passado, como uma forma de aumentar a durabilidade da resistência às doenças das plantas (Jensen, 1952; Wolfe, 1985; Mundt et al., 1994; Wolfe, 2000; Mundt, 2002).

Muitos pesquisadores, com base em resultados obtidos em outros cereais, como cevada, trigo e aveia, consideram o desenvolvimento de multilinhas como uma estratégia alternativa para o controle da brusone do arroz. Nakajima et al. (1996 a) observaram o efeito da multilinha na supressão da brusone do arroz, onde a severidade e o percentual de plantas doentes foi menor que o observado nos plantios individualizados. Neste estudo a redução da brusone nas folhas foi de 50,2% e nas panículas 18,1%. Indicações para o uso de multilinhas para a resistência a doenças têm sido feitas por Jensen (1952) e Browning e Frey (1969) para o cultivo de aveia, Borlaug (1965) para o trigo, Suneson (1960) para a cevada, Shands et al. (1964) para o feijão e vários outros autores para diferentes espécies de interesse. Jensen (1965) ressalta que multilinhas de aveia produzem bem e de modo mais estável do que no plantio individualizado.

Numa multilinha as doenças podem aparecer com mais frequência do que em linhas puras, mas as perdas são menores em função do efeito protetor da mistura de genótipos. Vários são os mecanismos que podem contribuir para a redução da intensidade de doenças. O efeito diluição parece ser um dos mecanismos mais importantes. Assim, a doença parece ser reduzida na multilinha devido ao aumento da distância entre as plantas da linhagem suscetível que compõe a mistura de linhagens. A presença de linhagem resistente diminui a



probabilidade do inóculo produzido na cultivar suscetível atingir outras plantas suscetíveis, reduzindo a taxa de aumento da epidemia (Zhu et al., 2000; Mundt, 2002; Bueno et al. 2006). Apesar das plantas suscetíveis serem infectadas, há uma diminuição na concentração e dispersão dos esporos. Isto atrasa o ataque e faz com que os prejuízos com a doença sejam diminuídos. Outros fatores como resistência induzida também são importantes. A resistência induzida ocorre quando raças não virulentas para uma cultivar estimulam os mecanismos de defesa das plantas e, como consequência, a planta é protegida da infecção por uma raça virulenta (Castro, 2001; Zhu et al., 2000; Lannou et al., 1995). Outros importantes relatados são o efeito de barreira e competição entre raças do patógeno (Mundt, 2002; Browing e Frey, 1969; Zhu et al., 2000; Nakajima et al. 1996 a; Nakajima et al. 1996 b).

As multilinhas são obtidas através do método dos retrocruzamentos, sendo que cada linha recebe genes de resistência a uma ou algumas raças predominantes do patógeno. Apesar da resistência vertical, a ação das multilinhas se assemelha à da resistência horizontal. A grande vantagem do uso das multilinhas é sua estabilidade.

Para que a multilinha seja funcional, a composição das linhagens deve ser apropriada, ou seja, deve haver uma harmonia entre os genes de resistência incorporados na mistura e os genes de avirulência da população do microrganismo patogênico. As análises moleculares da população do patógeno e dos genes de avirulência podem fornecer informações adicionais nos genes de resistência para maximizar a durabilidade da resistência (Bueno et al. 2006).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAME, C.A., KOLLER, W. Characterization of spontaneous mutants of *Magnaporthe grisea* expressing stable resistance to the Qo-inhibiting fungicide azoxystrobin. *Current Genetics*, New York, v.42, n. 6, p.332-338, mar. 2003.

AHN S. W. (1994) International collaboration on breeding for resistance to rice blast. In: ZEIGLER R.S.; LEONG S A, TENG P S. (Eds) *Rice Blast disease*. Wallingford. CAB International. 137-153.

ALCOCHETE,A.A.N. DIVERSIDADE GENÉTICA E MAPEAMENTO DE QTLs DO SISTEMA GÊNICO DE MACHO-ESTERILIDADE TERMOSENSÍVEL (TGMS) DO GENOMA DE ARROZ (*Oryza sativa* L.). Tese de Doutorado, UnB, 2005

ALLARD, R.W. *Principles of plant breeding*. New York: John Wiley & Sons, 1960. p.335-339.

ALZATE-MARIN, A.L., CERVIGNI, G.D.L., MOREIRA, M.A. & BARROS, E.G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. *Fitopatologia Brasileira* 30:333-342. 2005.

ANJOS, J.R.N.; CHARCHAR, M.J.A. Natural infection of barley by *Pyricularia grisea* in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, p.205, 2000.

ARAUJO, L.G. e PRABHU, A.S.. Resistência parcial à brusone em somaclones da cultivar de arroz CICA-8. *Fitopatol. bras.* [online]. 2004, vol.29, n.4, pp. 394-398. ISSN 0100-4158.

AUSTIN, D.F.; LEE, M. Detection of quantitative trait loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and nonstress environments. *Crop Science*, Madison, v.38, p.1296-1308, 1998.

BABUJEE, L.; GNANAMANICKAM, S. S. Molecular tools for characterization of rice blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) population and molecular marker-assisted breeding for disease resistance. *Current Science*, v. 78, n. 3, p. 10, Feb. 2000

BARR, M.E. 1977. *Magnaporthe*, *Telimenella*, and *Hyponectria* (Physosporiaceae). *Mycologia* 69:952-966.

BEDENDO, I. P.; RIBEIRO, A. S.; CARDOSO, C. O. N. Variabilidade do fungo *Pyricularia oryzae* cav. agente da brusone no arroz. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 5, n. 2, p. 106-109, jul./dez. 1979.

BEDENDO, I.P. Doenças do arroz. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). *Manual de Fitopatologia*. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.85-99.

BERGAMIN FILHO, A. et al. *Manual de fitopatologia*. São Paulo: Ceres, 1995. 919p

BERNI, R. F. & PRABHU, A. S. Eficiência relativa de fontes de silício no controle de brusone nas folhas em arroz. *Pesquisa agropecuária brasileira*, Brasília, v. 38, n. 2, p. 195-201, 2003.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. *Melhoramento de plantas*. 5º Ed. Viçosa. MG: Ed. UFV. p. 529, 2009.

BRESEGHELLO, F; RANGEL, P. H. N; MORAIS, O. P. Ganho de produtividade pelo melhoramento genético do arroz irrigado no nordeste do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 34, n.3, p.399-407, 1999.

BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; GARRIDO, L. D. & FERREIRA, M. E. Development of microsatellite markers for the genetic analysis of *Magnaporthe grisea*. *Genetics and Molecular Biology*, v.23, n.4, p.753-762, Dec, 2000.

BROWNING, J. A. & FREY, K. J. The multiline concept in theory and practice. In: JENKYN, J. F. And PLUMB, R. T. (ed). *Strategies for the control of cereal disease*. Oxford: Blackwell. P.37-46, 1981.

BROWNING, J. A.; FREY, K. J. Multiline cultivars as a means of disease control. *Annual Review Phytopathology*. v. 14, p. 355–82, 1969.

BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. *Melhoramento genético de plantas - Princípios e procedimentos*. Ed. 2. Lavras – MG: UFLA. p. 319, 2006.

BURDON, J. J. Genetic variation in pathogen populations and its implications for adaptation to host resistance. In: JACOBHS, T. H.; PARLEVLIET, J. E. (Ed.). *Durability of disease resistance*. Dordrecht: Kluwer, 1992. p. 41-56

CARDOSO, C.O.N. KIMATI, H. Doenças do Arroz. In: GALLI F. et al. (Ed.) *Manual de fitopatologia – Doenças de plantas cultivadas H*. Vol. II, 2 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. p. 75-86.

CARNEIRO, M.S. e VIEIRA, M.L.C. Mapas Genéticos em Plantas. *Bragantia*, Campinas, v. 61, n. 2, 89-100, 2002.

CASELA, C.R.; GUIMARÃES, F. B.. Rotação de genes no manejo da resistência a doenças. LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. *RAAP*: v. 13, p. 321-349, 2005.

CASTRO A. 2001. Cultivar Mixtures. *The Plant Health Instructor*, DOI: 101094/PHI-A-2001-1230-01. St. Paul: Am. Phytopathol. Soc. ([www.apsnet.org/education/AdvancedPlantPath/top.html](http://www.apsnet.org/education/AdvancedPlantPath/top.html)).

CASTRO, E.M. de; BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P.H.N.; MORAIS, O.P. *Melhoramento do arroz*. In: BOREM, A. (ed.). *Melhoramento de espécies cultivadas*. Viçosa: UFV, 1999. p.95-130.

COLLARD, B.C.Y.; JAHUFER, M.Z.Z.; BROUWER, J.B. & PANG, E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**, v.142, p.169-196, 2005.

CONAB, 2012. Companhia Nacional de Abastecimento: Acompanhamento de safra brasileira: grãos. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12\\_05\\_10\\_08\\_49\\_52\\_boletim\\_mai\\_2012.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_05_10_08_49_52_boletim_mai_2012.pdf).

CORDEIRO A. C. C. e RANGEL P. H. N. Avaliação de populações de arroz irrigado conduzidas por seleção recorrente em várzea de Roraima Revista Agro@mbiente On-line, v. 5, n. 3, p. 182-187, setembro-dezembro, 2011.

CORDEIRO, A.C.C. Métodos de Melhoramento Genético de Arroz Irrigado - Boa Vista: Embrapa Roraima, 2008. 65 p. ( Embrapa Roraima. Documentos, 06).

CORNELIO, V.M. de O.; SOARES, A.A.; BUENO FILHO, J.S. de S.; SOARES, P.C. Identificação de raças fisiológicas de *Pyricularia grisea* em arroz no Estado de Minas Gerais. *Ciência e Agrotecnologia*, v.27, p.1016-1022, 2003.

CORREA-VICTORIA, F.J. & ZEIGLER, R. S. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast “hot spot” breeding site in eastern Colombia. *Plant Disease* V. 77, P.1029-1035. 1993.

COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.L., A Uniform and adaptative system for expressing rice development *Crop Science*, Madison, 40:436-443. 2000.

COUCH, B. C. & KOHN, L. M. A multilocus gene genealogy concordant with host reference indicates segregation of a new species *Magnaporthe oryzae* from *M. grisea*. *Mycologia* 94, 683–693 (2002).

CRODDY, E. and WIRTZ, J.J. *Weapons of Mass Destruction: An Encyclopedia of Worldwide Policy, Technology, and History*, Santa Barbara, California: 2005, p. 11

DEAN, R. A. et al. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Nature* 434, 980–986 (2005).

DIAS MARTINS, T., LAVORENTI, N.A. & URASHIMA, A.S. Comparação entre métodos para avaliação de transmissão de *Magnaporthe grisea* através de sementes em triticales. *Fitopatologia Brasileira* v.29, n 4, p: 425-428. 2004.

DIAS NETO, J.J. *Magnaporthe grisea: Biologia e identificação de patótipos isolados de plantas de arroz na Região Tropical do Brasil*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi – TO. 2008

DIAS NETO, J.J.; SANTOS, G.R.; ANJOS, L.M.; PAULO; RANGEL, P.H.N AND FERREIRA, M.A. Hot spots for diversity of *Magnaporthe oryzae* physiological races in irrigated rice fields in Brazil. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.45, n.3, p.252-260, mar. 2010

EBBOLE D. J. *Magnaporthe* as a Model for Understanding Host-Pathogen Interactions. *Annual Review of Phytopathology*, September 2007, Vol. 45, Pages 437-456.

EDWARDS, G. & WALKER, D. C3, C4: Mechanisms, and celular and environmental regulation of photosynthesis. Oxford, Blackwell, 1983. 542p.

EMBRAPA: BANCO DE DADOS - Fungos Relatados em Plantas no Brasil. (Embrapa CENARGEN). Disponível em: <http://pragawall.cenargen.embrapa.br/aiqweb/michtml/micbanco01a.asp>. Acesso em 10/10/2012.

EMBRAPA-Embrapa Clima Temperado. Cultivo do arroz irrigado no Brasil Sistemas de Produção, 3 ISSN 1806-9207 Versão Eletrônica Nov./2005. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/sistemas/arroz/autores.htm>, Acesso em: 08/06/2010

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rice Market Monitor – RMM. 2013. Disponível em: <http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>. Acesso em 04/02/2013.

FAO. Statistical Database on crops, 2011, Global Rice Production, Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>>. Acesso em: 04/04/2013.

FERREIRA, M.E. 2003. Melhoramento genético de arroz: Impactos da genômica. In: *Melhoramento Genômico*. Ed. BORÉM, A.; GIUDICE, M. & SEDIYANE, T. Universidade de Viçosa, PP. 73-129.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p

FILIPPI, M.C.; PRABHU, A.S. Phenotypic virulence analysis of *Pyricularia grisea* isolates from Brazilian upland rice cultivars. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, p.27-35, 2001.

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

FREITAS J.G.; MALAVOLTA V.M.A.; SALOMON M.V.; CANTARELLA H.; CASTRO L.H.S.M. e AZZINI L.E. Adubação Nitrogenada e Incidência de Brusone em Arroz Sequeiro. *Bragantia*, Campinas, v.69, n.1, p.173-179, 2010.

GALBIERI, R., URASHIMA, A.S. Caracterização, compatibilidade e ocorrência de reprodução sexual entre isolados de *Pyricularia grisea* de diferentes hospedeiros. *Summa Phytopathologica*, v.34, n.1, p.22-28, 2008

- GARRIDO, L. R. Identificação, desenvolvimento e uso de marcadores de regiões hipervariáveis do genoma de *Magnaporthe grisea* na análise da estrutura de populações do patógeno infectando plantações de arroz (*Oryza sativa*). Tese de Doutorado. Brasília, DF: Universidade de Brasília. 2001.
- GARRIS, A. J.; TAI, T. H.; COBURN, J.; KRESOVICH, S. & MCCOUCH, S. Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics*, v.169, n.3, p.1631-1638, 2005
- GLASZMANN, J. C. Isozymes and classification of Asian rice varieties. *TAG Theoretical and Applied Genetics*, v.74, n.1, p.21-30, 1987.
- GOFF, S. A. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science*, v.296, n.5565, p.92-100, 2002.
- GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v.26, p.279-282, 2000.
- GUIMARÃES, C. L. & YOKOYAMA, L. P. Cultivo do Arroz de Terras Altas: Plantio. *Sistemas de Produção No.1 Embrapa Arroz e Feijão 2003*. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozTerrasAltas/plantio.htm>. Acesso em: 18/06/2012.
- GUIMARÃES, C. M.; SANTOS, A. B.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; et al. Sistema de cultivo. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. *Cultura do Arroz no Brasil*. v. 2, p. 53-96, 2006.
- GUIMARÃES, F.B.; CASELA, C.R.; SANTOS, F.G. dos; FERREIRA, A.S. Controle da antracnose do sorgo através da utilização de mistura de cultivares. *Summa Phytopathologica*, v.24, p.131-135, 1998.
- GUIMARÃES, E.A.; CASELA, C.R.; SILVA, D.D.; COSTA, R.V.; CRISTELI, E.B.; LANZA, F.E.; COTA, L.V.; PEREIRA, I.S. Rotacão de genes como estratégia para o manejo da resistência a *Colletotrichum sublineolum*, agente causal da antracnose em sorgo. *Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil*. 2009.
- HAYASHI, N.; LI, C.Y.; LI, J.L.; NAITO, H. In vitro production on rice plants of perithecia of *Magnaporthe grisea* from Yunnan, China. *Mycological Research*, Cambridge, v.101, p.1308-1310, 1997.
- HEBERT, T.T. 1971. The perfect state of *Pyricularia grisea*. *Phytopathology* 61:83-87.
- OHSE, B.J. Mapeamento genético de locos de resistência a *Magnaporthe grisea* em linhagens puras recombinantes de arroz (*Oryza sativa* L). *Dissertação*. Universidade Católica de Brasília, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. Indicadores IBGE – Estatística da Produção Agrícola. Março de 2012. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/.shtm>. Acesso em: 14/010/2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de geografia e Estatística. Indicadores IBGE, 2008. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/> Acesso em: 14/03/2013.

IGARASHI, S., BALAN, M.G. Brusone do trigo. Atualidades Agrícolas da Basf. p. 28-31, 2004

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C.M. IGARASHI, L.C., KAZUMA, A.H. & LOPES, R.S. Magnaporthe em trigo. Ocorrência de Magnaporthe sp. no Estado do Paraná. Fitopatologia Brasileira 11:351-352. 1986.

ISHIGURO, K.; HARASAWA, R.; KOBAYASHI, T. DNA fingerprinting reveals how rice blast disease spreads spatially within the local area. In: International Rice Blast Conference, 3., 2002, Tsukuba, Japan. Abstracts, Tsukuba: MEXT, 2002. p.136.

ITOH, T; TANAKA, T; BARRERO, R. A. YAMASALI, C.; FUJI, Y.; HILTON, P.B.; ANTONIO, B.A.; AONO, H.; APWEILER, R. et al., Curate genome annotation of *Oryza sativa* ssp. *japonica* and comparative genome analysis with *Arabidopsis thaliana*. *Genome Res.* v.17, p. 175-183, 2007.

JEON J, PARK SY, CHI MH, CHOI J, PARK J, et al. (2007) Genome-wide functional analysis of pathogenicity genes in the rice blast fungus. *Nature Genetics* 39: 561–565. doi:[10.1038/ng2002](https://doi.org/10.1038/ng2002).

JENSEN, N. F. Intra-varietal diversification in oat breeding. *Agronomy Journal*, Madison, v. 44, p. 30-34, 1952.

JIAYANG LI & BIN HAN et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated Rice. *Nature*. doi:[10.1038/nature11532](https://doi.org/10.1038/nature11532). 2012

KATO, H. & YAMAGUSHI, T. 1982. The perfect stage of *Pyricularia oryzae* from rice plants in culture. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan.* 48:607-612.

KATO, H.; YAMAGUCHI, T. The perfect state of *Pyricularia oryzae* Cav. from rice plants in culture. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, Tokyo, v.98, p.607-612, 1982.

KATO, S.; H., K. & HARA, S. On the affinity of rice varieties as shown by the fertility of rice plants. *Central Agricultural Institute of Kyushu Imperial University*, v.2 p.241-276, 1928.

KAWAKAMI, T. 1901. On the rice blast disease. *J. Sapporo Soc. Agric. For.* 3:1-3.

KAWAKAMI, T. 1902. On the blast disease of rice. *J. Sapporo Soc. Agric. For.* 3:1-3.

- KHUSH, G.S. 1997. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. *Plant Mol. Biol.* 35:25-34.
- KRAUSE, R.A., WEBSTER, R.K. The morphology, taxonomy and sexuality of the rice stem rot fungus, *Magnaporthe salvinii* (*Leptosphaeria salvinii*). *Mycologia*, v.64, p.103-14, 1972.
- KUMAR, J.; NELSON, R.J.; ZEIGLER, R.S. Population structure and dynamics of *Magnaporthe grisea* in the Indian Himalayas. *Genetics*, Pittsburg, v.152, p.971-984, 1999
- LANNOU C, DE VALLAVIEILLE-POPE C, GOYEAU H. 1995. Induced resistance in host mixtures and its effect on disease control in computer-simulated epidemics. *Plant Pathol.* 44:478-89.
- LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. *Advances in Agronomy*, San Diego, v.55, p.265-344, 1995.
- LEUNG, H., NELSON, R.J. & LEACH, J.E. Population structure of plant pathogenic fungi and bacteria. *Advances in Plant Pathology* 10:157-205.1993.
- LEVY M, CORREA-VICTORIA FJ, ZEIGLER RS, XU S, HAMMER JE (1993) Genetic diversity of the rice blast fungus in disease nursery in Colombia. *Phytopathology* 83(12):1427-1433.
- LING, K.C. & OU, S.H. Standardization of international race numbers of *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 59:339-342. 1969.
- LOBO, V. L. S. Efeito do tratamento químico de sementes de arroz no controle da brusone nas folhas e na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. *Tropical plant pathology*. vol.33, no.2, p.162-166, 2008.
- LONG, D.H.; LEE, F.N.; TEBEEST, D.O. Effect of nitrogen fertilization on disease progress of rice blast on susceptible and resistant cultivars. *Plant Disease*, v.84, p.403-409, 2000.
- LOPEZ-GENERA J. MAPPING QTL CONTROLLING DURABLE RESISTANCE TO RICE BLAST IN THE CULTIVAR *Oryzica Llanos 5*. Tese de doutorado. Department of Plant Pathology. College of Agriculture. KANSAS STATE UNIVERSITY. Manhattan, Kansas. 2006
- MACLEAN, J. L.; DAWE, D. C.; HARDY, B.; HETTER, G. P. *Rice Almanac*. 3<sup>a</sup> ed. Internacional Rice Research Institute, Los Baños, Phillipines. 2002 p. 59-235.
- MALAVOLTA, Vanda Maria Angeli et al. Incidência de fungos e quantificação de danos em sementes de genótipos de arroz. *Summa phytopathologica*. [online]. 2007, vol.33, n.3, pp. 280-286. ISSN 0100-5405. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052007000300012>.
- MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - Assessoria de Gestão Estratégica. *Projeções do Agronegócio Brasil 2011/12 a 2021/22*. Abril de 2012. Disponível



em:

[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/Projecoes%20do%20Agronegocio%20Brasil%202011-20012%20a%202021-2022%20\(2\)\(1\).pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao/Projecoes%20do%20Agronegocio%20Brasil%202011-20012%20a%202021-2022%20(2)(1).pdf). Acesso em: 10/10/2012

MARCHETTI, M., 1983 Dilatory resistance to rice blast in USA rice. *Phytopathology* 73: 645–649.

MARCHI, C. E.; FERNANDES, C. D.; JERBA, V. DE F.; BORGES, M. DE F.; LORENZETTI, E. R. *Brachiaria brizantha*: new host of *Magnaporthe grisea*. *Pasturas Tropicales* 2005 Vol. 27 No. 2 pp. 52-54

MATSUMOTO, T.; WU, J.; KANAMORI, H. et al (International Rice Genome Sequencing Project). The map-based sequence of the rice genome. *Nature*, v.436, p.793-800, 2005.

MATSUO, T. Genecological studies on cultivated rice. *Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences (Japan)*, v.3, p.1-111, 1952.

MATSUO, T.; FUTSUHARA, Y.; KIKUCHI, F. et al (Eds.) *Science of the Rice Plant*, Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v.3: Genetics

MEHTA, Y.R.; BAIER, A. Variação patogênica entre isolados de *Magnaporthe grisea* atacando triticale e trigo no estado do Paraná. *Summa Phytopathologica, Botucatu*, v.24, p.119-125, 1998.

MEKWATANAKARN, P.; KOSITRATANA, W.; ZEIGLER, R.S. Sexual *Magnaporthe grisea* Rice pathogens in Thailand. *Plant Disease, St. Paul*, v. 83, p. 939-943,1999.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S.M.A de. *Fungos fitopatogênicos*. Recife: Imprensa Universitária, 1993.

MILACH, S.C.K. Mapeamento molecular de características de importância agrônômica. In: MILACH, S.C.K. (Ed.). *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998. p.67-73.

MUNDT C. C. 2002. Use of Multiline Cultivars and Cultivar Mixtures for Disease Management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40: 381–410.

MUNDT, C. C.; HAYES, P. M.; SCHÖN, C. C. Influence of variety mixtures on severity of scald and net blotch and on the yield of barley. *Plant Pathology*. v. 43, p. 356–61, 1994.

NAKAJIMA, T.; SONODA, R.; YAEGASHI, H. Effect of a multiline of rice cultivar Sasanishiki and its isogenic lines on suppressing rice blast disease. *Revista Annual de Fitopatologia*. v. 62, p. 227-233, 1996.

NOTTEGHEM, J.L.; SILUÉ, D. Distribution of mating type alleles in *Magnaporthe grisea* populations pathogenic on rice. *Phytopathology, St. Paul*, v.82, p.421-424, 1992.

NUNES, C. D. M.; CARVALHO, F. I. F.; PIEROBOM, C. R. & OLIVEIRA, A. Genética da Resistência de Cultivares de Arroz à Raça IA-1 de *Magnaporthe grisea*. *Fitopatol. Bras.* 32(1), jan - fev 2007.

NUNES, C.D.M.; Brancão, N.; Rodrigues, R.S.; Reis, J.C. Ocorrência de brusone no azevém em diferentes locais do RS, Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.27, p.231, 2002.

ONU – Organização das Nações Unidas, 2013. Países-Membros. Disponível em: <<http://www.onu.org.br/conheca-a-onu/paises-membros/>>. Acesso em: 04/04/2013.

OU HS, AYAD MR (1968) Pathogenic races of *Pyricularia oryzae* originating from single lesions and monoconidial cultures. *Phytopathology* 58:179-182.

OU, S. H. Fungus diseases – Foliage Diseases. In: *Rice diseases*. England. 1 ed. 1972. p. 97-184.

OU, S. H. Rice. In: *Breeding Plants for Disease Resistance. Concepts and applications*. Univerity Park, Pennsylvania, The Pennsylvania State University Press. 1977. p. 91-109.

OU, S.H. (1987) *Rice Diseases*. Surrey: The Commonwealth Mycological Institute. p 109–20.

OU, S.H. Pathogen variability and host resistance in rice blast disease. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.18, p. 167-187, 1980.

OU, S.H. *Rice diseases*. 2.ed. Kew Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute, 1985. 380p.

OU, S.H. *Rice diseases*. 2 ed. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1985. 379p.

PINHEIRO, F.J.A.; PORTES, T.A.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Procurando um arroz C4 mediante exame anatômico foliar. *Revista brasileira de Fisiologia Vegetal* [online]. 2000, vol.12, n.3 pp. 246-254 . Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-31312000000300007&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-31312000000300007&lng=en&nrm=iso)>. ISSN 0103-3131. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-31312000000300007>

PRABHU AS, FILIPPI MC, ARAÚJO LG, FARIA JC. (2002) Genetic and phenotypic characterization of isolates of *Magnaporthe grisea* from de rice cultivars Epagri 108 and Epagri 109 in the State of Tocantins. *Fitopatologia Brasileira* 27(6):566-573

PRABHU, A. S.; FARIA, J. C. Relacionamentos quantitativos entre brusone nas folhas e panículas e seus efeitos sobre enchimento e peso dos grãos em arroz de sequeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.17, n.2, p.219-223, 1982.

PRABHU, A. S.; FARIA, J. C.; ZIMMERMANN, F. J. P. Comparative yield loss estimates due to blast in some upland rice cultivars. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília. v.14, n.3, p. 227-232, 1989.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolates of *Pyricularia oryzae* affecting rice, wheat and grasses in Brazil. *International Journal of Pest Management*. v. 38, p. 367-371, 1992.

PRABHU, A.S., FILIPPI, M.C., ARAUJO, L.G. & FARIA, J.C. Graus de resistência à brusone e produtividade de cultivares melhoradas de arroz de terras altas. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v. 36, n. 12, p. 1453-1459, dez. 2001

PRABHU, A.S.; FARIA, J.C.; CARVALHO, J.R.P. Efeito da brusone sobre a matéria seca, produção de grãos e seus componentes em arroz de sequeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 5, p.495-500, 1986.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; ZIMMERMANN, F.J.P. Genetic control of blast in relation to nitrogen fertilization in upland rice. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.31, p.339-347, 1996.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C. Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 388 p.

PURCHIO-MUCHOVEJ, A.; MUCHOVEJ, J.J. (1994). O gênero *Pyricularia* e seus teleomorfos. In: LUZ WC, FERNANDES JM, PRESTES AM, PICININI EC (Eds.) RAPP- Revisão Anual de Patologia de Plantas vol 2. Rio Grande do Sul: Passo Fundo p. 175-208.

QUAMARUZZAMAN M, OU HS (1970) Monthly changes of pathogenic races of *Pyricularia oryzae* in a blast nursery. *Phytopathology* 60:1266-1269.

RAMOS, L.N. Estrutura populacional e parâmetros epidemiológicos de isolados de *Magnaporthe grisea* (Barr). Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. 2009.

RANGEL, P. H. N. ; BRONDANI, C. ; RANGEL, P. N. ; BRONDANI, R. P. V. ; ZIMMERMANN, F. J. P. . Development of rice lines with gene introgression from the wild *Oryza glumaepatula* by the AB-QTL methodology. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Viçosa, MG, v. 5, n.1, p. 10-21, 2005.

RANGEL, P. H. N.; GUIMARÃES, E. P; NEVES, P. C. F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v. 31, n.5, p. 340 - 347, 1996.

RANGEL, P. H. N.; SOARES, D. M.; MORAIS, O. P.; CUTRIM, V. A. DINIZ, J. A.; FONSECA, J. R. BRS Alvorada and BRSGO Guará - Irrigated Rice Cultivars for the States Goiás and Tocantins. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 6, p.319-322, 2006.

RANGEL, PHN.(2009) Mapeamento genético e pirimidização de genes de resistência no desenvolvimento de multilinhas e cultivares compostas de arroz irrigado com resistência estável à brusone (*Pyricularia grisea*), Relatório técnico, Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão.

REIS, E.M., FERNANDES, J.M.C., PICININI, E.C.. Estratégias para o controle de doença do trigo. Passo Fundo: CNPT/EMBRAPA, 1988. 50p.

RIBEIRO A.S. e TERRES A.L.S (1987) Variabilidade do fungo *Pyricularia oryzae* e sua relação com cultivares resistentes à brusone. Pesquisa Agropecuária Brasileira 12:316-321.

RIBEIRO, A.S. Capítulo 11: Doenças. Fundação Cargill. Fundamentos para a cultura do arroz irrigado. Campinas, 1985.

ROCA W., TOHME J., CORREA-VICTORIA F.J. (1996): Turning priorities into feasible programs. In: Proc. Policy Seminar on Agricultural Biotechnology for Latin America, Peru, 74–80.

ROCA, W.; CORREA VICTORIA, F.; MARTÍNEZ, C.; TOHME, J.; LENTINI, Z.; LEVY, M. Developing Durable Resistance to Rice Blast: Considerações Ambientais e Produtividade Productivity and Environmental. ISNAR – International Service for National Investigaçã Agronômica, na Holanda. Agricultural Research, 2006.

ROSSMAN AY, HOWARD RJ, VALENT B. (1990). *Pyricularia grisea*, the correct name for the rice blast disease fungus. Mycologia 82: 509–512.

SANTOS, A.B.; PRABHU, A.S.; AQUINO, A.R.L.; CARVALHO, J.R.P. Épocas, modos de aplicação e níveis de nitrogênio sobre brusone e produção de arroz de sequeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira. v.21, p.697-707, 1986.

SANTOS, G. R.; KORNDÖRFER, G. H; REIS FILHO, J. C. D.; PELÚZIO, J. M. Adubação com silício: Influência sobre as principais doenças e sobre produtividade do arroz irrigado por inundação. Revista CERES, Imprensa Universiária, v. 50, n. 287, p. 1-8, 2003 .

SANTOS, Gil Rodrigues dos et al. Diversidade de *Magnaporthe grisea* em arroz de terras altas no sul do Estado do Tocantins, na safra 2008/09. Rev. Ceres [online]. 2012, vol.59, n.1, pp. 65-70. ISSN 0034-737X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-737X2012000100009>.

SAWADA, K. 1917. Blast of rice plants and its relation to infective crops and weeds, with the description of five species of *Dactylaria*. Spec. Bull. Tawan Agric. Exper. Station. No 16. 78pp.

SCHEUERMANN K.K.; EBERHARDT D.S. Avaliação de fungicidas para o controle da brusone de panícula na cultura do arroz irrigado. Revista de Ciências Agroveterinárias. Lages, v.10, n.1, p. 23-28, 2011

SCHEUERMANN, K.K. Análise da variabilidade de *Magnaporthe grisea* no Estado de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre (p.73). 2002

SCHMIDT, A. B. Mapeamento de QTLs para tolerância à seca e ao frio em Linhagens Puras Recombinantes de arroz. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina. 2009

SESMA, A; OSBOURN, AE (2004). "The rice leaf blast pathogen undergoes developmental processes typical of root-infecting fungi." *Nature*. 431, 582-586.

SILUÉ D., NOTTÉGHM J.L.; THARREAU D., 1992. Evidence of a Genetic gene-for-gene relationship in the *Oryza sativa*-*Magnaporthe grisea* pathosystem. *Phytopathology* 82: 577–580.

SILVA, G.B.; ARAÚJO, L.G.; LOBO, V.L.S.; PRABHU, A.S.; RÊGO, M.C.F.; PAES, E.T. and FILLIPI, M.C.C. Use of local rice cultivars as additional differentials to identify pathotypes Of *Pyricularia oryzae*. *Bragantia* [online]. 2011, vol.70, n.4, pp. 860-868. ISSN 0006-8705.

SINGH, B.M.; SAHARAN, G.S.; SHYAM, K.R.; SOOD, A.K. Factors affecting severity of glume blight in different cultivars of rice in Himachal Pradesh. *Indian Phytopathology*, Nova Delhi, v. 31, p. 419-423, 1978.

SOUZA FILHO, B.F., OLIVEIRA, A.B., NETO, S.A. & FERNANDES, G.M.B. Aspectos Patológicos do Arroz (*Oryza sativa* L.) no Norte Fluminense. Rio de Janeiro, PESAGRO, Comunicado Técnico, 33. 1979.

STAUB, J.E.; SERQUEN, F.C.; GUPTA, M. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, Alexandria, v.31, n.5, p.729-741, 1996.

SUN, S. Y.; JIN, M. Z.; ZHANG, Z. M.; TAO, X. L.; TAO, R. X.; FANG, D. F. Rice blast disease and its control. Shanghai: Shanghai Scientific and Technology, 1986. 182 p.

SWEENEY, M. & MCCOUCH, S. The Complex History of the Domestication of Rice. *Annals of Botany*, v.100, n.5, p.951-957, 2007.

TeBEEST, D.O., C. GUERBER AND M. DITMORE. 2007. Rice blast. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2007-0313-07. Reviewed 2012. Disponível em: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/ascomycetes/Pages/RiceBlast.aspx>. Acesso em 12/03/2013

TENG, P.S. (1994) the epidemiological basis for blast management. In: ZEIGLER, R.R.; LEON, S.A.; TENG, P.S.(Eds). *Rice blast disea*. CAB international 409-433.

THOMAS K.M. 1940. Detailed administration report of the government mycologist, Madras for the year 1940-41:53-74. (In: *Rev. Appl. Mycol.* 20:148 -150).

URASHIMA, A. S.; LEITE, S. F. and GALBIERI, R. Eficiência da disseminação aérea em *Pyricularia grisea*. *Summa phytopathol.* [online]. 2007, vol.33, n.3, pp. 275-279. ISSN 0100-5405. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052007000300011>.

USDA - United States Department of Agriculture (2010). *World Agricultural Supply and Demand Estimates*. Disponível em: <[www.usda.gov/oce/commodity/wasde](http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde)> Acesso em 05/06/2010

VALENT B., AND. CHUMLEY F. G, 1994. Avirulence genes and mechanisms of genetic instability in the rice blast fungus, pp. 111–134 in Rice Blast Disease, edited by R. S. ZEIGLER, S. A. LEONG AND P. S. TENG. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK.

VALENT, B. & CHUMLEY, F. G. Molecular Genetic Analysis of the Rice Blast Fungus, *Magnaporthe grisea*. Annual Review of Phytopathology, v.29, p.443-467, 1991.

VALENT, B. Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology* 80[1]: 33-36. 1990.

VAUGHAN DA, KADOWAKI K, KAGA A, TOMOOKA N. On the phylogeny and biogeography of the genus *Oryza*. *Breeding Science*. 55:113-122. 2005.

WANG G., MACKILL D. BONMAN M., McCOUCH S., CHAMPOUX M. et al., 1994 RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. *Genetics* 136: 1421–1434.

WEBSTER, R.K.; GUNNEL, S.P. Compendium of Rice Disease, St. Paul: APS, 1994. 62p.

WILSON A.R. and TALBOT N.J. Under pressure: investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae*. *Nature*. 2009. v.7 p. 185-195

WOLFE, M. S. Crop strength through diversity. *Nature*. v. 406, p. 681-682, 2000.

WOLFE, M. S. The current status and prospects of multiline cultivars and variety mixtures for disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*. v. 23, p. 251–273, 1985.

XIA, J. Q., CORRELL, J. C., LEE, F. N., ROSS, W. J., RHOADS, D. D. Regional population diversity of *Pyricularia grisea* in Arkansas and the influence of host selections. *Plant Disease*, v. 84, n. 8, p84:877-884.2000.

XIA, J.Q.; CORRELL, J.C.; LEE, F.N. et al. DNA Fingerprinting to examine microgeographic variation in the *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia grisea*) population in two rice fields in Arkansas. *Phytopathology*, St. Paul, v.83, n.10, p.1029-1035, 1993

YAEGASHI, H.; YAMADA, M. Pathogenic race and mating type of *Pyricularia oryzae* from Soviet Union, China, Nepal, Thailand, Indonesia, and Colombia. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, Tokyo, v.52, p.225-234, 1986.

YOKOYAMA, L.P., RUCATTI, E.G., KLUTHCOUSKI, J. Economia da produção: conjuntura, mercados e custos. In: VIEIRA, N.R.A., SANTOS, A.B., SANT'ANA, E.P. (eds.). *A cultura do arroz no Brasil*. Embrapa Arroz e Feijão, p.36-57, 1999.

YU, J. et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*). *Science*, v.296, n.5565, p.79-92, 2002.

YU, J., WANG, J., LIU, W., LI, S., LI, H., et al. The genomes of *Oryza sativa*: A history of duplication. *Plos Biol.* v.3, n.2, p.266-281, 2005.

ZEIGLER, R. S., SCOTT, R. P., LEUNG, H., BORDEOS, A. A., KUMAR, J., AND NELSON, R. J. 1997. Evidence of parasexual exchange of DNA in the rice blast fungus challenges its exclusive clonality. *Phytopathology* 87:284-294

ZEIGLER, R.S. Recombination in *Magnaporthe grisea*. *Annual Review of Phytopathology*, Baltimore, v.36, p.249-275, 1998.

ZEIGLER, R.S.; SCOTT, R.P.; LEUNG, H. et al. Evidence of parasexual exchange of DNA in the rice blast fungus challenges its exclusive clonality. *Phytopathology*, St. Paul, v.87, n.3, p. 284-294, 1997.

ZEIGLER, RS; LEONG, SA; TEENG, PS (1994). "Rice Blast Disease." Wallingford: CAB International.

ZENBAYASHI, K.; ASHIZAWA, T; TANI, T.; KOIZUMI, S. Mapping of the QTL (quantitative trait locus) conferring partial resistance to leaf blast in rice cultivar Chubu 32. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 104, p. 547-552, 2002.

ZHU Y.; CHEN H.; FAN J.; WANG, Y.; LI, Y.; CHEN, J.; YNAG, S.; HUS, L.; LEUNG, H.; MEW, T.W.; TENG, P.S.; WANG, Z.; MUNDT, C.C. Genetic Diversity and Disease Control in Rice. *Nature* 406, v. 17, p. 718-722, 2000.

## OBJETIVOS

Identificar regiões do genoma de arroz associadas ao controle de resistência à brusone na população de linhagens puras recombinantes (RIL – *Recombinant Inbred Lines*) do cruzamento entre as variedades tradicionais de arroz Chorinho e Puteca.

Avaliar o emprego de piramidização indireta de genes de resistência à *Magnaporthe oryzae* no desenvolvimento de multilinhas compostas por linhagens quase-isogênicas de arroz irrigado com diferentes genes de resistência à brusone.



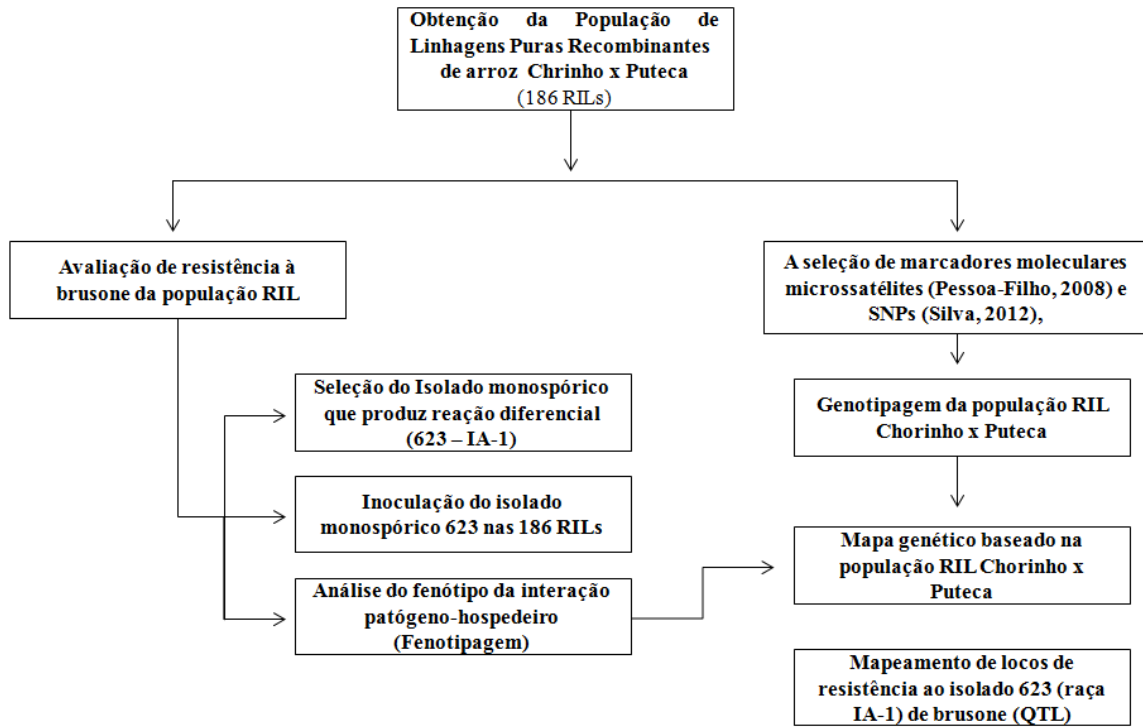
## HIPÓTESES

O mapeamento genético de genes de resistência a *Magnaporthe oryzae* tornará mais eficiente a introgressão e piramidização destes genes em linhagens do programa de melhoramento genético através do emprego de seleção assistida com marcadores moleculares.

O desenvolvimento de linhagens quase-isogênicas de arroz Irrigado resistentes a um amplo espectro de raças fisiológicas de *M. oryzae* para a formação de multilinhas conferirá maior estabilidade e durabilidade de resistência no campo à população do patógeno.

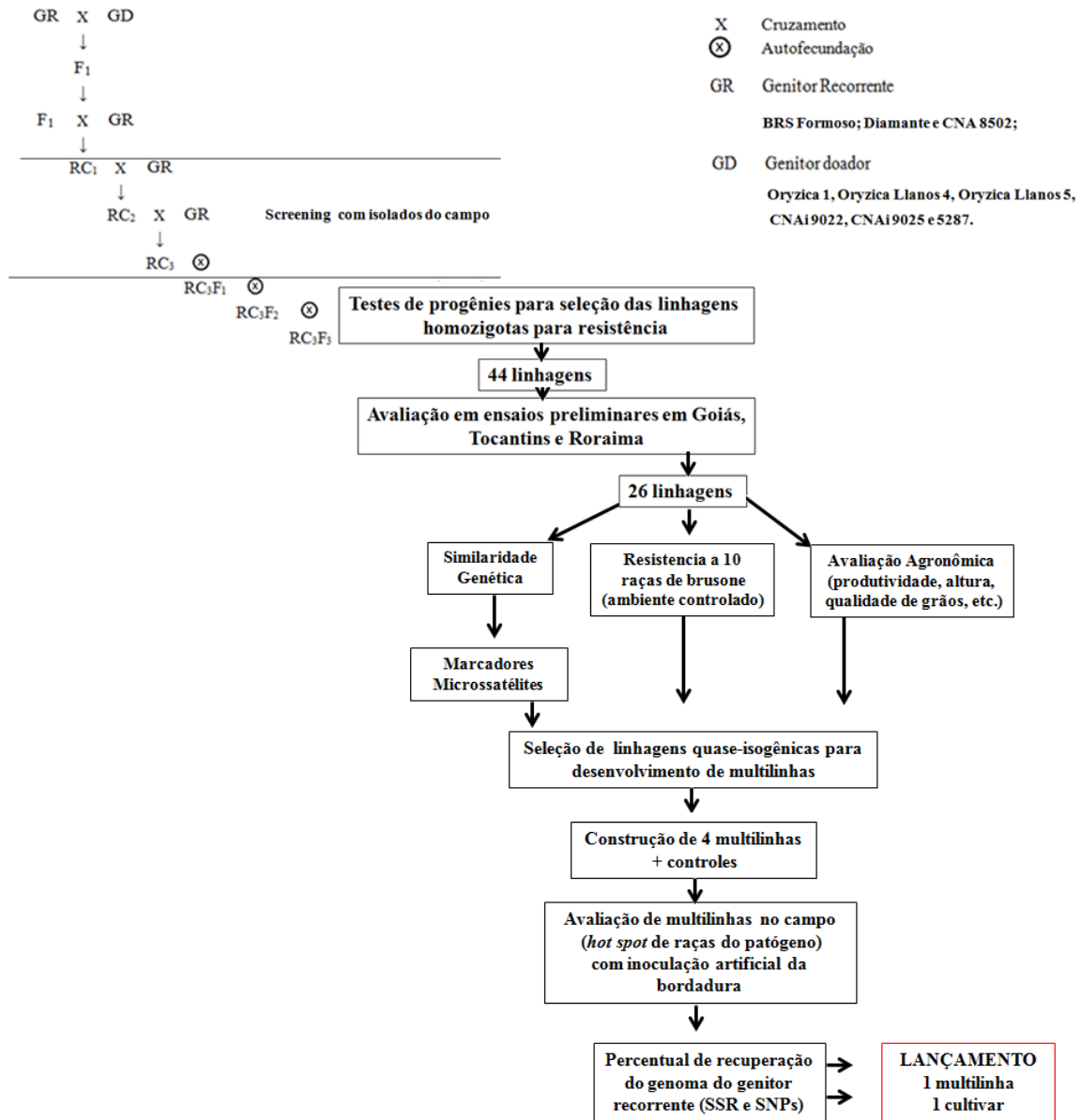
## FLUXOGRAMA DA TESE

### Capítulo 2



# FLUXOGRAMA DA TESE

## Capítulo 3



# CAPÍTULO 2

---

---

**GENÉTICA DE RESISTÊNCIA: MAPEAMENTO DE GENES DE RESISTÊNCIA À  
BRUSONE EM CRUZAMENTO ENTRE VARIEDADES TRADICIONAIS DE  
ARROZ DE SEQUEIRO DO BRASIL**

## RESUMO

### **GENÉTICA DE RESISTÊNCIA: MAPEAMENTO DE GENES DE RESISTÊNCIA À BRUSONE EM CRUZAMENTO ENTRE VARIEDADES TRADICIONAIS DE ARROZ DE SEQUEIRO DO BRASIL**

A localização de genes de resistência *Magnaporthe oryzae* no genoma de arroz e o desenvolvimento de estratégias de emprego de genes de resistência completa e/ou parcial no melhoramento genético é parte importante do desenvolvimento de variedades melhoradas em regiões tropical. A busca de resistência durável ao patógeno depende do conhecimento do processo de interação patógeno-hospedeiro. O Banco de Germoplasma de Arroz possui acessos de *Oryza* oriundos de várias partes do mundo com potencial de abrigar genes de resistência *M. oryzae*. Entre os acessos, adaptados às regiões edafoclimáticas do Brasil e pouco explorados como fonte de resistência à brusone, encontram-se as variedades tradicionais de arroz coletadas em diferentes regiões do território nacional. Neste estudo, a avaliação da interação entre isolados de *Magnaporthe oryzae* coletados na região do Brasil Central e genitores de população de linhagens puras recombinantes de arroz (*RILs* – *Recombinant Inbred Lines*), possibilitou a seleção do isolado 623, raça fisiológica IA-1, apresentando reação de incompatibilidade (resistência) com a variedade tradicional *japonica* tropical Puteca, e de compatibilidade (suscetibilidade) com a variedade tradicional *japonica* tropical Chorinho. A análise de polimorfismo de DNA em 192 locos microssatélites e SNPs distribuídos pelo genoma de arroz permitiu a construção de um mapa genético com 1074,19 cM e distância de recombinação média entre marcadores de 5,59 cM. A fenotipagem da população RIL contendo 169 linhagens e testes de ligação com os 192 locos microssatélites genotipados possibilitou a identificação do loco RM7213, próximo ao centrômero do Cromossomo 6, significativamente associado ao controle de resistência ao isolado *M. oryzae* 623. O gene mapeado foi provisoriamente denominado *Pi-Put1*. A região do marcador RM7213 possui aglomerados de genes de resistência à brusone, muitos deles de amplo espectro de resistência, incluindo genes já clonados através de mapeamento genético. O desenvolvimento de resistência durável à brusone do arroz depende de informações básicas da genética de resistência ao patógeno, que podem ser utilizadas para aumentar a eficiência do emprego de piramidização de genes de resistência à brusone nas cultivares desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético.

## ABSTRACT

Linkage mapping of *Magnaporthe oryzae* resistance genes and the development of strategies of gene deployment to obtain major or partial resistance to rice blast is an important component of rice breeding programs in tropical regions. The search for durable resistance to the *M. oryzae* depends on the knowledge of the interaction between the pathogen and the plant. The Rice Germplasm Bank is a reservoir of *Oryza* accessions from different regions of the world which are potential sources of resistance to *M. oryzae*. Traditional rice varieties, which have been collected in several regions of the Brazilian territory, are among the accessions, adapted to different conditions of soil and climate in Brazil, which have not yet been explored as sources of resistance to rice blast. In this study, the evaluation of the phenotypic interaction between *M. oryzae* isolates collected in the Araguaia River Valley and parents of a population of recombinant inbred lines (RIL) allowed the identification of isolate 623, physiological race IA-1, which is able to induce incompatibility reaction (resistance) in the traditional tropical *japonica* variety Puteca, and compatibility (susceptibility) in the traditional tropical *japonica* variety Chorinho. DNA polymorphism analysis in 192 microsatellite and SNP loci, distributed in the rice genome, allowed the construction of a genetic map with 1074.19 cM and average recombination distance of 5.59 cM between markers. Interaction phenotype and linkage analysis allowed the identification of microsatellite locus RM7213, located near the centromere region of chromosome 6, significantly associated with resistance to *M. oryzae* 623. This gene was temporarily called *Pi-Put1*. The region of marker RM7213 has a cluster of blast resistant genes, some of them with broad resistance to blast races. This region can be further explored by breeding programs in order to obtain new cultivars resistant to the pathogen.

## INTRODUÇÃO

A brusone do arroz, causada por *Magnaporthe oryzae* (Hebert) Barr, é uma das mais importante doença da cultura, afetando a produção de arroz em todas as áreas onde a espécie é cultivada. O uso de genes de resistência ao patógeno é a maneira mais eficiente, econômica e ambientalmente adequada de minimizar os danos causados pelo fungo.

O patógeno, no entanto, apresenta uma alta variabilidade em patogenicidade (Valent e Chumley, 1994) e diversidade genética (Garrido, 2001). Na região Central do Brasil, a variabilidade genética observada em amostras colhidas em pequenas áreas de uma lavoura infectada pelo patógeno é maior do que em amostras colhidas em áreas extensas de regiões de clima temperado, como o Sul do Brasil (Brondani et al., 2000). Amostras colhidas em apenas 1 ha de lavoura de arroz no polo de produção de arroz irrigado do Tocantins, na região de Formoso do Araguaia, incluem raças fisiológicas pertencentes a oito grupos de patótipos (AI-IG e II) (Dias Neto et al., 2010a). Esta variabilidade do patógeno por certo afeta a durabilidade da resistência das variedades lançadas pelos programas de melhoramento genético de arroz. Tem sido observado que a quebra de resistência das variedades melhoradas no Brasil Central em geral ocorre apenas dois anos após o lançamento das mesmas (Rangel et al., 2009).

Segundo Ohse (2008), é grande a necessidade de desenvolvimento de estratégias que facilitem a piramidização direta ou indireta (ex. multilinhas, sintéticos) de genes de resistência nas novas variedades advindas dos programas de melhoramento. Espera-se, desta forma, o desenvolvimento de variedades com resistência estável e durável ao fungo causador da brusone. Para isto, o conhecimento da genética da interação *Magnaporthe oryza* é fundamental. No desenvolvimento de multilinhas, por exemplo, o conhecimento do espectro

de resistência das fontes de resistência à doença a diferentes raças do patógeno e o controle genético de resistência constitui-se em informação básica para a definição de estratégias de piramidização direta e indireta de genes de resistência. Dados de localização e efeito de genes de resistência ao patógeno no genoma de arroz são importantes para este fim.

Até o momento, ainda é limitada na literatura a descrição de estudos de mapeamento de genes de resistência à brusone com isolados de *M. oryzae* obtidos de lavouras de arroz em território nacional e envolvendo a análise da interação do fungo com variedades tradicionais ou linhagens usadas pelos programas nacionais de melhoramento genético de arroz (Ohse, 2008). O presente estudo visa ampliar o conhecimento nesta área. O emprego de genes de resistência a diferentes raças da doença pelos programas de melhoramento depende deste tipo de conhecimento para o desenvolvimento de estratégias eficazes de obtenção de variedades resistentes.

O objetivo deste trabalho foi identificar regiões do genoma de arroz associadas ao controle de resistência à brusone utilizando isolados do patógeno coletados na região Central do Brasil e variedades tradicionais de arroz do Banco de Germoplasma. Para isto, uma população de linhagens puras recombinantes (RILs – *Recombinant Inbred Lines*) derivadas do cruzamento entre as variedades tradicionais brasileiras Chorinho e Puteca foi utilizada para mapear locos de resistência a isolados de *Magnaporthe oryzae* coletados em Formoso do Araguaia, TO.



## **MATERIAIS E MÉTODOS**

**Obtenção da População de Linhagens Puras Recombinantes de Arroz (*Recombinant Inbred Lines – RILs*)** - O desenvolvimento da população das linhagens puras recombinantes foi realizado pelo Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás, GO, sob a liderança do Dr. Paulo Hideo Nakano Rangel. A população CNAx13201, constituída por linhagens puras recombinantes (geração F7) foi derivada do cruzamento entre as variedades tradicionais brasileiras Chorinho e Puteca.

As duas variedades pertencem à subespécie *japonica* tropical e são cultivares tradicionais no Brasil. A variedade Chorinho (CA800103) foi coletada pelo sistema de coleta, conservação e uso de recursos genéticos da Embrapa sob cultivo de sequeiro no interior de Minas Gerais. A variedade Puteca (CA780217) foi coletada no sistema de produção de sequeiro no Estado de Goiás (Pessoa-Filho, 2008 e Schmidt, 2009).

O cruzamento foi realizado entre uma única planta de cada variedade (Chorinho e Puteca) para originar uma progênie F1. Uma única planta híbrida F1 foi autofecundada para a obtenção de uma população segregante F2 composta por aproximadamente 200 plantas. A população segregante F2 foi avançada por autofecundação até a geração F7 pelo método SSD (*Single Seed Descent* – “descendência através de uma única semente”) para a obtenção de famílias apresentando incremento de homozigose a cada geração. Para isto, uma semente de cada planta da geração F2 foi escolhida ao acaso, semeada em vaso e as gerações avançadas por autofecundação até a geração F7, obtendo-se, ao final deste programa, uma população composta por 186 linhagens puras recombinantes, com alto nível de homozigose.

**Avaliação de resistência à brusone da população RIL Chorinho x Puteca em condições controladas**

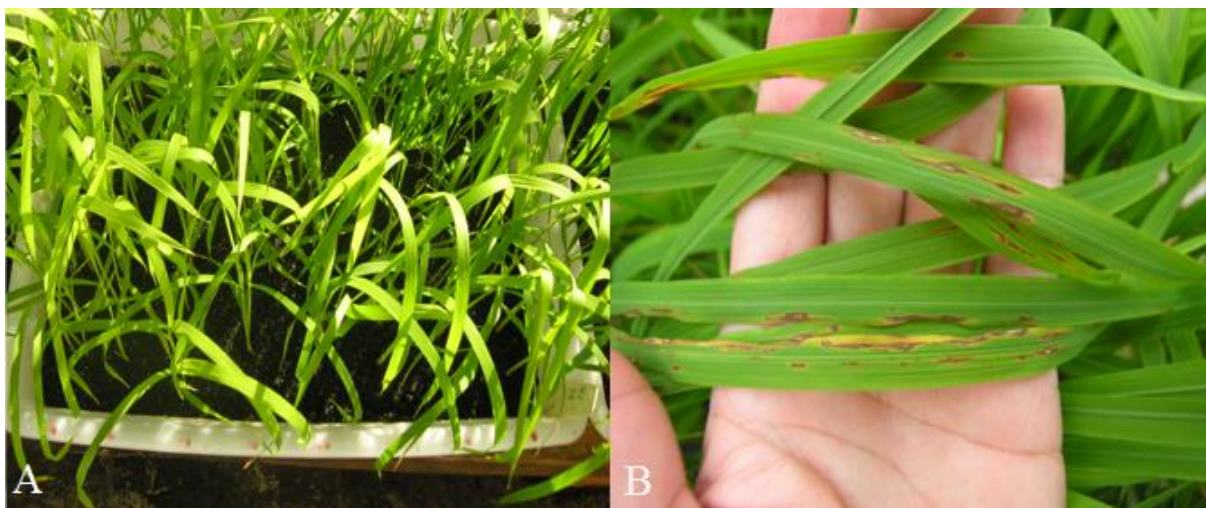
*Material biológico do patógeno* – Uma análise preliminar de isolados de diferentes raças de *M. oryzae* em interação com variedades parentais Chorinho e Puteca foi conduzida para identificar isolado capaz de interagir diferencialmente com estas variedades. Foram testados 15 isolados de *M. oryzae* (Tabela 1), pertencentes às raças fisiológicas mais frequentes na região de Formoso do Araguaia, TO, identificadas de acordo com Série Internacional de Diferenciadoras de raças de brusone (Ling e Ou, 1969).

**Tabela 1.** Relação de isolados de *M. oryzae* pertencentes às raças fisiológicas mais frequentes na região de Formoso do Araguaia, Lagoa da Confusão e Dueré no Estado do Tocantins, Luiz Alves em Goiás e Paragominas no Pará utilizados na análise preliminar de isolados de diferentes raças na interação com variedades parentais Chorinho e Puteca.

Isolado	Raça	Dados de coleta				
		Ano	Município	Latitude	Longitude	Cultivar
33	ID-10	2007	FA	11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	Epagri 108
62	ID-1	2007	LC	10° 8' 54,57''	49° 39' 06,07''	Best 2000
155	IC-1	2007	DU	11° 10' 53,82''	49° 28' 11,47''	Curinga
585	IB-49	2008	LAA	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
610	IA-41	2007	LC	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Piracema
615	ID-9	2007	DU	11° 10' 53,82''	49° 28' 11,47''	Epag. 109
616	IA-65	2006	FA	11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	Epagri 108
623	IA-1	2007	LC	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Piracema
628	IA-33	2008	LAA	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
633	IB-17	2008	LAA	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
635	IB-41	2008	LAA	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
639	IB-33	2007	LC	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Epagri 109
689	IC-9	2007	LC	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Epagri 109
PA-05	IA-1	2007	PA	3° 3' 27,85''	53° 18' 45,18''	BRS Primavera
L2P-3	IF-1	2008	LC	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Diamante

FA= Formoso do Araguaia, TO; DU= Dueré, TO; LAA = Luiz Alves do Araguaia, GO; PA = Paragominas, PA; LC = Lagoa da Confusão, TO

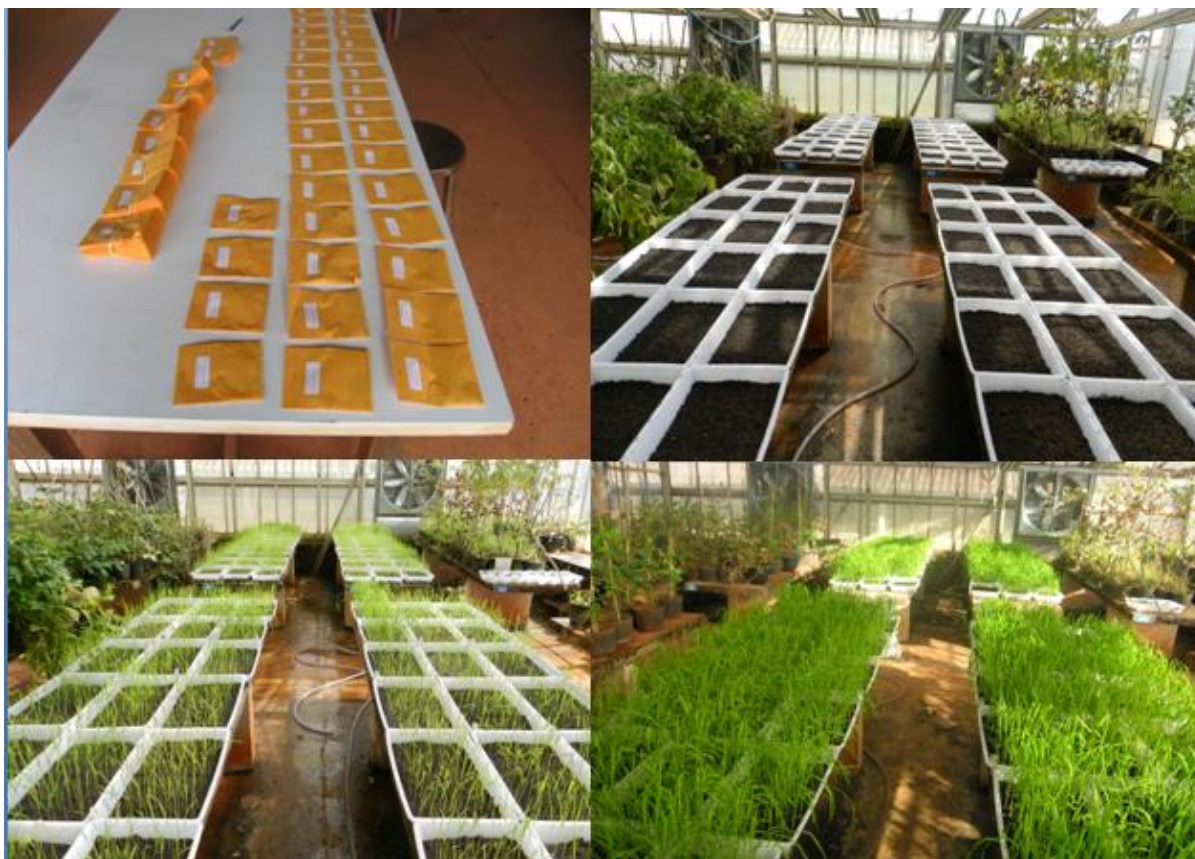
O isolado 623, pertencente à raça IA-1 é mantido na coleção de *M. oryzae* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foi selecionado para inoculação da população de linhagens puras recombinantes. Este isolado produz reação de compatibilidade (susceptibilidade) com a variedade Chorinho e de incompatibilidade (resistência) com a variedade Puteca (Figura 1).



**Figura 1.** Fenótipo da interação patógeno-hospedeiro entre o isolado monospórico *M. oryzae* 623 e as linhagens parentais da população de linhagens puras recombinantes: (A) Puteca (resistente, à esquerda) e (B) Chorinho (suscetível, à direita).

*Condições experimentais* - O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação de vidro climatizada com temperatura média de 28°C (variação de 18°C a 32°C em horários críticos de mínima e máxima) na Estação Experimental de Biologia (EEB) da Universidade de Brasília (UnB), localizada a 15°44'13"S e 47°52'56"W a 1.010 metros de altitude no período de junho e julho de 2012 (Figura 2).

*Material biológico e montagem do experimento de avaliação fenotípica* - Foram utilizadas no experimento as 186 linhagens da população CNAx13201 e duas testemunhas, as variedades Chorinho (CA 800103) e Puteca (CA 780217). O plantio das sementes foi realizado em bandejas plásticas (sem furos) com dimensão de 38 x 28 x 7 cm, contendo 4,0 Kg de substrato comercial PLANTMAX. Em cada bandeja foram semeadas 8 linhagens de cada vez, utilizando-se 15 sementes de cada linhagem por parcela (linha de bandeja). Cada parcela, portanto, foi composta por 15 plantas, com três repetições, totalizando 45 plantas por linhagem pura recombinante. Após a semeadura das sementes as bandejas foram mantidas em casa de vegetação até a inoculação (Figura 3).

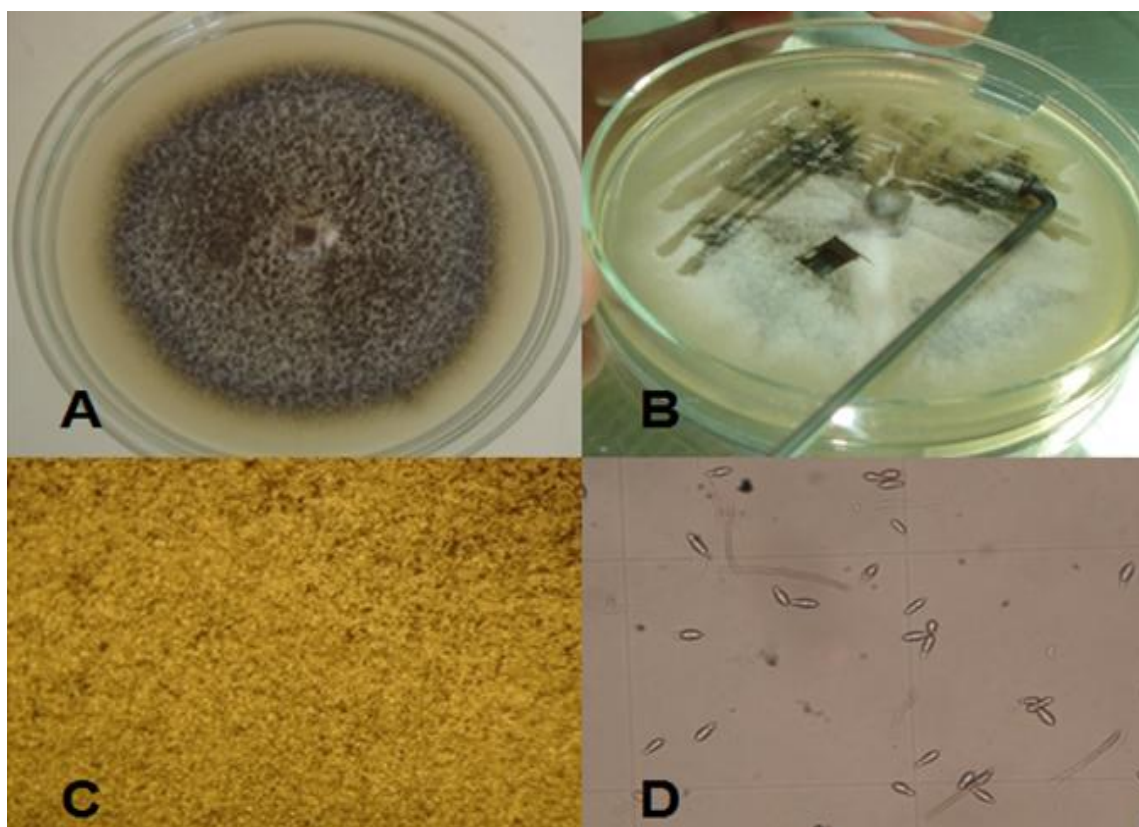


**Figura 2.** Ensaio de avaliação do fenótipo da interação entre o isolado 623 de *M. oryzae* e a população de linhagens puras recombinantes derivada do cruzamento entre as variedades de arroz Chorinho e Puteca.



**Figura 3.** Montagem do experimento de avaliação de resistência à brusone do arroz em população de linhagens puras recombinantes CNAx13201, derivada do cruzamento entre as variedades tradicionais Chorinho x Puteca.

*Inoculação do hospedeiro e análise do fenótipo da interação patógeno-hospedeiro* - O isolado de *M. oryzae* 623 foi cultivado em 20 placas de Petri (90 mm) para obtenção de inóculo. O meio de cultura utilizado (aveia) e os protocolos para esporulação do fungo foram realizados conforme descrito por Dias Neto et al., (2010b). Após a esporulação, as placas foram lavadas com 20 ml de água estéril gelada, a suspensão filtrada em gaze e os conídios quantificados em câmara de Neubauer (Figura 4).



**Figura 4.** Indução de esporulação em isolados de *M. oryzae*. (A) Cultura em meio de aveia de isolado de *M. oryzae*; (B) Raspagem superficial do micélio com alça de alumínio para indução de esporulação; (C) Detalhe de cultura esporulada; (D) Quantificação de esporos e preparo de inóculo para avaliação do fenótipo da interação patógeno-hospedeiro.

A inoculação das plantas foi realizada com o auxílio de um pulverizador manual de alta pressão (Guarany – Pap 5.001), tendo sido empregados 1,75 litros do inóculo na concentração de  $3 \times 10^5$  conídios  $\times$   $\text{ml}^{-1}$  para inocular todas as plantas. Imediatamente após a inoculação, as plantas foram colocadas dentro de uma câmara úmida por 24 horas com temperatura em torno de  $25^\circ\text{C}$ , ausência de luz e umidade próxima da saturação

proporcionada por umidificador elétrico (Figura 5). Tais condições são indicadas para a indução do processo de infecção da planta de arroz pelo patógeno (Dias Neto, 2008).



**Figura 5.** Incubação de plantas de arroz recém-inoculadas com *M. oryzae* em câmara úmida.

Ao serem retiradas da câmara úmida as plantas retornaram para casa de vegetação onde foram mantidas em condições controladas. Após sete dias foi realizada a avaliação das reações de interação patógeno-hospedeiro. Para avaliação da severidade da brusone foi utilizada a escala de 0 a 9 proposta por Leung et al. (1988) e modificada por Prabhu & Filippi (2006), que adicionaram a nota 4 à escala de valores (Figura 6). A reação nas plantas foi considerada resistente (R) quando apresentou notas de severidade menor ou igual a 3, e suscetível (S) quando igual ou superior a 4 (Figura 6). Na nota 0 a reação de hipersensibilidade não é visível ao olho nú, enquanto nas notas 1 a 3 a reação de hipersensibilidade é facilmente identificada.

*Delineamento experimental* - O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados com três repetições (186 linhagens puras recombinante x 3 repetições), empregando as linhagens parentais Chorinho e Puteca como controle. Puteca apresenta um fenótipo de resistência ao isolado 623 (notas 1 a 3), com reação típica de hipersensibilidade. A variedade Chorinho apresenta um fenótipo de suscetibilidade (nota >5), com desenvolvimento lento mas contínuo de sintomas das doença.



**Figura 6.** Escala de notas usada na análise do fenótipo da interação entre isolados de *Magnaporthe oryzae* e plantas de arroz. As notas 0 a 3 são dadas para reações de resistência e as notas 4, 5, 7 e 9 para reações crescentes de susceptibilidade do hospedeiro ao patógeno (Ohse, 2008, modificado).

*Genotipagem de locos de marcadores moleculares (microssatélites e SNPs- Single nucleotide polymorphisms) e construção do mapa genético utilizando a população RIL Chorinho x Puteca* – Foram analisados 430 marcadores microssatélites para identificar locos polimórficos entre as linhagens parentais Chorinho e Puteca. Um total de 110 marcadores microssatélites apresentando alta qualidade e comportamento Mendeliano, foi selecionado para análise de ligação (Pessoa-Filho, 2008). Outros 768 marcadores SNPs foram testados para polimorfismo entre as variedades Chorinho e Puteca (Silva, 2012). A seleção de marcadores moleculares microssatélites (Pessoa-Filho, 2008) e SNPs (Silva, 2012), assim como a genotipagem da população RIL Chorinho x Puteca, foi realizada para a construção de

mapa genético e mapeamento de regiões do genoma associadas ao controle de resistência à brusone. Um banco de dados de genótipos de populações RILs foi construído e é mantido pelo Laboratório de Genética da Embrapa Cenargen. Estes dados genotípicos foram combinados com os dados de fenotipagem da interação patógeno-hospedeiro para o mapeamento do loco de resistência à brusone do arroz no presente trabalho.

Para a construção do mapa genético, inicialmente foram realizados testes de distorção de segregação utilizando-se o programa QTL Ici Mapping, v. 3.2 (Wang et al., 2012). O teste de FDR, ou razão de falsas descobertas, foi utilizado como critério de ajuste para correção de erro do tipo I (Benjamini & Hochberg, 1995), e o nível de significância para os testes de distorção de segregação foi de 1%, após correção de Bonferroni.

O mapa de ligação integrando os dados de SSR (*Simple sequence repeats*) e de SNPs foi construído utilizando-se o programa QTL Ici Mapping, v. 3.2 (Wang et al., 2012). Os marcadores SNP selecionados no cruzamento Chorinho x Puteca (Silva, 2012) foram avaliados em conjunto com os marcadores microssatélites previamente mapeados na população Chorinho x Puteca (Pessoa Filho, 2008). Linhagens e locos com mais de 20% de dados faltantes foram excluídas da análise para evitar associações espúrias. Um valor de LOD (*Logarithm of Odds*) mínimo de 3,0 e uma fração de recombinação ( $\Theta$ ) máxima de 0,35 foram utilizados como parâmetros iniciais no estabelecimento dos grupos de ligação. A ordem mais provável dos marcadores dentro de cada grupo de ligação foi estimada através do algoritmo heurístico TSP (“Traveling Salesman Problem” do programa (opção “nnTwoOpt”).

As ordens finais dos locos em cada grupo foram checadas com a ordem dos locos no mapa físico do genoma de arroz, através do banco de dados Gramene (Jaiswal et al., 2006). No caso de incongruências entre mapa físico e mapas genéticos, foi considerada a ordem estimada a partir dos dados experimentais no processo de mapeamento. Neste caso, o ordenamento foi feito pela função “rippling” do programa, através da permutação de



marcadores fortemente associados, tomados para ordenamento em grupos de até 8 marcadores ( $m= 2$  a 8 marcadores) de cada vez, e comparação dos  $m!$  segmentos de mapa possíveis. O critério usado para a ordenação dos marcadores foi SARF (*Adjacent Recombination Frequencies*). Os menores grupos de ligação obtidos foram considerados para análise posterior. Os grupos de ligação detectados foram nomeados de acordo com os cromossomos do genoma do arroz. Frequências de recombinação entre marcadores foram convertidas em distâncias de mapa, em centiMorgan (cM), utilizando-se a função de mapeamento de Kosambi (Kosambi, 1943). A representação gráfica dos mapas de ligação foi desenhada utilizando-se o programa QTLiciMapping, v. 3.2 (Wang et al., 2012).

*Mapeamento de locos de resistência ao isolado 623 (raça IA-1) de brusone* – As notas atribuídas ao fenótipo da interação entre o isolado *M. oryzae* 623 e as RILs do cruzamento Chorinho x Puteca foram analisadas para associação com os marcadores microssatélites e SNPs. A nota média das três repetições experimentais foi considerada para análise de mapeamento. Inicialmente os testes de ligação genótipo/fenótipo foram baseados em tabelas de contingência 2x2, estimando-se valores de significância de testes qui-quadrado (corrigidos para continuidade pela fórmula de Yates) e testes exatos de Fisher.

O teste de qui-quadrado com a correção de continuidade de Yates é adequado quando uma ou mais classes em uma tabela de contingência 2x2 possui um número pequeno de amostras. Nesta situação, o experimento fere a premissa de que a probabilidade das frequências observadas dos dados discretos tem uma distribuição qui-quadrado, que é contínua. O qui-quadrado (Yates) ajusta a continuidade da distribuição com a seguinte equação:

$$\chi_{Yates}^2 = \sum_{i=1}^N \frac{(|O_i - E_i| - 0.5)^2}{E_i}$$

Onde:

N = número de eventos

O<sub>i</sub>=frequência observada de eventos

E<sub>i</sub>=frequência esperada de eventos

O teste exato de Fisher, específico para análise de dados categóricos quando o tamanho das amostras em diferentes classes é pequeno, também foi utilizado na análise de associação entre marcadores microssatélites e o fenótipo da interação patógeno-hospedeiro. O teste é exato e não-paramétrico. A equação é a seguinte:

$$p = \frac{\binom{a+b}{a} \binom{c+d}{c}}{\binom{n}{a+c}} = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{n!a!b!c!d!}$$

Onde a, b, c e d representam os valores distribuídos em cada um dos quadrantes da tabela de contingência 2x2.

O mapeamento de regiões do genoma de arroz associadas ao controle de resistência à raça IA-1 (isolado *M.grisea* 623) foi também realizado através do método de SMA (*Single Marker Analysis*) utilizando o QTLiciMapping, v. 3.2 (Wang et al., 2012). SMA possibilita a identificação de marcadores associados a QTL com base na diferença entre o valor fenotípico médio de diferentes grupos de marcadores. O valor de LOD mínimo utilizado para detecção de ligação entre um marcador e região de resistência à brusone empregado foi estimado através de testes de permutação (1000 permutações; nível de significância de 0,05) (Churchill & Doerge, 1994; Doerge & Churchill, 1996).

Por fim, empregou-se uma análise de mapeamento de Intervalo Simples (Lander & Botstein, 1989) e Mapeamento de Intervalo Composto (Jansen, 1993; Zeng, 1993), através do programa QTLiciMapping, v. 3.2 (Wang et al., 2012). Mapeamento de Intervalo Simples (SIM – *Simple Interval Mapping*) é baseado em estimativas de máxima verossimilhança, ou regressão linear de cada intervalo, possibilitando testes estatísticos para a posição e o efeito de

QTLs. A grande desvantagem de Mapeamento de Intervalo é a possibilidade de ocorrência de desvios nas estimativas de posição de mapa e dos efeitos de QTL no caso de ligação entre QTLs. Já o Mapeamento de Intervalo Composto (CIM – *Composite Interval Mapping*) combina Mapeamento de Intervalo Simples com a análise de regressão linear de múltiplos marcadores simultaneamente, possibilitando o controle dos efeitos do QTL em outros intervalos em que o QTL está sendo testado, aumentando a precisão do processo de mapeamento. O valor de LOD mínimo para determinar significância estatística em Mapeamento de Intervalo Simples e Mapeamento de Intervalo Composto também foi estimado através de testes de permutação (1000 permutações; nível de significância de 0,05) (Churchill & Doerge, 1994; Doerge & Churchill, 1996).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quinze isolados de *Magnaporthe oryzae* de diferentes raças fisiológicas foram avaliados para reação diferencial entre variedades de arroz utilizadas no desenvolvimento de população segregante para resistência à brusone do arroz. O isolado *M. oryzae* 623, coletado na região de Formoso do Araguaia (Tocantins), raça fisiológica IA-1, foi selecionado para análise de interação com uma população de linhagens puras recombinantes (RIL) de arroz. O cruzamento realizado para desenvolver a população RIL envolveu as variedades tradicionais Chorinho (suscetível) e Puteca (resistente).

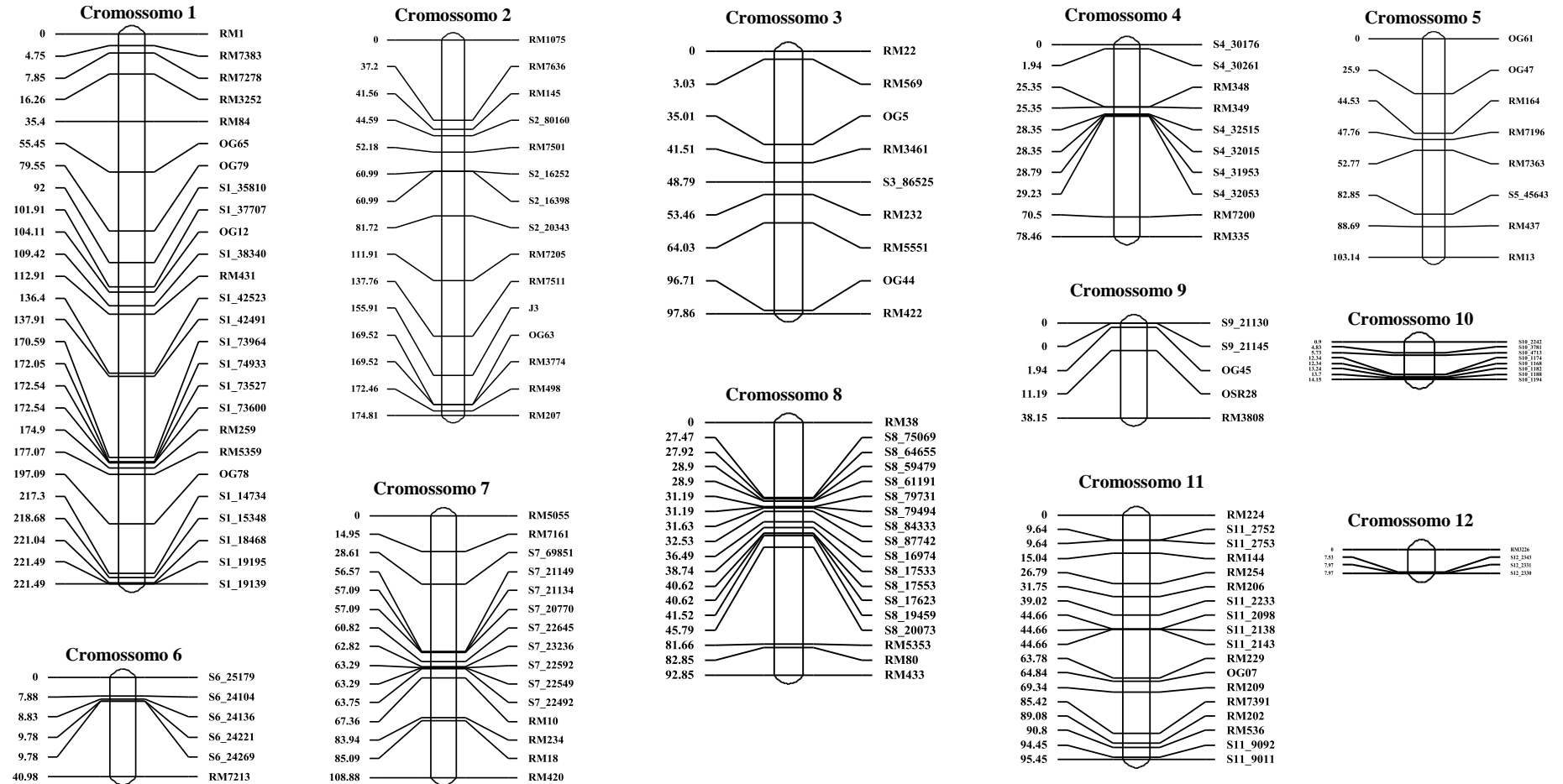
A análise da interação patógeno-hospedeiro nesta população possibilitou a detecção de 96 RILs com reação de resistência ao isolado *M. oryzae* 623, e 73 com sintomas de suscetibilidade, totalizando 169 RILs caracterizadas para resistência a este isolado. As demais linhagens desta população apresentaram inconsistência em uma ou mais repetições experimentais, ou possuíam excesso de dados faltantes na análise genotípica, e não foram consideradas nas fases seguintes da análise de mapeamento. A distribuição da nota média da interação patógeno-hospedeiro (escala 0 a 9) nos ensaios realizados foi a seguinte:  $0 < x < 1 = 34\%$ ;  $1 < x < 2 = 19\%$ ;  $2 < x < 3 = 24\%$ ;  $3 < x < 4 = 11\%$ ;  $\geq 4 = 12\%$ . Observou-se, portanto, uma prevalência de RILs com reação de resistência ao isolado 623 do patógeno (notas médias  $0 < x < 3 = 77\%$ ) em relação a RILs suscetíveis ao mesmo isolado (notas médias  $\geq 3 = 23\%$ ). As linhagens resistentes apresentaram reações típicas de hipersensibilidade.

A normalidade dos dados de distribuição das notas de resistência/suscetibilidade das linhagens RILs foi checada usando os testes de curtose ( $k = -0,4365$ ), simetria ( $s = 0,9199$ ) e Shapiro Wilk ( $W = 0,8095$ ) através do programa QTLiciMapping, v. 3.2 (Wang et al., 2012). A distribuição dos valores de fenótipo da interação patógeno-hospedeiro não apresentou, portanto, aderência à normalidade. Mesmo após várias tentativas de transformação (raiz-quadrada, arc sen, etc), os valores dos testes de normalidade permaneceram significativos, ou

seja, rejeitou-se a hipótese nula de distribuição normal das notas de resistência/suscetibilidade atribuídas à linhagens puras recombinantes (RILs). Não obstante, foi dado prosseguimento à análise de mapeamento de QTLs usando os procedimentos do Programa QTL Ici Mapping v. 3.2.

O mapa genético com 192 marcadores moleculares (SNPs e microssatélites) cobriu 1.074,19 cM do genoma de arroz, baseado na população RIL derivada do cruzamento Chorinho x Puteca (Figura 7). A distribuição destes 192 locos de marcadores moleculares por todos os 12 cromossomos da espécie foi inicialmente confirmada através da localização *in silico* da sequência dos iniciadores (primers) dos marcadores no genoma de arroz, utilizando o banco de dados disponibilizado pelo portal Gramene ([www.gramene.org](http://www.gramene.org)). A distância média entre locos nos 12 cromossomos representados no mapa genético foi de 5,59 cM (Figura 7). O cromossomo com maior comprimento de mapa foi o cromossomo 1, que cobriu 221,49 cM do genoma de arroz. O menor comprimento foi observado no cromossomo 9 (7,97 cM). O cromossomo 10 apresentou a maior densidade de marcadores, com aproximadamente um marcador a cada 1,0 cM.

As notas atribuídas ao fenótipo da interação entre o isolado *M. oryzae* 623 e as linhagens RILs foram analisadas para associação com 192 marcadores microssatélites e SNPs. A análise de ligação foi inicialmente baseada em tabelas de contingência 2x2 estimando-se valores de significância de testes qui-quadrado (corrigidos para continuidade pela fórmula de Yates) e testes exatos de Fisher. O teste exato de Fisher é um teste mais rigoroso que o qui-quadrado (Yates) quando uma ou mais classes em uma tabela de contingência 2x2 possui um número pequeno de amostras, o que ocorreu em algumas combinações genótipo (alelo Chorinho e alelo Puteca) *versus* fenótipo (resistente e suscetível). Estas tabelas de contingência são típicas de estudos de resistência a patógenos em plantas (Tabien et al., 2000).



**Figura 7.** Mapa genético composto de 192 marcadores microssatélites e SNPs, baseado na análise de segregação de 169 linhagens puras recombinantes derivadas do cruzamento entre as variedades Chorinho e Puteca. A denominação e orientação dos cromossomos segue o mapa físico de arroz ([www.gramene.org](http://www.gramene.org)). Em cada cromossomo é representada a distância entre marcadores em centimorgans (esquerda) e a identidade dos locos de marcadores moleculares (direita). Marcadores SNP iniciam com a letra S enquanto marcadores microssatélites são identificados pelas letras iniciais RM, OG e OSR.

Quando o Teste Exato de Fisher e o teste de Qui-Quadrado com correção de Yates foram significativos, isto é, o valor de qui-quadrado (Yates) foi maior ou próximo de 6,64 ( $p \leq 0,01$ ) e um teste exato de Fisher foi  $\leq 0,01$ , considerou-se a ligação significativa entre o loco marcador e um gene maior de resistência ao isolado monospórico *M. oryzae* 623. Esta análise permitiu identificar, entre todos 192 marcadores testados, um loco (RM7213, Cromossomo 6), associado ao controle de resistência ao isolado 623 de *M. oryzae* com valor de  $p < 0,01$  (Tabela 2). Outros três marcadores, também no Cromossomo 6, apresentaram evidência de ligação (valor de  $p < 0,05$ ): S6\_24104, S6\_24136, S6\_24221.

**Tabela 2.** Valores estatísticos para evidência de ligação entre locos microssatélites e SNPs, localizados no Cromossomo 6, e resistência ao isolado *M. oryzae* 623 com base em valores estimados de  $\chi^2$  (com correção de Yates) e de testes exatos de Fisher.

Loco	Cromossomo	Posição (cM)	valor $\chi^2$ (valor p)	Fisher P-exato
S6_25179	6	0	1,943 (0,1634)	0,1159
S6_24104	6	7,88	4,087 (0,0432)	0,0411*
S6_24136	6	8,83	4,316 (0,0378)	0,0236*
S6_24221	6	9,78	4,418 (0,0356)	0,0231*
S6_24269	6	9,78	3,043 (0,0811)	0,0745
RM7213	6	40,98	6,423 (0,0113)	0,0046**

\*significativo a 5%; \*\*significativo a 1%

Há evidência estatística, portanto, de localização de loco de resistência ao isolado *M. oryzae* 623 no Cromossomo 6 de arroz, denominado provisoriamente de *Pi-Put1*. A linhagem parental Puteca possui pelo menos um loco de resistência ao isolado 623 de brusone.

A análise de mapeamento de QTLs por Marcadores Individuais (SMA - *Single Marker Analysis*) distribuídos pelo genoma de arroz possibilitou a estimativa de valor mínimo de LOD (*Logarith of Odds Ratio*) para a identificação de SNP e microssatélites associados ao controle de resistência à brusone através de regressão linear simples. O LOD mínimo refere-

se ao valor a partir do qual é detectada associação significativa entre um marcador e uma região que controla resistência à brusone. Neste caso, o valor mínimo de LOD foi estimado em 2,58 através de testes de permutação (Churchill & Doerge, 1994; Doerge & Churchill, 1996). A Tabela 3 apresenta a estimativas de LOD na análise SMA para os 192 marcadores moleculares em relação aos dados fenotípicos de resistência/suscetibilidade à brusone na população RIL. Observa-se que apenas o marcador RM7213 (LOD= 2,60), no Cromossomo 6 (negrito), apresenta evidência de ligação com região do genoma que controla resistência ao isolado *M. oryzae* 623.

**Tabela 3.** Resultados da análise de mapeamento de QTL por SMA (*Single Marker Analysis*). Os valores de LOD para evidência de associação entre o loco marcador e resistência ao isolado *M. oryzae* 623 foram estimados, assim como o percentual da variação fenotípica observada (PVE%), o valor aditivo (Adit) do efeito de substituição alélica no loco, assim como os valores médios fenotípicos para os alelos em homozigose em cada loco (M(QQ); M(qq)).

#	Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	LOD	PVE(%)	Adit	M(QQ)	M(qq)
1	RM1	1	0	0.4518	1.793	0.1981	1.5714	1.1751
2	RM7383	1	4.75	0.0922	0.3688	0.0903	1.4497	1.2692
3	RM7278	1	7.85	0.0011	0.0044	-0.0099	1.3594	1.3791
4	RM3252	1	16.26	0.0079	0.0318	0.0274	1.3881	1.3333
5	RM84	1	35.4	1.0468	4.1053	0.3344	1.5542	0.8854
6	OG65	1	55.45	0.0563	0.2252	0.0714	1.4265	1.2837
7	OG79	1	79.55	0.0633	0.2535	0.0745	1.4407	1.2917
8	S1_35810	1	92	0.023	0.0921	0.0449	1.4111	1.3212
9	S1_37707	1	101.91	0.3972	1.5779	0.1858	1.5555	1.1839
10	OG12	1	104.11	0.4255	1.6895	0.1923	1.5655	1.1808
11	S1_38340	1	109.42	0.3866	1.5362	0.1839	1.5376	1.1698
12	RM431	1	112.91	0.547	2.1669	0.2192	1.5625	1.1242
13	S1_42021	1	135.02	0.162	0.6466	0.1195	1.4762	1.2372
14	S1_42653	1	136.4	0.2146	0.8555	0.1372	1.4946	1.2201
15	S1_42523	1	136.4	0.2146	0.8555	0.1372	1.4946	1.2201
16	S1_42491	1	137.91	0.1465	0.5849	0.1137	1.4709	1.2436
17	S1_74258	1	170.59	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
18	S1_74505	1	170.59	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
19	S1_73964	1	170.59	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
20	S1_74933	1	172.05	0.0676	0.2706	-0.077	1.2944	1.4485
21	S1_74437	1	172.54	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
22	S1_72505	1	172.54	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
23	S1_72712	1	172.54	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598



#	Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	LOD	PVE(%)	Adit	M(QQ)	M(qq)
24	S1_73272	1	172.54	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
25	S1_73527	1	172.54	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
26	S1_73600	1	172.54	0.0977	0.3906	-0.0925	1.2748	1.4598
27	RM259	1	174.9	0.1091	0.436	-0.0977	1.2678	1.4633
28	RM5359	1	177.07	0.1448	0.5781	-0.1127	1.2623	1.4876
29	OG78	1	197.09	1.1145	4.3649	-0.3093	1.0722	1.6909
30	S1_14734	1	217.3	0.4757	1.8871	-0.2032	1.1667	1.5731
31	S1_15348	1	218.68	0.4861	1.9279	-0.2058	1.1749	1.5864
32	S1_18468	1	221.04	0.5858	2.3188	-0.2253	1.1369	1.5876
33	S1_18604	1	221.49	0.7177	2.833	-0.249	1.117	1.6149
34	S1_18525	1	221.49	0.7177	2.833	-0.249	1.117	1.6149
35	S1_18590	1	221.49	0.7177	2.833	-0.249	1.117	1.6149
36	S1_18530	1	221.49	0.7177	2.833	-0.249	1.117	1.6149
37	S1_19195	1	221.49	0.7177	2.833	-0.249	1.117	1.6149
38	S1_19139	1	221.49	0.7177	2.833	-0.249	1.117	1.6149
39	RM1075	2	0	0.2296	0.9151	-0.1418	1.235	1.5185
40	RM7636	2	37.2	0.0789	0.3157	0.0845	1.4681	1.299
41	RM145	2	41.56	0.1217	0.4862	0.1038	1.4837	1.276
42	S2_80160	2	44.59	0.4287	1.7023	0.1932	1.5697	1.1833
43	RM7501	2	52.18	0.0489	0.1956	0.0665	1.4468	1.3137
44	S2_16407	2	60.99	0.0202	0.0811	0.0422	1.4121	1.3278
45	S2_16252	2	60.99	0.0202	0.0811	0.0422	1.4121	1.3278
46	S2_16398	2	60.99	0.0202	0.0811	0.0422	1.4121	1.3278
47	S2_20343	2	81.72	0.0345	0.1385	-0.0552	1.3172	1.4277
48	RM7205	2	111.91	0.6298	2.4903	-0.2392	1.1809	1.6593
49	RM7511	2	137.76	0.0338	0.1352	-0.0547	1.3072	1.4167
50	J3	2	155.91	0.0041	0.0164	0.0189	1.3879	1.35
51	OG63	2	169.52	0.0717	0.2866	0.0793	1.4426	1.2839
52	RM3774	2	169.52	0.0717	0.2866	0.0793	1.4426	1.2839
53	RM498	2	172.46	0.3421	1.3609	0.1727	1.5333	1.1879
54	RM207	2	174.81	0.4757	1.8871	0.2032	1.5731	1.1667
55	RM22	3	0	1.142	4.4701	-0.3128	1.0526	1.6781
56	RM569	3	3.03	0.7789	3.0711	-0.2597	1.0926	1.612
57	OG5	3	35.01	0.3831	1.5226	-0.1841	1.16	1.5282
58	RM3461	3	41.51	0.1872	0.7469	-0.1278	1.2414	1.4971
59	S3_86525	3	48.79	0.0871	0.348	-0.0873	1.2816	1.4561
60	RM232	3	53.46	0.2047	0.8162	-0.1336	1.2356	1.5029
61	RM5551	3	64.03	0.0131	0.0525	-0.0339	1.3333	1.4011
62	OG44	3	96.71	0.0076	0.0303	-0.0259	1.3397	1.3915
63	RM422	3	97.86	0.0051	0.0203	-0.0211	1.3457	1.388
64	S4_30176	4	0	0.4262	1.6922	-0.2648	1.2852	1.8148
65	S4_30261	4	1.94	1.0934	4.284	-0.4682	1.2541	2.1905
66	OSR15	4	25.35	0.0032	0.0125	0.0169	1.3816	1.3478
67	RM348	4	25.35	0.0032	0.0125	0.0169	1.3816	1.3478
68	RM349	4	25.35	0.0032	0.0125	0.0169	1.3816	1.3478
69	S4_32558	4	28.35	0.0153	0.0615	-0.0374	1.3382	1.413
70	S4_32606	4	28.35	0.0153	0.0615	-0.0374	1.3382	1.413

#	Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	LOD	PVE(%)	Adit	M(QQ)	M(qq)
71	S4_32566	4	28.35	0.0153	0.0615	-0.0374	1.3382	1.413
72	S4_32515	4	28.35	0.0153	0.0615	-0.0374	1.3382	1.413
73	S4_32015	4	28.35	0.0153	0.0615	-0.0374	1.3382	1.413
74	S4_31953	4	28.79	0.0038	0.0152	-0.0186	1.3529	1.3901
75	S4_32053	4	29.23	0.0153	0.0615	-0.0374	1.3382	1.413
76	RM7200	4	70.5	0.0405	0.162	0.0596	1.4303	1.3111
77	RM335	4	78.46	0.0677	0.2706	0.077	1.4485	1.2944
78	OG61	5	0	0.0798	0.3191	0.0841	1.4427	1.2745
79	OG47	5	25.9	0.0539	0.2156	0.0687	1.435	1.2976
80	RM164	5	44.53	0.115	0.4598	-0.1014	1.2517	1.4545
81	RM7196	5	47.76	0	0.0001	-0.0013	1.3667	1.3692
82	RM7363	5	52.77	0.0595	0.2381	0.0737	1.4565	1.3092
83	RM3853	5	78.68	0.2088	0.8326	0.1351	1.5091	1.2389
84	S5_43479	5	82.85	0.2691	1.0716	0.1534	1.5309	1.224
85	S5_45643	5	82.85	0.2691	1.0716	0.1534	1.5309	1.224
86	RM437	5	88.69	0.3036	1.2087	0.1626	1.5322	1.2069
87	RM13	5	103.14	0.4362	1.7318	0.1956	1.545	1.1538
88	S6_25179	6	0	0.4236	1.6822	0.1966	1.6074	1.2143
89	S6_24104	6	7.88	1.2706	4.9609	0.331	1.7308	1.0688
90	S6_24136	6	8.83	0.9562	3.7565	0.2872	1.6728	1.0984
91	S6_24221	6	9.78	1.2706	4.9609	0.331	1.7308	1.0688
92	S6_24269	6	9.78	1.2706	4.9609	0.331	1.7308	1.0688
<b>93</b>	<b>RM7213</b>	<b>6</b>	<b>40.98</b>	<b>2.6011</b>	<b>9.8918</b>	<b>0.4732</b>	<b>1.7549</b>	<b>0.8085</b>
94	RM5055	7	0	0.1516	0.6052	-0.1151	1.25	1.4802
95	RM7161	7	14.95	0.0001	0.0005	0.0034	1.3718	1.3651
96	S7_69851	7	28.61	0.0757	0.3028	-0.0823	1.298	1.4626
97	S7_21149	7	56.57	0.0883	0.353	0.0879	1.4583	1.2825
98	S7_21028	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
99	S7_20969	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
100	S7_20950	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
101	S7_20906	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
102	S7_20843	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
103	S7_20790	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
104	S7_21075	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
105	S7_20734	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
106	S7_21134	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
107	S7_20770	7	57.09	0.0057	0.0227	0.0223	1.3898	1.3452
108	S7_22645	7	60.82	0.2419	0.9639	0.1452	1.5146	1.2241
109	S7_23236	7	62.82	0.1933	0.771	0.1301	1.5062	1.2459
110	S7_22592	7	63.29	0.3543	1.409	0.1758	1.5515	1.2
111	S7_22549	7	63.29	0.3543	1.409	0.1758	1.5515	1.2
112	S7_22492	7	63.75	0.264	1.0514	0.1517	1.5238	1.2203
113	RM10	7	67.36	0.1476	0.5894	0.1139	1.4731	1.2453
114	RM234	7	83.94	0.7119	2.8107	0.2482	1.6055	1.1091
115	RM18	7	85.09	0.7119	2.8107	0.2482	1.6055	1.1091
116	RM420	7	108.88	0.3485	1.3859	-0.1756	1.2154	1.5667
117	RM38	8	0	0.7179	2.8336	-0.2506	1.1458	1.647

#	Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	LOD	PVE(%)	Adit	M(QQ)	M(qq)
118	S8_75069	8	27.47	0.005	0.0199	0.0216	1.3842	1.3411
119	S8_64655	8	27.92	0.0002	0.0006	-0.0039	1.3653	1.373
120	S8_59479	8	28.9	0.0965	0.3859	-0.0945	1.2958	1.4848
121	S8_61191	8	28.9	0.0965	0.3859	-0.0945	1.2958	1.4848
122	S8_81198	8	31.19	0.0098	0.0394	-0.0308	1.3467	1.4083
123	S8_81537	8	31.19	0.0098	0.0394	-0.0308	1.3467	1.4083
124	S8_81108	8	31.19	0.0098	0.0394	-0.0308	1.3467	1.4083
125	S8_79731	8	31.19	0.0098	0.0394	-0.0308	1.3467	1.4083
126	S8_79494	8	31.19	0.0098	0.0394	-0.0308	1.3467	1.4083
127	S8_84333	8	31.63	0.004	0.0161	0.0199	1.3816	1.3419
128	S8_87742	8	32.53	0.0116	0.0466	0.0333	1.3919	1.3252
129	S8_17156	8	36.49	0.0853	0.3412	0.0902	1.4324	1.252
130	S8_17228	8	36.49	0.0853	0.3412	0.0902	1.4324	1.252
131	S8_16842	8	36.49	0.0853	0.3412	0.0902	1.4324	1.252
132	S8_16344	8	36.49	0.0853	0.3412	0.0902	1.4324	1.252
133	S8_16867	8	36.49	0.0853	0.3412	0.0902	1.4324	1.252
134	S8_16339	8	36.49	0.0853	0.3412	0.0902	1.4324	1.252
135	S8_16974	8	36.49	0.0853	0.3412	0.0902	1.4324	1.252
136	S8_17533	8	38.74	0.0866	0.3461	0.0895	1.4366	1.2576
137	S8_17553	8	40.62	0.0528	0.2113	0.0714	1.4178	1.275
138	S8_17623	8	40.62	0.0528	0.2113	0.0714	1.4178	1.275
139	S8_19459	8	41.52	0.012	0.048	0.0336	1.3927	1.3254
140	S8_20073	8	45.79	0.1009	0.4038	-0.0953	1.2885	1.4792
141	RM5353	8	81.66	0.0033	0.0134	0.0171	1.385	1.3509
142	RM80	8	82.85	0.009	0.036	0.0281	1.3955	1.3393
143	RM433	8	92.85	0.0126	0.0507	0.0333	1.4	1.3333
144	S9_21130	9	0	0.0644	0.2575	0.0751	1.4425	1.2924
145	S9_21145	9	0	0.0644	0.2575	0.0751	1.4425	1.2924
146	OG45	9	1.94	0.3235	1.2871	0.1678	1.5345	1.1988
147	OSR28	9	11.19	0.0519	0.2076	0.0677	1.4423	1.3069
148	RM3808	9	38.15	0.5355	2.1218	0.2155	1.5893	1.1582
149	S10_2684	10	0	0	0.0001	-0.0015	1.3667	1.3697
150	S10_2302	10	0.9	0.0118	0.0472	0.0323	1.3978	1.3333
151	S10_2242	10	0.9	0.0118	0.0472	0.0323	1.3978	1.3333
152	S10_2202	10	0.9	0.0118	0.0472	0.0323	1.3978	1.3333
153	S10_3838	10	4.83	0.0717	0.2866	0.0793	1.4426	1.2839
154	S10_3781	10	4.83	0.0717	0.2866	0.0793	1.4426	1.2839
155	S10_4713	10	5.73	0.2746	1.0936	0.155	1.5137	1.2037
156	S10_1173	10	12.34	0.0825	0.3302	0.0852	1.4481	1.2778
157	S10_1174	10	12.34	0.0825	0.3302	0.0852	1.4481	1.2778
158	S10_1168	10	12.34	0.0825	0.3302	0.0852	1.4481	1.2778
159	S10_1182	10	13.24	0.0616	0.2461	0.0735	1.4372	1.2901
160	S10_1188	10	13.7	0.035	0.1403	0.0556	1.4193	1.3082
161	S10_1194	10	14.15	0.016	0.064	0.0376	1.4021	1.3269
162	RM224	11	0	0.0135	0.0538	-0.035	1.3261	1.3961
163	S11_2736	11	9.64	0.1298	0.5185	-0.1074	1.2467	1.4615
164	S11_2752	11	9.64	0.1298	0.5185	-0.1074	1.2467	1.4615

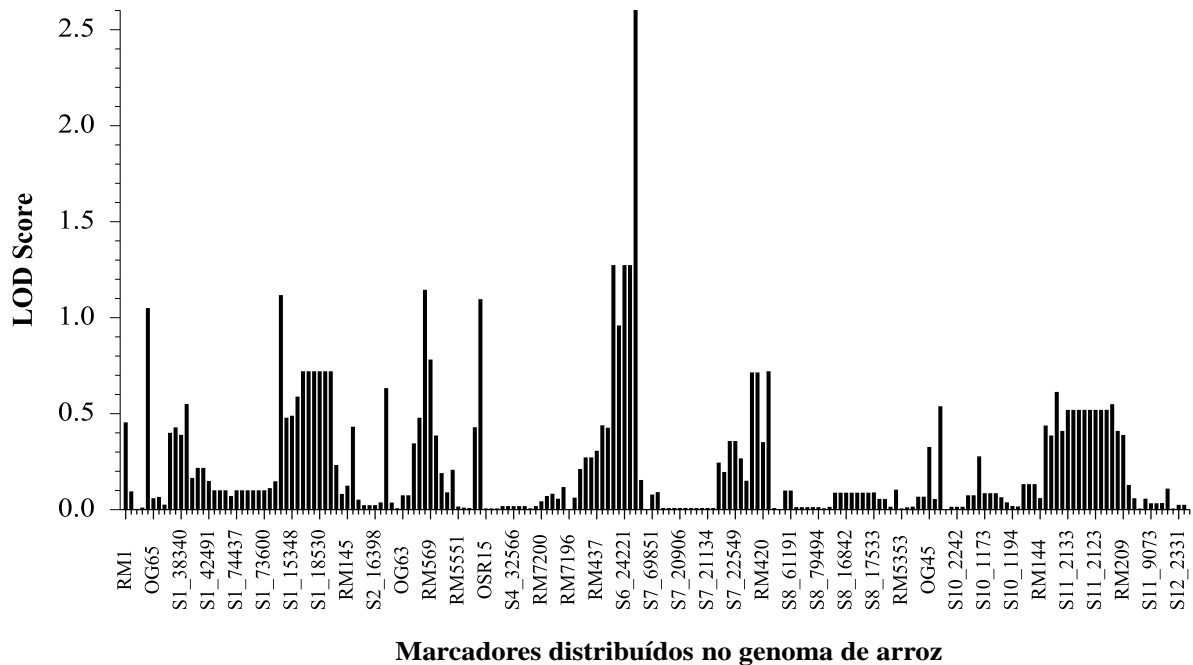
#	Marcador	Cromossomo	Posição (cM)	LOD	PVE(%)	Adit	M(QQ)	M(qq)
165	S11_2753	11	9.64	0.1298	0.5185	-0.1074	1.2467	1.4615
166	RM144	11	15.04	0.0569	0.2277	-0.0716	1.2847	1.4278
167	RM254	11	26.79	0.4351	1.7274	-0.1957	1.1503	1.5417
168	RM206	11	31.75	0.3831	1.5226	-0.1841	1.16	1.5282
169	S11_2233	11	39.02	0.6102	2.4138	-0.2355	1.0815	1.5524
170	S11_2098	11	44.66	0.4073	1.6177	-0.1908	1.1458	1.5274
171	S11_2133	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
172	S11_2155	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
173	S11_2153	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
174	S11_2149	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
175	S11_2132	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
176	S11_2123	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
177	S11_2138	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
178	S11_2143	11	44.66	0.5167	2.0477	-0.214	1.1224	1.5505
179	RM229	11	63.78	0.5463	2.1641	-0.2195	1.12	1.559
180	OG07	11	64.84	0.4072	1.6177	-0.1908	1.1458	1.5274
181	RM209	11	69.34	0.3861	1.5343	-0.1913	1.1219	1.5045
182	RM7391	11	85.42	0.1256	0.5015	-0.1083	1.2325	1.4491
183	RM202	11	89.08	0.0563	0.2251	-0.0714	1.2837	1.4265
184	RM536	11	90.8	0.0028	0.0109	-0.0159	1.3485	1.3803
185	RM7283	11	91.33	0.0541	0.2164	-0.0711	1.2791	1.4213
186	S11_9073	11	94.45	0.03	0.12	-0.0527	1.303	1.4084
187	S11_9092	11	94.45	0.03	0.12	-0.0527	1.303	1.4084
188	S11_9011	11	95.45	0.0314	0.126	-0.0534	1.305	1.4118
189	RM3226	12	0	0.1066	0.4258	0.097	1.4743	1.2804
190	S12_2343	12	7.53	0.003	0.0121	0.0164	1.3867	1.3538
191	S12_2331	12	7.97	0.0222	0.0889	0.0443	1.4167	1.328
192	S12_2330	12	7.97	0.0222	0.0889	0.0443	1.4167	1.328

# é o número do marcador molecular.

O loco RM7213, detectado anteriormente pelos testes de contingência de Fisher e Chi-quadrado com correção de Yates, explica cerca de 9,89% da variação fenotípica para resistência ao isolado *M. oryzae* 623 através da análise SMA. A Figura 8 ilustra o valor de LOD estimado para a ligação entre os marcadores testados e resistência à brusone, com destaque para o loco RM7213.

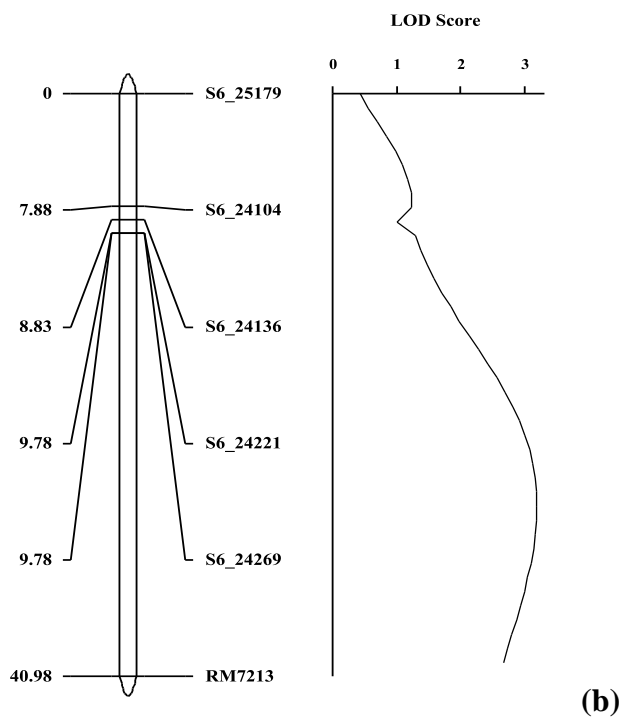
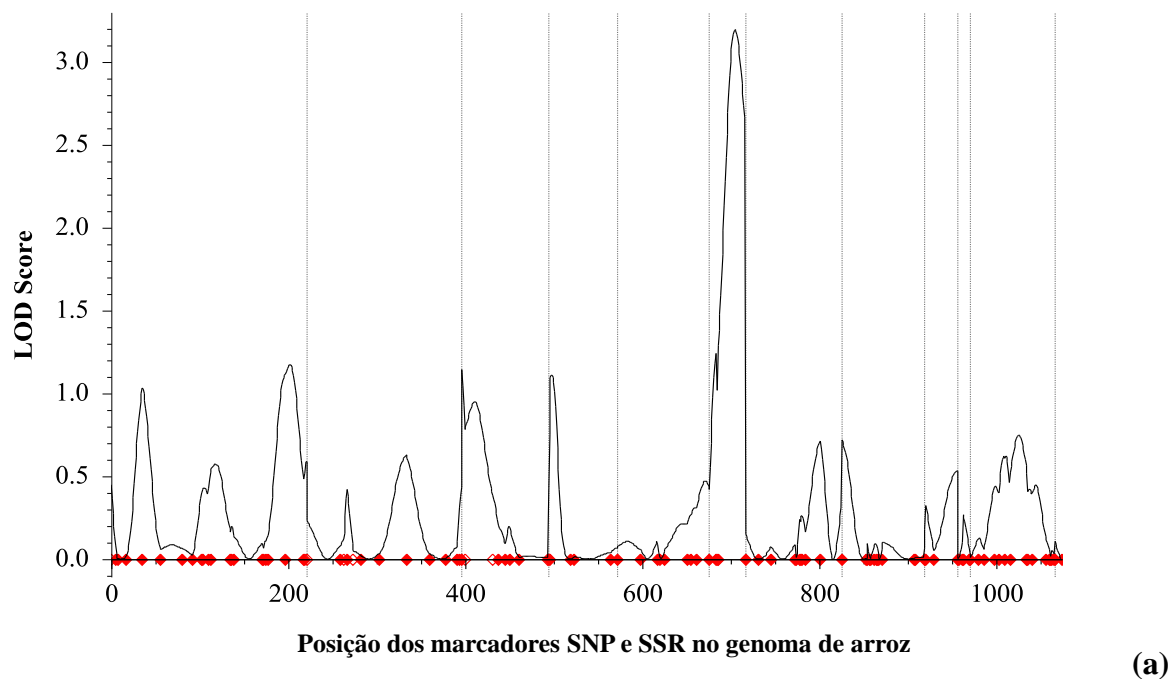
A análise de Mapeamento de Intervalo Simples detectou associação significativa (LOD= 3,19) entre a região compreendida entre os marcadores S624269 e RM7213, no cromossomo 6, com resistência ao isolado *M. oryzae* 623. O valor mínimo de LOD para Mapeamento de Intervalo Simples, obtido por testes de permutação, foi LOD=3,00. A Figura

9a apresenta a plotagem dos valores de LOD em todos os intervalos testados ao longo do genoma de arroz. A Figura 9b destaca a evidência de associação do intervalo S624269-RM7213 com o controle de resistência à brusone.

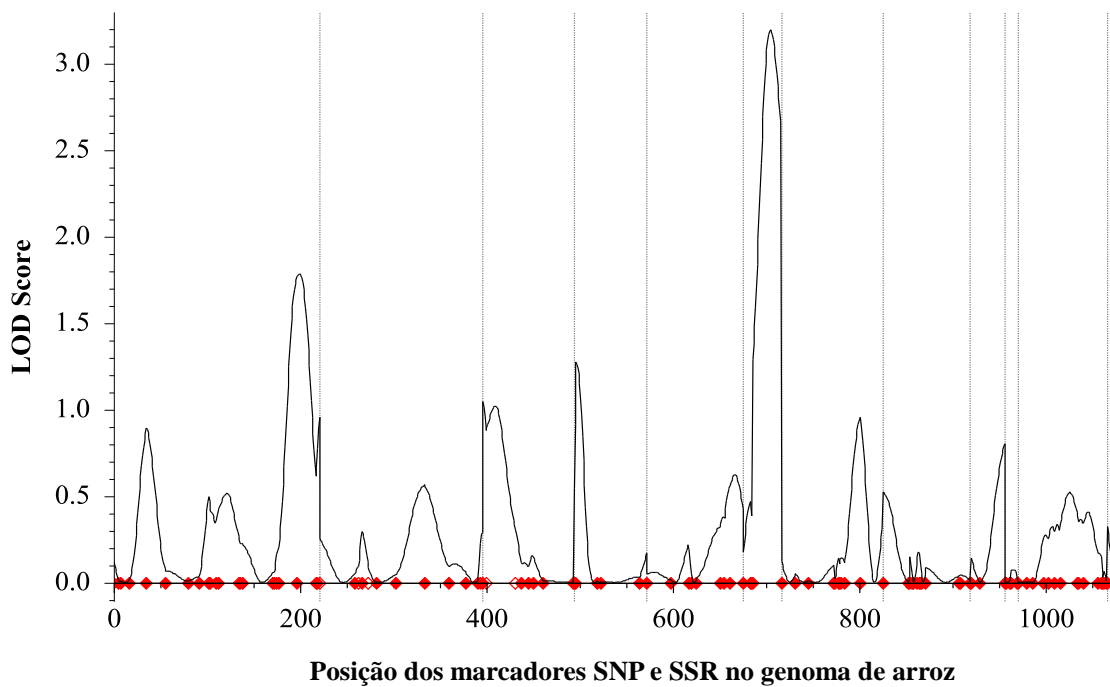


**Figura 8.** Distribuição dos valores estimados de LOD para associação entre marcadores moleculares (SNP e SSR) e resistência ao isolado *M. oryzae* 623 no genoma de arroz.

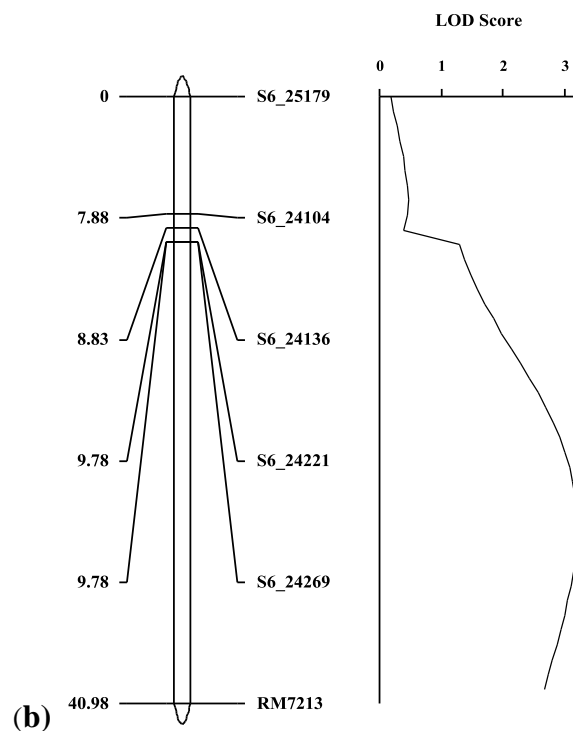
A análise de Mapeamento de Intervalo Composto também detectou associação significativa (LOD= 3,19) Na região compreendida entre os marcadores S6\_24269 e RM7213, no Cromossomo 6, com resistência ao isolado *M. oryzae* 623. O LOD mínimo estimado por testes de permutação foi 2,98. A Figura 10a apresenta a plotagem dos valores de LOD em todos os intervalos testados ao longo do genoma de arroz. A Figura 10b destaca a evidência de associação do intervalo S6\_24269-RM7213 com o controle de resistência à brusone.



**Figura 9.** Distribuição dos valores estimados de LOD para associação entre marcadores moleculares (SNP e SSR) e resistência ao isolado *M. oryzae* 623 no genoma de arroz pela análise de intervalo simples. (a) Curva de distribuição dos valores de LOD em cada intervalo de mapa nos 12 cromossomos de arroz; (b) Evidência de associação significativa entre o intervalo dos marcadores S6\_24269 e RM7213, no Cromossomo 6, e resistência à brusone.



(a)



**Figura 10.** Distribuição dos valores estimados de LOD para associação entre marcadores moleculares (SNP e SSR) e resistência ao isolado *M. oryzae* 623 no genoma de arroz pela análise de intervalo composto. (a) Curva de distribuição dos valores de LOD em cada intervalo de mapa nos 12 cromossomos de arroz; (b) Evidência de associação significativa

entre o intervalo dos marcadores S6\_24269 e RM7213, no cromossomo 6, e resistência à brusone.

As diferentes análises estatísticas utilizadas neste estudo, como testes de contingência (Fisher e Qui-quadrado com correção de Yates), Marcadores Individuais (SMA), Intervalo Simples (SIM) e Intervalo Composto (ICM) apontam a região do marcador RM7213, no Cromossomo 6, como região genômica associada ao controle de resistência ao isolado *M. oryzae* 623. O marcador RM7213 ocupa a posição 10.448.510 pb no mapa físico de arroz (Figura 11), na região central próxima ao centrômero do cromossomo 6 (braço 6q) ([www.gramene.org](http://www.gramene.org)). Trata-se de um microssatélite com repetição do motivo (ATAG)<sub>9</sub>, originalmente identificado por McCouch et al. (2002).

Entre as regiões do genoma de arroz com maior densidade de genes de resistência à brusone destacam-se os cromossomos 6, 11 e 12 (Ballini et al., 2008). Em cada agrupamento em geral são encontrados 5 a 8 locos de resistência, em famílias de genes parálogos. É interessante notar que a região do marcador RM7213 detectada no presente trabalho tem sido apontada como sede de genes de resistência à brusone em outros trabalhos independentes, desenvolvidos com diferentes fontes de resistência e *pedigrees* diversos. O intervalo entre os marcadores RM136 e RM7213, por exemplo, está associado ao controle de resistência de espectro amplo, oriunda da variedade DH104, a um isolado de *M. oryzae* da China (Sun et al., 2011). Não é possível afirmar que se trata do mesmo gene de resistência pois há vários identificados nesta região e, em geral, são organizados em famílias com várias cópias em tandem. Os isolados do patógeno e as variedades de arroz usados na avaliação de resistência também são distintos. Para verificar alelismo entre diferentes estudos seria necessário, por exemplo, desenvolver novos cruzamentos entre as variedades usadas e submeter suas progênies a testes de interação patógeno-hospedeiro com os isolados selecionados.



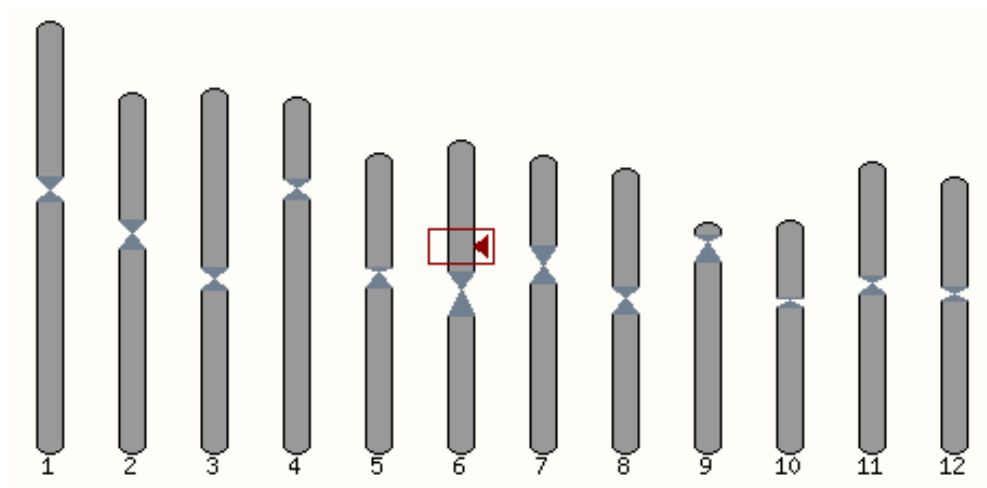
Um gene de amplo espectro de resistência a isolados de brusone do Japão e das Filipinas, identificado na variedade Kasalath (Ebitani et al. 2011), foi detectado no intervalo entre os marcadores RM7213 e RM20155. Xiao et al. (2012) selecionaram uma linhagem de arroz (D69) com amplo espectro de resistência a isolados de *M. oryzae* e mapearam uma região no cromossomo 6, próxima ao marcador RM7213, que aparentemente apresenta um bloco de genes de resistência à brusone. Análise de mapeamento fino nesta região identificou um intervalo de ~100kb, entre os marcadores Ind306-RM19818, que inclui os genes *Pi2*, *Pi9*, *Piz*, *Piz-t* e *Pi40(t)*, além do gene por eles identificado, denominado *Pi51(t)*.

Até o momento foram clonados nove genes de resistência à brusone (Ballini et al., 2008), sempre utilizando a estratégia de clonagem posicional, que tem como ponto de partida o mapeamento de genes de resistência. Entre os genes clonados, três genes de resistência à brusone estão localizados no cromossomo 6: *Pid2*, *Pi2/Piz-t* e *Pi9*. *Pid2*, anteriormente conhecido como *Pi-d(t)2*, foi originalmente clonado com base na interação gene-a-gene entre a variedade resistente Digu e o isolado *M. oryzae* ZB15 (Chen et al., 2006). Estudos anteriores haviam localizado o gene na região centromérica com cromossomo 6. O gene codifica uma proteína de membrana do tipo receptora, com um domínio extra celular do tipo B-lectina, e intra-celular do tipo quinase serina/treonina. O gene é de cópia única no genoma de arroz e apresenta expressão constitutiva em variedades resistentes. A diferença do alelo de resistência para o alelo de suscetibilidade é a substituição de aminoácidos na posição 441 na proteína, causando a mudança de metionina nas variedades suscetíveis para isoleucina nas resistentes. O gene é dominante e confere resistência ampla a diversos isolados de brusone.

O segundo gene de resistência à brusone clonado no Cromossomo 6, *Pi2/Piz-t*, teve a sequência completa obtida por clonagem baseada em mapeamento genético (*map based cloning*) (ZHOU et al., 2006). *Pi2* e *Piz-t* foram originalmente identificados de forma independente e, mais tarde, confirmados como sendo o mesmo gene. *Pi2/Piz-t* é um gene

dominante, que codifica uma proteína com domínio de sítio de pareamento de nucleotídeo (NBS – *Nucleotide Binding Site*) e domínio de região repetitiva de leucina (LRR – *Leucine Rich Repeat*). O gene faz parte de um aglomerado de genes NBS-LRR localizado próximo ao centrômero no cromossomo 6 de arroz.

*Pi9* foi clonado através de informação de mapeamento genético (Qu et al., 2006). O gene também é dominante, confere resistência ampla a diferentes isolados de brusone e pertence a uma família NBS-LRR. O gene localiza-se em um aglomerado de 6 genes sequenciais (parálogos) no cromossomo 6 de arroz. O gene apresenta expressão constitutiva e, portanto, a resistência conferida por *Pi9* a *M. oryzae* não é induzida pela inoculação das plantas resistentes com o patógeno.



**Figura 11.** Representação da região do mapa físico de arroz que contém o marcador RM7213, associado ao controle genético de resistência ao isolado *M. oryzae* 623.

O mapeamento de gene de resistência oriundo da variedade tradicional Puteca na região do marcador RM7213 no cromossomo 6 de arroz, portanto, parece indicar ser este gene mais um membro do aglomerado de genes já identificados e clonados nesta região (Figura 11). Vários dos genes de resistência identificados próximos ao RM7213 possuem amplo espectro de resistência (ex. *Pi9*, *Pi2*, *Pi51(t)*). Alguns deles possuem estrutura com domínios

NBS-LRR e outros, como (*Pid2*), apresentam domínios B-lectina e quinase serina/treonina. Portanto, a região abriga genes de resistência à brusone com diferentes funcionalidades.

A identificação e localização no genoma de genes de resistência à brusone na interação entre isolados de *M. oryzae* coletados no Brasil e variedades de arroz plantadas no país é ainda pouco conhecida. Apenas dois genes de resistência a isolados específicos do patógeno, denominados *Pi\_Ch1* (Cromossomo 7) e *Pi\_Ch2* (Cromossomo 8), coletados no Estado do Tocantins, foram mapeados no genoma de arroz até o momento (Ohse, 2008). O mapeamento de genes de resistência à brusone utilizando isolados coletados no Brasil Central, onde a quebra de resistência em variedades melhoradas ocorre em curto período após o lançamento, é importante para a compreensão dos mecanismos de resistência ao patógeno e para o desenvolvimento de estratégias de seleção para resistência durável à doença. A resistência genética de novas cultivares de arroz lançadas na Região Central do Brasil tem sido quebrada no primeiro ou segundo ano após o lançamento comercial (Rangel et al., 2009).

A piramidização de genes de resistência em uma nova cultivar é uma estratégia proposta para potencialmente aumentar a durabilidade da resistência genética, ao mesmo tempo em que amplia o espectro de resistência a raças do patógeno. A piramidização pode ser direcionada para incluir dois ou mais genes de resistência em uma mesma linhagem. Contudo, a seleção de plantas resistentes pela inoculação simultânea ou sequencial com isolados de diferentes raças do fungo não é possível na interação *M. oryzae*-arroz, visto que os sintomas de inoculação com um isolado confundem a avaliação de sintomas dos demais isolados. O fenótipo de interação patógeno-hospedeira com diferentes isolados poderia ser feito em testes de progênie, mas isso é extremamente trabalhoso e pouco eficiente, visto que as seleções seriam para resistência a uma raça individual em uma geração, seguida de inoculação com outra raça na geração seguinte.

Por outro lado, a seleção de plantas resistentes a múltiplos isolados poder ser facilitada pelo uso de marcadores moleculares flanqueando diferentes genes de resistência ao patógeno em programas de retrocruzamento assistido por análise de DNA. O mapeamento genético, neste caso, permite a seleção para vários genes de resistência ao mesmo tempo, baseada nos alelos observados nos locos de marcadores moleculares que estão ligados ao gene de resistência, acelerando a processo de piramidização.

Noutra vertente, o melhorista pode ainda optar por piramidização indireta, desenvolvida através do emprego de linhagens quase-isogênicas (multilinhas) que possuem genes de espectro amplo e com diferentes funcionalidades (domínios protéicos e atuação em cadeia transdução-sinal distintas). A piramidização indireta é, pois, uma metodologia indicada para regiões com alta diversidade do patógeno, grande número de hospedeiros alternativos, e clima favorável ao desenvolvimento da doença durante todo o ano. O emprego de multilinhas é mais eficiente quando há disponibilidade de informação sobre a localização dos genes de resistência no genoma, para evitar o risco de introgressão do mesmo gene oriundo de fontes distintas de resistência, bem como o conhecimento do tipo de gene de resistência para diversificar a fisiologia do processo de interação patógeno-hospedeiro. As informações de mapeamento do gene de resistência oriundo da variedade tradicional Puteca no presente estudo representam um passo importante na direção de aplicar informação genômica no desenvolvimento de multilinhas com resistência à brusone do arroz.

O desenvolvimento de resistência durável à brusone do arroz depende de informações básicas da genética de resistência ao patógeno, que podem ser utilizadas para aumentar a eficiência do emprego de piramidização de genes de resistência à brusone.

## CONCLUSÕES

A avaliação da interação entre isolados de *Magnaporthe oryzae* coletados na região do Brasil Central e genitores de população de linhagens puras recombinantes de arroz (*RILs* – *Recombinant Inbred Lines*), possibilitou a seleção do isolado 623, raça fisiológica IA-1, apresentando reação de incompatibilidade (resistência) com a variedade tradicional *japonica* tropical Puteca, e de compatibilidade (suscetibilidade) com a variedade tradicional *japonica* tropical Chorinho.

A análise de polimorfismo de DNA em 192 locos microssatélites e SNPs distribuídos pelo genoma de arroz permitiu a construção de um mapa genético com 1074,19 cM e distância de recombinação média entre marcadores de 5,59 cM.

A fenotipagem da população RIL contendo 169 linhagens e testes de ligação com os 192 locos microssatélites genotipados possibilitou a identificação do loco RM7213 no cromossomo 6 significativamente associado ao controle de resistência ao isolado *M. oryzae* 623. O gene mapeado no cromossomo 6 foi provisoriamente denominado *Pi-Put1*.

A região do marcador RM7213, próxima ao centrômero do cromossomo 6, possui aglomerados de genes de resistência à brusone, muitos deles de amplo espectro de resistência, incluindo genes já clonados através de mapeamento genético.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALLINI, E.; MOREL, J.-B.; DROC, G. T.; PRICE, A.; COURTOIS, B.; NOTTEGHEM, J.-L.; THARREAU, D. A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, St. Paul, v. 21, n. 7, p. 859-68, July 2008.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate - A practical approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society Series B-Methodological*, v.57, n.1, p.289-300, 1995.

BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; GARRIDO, L. D. & FERREIRA, M. E. Development of microsatellite markers for the genetic analysis of *Magnaporthe grisea*. *Genetics and Molecular Biology*, v.23, n.4, p.753-762, Dec, 2000.

CHEN X, SHANG J, CHEN D, LEI C, ZOU Y, ZHAI W, LIU G, XU J, LING Z, CAO G, MA B, WANG Y, ZHAO X, LI S, ZHU L (2006) A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *Plant J* 46:794-804

CHURCHILL, G. A.; DOERGE, R. W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, v.138, n.3, p.963-971, 1994.

DIAS NETO, J.J.; SANTOS, G.R.; ANJOS, L.M.; PAULO; RANGEL, P.H.N AND FERREIRA, M.A. Hot spots for diversity of *Magnaporthe oryzae* physiological races in irrigated rice fields in Brazil. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.45, n.3, p.252-260, mar. 2010a.

DIAS NETO J.J., SANTOS G.R., CASTRO NETO M.D., ANJOS L.M., CUNHA A.C.F., e IGNÁCIO M. Influencia do meio de cultura na esporulação de *Magnaporthe griseae* concentração de conídios na severidade da brusone do arroz. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 173-179, Mar./Apr. 2010b.

DIAS NETO, J.J. *Magnaporthe grisea*: Biologia e identificação de patótipos isolados de plantas de arroz na Região Tropical do Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Tocantins, 2008

DOERGE, R. W.; CHURCHILL, G. A. Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics*, v.142, n.1, p.285-294, 1996.

EBITANI, T.; HAYASHI, N.; OMOTENO, M.; OZAKI, H.; YANO, M.; MORIKAWA, M.; FUKUTA, Y. Characterization of Pi13, a blast resistance gene that maps to chromosome 6 in indica rice (*Oryza sativa* L. variety, Kasalath). *Breeding Science* Vol. 61 (2011) No. 3 P 251-259

GARRIDO, L. R. Identificação, desenvolvimento e uso de marcadores de regiões hipervariáveis do genoma de *Magnaporthe grisea* na análise da estrutura de populações do patógeno infectando plantações de arroz (*Oryza sativa*). Tese de Doutorado. Brasília, DF: Universidade de Brasília. 2001.

JAISWAL, P. et al. Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. *Nucleic Acids Research*, v.34, n.Database issue, p.D717-23-D717-23, 2006.

JANSEN, R. C. Interval Mapping of Multiple Quantitative Trait Loci. **Genetics**, v.135, n.1, p.205-211, 1993.

KOSAMBI DD (1943). The estimation of map units from recombination values. *Ann. Eugenics* 12: 172-175

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps. **Genetics**, v.121, n.1, p.185-199, 1989.

LEUNG, H., BORROMEO, E.S., BERNARDO, M.A. & NOTTEGHEM, J.L. Genetic analysis of virulence in the blast fungus *Magnaporthe griseae*. *Phytopathology* 78:1227-1233. 1988.

LING, K.C. & OU, S.H. Standardization of international race numbers of *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 59:339-342. 1969.

MCCOUCH-S-R, TEYTELMAN-L, XU-Y, LOBOS-K-B, CLARE-K, WALTON-M, FU-B, MAGHIRANG-R, LI-Z, XING-Y, ZHANG-Q, KONO-I, YANO-M, FJELLSTROM-R, DECLERCK-G, SCHNEIDER-D, CARTINHO-S, WARE-D, STEIN-L, "Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.)", *DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes*, 2002, vol. 9, pp. 199-207

OHSE, B.J. Mapeamento genético de locos de resistência a *Magnaporthe grisea* em linhagens puras recombinantes de arroz (*Oryza sativa* L). Dissertação. Universidade Católica de Brasília, 2008.

PESSOA-FILHO, M. A. C. de P. Identificação de regiões genômicas associadas ao controle de tolerância à seca em variedades tradicionais de arroz de sequeiro (*Oryza sativa* spp. *japonica*) Tese de Doutorado. Brasília, DF: Universidade de Brasília. 2008.

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C. Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006. 388 p.

QU, S., G. LIU, B. ZHOU, M. BELLIZZI, L. ZENG *et al.*, 2006. The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice. *Genetics* 172 1901–1914.

RANGEL, PHN.(2009) Mapeamento genético e piramidização de genes de resistência no desenvolvimento de multilinhas e cultivares compostas de arroz irrigado com resistência estável à brusone (*Pyricularia grisea*), Relatório técnico, Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão.

SILVA, P. I. T 2012 Descoberta e validação de marcadores SNPs por sequenciamento de alta performance do genoma estrutural e por genotipagem por sequenciamento (GBS) de arroz de sequeiro (*Oryza sativa* spp. *japonica*). Tese de Mestrado. Departamento de Biologia Molecular. Universidade de Brasília, Brasília, DF.133p

SCHMIDT, A. B. Mapeamento de QTLs para tolerância à seca e ao frio em Linhagens Puras Recombinantes de arroz. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina. 2009

SUN, D. Y., XIAO, W. M., YANG, Q. Y., WANG, H., GUO, T., LIU, Y. Z., ... & CHEN, Z. Q. (2011). Analysis of Resistance to Blast and Mapping of Rice Blast Resistance Gene in DH104. *Journal of South China Agricultural University*, 3, 006.

TABIEN, R. E.; LI, Z.; PATERSON, A. H.; MARCHETTI, M. A.; STANSEL, J. W.; PINSON, S. R. M. Mapping of four major rice blast resistance genes from ‘Lemont’ and ‘Teqing’ and evaluation of their combinatorial effect for field resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 101, n. 8, p. 1215-1225, Dec. 2000.



VALENT B., AND. CHUMLEY F. G, 1994. Avirulence genes and mechanisms of genetic instability in the rice blast fungus, pp. 111–134 in Rice Blast Disease, edited by R. S. Zeigler, S. A. Leong and P. S. Teng. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK.

WANG J, LI H, ZHANG L, LI C, Meng L (2012) QTL iciMapping software. 3.2 edn. Isbreeding, Beijing, China.

XIAO, W.; YANG, Q.; WANG, H.; DUAN, J.; GUO, T.; LIU, Y.; ZHU, X.; CHEN, Z. 2012 Identification and fine mapping of a major R gene to *Magnaporthe oryzae* in a broad-spectrum resistant germplasm in rice. *Molecular Breeding* 30, Issue 4 , pp 1715-1726

ZENG, Z. B. Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.90, n.23, p.10972-10976, 1993.

ZHOU, B., S. QU, G. LIU, M. DOLAN, H. SAKAI *et al.*, 2006. The eight amino-acid differences within three leucine-rich repeats between Pi2 and Piz-t resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*. *Mol. Plant Microbe*

# **CAPÍTULO 3**

---

---

**DESENVOLVIMENTO DE LINHAGENS QUASE-ISOGÊNICAS DE ARROZ  
IRRIGADO PARA CONTRUÇÃO E TESTE DE MULTILINHAS PARA  
RESISTÊNCIA À BRUSONE**

## RESUMO

A brusone do arroz, causada por *Magnaporthe oryzae*, é uma das mais importantes doenças da cultura, pela sua ampla distribuição geográfica e capacidade de destruição das lavouras. A doença é um desafio para os orizicultores e constitui-se em um dos fatores limitantes da produtividade do arroz, especialmente na região Central do Brasil, uma área de alta diversidade genética do patógeno. Nesta região, a resistência à brusone tem sido quebrada um a dois anos após o lançamento de uma nova cultivar. Uma das alternativas para o desenvolvimento de cultivares resistentes é a piramidização indireta, baseada na exploração de linhagens quase-isogênicas com diferentes genes de resistência para compor multilinhas. No presente estudo, foram avaliadas linhagens quase-isogênicas de arroz com diferentes genes de resistência à brusone e construídas quatro multilinhas para testar resistência ao patógeno em condições de campo. As linhagens obtidas apresentaram características agronômicas (ex. produtividade, porte baixo, ciclo, resistência a acamamento, qualidade de grãos, etc.) muito semelhantes às observadas nos seus respectivos genitores recorrentes. As linhagens apresentaram ganho de resistência a diferentes raças de *M. oryzae*. O efeito de multilinha na contenção da epidemia de brusone no campo foi detectado em experimento baseado na inoculação da bordadura com uma mistura de 15 raças do patógeno e avaliação de sintomas nas linhagens e multilinhas. Observou-se uma redução significativa na taxa de infecção da doença nos tratamentos suscetíveis, atribuída ao emprego de multilinhas. Este resultado sugere que o emprego de multilinhas na produção de arroz no Brasil pode contribuir para a obtenção de resistência mais durável a *M. oryzae* em regiões com alta diversidade de raças do patógeno.

## ABSTRACT

Rice blast, caused by *Magnaporthe oryzae*, is one of the most important diseases of rice, due to its broad geographic distribution and capacity to destroy the crop. This disease is a challenge to rice farmers and one of the factors which limit rice yield, especially in the Central Region of Brazil, which is considered an area of high genetic diversity of the pathogen. In this region, rice blast resistance has been overcome only one or two years after a new resistant cultivar is commercially released. One of the alternatives for the development of blast resistant cultivars is indirect gene pyramiding, based on the exploration near-isogenic lines with different resistant genes to compose multilines. The present study was designed to evaluate near isogenic lines with different resistant genes and use them to build four multilines to test for blast resistance in the field. The lines showed agronomic traits (eg. yield, plant height, cycle, lodging resistance, grain quality, etc.) very similar to their respective recurrent parents. The lines also presented additional resistance to different races of *M. oryzae* in relation to their recurrent parents. The effect of multilines to deter blast epidemics in the field was detected in an experiment based on the inoculation of the experimental borders with a mixture of 15 races of *M. oryzae*, followed by phenotypic evaluation of the lines and multilines during the epidemics. A significant reduction in the rate of disease infection in susceptible controls was attributed to the use of multilines. This result suggests that the use of multilines in rice production in Brazil could contribute to obtain durable resistance to *M. oryzae* in regions with high genetic diversity of the pathogen.

## INTRODUÇÃO

O arroz é uma cultura de grande importância para o Brasil, base da alimentação diária dos 200 milhões de habitantes do país. A área de produção de arroz no Brasil atinge 2,5 milhões de hectares, divididos equitativamente em dois modos de produção: o arroz irrigado, produzido majoritariamente no Sul do Brasil, com produtividade média de 7.000 kg/ha, e o arroz de sequeiro, plantado em áreas dispersas das regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, com produtividade média de 2.300 kg/ha. A produção de arroz projetada para 2022 no Brasil é de 15,2 milhões de toneladas, equivalendo a um crescimento anual médio de 1,4%. Esse acréscimo de produção deverá ocorrer principalmente no arroz irrigado (MAPA, 2012), a continuar a tendência observada nos últimos anos. Parte do cultivo de arroz irrigado ocorre hoje em áreas tropicais, como no Vale do Rio Araguaia, na Região Central do Brasil.

Dentre as doenças do arroz, a brusone causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae*, é provavelmente a mais importante, devido à sua ampla distribuição geográfica, capacidade de infectar a planta em diferentes estádios de desenvolvimento e alta capacidade de destruição. A doença tem sido um desafio para os orizicultores e constitui-se em um dos fatores limitantes da produtividade do arroz irrigado, especialmente em áreas tropicais do território brasileiro.

Os programas de melhoramento genético têm desenvolvido diversas cultivares resistentes à brusone nos últimos anos. Entretanto, a vida útil das cultivares em plantios comerciais tem sido curta, devido à quebra da resistência pelo patógeno. No Vale do Rio Araguaia a quebra da resistência tem ocorrido em um a dois anos após o lançamento de uma nova variedade. A causa da quebra da resistência é atribuída à diversidade genética do fungo, que possui uma elevada capacidade de desenvolver novos patótipos nesta região (Dias Neto et al., 2010).

O primeiro indicativo do alto nível de diversidade genética de raças da *Magnaporthe oryzae* em plantios de arroz irrigado no Vale do Rio Araguaia foi reportado por Garrido (2001). Uma análise utilizando marcadores microssatélites de 432 isolados coletados na mesma região evidenciou a alta diversidade genética do fungo em relação aos isolados coletados no Rio Grande do Sul (Brondani et al. 2000). Dias Neto et al. (2010) analisando 250 isolados de *M. oryzae* obtidos em três viveiros armadilhas localizados em áreas comerciais de arroz irrigado do Vale do Araguaia detectaram a presença de 45 raças internacionais pertencentes a sete grupos de patótipos (IA-IG). Entre os isolados testados foram detectados 61 patótipos de *M. oryzae* pertencentes a todos os grupos, com exceção do grupo IH. Estes dados indicam que o Vale do Rio Araguaia é um “hot spot” de diversidade de patótipos de *M. oryzae*, o que pode explicar a rápida quebra da resistência a brusone das cultivares lançadas nesta região.

Uma das alternativas para o manejo sustentável das cultivares modernas de arroz é a exploração de heterogeneidade genética em locos gênicos específicos, como locos de resistência a doenças, enquanto o restante do genoma é mantido homogêneo (Browning and Frey 1981). Isto pode ser feito utilizando misturas de linhagens quase-isogênicas para construir multilinhas, o que se constitui em uma piramidização indireta de genes de resistência. Quando uma multilinha é formada por uma mistura de linhagens quase-isogênicas, que diferem entre si quanto aos genes de resistência que possuem, é possível piramidizar indiretamente um conjunto de genes de resistência para diferentes raças do patógeno com o mesmo *background* genético. O objetivo desta estratégia é reduzir no campo o impacto da doença, minimizando perdas com epidemias do patógeno e estabilizando a produtividade em um patamar elevado.

A introdução da heterogeneidade genética em locos de resistência para plantio de multilinhas em lavouras comerciais sem sacrificar a produtividade e a qualidade de grãos é

uma forma potencial de aumento da durabilidade da resistência à brusone, o que favorece a sustentabilidade ambiental e econômica das lavouras de arroz irrigado. Vários são os mecanismos que contribuem para a redução da intensidade de doenças em multilinhas (Zhu et al., 2000; Mundt, 2002), destacando-se entre eles o efeito de diluição, o efeito de barreira, a resistência induzida e a competição entre raças do patógeno.

O desenvolvimento de linhagens quase-isogênicas utilizadas na composição de uma multilinha deve ter como alvo o emprego de resistência a diferentes raças do patógeno prevalentes na área à qual a multilinha se destina. Além disso, é importante que o genitor recorrente apresente alto potencial de produtividade e características agrônômicas desejáveis comercialmente, como o ciclo curto, baixa altura, arquitetura de planta adequada ao modo de produção, além de qualidade industrial e culinária dos grãos. A redução da incidência de doenças na multilinha potencialmente proporciona uma menor redução de produtividade de grãos em condições de epidemia. Para isto, é fundamental que as linhagens quase-isogênicas sejam similares quanto ao potencial produtivo. Isto evita que haja comprometimento de produtividade de grãos da multilinha em razão da mistura das linhagens que a compõem.

O desenvolvimento de multilinhas baseado em métodos de retrocruzamento assistido por marcadores moleculares tem sido advogado como uma estratégia eficiente para a obtenção de linhagens quase-isogênicas aos genitores recorrentes (Ferreira & Gattapaglia, 1996). Cada multilinha seria resultante de uma mistura de linhagens quase-isogênicas contendo diferentes genes de resistência a várias raças do patógeno. O emprego de linhagens cujo perfil de resistência é complementar ao de outras linhagens com o mesmo *background* genético confere à multilinha resistência a um amplo espectro de raças do patógeno, o que potencialmente pode conferir resistência durável à doença.

Marcadores moleculares, como microssatélites e SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), podem ser utilizados em diferentes etapas do programa de retrocruzamento assistido para auxiliar no desenvolvimento de novas cultivares, como na seleção de plantas usando marcadores que flanqueiam os genes de resistência ao patógeno (*foreground selection*), na seleção de indivíduos da população com maior taxa de recuperação do genoma genitor recorrente (*background selection*), na estimativa do grau de recuperação do genoma parental recorrente em casa linhagem quase-isogênica, ou ainda na identificação de indivíduos com alto grau de pureza para obtenção de sementes para a produção comercial nas etapas finais do programa.

O presente trabalho teve por objetivo desenvolver linhagens quase-isogênicas de arroz irrigado resistentes a diferentes raças do agente causal da brusone (*Magnaporthe oryzae*) e construir e avaliar diferentes multilinhas derivadas de linhagens quase-isogênicas para resistência múltipla a raças de *M. oryzae* em plantios de arroz irrigado em regiões tropicais do Brasil, como o Vale do Rio Araguaia.



## MATERIAL E MÉTODOS

### Desenvolvimento de linhagens quase-isogênicas de arroz resistentes à brusone

O desenvolvimento das novas linhagens de arroz irrigado resistentes à brusone foi realizado na Embrapa Arroz e Feijão, em Santo Antônio de Goiás – GO, utilizando o método do retrocruzamento. Foram utilizados como genitores recorrentes três acessos: as cultivares BRS Formoso e Diamante, e a linhagem CNA 8502. Como fontes de resistência à brusone foram utilizados cinco genitores doadores: Oryzica 1, Oryzica Llanos 4, Oryzica Llanos 5, CNAi 9022, CNAi 9025 e 5287.

Foram realizados três retrocruzamentos ( $RC_1$  a  $RC_3$ ) entre os genitores recorrentes e as fontes de resistência, seguidos de três a cinco gerações de autofecundação ( $RC_3F_1$  a  $RC_3F_5$ ). Em cada geração de retrocruzamento as sementes das gerações segregantes  $RC_1$  a  $RC_3$  foram plantadas em bandejas plásticas em casa telada e inoculadas com folhas frescas infectadas por *M. oryzae*. As folhas infectadas foram coletadas em lavouras comerciais de arroz irrigado onde a brusone ocorre de maneira epidêmica. Não houve, portanto, durante o desenvolvimento, a inoculação das plantas com raças específicas do patógeno, mas com uma população de esporos originária do campo.

Trinta dias após a inoculação, as plantas resistentes foram selecionadas e transplantadas para o campo. Plantas resistentes apresentaram reação de hipersensibilidade, com lesões não esporulantes de pequeno tamanho (<5mm). Durante a floração, as plantas fenotipicamente semelhantes aos respectivos genitores recorrentes foram retrocruzadas de forma individualizada. Na geração  $RC_3F_2$  foram realizados testes de progênie para seleção das linhagens homozigotas para resistência. Foram selecionadas 44 linhagens  $RC_3F_3$ , que foram em seguida avaliadas em ensaios preliminares para características agrônomicas em Goiás, Tocantins e Roraima. As 26 linhagens mais promissoras (Tabela 1) foram submetidas a testes

de isogenia ou quase-isogenia com os respectivos genitores recorrentes através da mensuração características agronômicas e avaliadas para o espectro de resistência a raças do patógeno. A estimativa de recuperação do genoma genitor recorrente foi realizada para as linhagens mais promissoras.

**Tabela 1.** Identificação dos acessos de arroz utilizados no desenvolvimento das linhagens quase-isogênicas com diferentes genes de resistência a raças de *Magnaporthe oryzae*.

<b>Linhagem</b>	<b>Cruzamento</b>	<b>Identificação</b>
Diamante	-	Genitor recorrente
CNA 8502	-	Genitor recorrente
BRS Formoso	-	Genitor recorrente
CNA10889	BRS Formoso/CNAi 9022////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10891	BRS Formoso/CNAi 9022////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10893	BRS Formoso/CNAi 9022////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10894	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10895	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10896	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10897	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10898	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10899	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10901	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10902	BRS Formoso/Oryzica 1////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10903	BRS Formoso/5287////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10904	BRS Formoso/5287////BRS Formoso	Linhagem resistente
CNA10905	Diamante/Oryzica Llanos 4////Diamante	Linhagem resistente
CNA10906	Diamante/5287////Diamante	Linhagem resistente
CNA10910	CNA8502/CNAi 9022////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10911	CNA8502/CNAi 9022////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10913	CNA8502/CNAi 9022////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10914	CNA8502/CNAi 9029////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10916	CNA8502/CNAi 9029////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10918	CNA8502/Oryzica Llanos 4////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10921	CNA8502/Oryzica Llanos 4////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10923	CNA8502/Oryzica Llanos 5////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10924	CNA8502/Oryzica Llanos 5////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10926	CNA8502/Oryzica 1////CNA8502	Linhagem resistente
CNA10927	CNA8502/5287////CNA8502	Linhagem resistente
CNAi 9022	Metica 1/Carreon	Fonte de resistência
Oryzica Llanos 5	P5269/P2060	Fonte de resistência
Oryzica Llanos 4	CR1113/IRAT122//Colômbia 1/P1274-6-8M-1-3M-1	Fonte de resistência
Oryzica 1	Napal/Takao Iku 18	Fonte de resistência
5287	-	Fonte de resistência

### **Testes de isogenia ou quase-isogenia pela mensuração características agronômicas**

A comprovação de potencial isogenia ou quase-isogenia entre as 26 linhagens RC<sub>3</sub>F<sub>3</sub> que foram selecionadas e os seus respectivos genitores recorrentes (BRS Formoso, Diamante e a linhagem CNA 8502) foi realizada através da avaliação de características agronômicas em 25 Ensaio de Valor de Cultivo e Uso (VCU) nos Estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso do Sul, Maranhão e Roraima por três anos agrícolas consecutivos, 2006/07 (seis ensaios), 2007/08 (12 ensaios) e 2008/09 (oito ensaios).

O delineamento experimental utilizado na avaliação foi blocos ao acaso com quatro repetições. Cada parcela foi formada por oito linhas de 5,0 metros de comprimento, com área útil avaliada de 4,0 metros nas quatro linhas centrais. As seguintes características foram avaliadas, de acordo com os critérios estabelecidos pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (Jennings et al., 1981): (1) número de dias da emergência à floração média (FLO); (2) altura de planta (ALT); (3) resistência ao acamamento (ACA); (4) produtividade de grãos em kg ha<sup>-1</sup> (PROD); (5) rendimento de grãos inteiros (RGI) e total (RGT); (6) teor de amilose (TA); (7) temperatura de gelatinização (TG); (8) centro branco (CB); (9) cocção (COC) e (10) textura dos grãos (TXG).

Os dados de floração média, altura de plantas, resistência a acamamento e produtividade média de grãos foram submetidos à análise de variância individual e conjunta, considerando os efeitos de anos e locais como aleatórios e o efeito de tratamentos como fixo utilizando o programa Genes (Cruz 2001). As médias das características analisadas foram comparadas pelo teste de Dunnett (1955 e 1964) a 5% de probabilidade. Foram realizadas duas análises de variância para produtividade de grãos, uma com os dados coletados em 25 ambientes envolvendo 25 linhagens e os três genitores recorrentes, e outra com os dados de produtividade de grãos coletados em 12 ambientes envolvendo as 25 linhagens mais a linhagem CNA10896 e os três genitores recorrentes. O motivo da realização das duas análises

justifica-se pelo longo ciclo da linhagem CNA10896, que prejudicou a sua coleta de dados em 25 ambientes, enquanto possibilitou a avaliação de produtividade em outros 12 ambientes.

### **Avaliação das linhagens de arroz irrigado para resistência à brusone em condições controladas**

A construção de multilinhas para resistência à brusone depende do conhecimento do espectro de resistência ao patógeno observado nas linhagens. Multilinhas com espectro mais amplo de resistência podem ser construídas pela combinação de linhagens com diferentes genes de resistência ao patógeno. Para identificar o espectro de resistência a diferentes raças de *M. oryzae*, as 26 linhagens (RC3F3), os três genitores recorrentes (Diamante, CNA 8502 e BRS Formoso) e as cinco fontes doadoras de resistência à brusone (CNAi 9022, Oryzica Llanos 5, Oryzica Llanos 4, Oryzica 1 e 5287) foram inoculados em casa de vegetação com isolados de *M. oryzae*, coletados em lavouras comerciais da região do Vale do Rio Araguaia (Tabela 2). As 10 raças utilizadas no experimento são as mais prevalentes nesta região do país (Dias Neto et al., 2010). Os acessos foram inoculados com isolados pertencentes às raças IA-1, IC-1, ID-1, IA-65, ID-9, IB-1, IA-33, IA-41, IA-9 e IB-41.

**Tabela 2.** Relação dos isolados de *M. oryzae* utilizados para a identificação do espectro de resistência das novas linhagens de arroz irrigado em condições controladas.

Isolado	Raça	Ano	Dados de coleta			Cultivar
			Município	Latitude	Longitude	
683	IA-1	2007	FA	11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	Epagri 109
155	IC-1	2007	DU	11° 10' 53,82''	49° 28' 11,47''	Curinga
127	ID-1	2008	LAA	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
2	IA-65	2008	PA	3° 3' 27,85''	53° 18' 45,18''	Primavera
72	ID-9	2006	LC	10° 8' 54,57''	49° 39' 06,07''	Epagri 109
613	IB-1	2007	LC	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Piracema
U10P-4	IA-33	2007	FA	11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	CNA 8502
67	IA-41	2007	FA	11° 48' 24,05''	43'' 20,63''	Epagri 112
680	IA-9	2007	FA	S 11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	Epagri 109
F6-6	IB-41	2007	FA	S 11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	Diamante + CNA 8502

FA= Formoso do Araguaia, TO; DU= Dueré, TO; LAA = Luiz Alves do Araguaia, GO; PA = Paragominas, PA; LC = Lagoa da Confusão, TO

Sementes destes acessos foram plantadas em bandejas plásticas medindo 40x25x7cm, com 3,5 litros de substrato comercial “Plantimax” autoclavado. Utilizou-se 12 sementes de cada acesso por sulco e oito linhagens por bandeja, com quatro repetições. As plântulas cresceram em casa de vegetação climatizada com temperatura controlada de 26°C. Uma adubação de cobertura foi realizada aos 15 dias após a emergência, utilizando-se 3g de uréia por bandeja, com a finalidade de predispor as plantas ao ataque de *M. oryzae*.

Para obtenção de inóculo, as 10 raças prevalentes foram repicadas em câmara de fluxo laminar com auxílio de uma lupa sob condições assépticas e transferidas para o meio de cultura BDA. Cada placa contendo um isolado monospórico foi identificada, vedada e armazenada em incubadora tipo B.O.D. com temperatura ajustada para 25°C para crescimento do fungo por um período de 12 dias. Após o crescimento, o micélio superficial do isolado foi raspado com alça de platina estéril em condições assépticas e as placas foram destampadas e cobertas com pano crepe e colocadas sob luz fluorescente contínua por 48 horas para a esporulação do fungo. Após a esporulação, o inóculo foi preparado através de uma lavagem com água estéril e auxílio de um pincel macio, seguida da filtração dos conídios em gaze. A suspensão conidial foi quantificada em câmara de Neubauer e ajustada para a concentração de  $3 \times 10^5$  conídios/ml.

As plantas foram inoculadas aos 25 dias após a emergência, com 20 ml do inóculo por bandeja, utilizando um pulverizador manual. Em seguida, foram mantidas em câmara úmida com ausência total de luz por 24 horas, com temperatura média de 25°C e umidade relativa acima de 95%. A alta umidade tem o objetivo de induzir e manter o orvalho nas folhas durante o processo de germinação e infecção do patógeno. As avaliações de severidade nas folhas foram feitas sete dias após a inoculação, por meio da análise visual do fenótipo utilizando a escala de notas de 0 a 9, originalmente proposta por Leung et al. (1988) e modificada por Prabhu & Filippi (2006), que adicionaram a nota 4 à escala de valores. A

reação nas plantas foi considerada resistente quando recebeu notas de severidade menor ou igual a 3 e suscetível quando a nota foi igual ou superior a 4. Para essas avaliações, as plantas não foram consideradas individualmente e sim como parcela. Desta forma, cada genótipo foi considerado suscetível ao apresentar mais de 50% das plantas da parcela com notas para lesões em cada inoculação superior a 3.

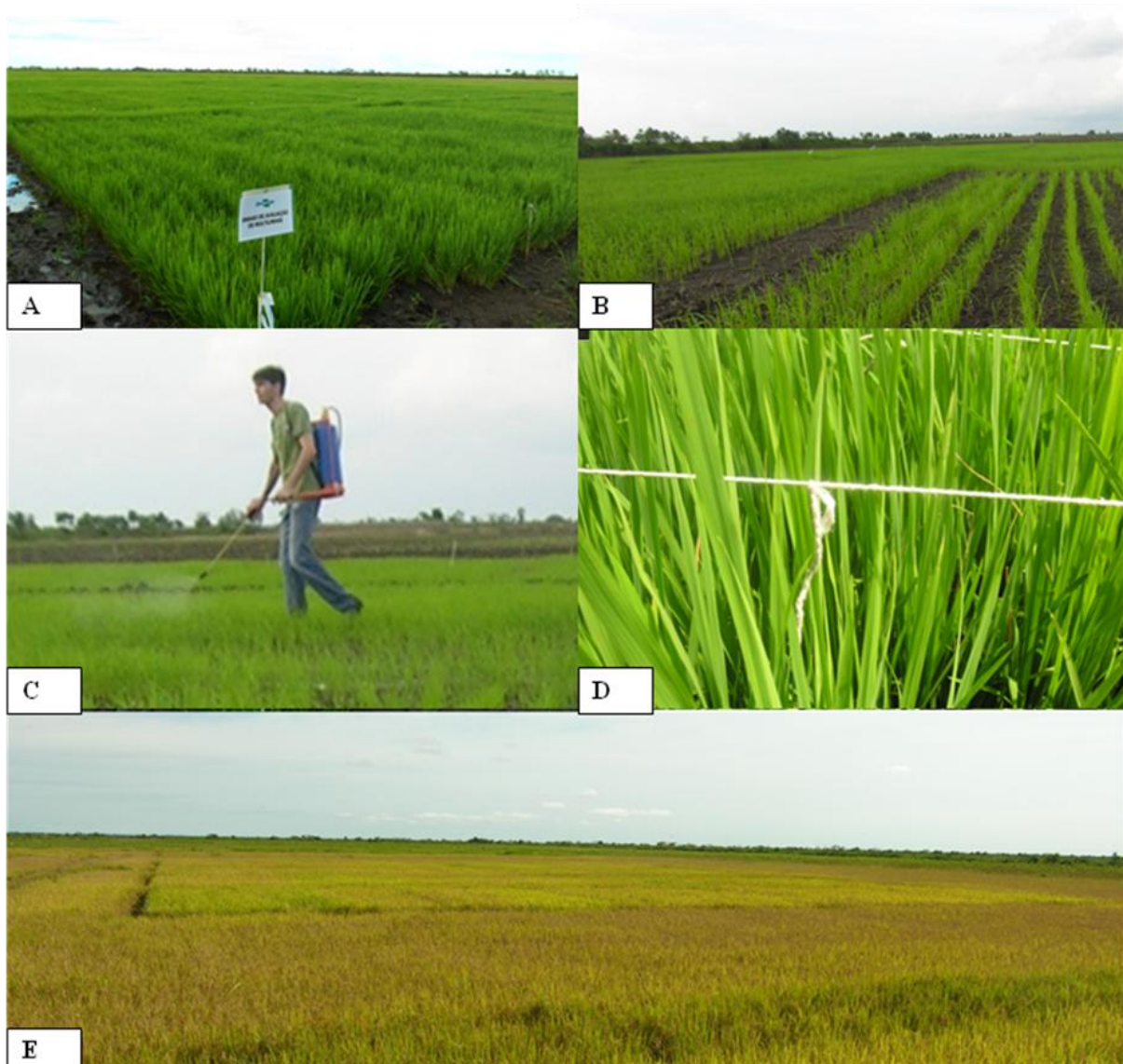
O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições. A normalidade da distribuição dos dados foi verificada por estimativas de curtose e assimetria, e analisadas pelo teste Kolmogorov-Smirnov. Diferenças significativas entre o perfil de resistência de uma linhagem e seu genitor recorrente foram analisadas pelo teste Friedman (F) (Friedman, 1937), bem como diferenças significativas entre a nota atribuída em cada repetição do experimento. Os dados foram analisados com o software MedCalc (versão MedCalc Statistical Software 12.7.7 (MedCalc Software BVBA , Ostend , Bélgica; <http://www.medcalc.org> ; 2013)).

### **Construção e avaliação de multilinhas de arroz irrigado para resistência à brusone no campo**

Os dados agronômicos coletados no campo (FLO; ALT; ACA; PROD) e de brusone nas folhas em condições controladas foram usados para selecionar as seis linhagens com melhor performance agrônômica e que apresentavam resistência combinada para o maior número possível de raças do patógeno. As seis linhagens foram usadas para construir quatro multilinhas, compostas por duas linhagens cada uma. As quatro multilinhas, as seis linhagens e três testemunhas (BRS Formoso, Diamante e EPAGRI 109) foram avaliadas em ensaio de campo em Formoso do Araguaia, Tocantins, no ano agrícola 2011/2012.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com quatro repetições e a parcela foi composta por 12 linhas de 10 m de comprimento com espaçamento de 0,20 m, totalizando 24 m<sup>2</sup> (Figura 1A). Os tratamentos culturais realizados nas parcelas, tais como preparo

do solo, adubação, manejo da água de irrigação e aplicação de herbicida foram os mesmos adotados nas lavouras comerciais da região. Não foi feita qualquer aplicação de fungicida durante todo o experimento.



**Figura 1.** Ensaio de avaliação de multilinhas de arroz irrigado em Formoso do Araguaia, TO: a) vista do experimento de avaliação de multilinhas de arroz irrigado; b) detalhe da bordadura utilizada no ensaio, que foi submetida à inoculação com mistura de isolados do patógeno; c) inoculação da bordadura com uma mistura de isolados das 15 raças de *M. oryzae*; d) detalhe do barbante utilizado na parcela marcando uma planta em que foi feita a leitura de incidência de brusone na folha; e) vista do experimento com a bordadura totalmente infectada por brusone, enquanto que as parcelas experimentais circundadas pela bordadura encontram-se pouco afetadas por brusone.

Em volta do experimento foi plantada uma larga faixa de bordadura de 10 m de largura utilizando a cultivar EPAGRI 109, considerada altamente suscetível à brusone (Figura 1B).

Para mensurar o efeito das multilinhas no desenvolvimento da doença, foi realizada uma aplicação de inóculo composto de 15 raças de *M. oryzae* apenas na faixa de bordadura do experimento (Figura 1C), plantada com EPAGRI 109. Os isolados monospóricos utilizados para compor o inóculo foram obtidos da coleção de *M. oryzae* da Embrapa Cenargen (Tabela 3).

Dentre os 15 isolados utilizados, oito estão entre as 10 raças mais prevalentes na região do Vale do Araguaia. Para a raça IA-1 foram utilizados dois isolados distintos (623 e PA-05) por pertencerem a grupos distintos, conforme análise de distância genética realizada com marcadores microssatélites por Ramos (2009). O isolado 33 raça ID-10, apesar de baixa frequência na região, foi incluído na análise por ter quebrado a resistência de Oryzica Llanos 5, cultivar até então considerada padrão de resistência estável à brusone (Ramos 2009) e uma das fontes de resistência usadas para o desenvolvimento das linhagens no presente estudo (Tabela 1). Das 15 raças inoculadas, apenas a raça IF-1 não foi detectada na região onde o experimento foi desenvolvido (Formoso do Araguaia, TO) embora tenha sido detectada no município vizinho, Lagoa da Confusão, TO (Dias Neto et al. 2010a). Ambas as regiões, contudo, pertencem ao Vale do Araguaia.

Cada um dos isolados foi repicado para 10 placas de Petri (150x10mm) com três cubos de 1,0 cm<sup>3</sup> de meio de cultura contendo micélio em cada uma delas. A preparação de meio de cultura e a indução de esporulação do fungo seguiram os protocolos descritos por Dias Neto et al., (2010b). Após a esporulação, as placas com os isolados foram vedadas com filme de plástico e armazenados em caixa de isopor a temperatura ambiente para transporte para o campo. Durante o preparo do inóculo, as placas foram lavadas com 20 ml de água estéril utilizando um pincel para o desprendimento dos conídios do micélio. Após a lavagem, a suspensão foi filtrada em gaze e os conídios foram quantificados em câmara de Neubauer. Para inoculação, a concentração da suspensão foi ajustada para  $3 \times 10^5$  conídios/ml na



suspensão final (20 litros). Em função do grande número de isolados utilizados, as placas foram lavadas com água gelada e a solução de conídios mantida todo o tempo em recipientes armazenados em gelo para evitar a germinação antes da inoculação. A inoculação foi realizada no final da tarde para favorecer o processo de infecção. O inóculo foi aplicado sobre a bordadura do experimento para fornecer inóculo secundário às parcelas experimentais na fase vegetativa e reprodutiva, com um movimento da área externa para a área interna do experimento.

**Tabela 3.** Relação dos isolados de *M. oryzae* utilizados na inoculação da bordadura do experimento com multilinhas em condições de campo.

Isolado	Raça	Ano	Local da coleta	Latitude	Longitude	Cultivar coletada
33	ID-10	2007	Formoso do Araguaia, TO	11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	Epagri 108
62	ID-1	2007	Lagoa da Confusão, TO	10° 8' 54,57''	49° 39' 06,07''	Best 2000
155	IC-1	2007	Dueré, TO	11° 10' 53,82''	49° 28' 11,47''	Curinga
585	IB-49	2008	Luiz Alves do Araguaia, GO	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
610	IA-41	2007	Lagoa da Confusão, TO	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Piracema
615	ID-9	2007	Dueré, TO	11° 10' 53,82''	49° 28' 11,47''	Epag. 109
616	IA-65	2006	Formoso do Araguaia, TO	11° 49' 02,81''	49° 42' 23,26''	Epagri 108
623	IA-1	2007	Lagoa da Confusão, TO	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	SCSBRS Piracema
628	IA-33	2008	Luiz Alves do Araguaia, GO	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
633	IB-17	2008	Luiz Alves do Araguaia, GO	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
635	IB-41	2008	Luiz Alves do Araguaia, GO	13° 13' 57,00''	50° 32' 10,43''	Epagri 109
639	IB-33	2007	Lagoa da Confusão, TO	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Epagri 109
689	IC-9	2007	Lagoa da Confusão, TO	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Epagri 109
PA-05	IA-1	2007	Paragominas, PA	3° 3' 27,85''	53° 18' 45,18''	BRS Primavera
L2P-3	IF-1	2008	Lagoa da Confusão, TO	10° 39' 34,85''	49° 49' 59,43''	Diamante

Foram realizadas duas avaliações de resistência à brusone na fase vegetativa e uma na fase reprodutiva. Em cada parcela experimental foram avaliadas seis das doze linhas de cada parcela plantada (linhas 2, 4, 6, 8, 10 e 12). Para facilitar a avaliação, um cordão de 10 metros de comprimento foi colocado ao longo da linha a ser analisada, e a cada metro foi amarrado um pêndulo de barbante e a planta localizada abaixo deste foi selecionada para ser avaliada (Figura 1D). Em cada parcela foram realizadas 60 leituras individuais, perfazendo um total de 240 plantas por tratamento (60 parcelas x 4 repetições). Na primeira avaliação, que ocorreu 20 dias após a inoculação da bordadura, a leitura da severidade da brusone nas folhas foi feita na

quarta folha de cada planta selecionada e na segunda avaliação a leitura foi feita na folha bandeira. Para avaliação da severidade da brusone nas folhas foi utilizada a escala de 0 a 9 proposta por Leung *et al.*, (1988) e modificada através da inclusão da nota 4 conforme sugerido por Prabhu & Filippi, (2006).

Utilizando o mesmo procedimento, avaliou-se também 60 plantas na bordadura inoculada artificialmente. Estas amostras foram identificadas como “Epagri 109-bordadura” na análise estatística. A segunda avaliação na fase vegetativa ocorreu 30 dias após a inoculação da bordadura. O objetivo desta avaliação foi confirmar os resultados obtidos na primeira avaliação, feita 10 dias antes. As notas de cada planta analisada em cada tratamento foram submetidas a uma análise não-paramétrica pelo teste de Friedman (Friedman, 1937). O teste de Friedman é usado quando o mesmo parâmetro (resistência a doença) é medido em diferentes condições (ex. repetições experimentais em datas diferentes e reavaliações ao longo do tempo) nos mesmos materiais, neste caso, as multilinhas e controles. O teste é uma alternativa à análise de variância (ANOVA) para medidas qualitativas ou semi-quantitativas, que não obedecem a uma distribuição normal. Os valores estimados para cada acesso em cada avaliação foram comparados par-a-par com base no valor estimado de F mínimo para separação de médias pelo teste de Friedman, utilizando o software MedCalc (MedCalc Statistical Software version 12.7.7 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <http://www.medcalc.org>; 2013). Os resultados das duas avaliações foram também submetidos a uma análise não-paramétrica de dados pareados para verificar se a mediana das diferenças entre notas em cada tratamento foi significativa, através do Wilcoxon Signed Rank Test. Finalmente, uma análise combinada das duas avaliações também foi realizada através de Análise de Variância computando para cada par de dados (avaliação 1 e avaliação 2) uma estimativa da hipotenusa do triângulo formado no planocartesiano pelas notas das duas

avaliações realizadas. A hipotenusa foi calculada utilizando a seguinte fórmula:

$$Hip = \sqrt{(A1^2 + A2^2)} \text{ onde: Hip = hipotenusa, A1 = avaliação 1; A2 = avaliação 2.}$$

A avaliação da severidade da brusone na panícula foi feita na fase de maturação do grão, atribuindo-se notas conforme a escala: 0 = sem nenhuma infecção; 1 = menos de 1% das panículas infectadas; 3 = de 1% a 5% das panículas infectadas; 5 = de 6% a 25% das panículas infectadas; 7 = de 26% a 50% de panículas infectadas e 9 = de 51% a 100% de panículas infectadas (Embrapa, 1977). Os dados foram analisados utilizando os Modelos Lineares Generalizados (GLM) do SAS® (SAS Institute, 2011) considerando as 240 repetições por tratamento do ensaio (avaliação de 60 plantas por tratamento x quatro repetições) e as 60 repetições da bordadura (Figura 1E). Os valores estimados para cada acesso foram comparadas pelo teste de Dunnet (1955 e 1964) a 5% de probabilidade com os valores estimados da testemunha suscetível do ensaio Epagri 109, bem como com o valor estimado de Epagri 109-bordadura (inoculado).

### **Estimativa de recuperação do genoma do genitor recorrente**

Entre as 26 linhagens quase-isogênicas (RC<sub>3</sub>F<sub>5</sub>) que foram selecionadas com base na análise de características agrônômicas em ensaios de campo, as duas mais promissoras, com características agrônômicas similares às do genitor recorrente e que apresentam potencial de lançamento comercial com multilinha ou como cultivar, foram submetidas a estimativas de recuperação do genoma do genitor recorrente utilizando marcadores moleculares SNPs. O DNA genômico de cada linhagem foi extraído conforme protocolo descrito por Ferreira & Grattapaglia (1996). Foram genotipadas duas linhagens e seus respectivos genitores recorrentes utilizando um *beadchip* de DNA com 4300 marcadores SNPs (Laboratório de Genética, Embrapa Cenargen). Os dados de genotipagem foram utilizados para estimar a percentual de recuperação do genoma do genitor recorrente nas duas linhagens, além do nível de homozigose das linhagens.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Teste de isogenia ou quase-isogenia pela avaliação das linhagens de arroz irrigado para características agronômicas no campo.**

A produtividade média de grãos e por ano agrícola das 25 linhagens e seus respectivos genitores recorrentes é mostrada na Tabela 4. As linhagens avaliadas nos 25 ambientes não diferiram significativamente para produtividade de grãos em  $\text{Kg ha}^{-1}$  dos seus respectivos genitores recorrentes pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade. As diferenças não são significativas tanto na média dos três anos de testes (PRODM) como em cada um dos anos individualmente (PROD2006/07, PROD2007/08 e PROD2008/09).

Os três genitores (BRS Formoso, Diamante e CNA 8502), utilizados na conversão das linhagens para resistência à brusone, apresentam o mesmo nível de produtividade em condições de campo. Observou-se, desta forma, que durante o processo de conversão das linhagens para o genoma do genitor recorrente que a produtividade esperada nas novas linhagens desenvolvidas foi recuperada pela metodologia adotada. Cada linhagem apresentou elevada produtividade de grãos, similar à produtividade dos seus genitores recorrentes. Os CV% de produtividade de grãos variaram de 9,81% a 13,44% evidenciando uma boa precisão para os ensaios conduzidos em campo, considerando-se que produtividade é um característica de baixa herdabilidade, altamente influenciada pelo meio ambiente.

Uma única exceção foi observada. A análise de variância incluindo a linhagem CNA 10896 indicou que esta linhagem apresentou produtividade de grãos na média dos 12 ambientes de avaliação (PRODM) estatisticamente inferior a BRS Formoso, o seu genitor recorrente, com exceção do ano agrícola 2008/2009 (PROD2008/09) onde não foi observada diferença significativa. Esta menor produtividade pode ter sido causada pelo ciclo muito longo da linhagem CNA 10896 (Tabela 6), com floração média de 109 dias, evidenciando a existência de segregação transgressiva para ciclo neste cruzamento.

**Tabela 4.** Produtividade média de grãos das linhagens resistentes à brusone e dos respectivos genitores recorrentes na média dos três anos agrícolas (PRODM), nos anos agrícolas individualmente: 2006-07 (PROD2006-07), 2007-08 (PROD2007-08) e 2008-09 (PROD2008-09)

<b>Linhagem</b>	<b>PRODM*</b>	<b>PROD 2006/07*</b>	<b>PROD 2007/08*</b>	<b>PROD 2008/09*</b>
CNA10903	7052abc	6491 abc	7222 abc	7239 abc
CNA10902	7045abc	7095 abc	6700 abc	7480 abc
CNA10901	6989 abc	6910 abc	6737 abc	7397 abc
CNA10899	6954 abc	6584 abc	6891 abc	7318 abc
CNA10893	6812 abc	6811 abc	6760 abc	6884 abc
CNA10898	6713 abc	6678 abc	6718 abc	6733 abc
CNA10894	6647 abc	6320 abc	6577 abc	6988 abc
CNA10891	6594 abc	6622 abc	6266 abc	7024 abc
CNA10904	6552 abc	6024 abc	6776 abc	6638 abc
CNA10897	6498 abc	6286 abc	6488 abc	6671 abc
CNA10910	6459 abc	6108 abc	6466 abc	6712 abc
CNA10927	6415 abc	6249 abc	6431 abc	6518 abc
CNA10889	6324 abc	6115 abc	6305 abc	6508 abc
CNA10906	6313 abc	5875 abc	6561 abc	6301 abc
CNA10905	6289 abc	5812 abc	6268 abc	6675 abc
CNA10926	6271 abc	5833 abc	6297 abc	6564 abc
CNA10911	6216 abc	5182 abc	6504 abc	6596 abc
CNA10924	6190 abc	5875 abc	6201 abc	6410 abc
CNA10895	6189 abc	6265 abc	6110 abc	6243 abc
CNA10914	6170 abc	5735 abc	6141 abc	6537 abc
CNA10918	6136 abc	5723 abc	6095 abc	6503 abc
CNA10923	6071 abc	5533 abc	6075 abc	6470 abc
CNA10916	6052 abc	5717 abc	6154 abc	6163 abc
CNA10913	5927 abc	5450 abc	5766 abc	6504 abc
CNA10921	5725 abc	5173 abc	5868 abc	5944 abc
Diamante	6352 a	5999 a	6304 a	6682 a
CNA 8502	6106 b	5942 b	5893 b	6524 b
BRS Formoso	6439 c	6419 c	6264 c	6695 c
Média	6411	6101	6387	6676
CV%	12,21	10,61	13,44	11,47
F				
CNA10896	5217	5439	5820	6745 a
BRS Formoso	6959 a	6952 a	6845 a	6952 a
Média	6787	6577	7185	6390
CV%	11,13	9,81	11,95	11,92

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente dos genitores recorrentes pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade. PRODM = Média de 25 e 12 ensaios respectivamente; PROD 2006/07 = Média de 6 e 5 ensaios; PROD 2007/08 = Média de 11 e 4 ensaios; PROD 2008/09 = Média de 8 e 3 ensaios.

A Tabela 5 apresenta os dados de floração média (FLO), altura de planta (ALT) e acamamento (ACA). Com exceção da CNA10896, todas as linhagens oriundas da cultivar BRS Formoso (CNA10889, CNA10891, CNA10893, CNA10894, CNA10895, CNA10896,

CNA10897, CNA10898, CNA10899, CNA10901, CNA10902, CNA10903 e CNA10904)

apresentaram ciclo médio com floração em torno de 92 dias.

**Tabela 5.** Média das características floração média (FLO), altura de planta (ALT) e acamamento (ACA) avaliadas nos genitores e nas linhagens em ensaios de campo nos anos agrícolas 2007/08, 2008/2009 e 2009/2010.

<b>Linhagem/cultivar</b>	<b>FLO (dias)</b>	<b>ALT (cm)</b>	<b>ACA (1-9)</b>
CNA10889	94 c	98 c	1
CNA10891	94 c	95 c	1
CNA10893	92 c	97 c	1
CNA10894	93 c	100 c	1
CNA10895	95 c	107 c	1
CNA10896	109d	97 c	1
CNA10897	93 c	95 c	1
CNA10898	93 a c	95 c	1
CNA10899	92 a c	94 c	1
CNA10901	91 a c	97 c	1
CNA10902	93 c	97 c	1
CNA10903	93 c	101 c	1
CNA10904	94 c	100 abc	1
CNA10905	94 a	91 a	1
CNA10906	93 a	98 a	1
CNA10910	85 b	96 b	1
CNA10911	85 b	101 b	1
CNA10913	87b	102 b	1
CNA10914	86 b	102 b	1
CNA10916	86 b	99 b	1
CNA10918	82 b	99 b	1
CNA10921	84 b	95 b	1
CNA10923	84 b	97 b	1
CNA10924	82 b	97 b	1
CNA10926	82 b	107 b	1
CNA10927	86 b	103 b	1
Diamante	93 a	93 a	1
CNA 8502	83 b	102 b	1
BRS Formoso	92 c	99 c	1
Média	90	99	
CV%	1,98	5,23	

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente do respectivo genitor recorrente pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade.

As linhagens CNA10905 e CNA10906 apresentaram floração média semelhante ao seu genitor recorrente, a cultivar Diamante. Das linhagens oriundas da CNA 8502 apenas a

CNA10913 com 87 dias até a floração média, diferiu significativamente do seu genitor recorrente (Tabela 5). Todas as linhagens apresentaram plantas de porte baixo semelhantes aos dos genitores recorrentes com altura variando de 91 a 107 cm e resistência ao acamamento, condição indispensável para facilitar a colheita e manutenção das boas qualidades industriais e culinárias dos grãos (Tabela 5).

Uma das principais características levadas em consideração para o lançamento de uma linhagem como cultivar é a qualidade industrial e culinária dos grãos, já que o padrão de qualidade determina o preço do produto pago aos produtores e a aceitação pelos consumidores finais. De maneira geral o consumidor brasileiro exige que o arroz beneficiado tenha as seguintes características: grãos translúcidos, tipo longo-fino, teor de amilose intermediário (entre 23% e 27% de amilose) a alto ( $\geq 28\%$  de amilose), temperatura de gelatinização intermediária a baixa e que apresentem os grãos soltos após o cozimento. As linhagens avaliadas apresentaram grãos do tipo longo-fino com rendimento de grãos inteiros e total superiores a 50% e 65% (padrão estabelecido para a seleção das linhagens), respectivamente (Tabela 6). Apenas as linhagens CNA 10895 e CNA 10904 apresentaram rendimento de grãos inteiros abaixo de 50%. CNA 10904 também apresentou rendimento total abaixo de 65%.

As linhagens CNA 10906, CNA 10910, CNA 10918 e CNA 10921 apresentaram teores de amilose inferiores a 23% (baixo teor de amilose). As demais apresentaram teores variando de 23 a 30%. As linhagens apresentaram uma ampla variação com temperaturas de gelatinização baixa (notas 6 e 7), intermediária (notas 4 e 5) e alta (notas 2 e 3). No tocante ao centro branco, as linhagens CNA10891, CNA10894 e CNA10896, todas oriundas da BRS Formoso, possuem grãos praticamente translúcidos. Todas as linhagens apresentaram grãos soltos após a cocção, característica esta demandada pelo mercado consumidor brasileiro.

Observa-se, portanto, que a maioria das linhagens desenvolvidas não diferem significativamente dos respectivos genitores recorrentes com relação às características agronômicas, embora algumas possuem características relacionadas à qualidade de grãos que permitem diferenciá-las. Estes dados foram levados em consideração na seleção final das linhagens mais promissoras para a construção de multilinhas. As seis linhagens mais semelhantes (quase-isogênicas) aos respectivos genitores recorrentes foram selecionadas para este fim (CNA10901, CNA10902, CNA10903, CNA10905, CNA10906, CNA10891).

**Tabela 6.** Rendimento de grãos inteiros (INT%) e total (TOT%), teor de amilose (TA), temperatura de gelatinização (TG), centro branco (CB) e cocção (COC) das linhagens e seus genitores recorrentes.

Cult./linh.	CRUZAMENTO	INT%	TOT%	TA	TG	CB	COC*
CNA10889	BRS Formoso/CNAi 9022////BRS Formoso	58	68	28	4,5	3,0	S
CNA10891	BRS Formoso/CNAi 9022////BRS Formoso	52	68	29	3,9	2,0	S
CNA10893	BRS Formoso/CNAi 9022////BRS Formoso	58	66	26	5,7	3,0	S
CNA10894	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4////BRS Formoso	53	68	30	4,9	2,0	MS
CNA10895	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4////BRS Formoso	37	71	30	5,2	3,0	S
CNA10896	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4////BRS Formoso	60	67	28	4,8	2,0	S
CNA10897	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	63	69	29	3,3	3,0	MS
CNA10898	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	57	67	29	3,6	3,0	MS
CNA10899	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	61	68	29	3,8	2,5	S
CNA10901	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5////BRS Formoso	56	68	30	4,1	3,0	S
CNA10902	BRS Formoso/Oryzica 1////BRS Formoso	55	66	29	3,0	3,0	S
CNA10903	BRS Formosos/5287////BRS Formoso	59	67	30	3,0	3,0	S
CNA10904	BRS Formosos/5287////BRS Formoso	46	63	29	3,4	4,5	S
CNA10905	Diamante/Oryzica Llanos 4////Diamante	62	69	23	6,1	3,0	MS
CNA10906	Diamante/5287////Diamante	62	70	22	5,6	3,5	MS
CNA10910	CNA 8502/CNAi 9022////CNA 8502	66	70	22	5,4	3,5	MS
CNA10911	CNA 8502/CNAi 9022////CNA 8502	65	70	24	5,6	3,5	MS
CNA10913	CNA 8502/CNAi 9022////CNA 8502	60	66	24	4,8	2,5	MS
CNA10914	CNA 8502/CNAi 9029////CNA 8502	65	70	27	6,0	3,5	S
CNA10916	CNA 8502/CNAi 9029////CNA 8502	66	70	26	6,8	3,5	MS
CNA10918	CNA 8502/Oryzica Llanos 4////CNA 8502	62	69	22	5,0	3,5	S
CNA10921	CNA 8502/Oryzica Llanos 4////CNA 8502	66	70	22	5,0	3,0	MS
CNA10923	CNA 8502/Oryzica Llanos 5////CNA 8502	66	69	26	6,2	3,5	MS
CNA10924	CNA 8502/Oryzica Llanos 5////CNA 8502	64	71	25	6,6	4,0	MS
CNA10926	CNA 8502/Oryziaca 1////CNA 8502	63	70	25	6,6	4,0	S
CNA10927	CNA 8502/5287////CNA 8502	63	70	27	5,2	3,0	S
Diamante	Testemunha	65	70	22	6,1	3,0	S
CNA 8502	Testemunha	62	68	22	5,4	3,5	S
BRS Formoso	Testemunha	57	68	30	3,8	2,0	S

\* S = solto; MS = muito solto



## **Avaliação das linhagens de arroz irrigado para resistência à brusone em condições controladas.**

Os resultados indicaram que a distribuição das notas atribuídas aos 34 acessos de arroz teve uma prevalência de notas classificadas como resistentes (notas de 0 a 3) em relação aos suscetíveis (notas 4 a 9). Os testes de normalidade utilizados corroboraram esta observação (assimetria = -0,5996,  $p < 0,0001$ ; curtose = -0,9079,  $p < 0,0001$ ); Kolmogorov -Smirnov  $D = 0,1782$ ,  $p < 0,0001$ , rejeita a normalidade). O teste não paramétrico indicou que não há diferença significativa entre as notas de cada acesso de arroz nas repetições experimentais ( $F = 0,3033$ , valor  $p = 0,82303$ ). Foram detectadas diferenças significativas, no entanto, entre o perfil de resistência das linhagens e seus respectivos genitores recorrentes (BRS Formoso, Diamante e CNA 8502) (Tabela 7).

As linhagens derivadas de BRS Formoso mostraram um perfil de resistência significativamente diferente do seu genitor recorrente ( $F = 55,745$ ,  $p < 0,00001$ ) (Tabela 7). Nas inoculações realizadas em condições controladas com as dez raças de *M. oryzae*, observou-se diferentes padrões de resistência nas 26 linhagens avaliadas (Tabela 8). As linhagens originadas do genitor recorrente BRS Formoso foram as que apresentaram maior ganho de resistência através da incorporação de genes que condicionam resistência a um maior número de raças. Todas as 13 linhagens derivadas da BRS formoso tiveram ganho de resistência para pelo menos duas novas raças de *M. oryzae* em comparação ao genitor recorrente BRS Formoso. As linhagens CNA10901, CNA10902 e CNA10903 mostraram-se resistentes a nove das dez raças inoculadas, sendo suscetíveis apenas à raça IC-1. Destacaram-se também a CNA 10895, resistente a oito raças, além de CNA 10894 e CNA 10904, resistentes a sete raças e as linhagens CNA 10889, CNA 10891 e CNA 10893, resistentes a seis raças. A linhagem CNA10896 (ciclo longo) apresentou resistência a cinco raças, IC-1, ID-1, IA-65, IA-33 e IB-41.

**Tabela 7.** Descrição dos genitores recorrentes e fontes de resistência usados para desenvolver linhagens quase-isogênicas de arroz resistentes a *Magnaporthe oryzae*. As linhagens quase-isogênicas são listadas sob o nome de cada parental recorrente (BRS Formoso, Diamante e CNA 8502). O “código” identifica sequencialmente as linhagens quase-isogênicas derivadas de cada um dos pais recorrente. O valor de “ranking” é uma estimativa da média usada para classificar as linhagens e diferenciar aquelas cujas notas da interação fenotípica são significativamente diferentes. O valor F é estimado pelo teste de Friedman (F).

Linhagem	Identificação	Código	Ranking	Sig. diferente (p< 0,01)	*F (GL) (p-value)
<b>BRS For.</b>	<b>Genitor Recorrente</b>	1	106.125	3 4 5 6 7 10 11 12 13 14	55.745 (13 d.f.)
CNA10889	BRS For./CNAi 9022////BRS For.	2	84.750	6 11 12 13	(p<0.00001)
CNA10891	BRS For./CNAi 9022////BRS For.	3	74.125	1	
CNA10893	BRS For./CNAi 9022////BRS For.	4	78.250	1 13	
CNA10894	BRS For./ Ory. Ll 4 ////BRS For.	5	72.375	1	
CNA10895	BRS For./ Ory. Ll 4 ////BRS For.	6	59.750	1 2 8 9 10	
CNA10896	BRS For./ Ory. Ll 4 ////BRS For.	7	79.250	1 13	
CNA10897	BRS For./ Ory Ll 5 ////BRS For.	8	87.250	6 11 12 13	
CNA10898	BRS For./ Ory Ll 5 ////BRS For.	9	87.875	6 11 12 13 14	
CNA10899	BRS For./ Ory Ll 5 ////BRS For.	10	82.500	1 6 11 12 13	
CNA10901	BRS For./ Ory Ll 5 ////BRS For.	11	59.125	1 2 8 9 10	
CNA10902	BRS For./Oryzica 1////BRS For.	12	58.125	1 2 8 9 10	
CNA10903	BRS For.s/5287////BRS For.	13	55.500	1 2 4 7 8 9 10	
CNA10904	BRS For.s/5287////BRS For.	14	65.000	1 9	
<b>CNA 8502</b>	<b>Genitor Recorrente</b>	1	76.250	3 5 6 7 8 9 10 12	104.179 (11 d.f.)
CNA10910	CNA 8502/CNAi 9022////CNA 8502	2	61.625	11 12	(p<00001)
CNA10911	CNA 8502/CNAi 9022////CNA 8502	3	57.500	1 11 12	
CNA10913	CNA 8502/CNAi 9022////CNA 8502	4	73.625	7 9 10 12	
CNA10914	CNA 8502/CNAi 9029////CNA 8502	5	57.250	1 11 12	
CNA10916	CNA 8502/CNAi 9029////CNA 8502	6	57.500	1 11 12	
CNA10918	CNA 8502/ Ory. Ll. 4 ////CNA 8502	7	54.625	1 4 11 12	
CNA10921	CNA 8502/ Ory. Ll. 4 ////CNA 8502	8	57.250	1 11 12	
CNA10923	CNA 8502/ Ory Ll 5 ////CNA 8502	9	54.250	1 4 11 12	
CNA10924	CNA 8502/ Ory Ll 5 ////CNA 8502	10	45.125	1 4 11 12	
CNA10926	CNA 8502/Oryziaca 1////CNA 8502	11	80.875	2 3 5 6 7 8 9 10 12	
CNA10927	CNA 8502/5287////CNA 8502	12	104.125	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11	
<b>Diamante</b>	<b>Genitor Recorrente</b>	1	n.s.		14.054 (2 d.f.)
CNA10905	Diamante/ Ory. Ll. 4 ////Diamante	2	n.s.		(0.25141)
CNA10906	Diamante/5287////Diamante	3	n.s.		
CNAi 9022	Fonte de resistência à <i>M. oryzae</i>				
Ory. Ll. 5	Fonte de resistência à <i>M. oryzae</i>				
Ory. Ll. 4	Fonte de resistência à <i>M. oryzae</i>				
Oryzica 1	Fonte de resistência à <i>M. oryzae</i>				
5287	Fonte de resistência à <i>M. oryzae</i>				

BRS For. = BRS Formoso; Ory. Ll. 4 = Oryzica Llanos 4; Ory Ll 5 = Oryzica Llanos 5

As linhagens derivadas de CNA 8502 também apresentaram um perfil de resistência significativamente diferente do seu genitor recorrente (F = 104,179, p < 00001) (Tabela 7).

CNA 8502 é resistente a 5 raças de *M. oryzae* ( IA-1, ID-1, IA-65, AI-33 e AI-41) (Tabela 8). As linhas derivadas da CNA 8502, no entanto, variaram no perfil de resistência, de nenhuma resistência (CNA 10927 ) até a resistência a oito raças de *M. oryzae* (CNA 10916, CNA 10918, CNA 10921, CNA 1093 e CNA 10924). É importante mencionar que uma linhagem mostrando nenhuma resistência a vários patótipos, como a CNA 10927, é interessante para a realização de estudos genéticos de interação de arroz com *M. oryzae*. A linhagem “supersucetível” é importante, por exemplo, em experimentos concebidos para identificar regiões do genoma associadas com o controle da doença, como por exemplo, em mapeamento de QTL para emprego em seleção assistida (Ferreira e Grattapaglia , 1996).

As linhagens derivadas de Diamante não mostraram um perfil de resistência significativamente diferente do seu genitor recorrente ( $F = 14,054$ ,  $p = 0,25141$ ). As linhagens CNA10905 e CNA10906 tiveram ganho de resistência apenas à raça ID-9. A cultivar Diamante é resistente a cinco raças de *M. oryzae* (IC-1, IA-65, ID-1, IA-33 E IB-41) (Tabela 8).

Foi observado ainda que as fontes de resistência Oryzica Llanos 4 e Oryzica 1 mostraram-se resistentes a todas as 10 raças testadas (Tabela 8). O Oryzica Llanos 5, considerada a cultivar mais estável para resistência à brusone na Colômbia, teve sua resistência quebrada neste estudo pelas raças IA-1, IC-1, IA-41 e IA-9. Correa-Victoria and Zeigler (1993) inocularam Oryzica Llanos 5 com 220 isolados oriundos de seis linhagens do International Rice Research Institute (IRRI) e constataram a resistência a todos eles. Esta cultivar é derivada de quatro fontes distintas de resistência à brusone, foi obtida através de métodos convencionais de melhoramento e a sua resistência continua aparentemente efetiva até hoje na Colômbia (Correa-Victoria et al., 2004). Já as fontes de resistência CNAi 9022 e 5287 foram resistentes a cinco (ID-1, ID-9, IB-1, IA-41 e IB-41) e duas (ID-9 e IB-41) raças, respectivamente (Tabela 8).

**Tabela 8.** Reação de suscetibilidade (S) e resistência (R) a raças de *M. oryzae* em linhagens de arroz irrigado, em condições de casa telada, através da análise visual do fenótipo da interação patógeno-hospedeiro.

Cult./linh.	Cruzamento	IA-1	IC-1	ID-1	IA-65	ID-9	IB-1	IA-33	IA-41	IA-9	IB-41
<b>BRS Formoso</b>	<b>Testemunha (Genitor Recorrente)</b>	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R
CNA10889	BRS Formoso/CNAi 9022///BRS Formoso	S	R	R	R	R	S	R	S	S	R
CNA10891	BRS Formoso/CNAi 9022///BRS Formoso	S	R	R	R	R	S	R	S	S	R
CNA10893	BRS Formoso/CNAi 9022///BRS Formoso	R	S	R	S	R	R	S	R	S	R
CNA10894	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4///BRS Formoso	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R
CNA10895	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4///BRS Formoso	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R
CNA10896	BRS Formoso/Oryzica Llanos 4///BRS Formoso	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R
CNA10897	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5///BRS Formoso	R	S	S	S	R	S	R	S	S	R
CNA10898	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5///BRS Formoso	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R
CNA10899	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5///BRS Formoso	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R
CNA10901	BRS Formoso/Oryzica Llanos 5///BRS Formoso	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
CNA10902	BRS Formoso/Oryzica 1///BRS Formoso	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
CNA10903	BRS Formosos/5287///BRS Formoso	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
CNA10904	BRS Formosos/5287///BRS Formoso	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R
<b>CNA 8502</b>	<b>Testemunha (Genitor Recorrente)</b>	R	S	R	R	S	S	R	R	S	S
CNA10910	CNA 8502/CNAi 9022///CNA 8502	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10911	CNA 8502/CNAi 9022///CNA 8502	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10913	CNA 8502/CNAi 9022///CNA 8502	R	S	R	R	S	R	S	S	R	S
CNA10914	CNA 8502/CNAi 9029///CNA 8502	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10916	CNA 8502/CNAi 9029///CNA 8502	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10918	CNA 8502/Oryzica Llanos 4///CNA 8502	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10921	CNA 8502/Oryzica Llanos 4///CNA 8502	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10923	CNA 8502/Oryzica Llanos 5///CNA 8502	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10924	CNA 8502/Oryzica Llanos 5///CNA 8502	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
CNA10926	CNA 8502/Oryziaca 1///CNA 8502	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R
CNA10927	CNA 8502/5287///CNA 8502	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>Diamante</b>	<b>Testemunha (Genitor Recorrente)</b>	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R
CNA10905	Diamante/Oryzica Llanos 4///Diamante	S	R	R	R	R	S	R	S	S	R
CNA10906	Diamante/5287///Diamante	S	R	R	R	R	S	R	S	S	R
<b>CNAi 9022</b>	<b>Testemunha (Genitor Doador)</b>	S	S	R	S	R	R	S	R	S	R
<b>Oryzica Llanos 5</b>	<b>Testemunha (Genitor Doador)</b>	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R
<b>Oryzica Llanos 4</b>	<b>Testemunha (Genitor Doador)</b>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<b>Oryzica 1</b>	<b>Testemunha (Genitor Doador)</b>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<b>5287</b>	<b>Testemunha (Genitor Doador)</b>	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R

R = Nota de severidade de 0 a 3.; S = Nota de severidade de 4 a 9.

Entre os genitores recorrentes, a cultivar BRS Formoso apresentou reação de resistência apenas às raças ID-9 e IB-41. Esta cultivar, amplamente plantada em condições de arroz irrigado nos Estados de Goiás e Tocantins, há alguns anos foi substituída das lavouras

devido a quebra de resistência à brusone. A variedade Diamante, amplamente cultivada na região Nordeste do Brasil, mostrou-se resistente a cinco raças, IC-1, ID-1, IA-65, IA-33 e IB-41. Já o acesso CNA 8502 é uma linhagem elite desenvolvida pelo programa de melhoramento da Embrapa Arroz e Feijão, apresenta alta produtividade de grãos e elevada resistência à mancha dos grãos, e mostrou-se resistente às raças IA-1, ID-1, IA-65, IA-33 e IA-41 (Tabela 8).

### **Construção e avaliação de multilinhas de arroz irrigado para resistência à brusone no campo**

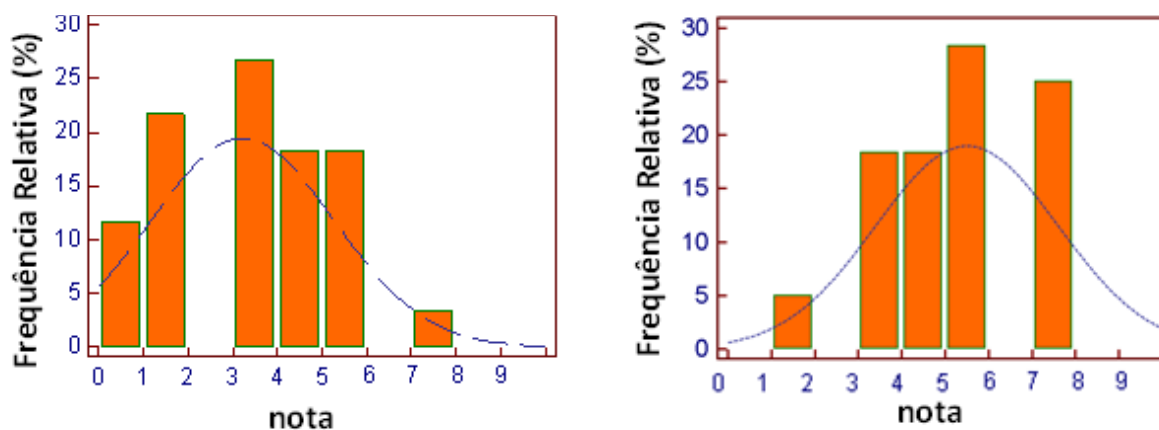
As avaliações de características agronômicas e de qualidade de grãos, assim como as mensurações das reações fenotípicas às 10 raças de *M. oryzae* em condições controladas, foram usadas para selecionar as linhagens com melhores atributos para a construção de multilinhas para resistência à brusone (Tabela 9). Foram selecionadas seis linhagens: CNA10901, CNA10902, CNA10903, CNA10905, CNA10906, CNA10891. Estas seis linhagens foram usadas na construção de quatro multilinhas, compostas por duas linhagens cada uma. A linhagem CNA10891 participou da composição de 3 multilinhas por possuir excelente qualidade de grãos, boas características agronômicas, alta semelhança para características agronômicas com o genitor recorrente e por acumular resistência a 6 raças de *M. oryzae* (Tabela 9). A seleção das demais linhagens seguiu estes mesmos princípios. As linhagens selecionadas para a construção de multilinhas foram CNA10901 e CNA10891 (Multilinha 1, genitor recorrente BRS Formoso), CNA10891 e CNA10902 (Multilinha 2, genitor recorrente BRS Formoso), CNA10891 e CNA10903 (Multilinha 3, genitor recorrente BRS Formoso), e CNA10905 e CNA10906 (Multilinha 4, genitor recorrente Diamante). As quatro multilinhas, as seis linhagens usadas no seu desenvolvimento e três testemunhas (BRS Formoso, Diamante e EPAGRI 109) foram avaliadas para resistência à brusone em ensaio de

campo no Formoso do Araguaia, Tocantins, no ano agrícola 2011/2012. Epagri 109 é uma variedade com alta suscetibilidade à brusone do arroz.

**Tabela 9.** Multilinhas e linhagens utilizadas na avaliação da resistência à brusone com inoculação artificial da bordadura em condições de campo no Vale do Araguaia.

Nº	Tratamento	Cruzamento
01	CNA10901 +CNA10891	(BRS Formoso////Oryzica Llanos 5) + (BRS Formoso////CNAi 9022)
02	CNA10902 +CNA10891	(BRS Formoso////Oryzica 1) + (BRS Formoso////CNAi 9022)
03	CNA10903 +CNA10891	(BRS Formoso////5287) + (BRS Formoso////CNAi 9022)
04	CNA10905 +CNA10906	(Diamante////Oryzica Llanos 4) + (Diamante////5287)
05	CNA10901	(BRS Formoso////Oryzica Llanos 5)
06	CNA10902	(BRS Formoso////Oryzica 1)
07	CNA10903	(BRS Formoso////5287)
08	CNA10905	(Diamante////Oryzica Llanos 4)
09	CNA10906	(Diamante////5287)
10	CNA10891	(BRS Formoso////CNAi 9022)
11	BRS Formoso	Genitor recorrente
12	Diamante	Genitor recorrente
13	EPAGRI 109	Genitor recorrente

Os resultados indicaram, inicialmente, que a inoculação artificial da bordadura com 15 isolados do patógeno possibilitou o desenvolvimento de sintomas de suscetibilidade à brusone em volta do experimento e a formação de esporos para infecção secundária das parcelas do experimento a partir do seu perímetro. A distribuição de notas na bordadura na primeira e na segunda avaliação é apresentada na Figura 2. Observa-se que a maior parte das notas na Avaliação 1 da bordadura encontra-se acima da mediana 3,0, enquanto na Avaliação 2 acima da mediana 5,0.



**Figura 2.** Distribuição de notas de sintomas de brusone observadas em 60 amostras aleatórias obtidas na bordadura do experimento (Epagri 109-bordadura), em duas avaliações separadas por 10 dias. Avaliação 1 (esquerda); Avaliação 2 (direita).

Estes dados permitiram observar que o emprego de multilinhas teve um impacto significativo no desenvolvimento de epidemia de brusone, restringindo o seu desenvolvimento. Apesar das plantas infectadas com brusone na bordadura do experimento produzirem inóculo secundário para a infecção das multilinhas e linhagens plantadas no experimento, não se observou o alastramento epidêmico da doença para as parcelas experimentais. As notas dadas aos acessos em cada parcela experimental são significativamente diferentes entre a primeira e a segunda avaliação (Wilcoxon Rank Test  $z=5.76$ ;  $p<0.0001$ ). Na primeira avaliação, as notas da bordadura inoculada com mistura de raças do patógeno (mediana= 3.0) são significativamente menores do que as da segunda avaliação (mediana= 5.0) (Wilcoxon Rank Test  $z= 4.78$ ;  $p<0.0001$ ), indicando um progresso da doença na bordadura no espaço de tempo entre as duas avaliações. Observou-se ainda que as notas da variedade Epagri 109-bordadura (plantada na bordadura) são significativamente maiores (suscetíveis) do que as notas observadas nas parcelas experimentais contendo a mesma variedade no experimento (Tabela 10). Isto foi observado tanto na avaliação 1 como na avaliação 2. Isto indica que o emprego de um mosaico de multilinhas e linhagens no experimento minimizou o impacto da doença. Em outras palavras, a mesma variedade, que

apresenta alta suscetibilidade na bordadura inoculada, praticamente não desenvolveu sintomas da doença ao ser plantada junto a parcelas com linhagens e multilinhas resistentes ao patógeno no interior do experimento.

Em cada avaliação foi também possível identificar linhagens e multilinhas que apresentaram notas significativamente diferentes entre si. Por exemplo, nas avaliações 1 e 2 (Tabela 10), a multilinha 3 (CNA10903 +CNA10891) destaca-se entre os acessos mais resistentes à brusone, diferenciando-se significativamente da Multilinha 2 (CNA10902 +CNA10891), Multilinha 4 (CNA10905 +CNA10906), CNA10901, CNA10903, CNA10905, BRSFormoso e Epagri 109-bordadura.

Os dados também foram avaliados pela análise combinada das notas da primeira e da segunda avaliação. Isto foi feito pela estimativa da hipotenusa do triângulo formado no plano cartesiano pelas notas das duas avaliações realizadas (Tabela 11). Verificou-se nesta análise que a incidência de brusone na folha na cultivar Epagri 109-bordadura aumentou da primeira (2,90) para a segunda (4,95) avaliação, enquanto que no ensaio ocorreu uma pequena redução na maioria dos tratamentos e na média da Epagri 109 na parcela, que passou de 2,57 para 1,62. Isto provavelmente ocorreu devido a um efeito tampão da presença de multilinhas e as linhagens resistentes no experimento, em grande número neste ensaio, contribuindo para reduzir a taxa de infecção da doença nos tratamentos suscetíveis. Observou-se, portanto, aumento da nota do fenótipo de interação na bordadura (Epagri 109-bordadura) enquanto houve diminuição da nota do fenótipo de interação no experimento. Isto foi corroborado pelas notas de brusone na folha da cultivar Epagri 109-bordadura (Tabela 9) e nos valores estimados de hipotenusa (Tabela 11). Os valores de F na Tabela 11 fornecem uma medida da acurácia das avaliações.



**Tabela 10.** Diferenciação de multilinhas e linhagens de arroz para resistência à brusone em experimento de campo, avaliado em dois momentos na fase vegetativa (Avaliação 1 e Avaliação 2). A bordadura do experimento (Epagri 109-bordadura) foi inoculada com uma mistura de 15 raças do patógeno e o fenótipo da interação entre *M. oryzae* e os acessos avaliado por uma escala de notas (0-9). Os valores de F foram obtidos pelo Teste de Friedman.

nº	Linhagem/Multilinha	Valor de F (Avaliação 1)	Valor de F (Avaliação 2)	Significativamente diferente (p-value < 0,01)***
1	CNA10901 +CNA10891	8.2562	6.7167	2 5 7 <b>8</b> 9 10 11 12 13 <b>14</b>
2	CNA10902 +CNA10891	6.5521	6.2458	1 <b>3 4 6 14</b>
3	CNA10903 +CNA10891	7.9062	7.1354	<b>2</b> 4 5 7 8 11 <b>14</b>
4	CNA10905 +CNA10906	8.8604	7.5958	<b>2</b> 3 5 7 8 9 10 11 <b>12 13 14</b>
5	CNA10901	6.3875	7.0563	1 3 4 6 <b>14</b>
6	CNA10902	8.7896	7.4833	<b>2</b> 5 7 8 9 10 11 12 13 <b>14</b>
7	CNA10903	5.9229	6.8646	1 3 4 6 <b>8</b> 9 10 12 13 <b>14</b>
8	CNA10905	6.925	7.7479	1 3 4 6 <b>7 14</b>
9	CNA10906	7.1667	7.1646	1 4 6 7 <b>14</b>
10	CNA10891	7.225	7.4854	1 4 6 7 <b>14</b>
11	BRS Formoso	6.6083	6.8646	1 3 4 6 <b>14</b>
12	Diamante	7.0271	6.6708	1 <b>4 6 7 14</b>
13	Epagri 109	7.1958	6.8042	1 4 6 7 <b>14</b>
14	Epagri 109-bordadura	10.1771	13.1646	<b>1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13</b>
F experimental (13 g.l.)		22.99	55.8	

\*Epagri 109-bordadura= variedade de arroz usada na bordadura do experimento e inoculada com mistura de 15 raças de *M. oryzae*.

\*\*Valor de F para declarar diferença significativa mínima entre acessos= 0.8862 (Avaliação 1) e 0.8237 (Avaliação 2)

\*\*\*Cada número corresponde a um acesso (primeira coluna). Em cada comparação os números em negrito correspondem a diferenças significativas nas duas avaliações.

Na primeira avaliação (Avaliação 1), com exceção da CNA10903, todos os outros tratamentos apresentaram notas de brusone na folha significativamente diferentes das testemunhas Epagri 109 e Epagri 109-Bord, porém com reação de resistência. A variedade Epagri 109-bordadura na segunda avaliação e na hipotenusa apresentou reação de suscetibilidade com notas de 4,95 e 6,05, respectivamente e diferiram significativamente de todos os outros tratamentos que apresentaram reação de resistência (Tabela 11).

Na avaliação da severidade de brusone nas panículas as notas observadas foram baixas, com exceção da Epagri 109–bordadura, que apresentou reação de suscetibilidade com uma nota média de 5,73 (Tabela 11).

Estes dados indicam, portanto, que as quatro multilinhas apresentaram resistência à brusone nas avaliações realizadas nas fases vegetativa e reprodutiva. Em todas as avaliações, observou-se desenvolvimento epidêmico da doença na bordadura, enquanto que os sintomas da doença nas parcelas experimentais foram restritos. É possível, portanto, que em plantios comerciais, com incidência mais elevada da doença, o efeito do uso de multilinhas para resistência genética ao patógeno seja ainda mais acentuado, permitindo que o agricultor reduza o número de pulverizações com produto químico e desenvolva uma produção economicamente viável e ecologicamente correta.

Em plantios comerciais com multilinhas, a integridade das misturas de linhagens que compõem as multilinhas deve ser monitorada ao longo dos anos, visto que o uso de sementes colhidas de um cultivo para outro pode levar a mudanças na composição da mistura devido ao aumento da capacidade competitiva de um dos componentes, ocasionada, por exemplo, pela ocorrência de doenças ou, simplesmente, por efeito de deriva genética. Além disso, a detecção de novas raças do patógeno na região de plantio à qual se destina a multilinha torna necessária a substituição de um ou mais componentes por outros que apresentem resistência a estas

raças. O uso de multilinhas deve ser, portanto, um processo dinâmico onde estes fatores são lavados em consideração.

Tabela 11. Médias das notas (0 a 9) de duas avaliações de brusone na folha e de brusone na panícula em multilinhas e linhagens de arroz avaliadas de campo com inoculação artificial da bordadura com uma mistura de inóculo de dez raças de *M. oryzae*.

Nº	Tratamento	Fase vegetativa			Fase reprodutiva
		1ª avaliação	2ª avaliação	Hipotenusa	1ª avaliação
01	CNA10901 +CNA10891*	1,06c	1,11c	1,89c	0,08a
02	CNA10902 +CNA10891*	1,41c	0,78c	1,95c	0,14 a
03	CNA10903 +CNA10891*	2,05c	1,59 a	2,99c	0,10 a
04	CNA10905 +CNA10906*	1,54c	0,97c	2,17c	0,24 a
05	CNA10901 *	0,96c	1,02c	1,72c	0,20 a
06	CNA10902*	1,59c	1,45c	2,95c	0,24 a
07	CNA10903*	2,37 a	1,53 a	3,23c	0,25 a
08	CNA10905*	1,36c	1,37 a	2,30c	0,17 a
09	CNA10906*	1,57c	1,19c	2,34c	0,22 a
10	CNA10891*	1,03c	1,02c	1,79c	0,34a
11	BRS Formoso*	1,68c	1,25c	2,45c	0,07 a
12	Diamante*	1,04c	0,79c	1,62c	0,14 a
13	Epagri 109*	2,57 a	1,62 a	3,41 a	0,14 a
14	Epagri 109-bordadura**	2,90 b	4,95 b	6,05 b	5,73 b
	Média	1,58	1,26	2,39	0,28
	CV%	88,75	112,02	64,11	216,76
	F	31,59	32,87	48,63	340,38

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente das testemunhas (Epagri 109 e Epagri 109-bordadura) pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade. \*Médias de 240 repetições; \*\*médias de 60 repetições.

### Lançamento de cultivar

A performance destacada de alguma linhagens e multilinhas, no que tange à qualidade de grãos, alta produtividade, diferentes atributos agronômicos e resistência à brusone, possibilitou a seleção de algumas combinações potencialmente competitivas para lançamento comercial. As linhagens CNA10903 e a CNA10891, por exemplo, derivadas de BRS Formoso, reúnem o maior número de características agronômicas favoráveis para uso combinado, em relação às demais linhagens analisadas. A Multilinha 3 avaliada neste

experimento, composta pelas linhagens CNA10903 e a CNA10891, apresenta grande potencial para lançamento comercial.

A Tabela 12 ilustra a taxa de conversão para o genitor recorrente das linhagens resistentes à brusone utilizadas na construção da Multilinha 3. A análise de milhares de marcadores SNPs distribuídos no genoma do arroz indicou que a linhagem CNA10891 possui uma taxa de recuperação do genoma de BRS Formoso de 97,03%, com um nível de homozigose de 97,1%. Já a linhagem CNA 10903 apresenta uma taxa de recuperação do genoma de BRS Formoso de 96,63%, com um nível de homozigose de 97,18%. As duas linhagens realmente possuem bons atributos para desenvolvimento de multilinha, com uma estimativa de 98,84% do genoma em comum (Tabela 12). Estas linhagens, portanto, podem ser consideradas linhagens quase-isogênicas. A linhagem CNA10903 é resistente a nove das dez raças de *M. oryzae* testadas no presente trabalho, mostrando-se suscetível apenas à raça IC-1. Já a linhagem CNA10891 é resistente à raça IC-1 e a outras cinco raças do patógeno. Portanto, as duas linhagens compõem uma multilinha com amplo espectro de resistência a 10 raças prevalentes de brusone no Vale do Rio Araguaia, além de apresentarem uma performance agrônômica superior e um nível de similaridade genética muito elevado. Esta multilinha será lançada comercialmente como uma nova cultivar de arroz irrigado para a região tropical do Brasil.

Tabela 12. Percentual de recuperação do genoma genitor recorrente nas linhagens que compõem a Multilinha 3, estimado com base na análise de polimorfismo de DNA em locos de marcadores SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) distribuídos nos 12 cromossomos de arroz.

<b>Descrição</b>	<b>BRS Formoso</b>	<b>CNA 10891</b>	<b>CNA 10893</b>
nº marcadores SNP em homozigose	3.276	3.326	3.344
nº marcadores SNP em heterozigose	142	92	97
Total de marcadores SNP genotipados	3.418	3.418	3.441
% de homozigose	95,85%	97,31%	97,18%
% de genótipos idênticos a BRS Formoso	100%	97,03%	96,63%
% de genótipos idênticos a CNA 10891	97,03%	100%	98,84%

## CONCLUSÕES

- As linhagens obtidas neste estudo visando a confecção de multilinhas para resistência a *Magnaporthe oryzae* apresentam características agronômicas (ex. produtividade) e morfológicas (ex. porte baixo, ciclo, resistência a acamamento, qualidade de grãos, etc.) muito semelhantes às observadas nos respectivos genitores recorrentes (BRS Formoso, Diamante e CNA 8502).
- As linhagens apresentaram ganho de resistência a diferentes raças de *M. oryzae*, prevalentes na região do Vale do Rio Araguaia. As linhagens CNA10901, CNA10902 e CNA10903, derivadas de BRS Formoso, mostraram-se resistentes a nove das dez raças inoculadas, sendo suscetíveis apenas à raça IC-1.
- O efeito de multilinha na contenção da epidemia de brusone no campo foi detectado em experimento baseado na inoculação da bordadura com uma mistura de 15 raças do patógeno e avaliação de sintomas em parcelas experimentais. Observou-se uma redução na taxa de infecção da doença nos tratamentos suscetíveis, atribuído ao emprego de multilinhas. Este resultado sugere que a estratégia de emprego de multilinhas no Brasil pode ter grande impacto na obtenção de resistência mais durável ao patógeno, que tem sido efetivo em quebrar a resistência de novas variedades um a dois anos após o seu lançamento comercial na região Central do Brasil.
- Duas linhagens (CNA10903 e CNA10891), usadas na confecção de uma multilinha e com resistência combinada a 10 raças de *M. grisea*, serão em breve lançadas comercialmente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANJOS, L.M. 2008. Identificação de raças e análise de virulência de *Magnaporthe grisea* para composição de multilinhas e variedades compostas de arroz irrigado no Estado do Tocantins. Gurupi: Universidade Federal do Tocantins. 87 p. (Dissertação de Mestrado).

BRONDANI C, BRONDANI RPV, GARRIDO LR, FERREIRA ME (2000). Development of microsatellite markers for the genetic analysis of *Magnaporthe grisea*. *Genetics and Molecular Biology* 23: 753-762.

BROWNING JA and FREY KJ 1981. The multiline concept in theory and practice. In: JENKYN JF and PLUMB RT (ed). *Strategies for the control of cereal disease*. Oxford: Blackwell. p. 37-46.

CASTILLA NP, VERA CRUZ CM, MEW TW 2003. Using rice cultivar mixtures: a sustainable approach for managing diseases and increasing yield. *International Rice Research Notes* 28 (2): 5-11.

CORREA & VICTORIA FJ and ZEIGLER RS (1993). Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast "hot spot" breeding site in eastern Colombia. *Plant Disease*.77: 1029-1035.

CORREA-VICTORIA FL, THARREAU D, MARTINEZ C, VALES M, ESCOBAR F, PRADO G, ARICAPA G (2004) Gene combinations for durable Rice blast resistance in Colombia. Disponível em: [http://www,ciat.cgiar.org/epmr\\_ciat/pdf/poster\\_16\\_empr07.pdf](http://www,ciat.cgiar.org/epmr_ciat/pdf/poster_16_empr07.pdf)  
Acesso em: 21/09/2012.

CRUZ CD (2001) Programa Genes: versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Editora UFV, Viçosa, 648p.

DIAS NETO, J.J.; SANTOS, G.R.; ANJOS, L.M.; RANGEL, P.H.N.; FERREIRA, M.A. Hot spots for diversity of *Magnaporthe oryzae* physiological races in irrigated rice fields in Brazil. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.45, n.3, p.252-260, mar. 2010.

DIAS NETO, J.J., SANTOS G.R., CASTRO NETO M.D., ANJOS L.M., CUNHA A.C.F., e IGNÁCIO M. Influência do meio de cultura na esporulação de *Magnaporthe grisea* e concentração de conídios na severidade da brusone do arroz. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 173-179, Mar./Apr. 2010<sup>a</sup>.

DUNNET CW (2005), A multiple comparison procedure for comparing several treatments with control. *Journal of the American Statistical Association* 50: 1096-1121.

DUNNET CW (1964) A new Table for multiple comparisons with control. *Biometrics* 20: 482-491.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (Goiânia, GO). Manual de métodos e pesquisa em arroz: 1a. aproximação. Goiânia, 1977. 106p.

FARIAS FILHO, M. S.; FERRAZ JÚNIOR, A. S. L. A cultura do arroz em sistema de vazante na Baixada Maranhense, periferia do sudeste da Amazônia. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, GO, v. 39, n. 2, p. 82-91, 2009.

FERREIRA, ME and GRATTAPAGLIA (1996) D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. Editora Embrapa-CNARGEN, Brasília, DF, 220p.

GARRIDO L.R.2001. Identificação, desenvolvimento e uso de marcadores de regiões hipervariáveis do genoma de *Magnaporthe grisea* na análise da estrutura de populações do patógeno infectando plantações de arroz (*Oryza sativa*). Brasília: Universidade de Brasília. 193 p (Tese de Doutorado).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Levantamento Sistemático da Produção de Arroz (2010) [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) acesso realizado em setembro de 2012.

JENNINGS, P.R.; COFFMAN, W.R., KAUFFMAN, H.E. Mejoramiento de arroz. Editora CIAT, Cali, Colômbia, 233p, 1981.

KHUSH GS AND VIRK PS (2002) Rice improvement: past, present and future. In: Kang, M.S. (ed.) *Crop Improvement: challenges in the twenty-century*. Editora Food Products Press, New York, USA, p.17-42.

KOIZUMI S. 2001 Rice blast control with multilines in Japan. In: Mew TW, Borromeo E, Hardy B (editors). *Exploiting biodiversity for sustainable pest management. Proceedings of the impact symposium on exploiting biodiversity for sustainable pest management*, Kunming China, 21-23 Aug 2000. Los Baños (Philippines): IRRI. p. 143-157.

LEUNG H, BORROMEO ES, BERNARDO MA, NOTTEGHEM JL (1988) Genetic analysis of virulence in the blast fungus *Magnaporthe griseae*. *Phytopathology* 78:1227-1233.

LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA. Rio de Janeiro, RJ, v. 24, n. 12, 2011.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA (2012) Projeções do Agronegócio – Brasil 2011/2012 a 2021/2022. Assessoria de Gestão Estratégica, Brasília, DF, 26p.

MUND CC 2002 Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. Annual. Reviews Phytopathology 40: 381-410.

PRABHU AS, RIBEIRO AS, SOAVE J, SOUZA NS, KEMPF D, FILIPPI MC, RANGEL PHN, ZIMMERMAN FLP (1997) Viveiro Nacional de Piricularia; progresso perspectivas y utilización como fuente de progenitores para la selección recurrente. In: Guimarães E.P.(ed.). Selección Recurrente en Arroz. Editora CIAT, Cali, Colômbia, p 217-225.

PRABHU AS AND FILIPPI MCC (2006) Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Editora Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, 388p.

RAMOS, L.N. Humley C e B. Valent. Estrutura populacional e parâmetros epidemiológicos de isolados de Magnaporthe grisea (Barr). Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. 2009.

SAS INSTITUTE. SAS Technical report SAS/STAT Software. CaryNc, SAS Institute, 2011.

ZHU, Y; CHEN H, FAN J, WANG Y, LI Y, CHEN J, YNAG S, HUS L, LEUNG H, MEW TW, TENG PS, WANG Z, MUNDT CC. Genetic diversity and disease control in rice. Nature 406 (17): 718-722. 2000.



## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Notas de severidade dos 15 isolados na serie internacional de diferenciadoras de raças de *Magnaporthe oryzae*. A - Raminad Str-3; B -Zenith; C - NP-125; D - Usen; E - Dular; F - Kanto 51; G - Sha-tiao-tsao e H - Caloro.

Isolado	Raça	Rep.	Serie Internacional de Diferenciadoras							
			A	B	C	D	E	F	G	H
633	IB-17	R1	0	4	3	3	4	4	4	5
		R2	1	4	1	1	4	4	5	4
		R3	1	5	3	1	4	4	4	4
585	IB-49	R1	4	3	0	4	3	3	1	3
		R2	4	1	1	5	1	1	0	0
		R3	4	1	1	4	1	3	1	0
639	IB-33	R1	0	7	3	5	5	7	4	7
		R2	0	5	3	7	4	7	5	5
		R3	0	4	3	4	4	4	4	5
615	ID-9	R1	0	0	1	4	3	4	4	4
		R2	0	0	0	4	1	4	4	4
		R3	1	0	0	5	1	5	4	4
616	IA-65	R1	4	1	4	5	4	5	5	4
		R2	5	0	4	4	5	5	5	5
		R3	5	0	5	4	4	7	5	5
628	IA-33	R1	4	4	3	4	4	5	4	5
		R2	5	4	1	4	5	5	4	7
		R3	4	4	1	4	5	5	4	5
610	IA-41	R1	4	4	1	4	3	4	4	5
		R2	4	5	0	5	1	4	4	4
		R3	5	4	0	4	1	5	4	5
635	IB-41	R1	4	3	3	4	5	0	3	1
		R2	4	1	1	5	4	1	1	0
		R3	4	1	0	4	4	0	3	0
689	IC-9	R1	0	3	4	5	3	5	7	7
		R2	0	0	4	4	0	5	7	7
		R3	1	0	5	4	0	7	7	5
L2P3	IF-1	R1	1	3	3	3	3	4	4	4
		R2	0	0	0	1	0	4	4	4
		R3	0	0	0	1	1	4	5	5
PA05	IA-1	R1	4	5	5	4	7	4	4	4
		R2	4	5	7	4	7	7	5	7
		R3	4	4	5	5	7	7	7	7
623	IA-1	R1	5	4	7	4	5	5	5	4
		R2	4	5	5	4	5	5	7	9
		R3	4	4	5	5	5	9	7	7
62	ID-1	R1	0	0	3	4	4	4	5	4
		R2	0	1	3	4	4	4	4	4
		R3	1	0	1	4	5	4	4	4
155	IC-1	R1	0	0	4	5	4	7	5	5
		R2	0	1	4	5	4	4	4	4
		R3	1	1	4	4	5	5	5	5
33	ID-10	R1	0	0	0	4	3	4	4	3
		R2	0	0	0	4	1	4	4	3
		R3	1	1	1	4	1	4	5	1

**Anexo 2.** Notas de severidade dos 15 isolados de *Magnaporthe oryzae* em acessos de arroz. 01 – Chorinho; 02 – Puteca; 03 – IAC 165; 04 – Primavera; 05 – Moroberekan; 06 – Ligeiro; 07 – Azucena; 08 – Catetão; 09 – Oryzica Llanos 5; 10 – Amaroo; 11 – Oryzica Llanos 4 e 12 – Formoso.

		Arroz (parentais e cultivares suscetíveis)											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
633	IB-17	0	1	4	3	0	1	3	1	1	3	0	1
		0	3	1	3	0	1	4	0	0	3	0	3
		0	1	3	3	1	1	4	0	0	1	0	3
585	IB-49	0	0	0	1	1	5	4	0	0	3	0	3
		1	0	1	3	1	4	3	0	0	1	0	1
		0	0	1	3	1	4	3	0	0	1	0	4
639	IB-33	0	0	3	4	0	3	3	0	0	4	0	1
		0	0	3	3	1	3	3	0	0	1	0	1
		0	0	1	3	1	3	3	1	0	3	0	1
615	ID-9	0	0	1	1	0	1	3	1	0	0	0	5
		1	0	1	3	0	3	4	1	1	1	0	4
		0	0	3	1	0	3	3	3	0	1	0	4
616	IA-65	0	0	0	4	0	4	4	0	1	3	1	3
		0	0	1	1	0	3	3	1	1	3	0	3
		1	1	0	3	0	3	3	0	1	1	0	3
628	IA-33	1	1	1	0	1	3	3	0	0	1	0	1
		1	1	1	1	0	1	3	1	0	1	0	3
		3	3	3	1	0	1	3	1	0	3	0	3
610	IA-41	0	3	0	3	1	4	1	3	1	0	0	4
		0	1	1	3	0	1	1	3	0	1	0	3
		0	1	0	1	1	3	3	1	0	0	0	3
635	IB-41	0	0	1	1	1	0	4	0	0	3	0	1
		0	1	1	1	3	1	5	0	0	3	1	3
		0	1	1	3	1	1	3	0	0	4	0	1
689	IC-9	0	1	0	0	0	0	3	1	0	3	0	0
		0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	0	1
		0	1	0	0	1	1	1	1	1	3	0	1
L2P3	IF-1	0	0	0	3	0	1	0	1	1	1	0	1
		1	1	1	3	0	3	1	0	3	1	0	1
		1	1	1	1	0	3	3	0	3	3	0	3
PA05	IA-1	1	1	3	4	3	1	5	0	1	4	1	5
		3	1	3	3	1	1	4	1	1	4	0	4
		3	0	1	4	1	1	5	0	1	5	1	4
623	IA-1	5	1	4	5	3	3	7	3	1	7	1	5
		4	3	4	4	3	3	7	4	3	5	3	7
		4	1	3	4	1	3	7	3	1	7	1	5
62	ID-1	1	1	1	4	3	1	5	1	1	3	0	7
		0	1	3	3	1	3	5	3	0	1	1	5
		1	0	1	3	1	3	5	0	1	4	0	7
155	IC-1	1	1	0	3	1	1	4	0	0	4	0	4
		1	3	0	1	1	1	5	1	1	3	0	4
		3	3	1	3	1	3	7	1	1	3	0	4
33	ID-10	0	0	3	4	0	0	4	1	1	3	0	4
		0	0	3	3	1	1	3	1	0	4	0	5
		0	1	3	3	1	0	5	1	0	4	0	4

**Anexo 3.** Avaliação da severidade nas 186 linhagens puras recombinantes (RILs) derivadas do cruzamento Chorinho x Puteca inoculadas com a raça IA-1, isolado *M. oryzae* 623.

Nº	Cod. do cruzamento	Nota de severidade			Reação		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
1	Chorinho	4	4	4	S	S	S
2	Puteca	0	1	1	R	R	R
3	CANAx13201-8-1-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
4	CANAx13201-8-3-1-1-1-B	1	0	1	R	R	R
5	CANAx13201-8-4-1-1-1-B	3	0	3	R	R	R
6	CANAx13201-8-6-1-1-1-B	3	1	3	R	R	R
7	CANAx13201-8-7-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
8	CANAx13201-8-8-1-1-1-B	3	0	0	R	R	R
9	CANAx13201-8-9-1-1-1-B	4	0	3	S	R	R
10	CANAx13201-8-11-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
11	CANAx13201-8-12-1-1-1-B	0	1	1	R	R	R
12	CANAx13201-8-13-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
13	CANAx13201-8-15-1-1-1-B	1	0	1	R	R	R
14	CANAx13201-8-16-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
15	CANAx13201-8-17-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
16	CANAx13201-8-18-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
17	CANAx13201-8-19-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
18	CANAx13201-8-20-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
19	CANAx13201-8-21-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
20	CANAx13201-8-22-1-1-1-B	0	1	1	R	R	R
21	CANAx13201-8-23-1-1-1-B	4	1	4	S	R	S
22	CANAx13201-8-24-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
23	CANAx13201-8-25-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
24	CANAx13201-8-27-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
25	CANAx13201-8-28-1-1-1-B	0	0	3	R	R	R
26	CANAx13201-8-29-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
27	CANAx13201-8-30-1-1-1-B	3	3	1	R	R	R
28	CANAx13201-8-32-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
29	CANAx13201-8-34-1-1-1-B	3	4	1	R	S	R
30	CANAx13201-8-36-1-1-1-B	3	3	1	R	R	R
31	CANAx13201-8-37-1-1-1-B	4	0	0	S	R	R
32	CANAx13201-8-38-1-1-1-B	0	0	4	R	R	S
33	CANAx13201-8-39-1-1-1-B	4	0	1	S	R	R
34	CANAx13201-8-40-1-1-1-B	3	1	0	R	R	R
35	CANAx13201-8-43-1-1-1-B	1	4	4	R	S	S
36	CANAx13201-8-44-1-1-1-B	3	4	4	R	S	S
37	CANAx13201-8-45-1-1-1-B	3	5	4	R	S	S
38	CANAx13201-8-46-1-1-1-B	1	1	1	R	R	R
39	CANAx13201-8-51-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
40	CANAx13201-8-52-1-1-1-B	0	1	1	R	R	R
41	CANAx13201-8-56-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
42	CANAx13201-8-58-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
43	CANAx13201-8-62-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
44	CANAx13201-8-64-1-1-1-B	4	1	0	S	R	R
45	CANAx13201-8-66-1-1-1-B	3	3	3	R	R	R
46	CANAx13201-8-69-1-1-1-B	3	4	4	R	S	S
47	CANAx13201-8-70-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
48	CANAx13201-8-71-1-1-1-B	3	4	3	R	S	R
49	CANAx13201-8-72-1-1-1-B	4	1	4	S	R	S
50	CANAx13201-8-73-1-1-1-B	1	3	3	R	R	R
51	CANAx13201-8-75-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
52	CANAx13201-8-76-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
53	CANAx13201-8-77-1-1-1-B	1	0	0	R	R	R

Nº	Cod. do cruzamento	Nota de severidade			Reação		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
54	CANAx13201-8-79-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
55	CANAx13201-8-80-1-1-1-B	3	1	1	R	R	R
56	CANAx13201-8-81-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
57	CANAx13201-8-82-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
58	CANAx13201-8-83-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
59	CANAx13201-8-84-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
60	CANAx13201-8-85-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
61	CANAx13201-8-86-1-1-1-B	0	3	1	R	R	R
62	CANAx13201-8-87-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
63	CANAx13201-8-88-1-1-1-B	1	1	3	R	R	R
64	CANAx13201-8-90-1-1-1-B	3	3	1	R	R	R
65	CANAx13201-8-91-1-1-1-B	1	3	3	R	R	R
66	CANAx13201-8-92-1-1-1-B	0	3	1	R	R	R
67	CANAx13201-8-93-1-1-1-B	4	5	4	S	S	S
68	CANAx13201-8-94-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
69	CANAx13201-8-95-1-1-1-B	4	7	5	S	S	S
70	CANAx13201-8-96-1-1-1-B	4	5	4	S	S	S
71	CANAx13201-8-97-1-1-1-B	4	5	4	S	S	S
72	CANAx13201-8-98-1-1-1-B	3	7	4	R	S	S
73	CANAx13201-8-99-1-1-1-B	4	3	3	S	R	R
74	CANAx13201-8-100-1-1-1-B	3	3	3	R	R	R
75	CANAx13201-8-101-1-1-1-B	0	0	3	R	R	R
76	CANAx13201-8-102-1-1-1-B	0	0	3	R	R	R
77	CANAx13201-8-103-1-1-1-B	1	0	4	R	R	S
78	CANAx13201-8-104-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
79	CANAx13201-8-106-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
80	CANAx13201-8-107-1-1-1-B	0	0	4	R	R	S
81	CANAx13201-8-108-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
82	CANAx13201-8-109-1-1-1-B	1	0	3	R	R	R
83	CANAx13201-8-111-1-1-1-B	4	0	1	S	R	R
84	CANAx13201-8-113-1-1-1-B	4	3	0	S	R	R
85	CANAx13201-8-114-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
86	CANAx13201-8-115-1-1-1-B	3	3	3	R	R	R
87	CANAx13201-8-116-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
88	CANAx13201-8-117-1-1-1-B	4	3	1	S	R	R
89	CANAx13201-8-118-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
90	CANAx13201-8-120-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
91	CANAx13201-8-121-1-1-1-B	3	1	3	R	R	R
92	CANAx13201-8-123-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
93	CANAx13201-8-124-1-1-1-B	3	1	3	R	R	R
94	CANAx13201-8-125-1-1-1-B	0	3	1	R	R	R
95	CANAx13201-8-128-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
96	CANAx13201-8-129-1-1-1-B	1	1	3	R	R	R
97	CANAx13201-8-132-1-1-1-B	0	1	1	R	R	R
98	CANAx13201-8-138-1-1-1-B	0	4	3	R	S	R
99	CANAx13201-8-139-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
100	CANAx13201-8-141-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
101	CANAx13201-8-142-1-1-1-B	0	3	0	R	R	R
102	CANAx13201-8-143-1-1-1-B	0	4	1	R	S	R
103	CANAx13201-8-144-1-1-1-B	3	4	0	R	S	R
104	CANAx13201-8-145-1-1-1-B	1	0	0	R	R	R
105	CANAx13201-8-146-1-1-1-B	3	0	1	R	R	R
106	CANAx13201-8-147-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
107	CANAx13201-8-148-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
108	CANAx13201-8-150-1-1-1-B	4	3	4	S	R	S
109	CANAx13201-8-151-1-1-1-B	3	0	3	R	R	R

Nº	Cod. do cruzamento	Nota de severidade			Reação		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
110	CANAx13201-8-152-1-1-1-B	4	0	3	S	R	R
111	CANAx13201-8-153-1-1-1-B	5	0	4	S	R	S
112	CANAx13201-8-154-1-1-1-B	5	3	4	S	R	S
113	CANAx13201-8-155-1-1-1-B	4	0	4	S	R	S
114	CANAx13201-8-156-1-1-1-B	4	0	3	S	R	R
115	CANAx13201-8-157-1-1-1-B	0	3	4	R	R	S
116	CANAx13201-8-158-1-1-1-B	0	4	4	R	S	S
117	CANAx13201-8-159-1-1-1-B	0	4	3	R	S	R
118	CANAx13201-8-160-1-1-1-B	3	4	4	R	S	S
119	CANAx13201-8-161-1-1-1-B	3	4	3	R	S	R
120	CANAx13201-8-163-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
121	CANAx13201-8-164-1-1-1-B	3	3	3	R	R	R
122	CANAx13201-8-165-1-1-1-B	3	1	1	R	R	R
123	CANAx13201-8-167-1-1-1-B	4	0	0	S	R	R
124	CANAx13201-8-168-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
125	CANAx13201-8-169-1-1-1-B	4	4	5	S	S	S
126	CANAx13201-8-170-1-1-1-B	3	3	4	R	R	S
127	CANAx13201-8-171-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
128	CANAx13201-8-172-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
129	CANAx13201-8-173-1-1-1-B	3	3	1	R	R	R
130	CANAx13201-8-174-1-1-1-B	4	1	0	S	R	R
131	CANAx13201-8-176-1-1-1-B	1	3	3	R	R	R
132	CANAx13201-8-177-1-1-1-B	4	0	4	S	R	S
133	CANAx13201-8-178-1-1-1-B	4	3	3	S	R	R
134	CANAx13201-8-179-1-1-1-B	5	4	4	S	S	S
135	CANAx13201-8-180-1-1-1-B	5	1	3	S	R	R
136	CANAx13201-8-183-1-1-1-B	1	3	3	R	R	R
137	CANAx13201-8-184-1-1-1-B	4	3	4	S	R	S
138	CANAx13201-8-185-1-1-1-B	4	4	3	S	S	R
139	CANAx13201-8-186-1-1-1-B	0	4	1	R	S	R
140	CANAx13201-8-187-1-1-1-B	3	3	1	R	R	R
141	CANAx13201-8-188-1-1-1-B	0	3	0	R	R	R
142	CANAx13201-8-189-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
143	CANAx13201-8-191-1-1-1-B	4	0	4	S	R	S
144	CANAx13201-8-192-1-1-1-B	0	4	4	R	S	S
145	CANAx13201-8-194-1-1-1-B	1	4	3	R	S	R
146	CANAx13201-8-195-1-1-1-B	1	0	3	R	R	R
147	CANAx13201-8-196-1-1-1-B	0	4	4	R	S	S
148	CANAx13201-8-197-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
149	CANAx13201-8-198-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
150	CANAx13201-8-199-1-1-1-B	3	1	3	R	R	R
151	CANAx13201-8-200-1-1-1-B	3	1	1	R	R	R
152	CANAx13201-8-201-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
153	CANAx13201-8-202-1-1-1-B	3	0	1	R	R	R
154	CANAx13201-8-203-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
155	CANAx13201-8-204-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
156	CANAx13201-8-205-1-1-1-B	4	3	4	S	R	S
157	CANAx13201-8-207-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
158	CANAx13201-8-208-1-1-1-B	0	4	3	R	S	R
159	CANAx13201-8-209-1-1-1-B	4	4	4	S	S	S
160	CANAx13201-8-210-1-1-1-B	4	5	4	S	S	S
161	CANAx13201-8-211-1-1-1-B	0	4	4	R	S	S
162	CANAx13201-8-212-1-1-1-B	1	4	3	R	S	R
163	CANAx13201-8-213-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
164	CANAx13201-8-214-1-1-1-B	3	1	1	R	R	R
165	CANAx13201-8-215-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R

Nº	Cod. do cruzamento	Nota de severidade			Reação		
		R1	R2	R3	R1	R2	R3
166	CANAx13201-8-216-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
167	CANAx13201-8-217-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
168	CANAx13201-8-219-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
169	CANAx13201-8-221-1-1-1-B	1	0	0	R	R	R
170	CANAx13201-8-222-1-1-1-B	4	0	0	S	R	R
171	CANAx13201-8-229-1-1-1-B	0	3	1	R	R	R
172	CANAx13201-8-227-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
173	CANAx13201-8-228-1-1-1-B	1	4	1	R	S	R
174	CANAx13201-8-231-1-1-1-B	0	3	0	R	R	R
175	CANAx13201-8-232-1-1-1-B	0	4	3	R	S	R
176	CANAx13201-8-233-1-1-1-B	0	3	1	R	R	R
177	CANAx13201-8-234-1-1-1-B	0	0	1	R	R	R
178	CANAx13201-8-236-1-1-1-B	1	0	0	R	R	R
179	CANAx13201-8-237-1-1-1-B	3	3	0	R	R	R
180	CANAx13201-8-240-1-1-1-B	4	3	1	S	R	R
181	CANAx13201-8-241-1-1-1-B	4	4	0	S	S	R
182	CANAx13201-8-243-1-1-1-B	3	3	1	R	R	R
183	CANAx13201-8-245-1-1-1-B	3	4	3	R	S	R
184	CANAx13201-8-246-1-1-1-B	4	3	1	S	R	R
185	CANAx13201-8-247-1-1-1-B	0	1	0	R	R	R
186	CANAx13201-8-248-1-1-1-B	1	0	0	R	R	R
187	CANAx13201-8-249-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R
188	CANAx13201-8-250-1-1-1-B	0	0	0	R	R	R

**Anexo 4.** Dados de campo para produtividade (Kg ha<sup>-1</sup>) dos 13 tratamentos (10 linhagens/multilinhas e 3 testemunhas) de arroz irrigado em experimento de avaliação de multilinhas para resistência à brusone.

Parcela	Repetição	N.º Tratamento	Tratamento	Prod. Kg.ha <sup>-1</sup>
107	1	1	CNA10901 + CNA10891	7969
212	2	1	CNA10901 + CNA10891	7656
302	3	1	CNA10901 + CNA10891	7188
407	4	1	CNA10901 + CNA10891	7031
108	1	2	CNA10902 + CNA10891	7375
201	2	2	CNA10902 + CNA10891	8500
301	3	2	CNA10902 + CNA10891	8594
409	4	2	CNA10902 + CNA10891	6969
104	1	3	CNA10903 + CNA10891	8281
209	2	3	CNA10903 + CNA10891	8313
306	3	3	CNA10903 + CNA10891	7188
412	4	3	CNA10903 + CNA10891	6875
102	1	4	CNA10905 + CNA10906	7656
202	2	4	CNA10905 + CNA10906	7281
313	3	4	CNA10905 + CNA10906	8281
408	4	4	CNA10905 + CNA10906	7031
110	1	5	CNA10901	7094
213	2	5	CNA10901	6969
308	3	5	CNA10901	7031
410	4	5	CNA10901	7344
111	1	6	CNA10902	7188
206	2	6	CNA10902	7813
303	3	6	CNA10902	7500
411	4	6	CNA10902	7344
112	1	7	CNA10903	7438
203	2	7	CNA10903	8031
304	3	7	CNA10903	7344
401	4	7	CNA10903	7094
105	1	8	CNA10905	7656
210	2	8	CNA10905	7344
312	3	8	CNA10905	7063
404	4	8	CNA10905	7031
113	1	9	CNA10906	7375
205	2	9	CNA10906	7125
309	3	9	CNA10906	7656
406	4	9	CNA10906	7656
103	1	10	CNA10891	7656
207	2	10	CNA10891	8219
305	3	10	CNA10891	7656
402	4	10	CNA10891	7813
109	1	11	BRS Formoso	8125
208	2	11	BRS Formoso	7188
311	3	11	BRS Formoso	7500
413	4	11	BRS Formoso	8594
101	1	12	Diamante	7031
211	2	12	Diamante	7344
307	3	12	Diamante	6875
405	4	12	Diamante	7500
106	1	13	EPAGRI 109	8219
204	2	13	EPAGRI 109	8125
310	3	13	EPAGRI 109	8281
403	4	13	EPAGRI 109	7969



**Anexo 5.** Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (1º avaliação, repetições 1 e 2) avaliado em 06/01/2012. Arroz Irrigado.

	Repetição 1													Repetição 2												
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13
1	1	3	3	0	0	4	3	1	1	3	1	0	5	3	1	3	4	3	0	4	3	3	1	4	0	1
2	3	5	3	0	1	0	3	3	3	1	3	3	7	0	1	3	0	1	3	3	3	3	3	3	1	5
3	3	4	5	0	0	3	1	1	1	0	4	3	3	0	3	1	0	0	3	4	3	0	0	1	3	4
4	0	0	3	3	0	3	3	3	4	1	3	5	3	3	3	4	0	1	3	3	1	0	0	1	0	3
5	1	0	3	1	0	1	3	0	0	4	4	1	5	3	0	4	1	0	0	3	0	1	1	1	0	7
6	0	3	1	3	1	4	3	4	3	0	4	1	5	3	3	4	1	0	1	5	0	0	3	1	1	1
7	0	4	3	1	1	3	5	1	1	1	4	0	5	3	1	3	1	1	0	1	0	3	3	4	1	3
8	0	3	4	3	0	4	4	3	0	1	0	0	4	1	1	4	1	1	3	0	3	3	0	3	0	4
9	1	3	4	4	3	1	0	3	4	3	3	3	3	1	3	1	3	3	1	0	1	4	0	1	1	4
10	0	1	0	1	0	0	5	1	3	0	0	3	1	0	4	3	0	0	1	1	0	3	3	0	0	4
11	1	1	1	3	1	1	4	1	0	1	1	3	3	1	4	4	1	0	3	0	3	0	3	1	1	3
12	3	0	0	4	1	3	0	0	3	0	0	0	1	3	3	4	0	3	4	3	1	3	1	1	0	5
13	4	3	0	4	4	4	5	1	1	3	3	0	3	1	0	1	0	1	0	4	0	3	0	4	0	5
14	1	0	0	0	1	1	4	3	3	0	1	0	0	1	1	3	1	1	3	4	3	4	3	3	1	3
15	1	1	5	3	0	3	0	0	3	1	3	0	1	1	0	4	3	0	3	3	1	3	0	4	0	1
16	0	1	0	0	0	1	3	1	0	0	0	3	3	0	1	1	0	3	3	1	3	0	3	1	1	3
17	1	0	0	1	1	0	0	3	0	0	3	0	3	1	3	4	3	1	1	0	0	3	3	3	1	4
18	0	0	4	5	1	3	3	3	0	0	1	3	3	3	1	3	1	0	3	3	0	4	0	4	0	3
19	1	1	3	5	0	0	0	0	3	3	1	0	5	0	0	3	3	0	3	1	3	3	0	3	1	4
20	0	1	4	4	0	0	0	3	1	1	0	0	5	1	3	1	1	0	1	3	1	1	0	1	0	3
21	0	5	3	3	1	3	4	1	3	3	0	3	5	1	0	3	1	3	4	0	3	1	1	3	1	7
22	3	3	0	1	4	1	0	3	0	1	0	3	3	1	0	4	1	1	0	3	0	0	1	4	0	5
23	0	4	4	4	4	4	0	5	4	0	3	0	5	3	3	4	3	0	1	4	1	1	3	1	0	4
24	3	0	4	3	1	1	4	0	0	1	5	5	5	3	1	3	3	0	1	0	3	3	0	0	0	1
25	3	0	3	3	3	3	3	3	4	3	3	5	1	3	0	1	0	0	0	3	4	3	0	3	0	5
26	4	1	3	3	1	4	3	3	3	5	4	5	5	1	3	1	1	1	3	4	1	0	1	1	0	4
27	1	3	1	1	0	4	4	0	1	5	0	3	3	0	1	3	1	0	1	3	0	3	1	3	1	4
28	0	0	0	1	0	3	4	3	1	1	0	5	4	1	3	4	3	3	1	4	3	1	0	1	0	3
29	3	1	1	0	3	0	0	4	3	1	0	3	5	3	1	0	0	1	1	3	3	3	1	1	0	5
30	0	1	4	3	3	0	0	4	0	3	3	3	5	1	3	1	0	0	0	3	1	4	3	3	1	3
31	0	4	3	1	0	3	3	3	1	4	1	3	3	3	3	0	1	0	3	4	4	3	1	1	0	0
32	1	3	1	0	0	1	0	1	3	1	0	5	5	0	3	0	3	3	1	1	0	4	1	3	0	3
33	0	4	3	1	1	4	1	3	1	3	3	3	3	3	1	3	1	0	0	4	1	3	0	4	0	0
34	3	1	1	3	3	0	0	1	3	0	1	5	4	1	3	1	3	0	0	4	3	3	1	4	0	4
35	3	0	0	0	1	3	1	1	3	4	0	1	5	0	1	4	3	1	1	3	1	1	0	1	1	5
36	3	1	1	0	0	1	3	3	1	3	3	3	5	3	3	3	0	1	3	3	4	0	3	3	0	3
37	0	1	0	4	0	0	0	0	3	3	1	0	5	1	0	0	3	0	0	1	1	3	1	3	0	5
38	0	3	0	3	1	3	1	1	3	0	1	3	3	3	0	1	3	0	3	1	0	3	0	0	0	4
39	0	1	3	1	1	4	0	3	1	0	0	3	1	3	1	3	1	3	0	3	3	0	1	1	0	3
40	1	1	0	1	0	4	1	3	0	1	3	5	1	3	3	3	0	0	3	4	4	1	0	3	1	3
41	0	1	1	1	3	0	0	1	3	3	3	5	0	0	1	3	3	0	0	1	3	0	1	3	1	1
42	0	3	0	1	3	0	1	4	1	1	4	0	4	0	3	4	3	1	1	4	1	0	1	0	0	3
43	1	0	5	3	1	1	0	4	1	1	1	5	3	3	3	1	0	0	1	3	4	0	0	1	1	4
44	3	0	5	0	3	0	5	1	1	3	3	3	3	3	0	3	1	0	3	4	1	1	1	1	1	3
45	3	1	4	4	1	0	3	3	0	0	3	1	3	3	1	4	3	0	1	1	1	3	3	3	0	0
46	3	3	3	3	0	3	3	0	3	0	4	3	3	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	4
47	4	1	4	0	0	3	4	4	4	1	3	1	5	0	1	3	3	1	1	1	3	1	0	0	0	4
48	0	1	4	1	3	4	1	1	3	1	3	0	7	0	1	4	1	0	4	0	1	0	1	1	0	4
49	0	0	5	0	1	0	1	3	3	0	1	3	7	1	3	3	3	1	3	4	3	1	3	0	0	3
50	3	4	5	4	0	4	0	3	4	0	3	3	3	3	3	3	0	0	4	1	1	3	3	3	0	1
51	1	1	4	0	3	1	1	4	1	3	0	1	3	0	4	4	1	0	1	3	4	3	1	1	0	0
52	3	1	0	0	1	0	1	3	1	1	3	3	4	0	1	1	1	3	0	4	1	0	3	1	1	3
53	0	3	3	1	0	1	4	1	0	0	4	3	1	3	3	4	3	3	1	3	4	3	1	1	0	4
54	0	1	0	3	1	3	4	4	3	0	3	1	3	0	1	4	0	3	0	1	4	3	1	1	1	4
55	3	3	0	1	1	1	1	3	3	3	0	3	1	0	3	1	1	0	3	4	1	1	3	3	0	3
56	3	0	1	1	0	1	0	0	4	3	3	0	3	3	1	0	3	1	0	3	0	0	3	0	0	3
57	1	1	1	3	3	4	0	1	3	1	0	3	4	3	4	1	3	3	1	3	1	3	1	0	1	4
58	4	1	3	0	3	0	1	0	4	0	3	0	3	0	1	0	1	0	0	4	1	0	0	0	3	4
59	4	0	0	4	0	0	0	3	1	0	0	3	5	0	0	1	3	1	3	0	0	3	1	1	0	3
60	1	3	0	0	0	1	3	1	3	0	4	1	3	0	0	3	3	0	1	3	3	0	3	1	1	3

**Anexo 6.** Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (1º avaliação, repetições 3 e 4) avaliado em 06/01/2012. Arroz Irrigado.

	Repetição 3												Repetição 4													
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13
1	0	0	0	1	0	0	3	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	3	0	3	3	0	1	0	1
2	0	1	1	0	1	3	1	0	1	0	3	1	1	0	0	3	0	3	0	4	1	4	1	0	1	1
3	1	3	0	1	3	3	1	3	0	1	3	0	3	1	0	4	0	4	1	4	3	3	0	5	0	0
4	0	0	3	0	0	1	0	1	1	1	0	0	4	1	1	1	1	3	1	1	3	1	1	3	3	3
5	1	3	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	1	0	0	4	4	3	3	1	0	3
6	1	0	4	4	3	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1	3	1	3	4	0	0	1	0	0	4
7	0	3	3	4	0	1	3	0	1	0	0	1	0	0	1	0	3	3	1	3	0	3	3	0	0	3
8	0	0	4	0	0	0	4	1	3	0	3	0	0	0	1	0	0	1	3	4	0	4	0	0	0	3
9	1	0	1	3	1	0	1	3	1	1	3	1	1	1	0	4	1	0	1	1	1	1	1	3	1	1
10	1	4	0	0	3	0	4	0	0	1	1	3	3	0	1	4	3	1	0	1	0	4	3	0	1	0
11	3	4	1	3	0	0	4	0	1	3	0	0	3	0	1	1	1	1	1	4	3	4	0	1	0	0
12	1	0	0	0	0	1	4	0	1	1	4	1	0	0	0	3	1	3	3	3	1	4	0	0	1	3
13	0	1	3	0	1	3	3	1	0	0	3	0	1	0	1	0	3	0	0	0	1	1	3	3	0	1
14	0	3	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3	1	3	1	1	1	1	0	0	3	1	0	0	0
15	1	4	3	3	0	3	4	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	3	3	4	3	4	0	3	1	3
16	0	1	4	0	1	0	0	1	0	0	1	3	0	0	0	4	0	0	1	4	1	1	0	1	0	1
17	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	3	3	1	1	1	0	3	1	1	3	0
18	1	3	0	1	0	0	1	1	0	3	3	1	3	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	3	0	1
19	1	3	0	3	0	1	3	0	1	1	3	3	0	1	0	3	3	3	0	3	1	3	0	1	1	1
20	0	3	3	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	3	4	0	0	0	3	0	1
21	3	1	4	4	0	4	4	0	0	0	1	0	4	1	1	0	3	3	3	0	1	1	0	1	0	1
22	1	1	1	3	0	3	3	0	0	1	1	1	3	0	0	1	1	1	1	0	3	3	1	3	0	3
23	1	0	0	0	3	4	4	3	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	1	0	3	4
24	3	1	0	1	0	0	4	1	1	1	3	0	1	3	0	3	3	3	3	4	1	1	0	1	1	0
25	1	1	3	1	1	0	1	0	0	3	1	0	0	1	3	3	1	1	1	4	0	4	3	1	1	0
26	0	3	1	4	0	0	3	3	0	0	1	3	3	1	1	4	1	1	3	4	0	3	3	0	0	1
27	1	1	3	3	0	3	4	0	1	0	3	1	0	0	0	4	0	0	0	1	3	4	1	0	1	0
28	0	0	0	4	0	3	3	0	0	0	0	0	4	0	3	0	1	1	1	3	0	4	0	3	0	0
29	0	1	1	0	1	1	4	3	0	1	3	0	4	1	0	1	0	0	1	3	1	1	0	0	0	1
30	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	4	0	4	0	1	1	0	0	3	4	1	0	1	3	0	3
31	1	1	4	0	0	0	3	1	0	0	4	3	0	1	1	3	1	3	3	0	3	0	0	4	0	4
32	1	0	4	3	0	3	4	0	0	0	1	0	0	0	3	4	3	1	1	3	0	1	0	1	1	4
33	0	1	0	3	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	3	1	3	0	3
34	3	1	1	3	0	4	3	0	0	0	0	0	4	1	0	3	1	1	3	4	0	4	0	3	1	1
35	1	3	4	0	1	3	0	1	1	0	1	3	0	0	3	1	1	1	1	4	1	4	1	3	0	3
36	1	1	0	1	1	1	4	0	0	0	3	0	3	1	1	4	3	0	0	1	1	1	1	3	0	1
37	1	0	1	3	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	0	3	0	3	1	3	1	0	1	0	1	4
38	3	1	3	0	1	1	0	0	0	0	1	3	0	0	1	0	1	0	3	0	0	1	0	0	0	3
39	0	3	3	4	0	0	1	0	1	0	0	0	3	1	0	1	0	1	0	3	3	3	1	1	1	1
40	0	1	0	3	0	3	3	0	0	0	3	3	1	0	0	3	1	0	0	3	1	4	0	1	0	0
41	0	0	4	1	0	4	0	1	0	1	1	1	4	0	3	0	0	1	3	1	0	3	1	3	0	0
42	0	3	0	0	1	3	4	0	0	0	1	0	4	0	1	3	3	0	1	4	1	0	0	1	1	1
43	1	0	0	0	1	0	3	0	1	0	3	1	4	0	3	3	3	1	0	1	3	1	3	0	1	3
44	0	1	0	1	0	1	4	0	0	1	0	3	4	1	0	1	3	0	1	3	0	1	1	3	1	1
45	1	1	1	3	1	1	4	0	1	1	0	0	1	3	0	3	1	3	0	4	0	3	3	1	0	3
46	1	1	1	0	1	3	1	0	0	0	1	0	4	3	1	0	1	0	3	4	3	1	0	3	0	1
47	0	3	0	0	1	4	3	0	1	0	3	0	4	1	3	3	0	1	1	5	1	0	1	3	0	0
48	1	1	3	0	1	4	4	3	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	4	3	1	0	0	1	1	1
49	1	1	4	1	0	3	3	3	3	3	1	3	4	0	1	0	3	3	1	3	0	3	0	3	0	0
50	0	0	1	0	0	1	4	0	0	1	0	0	1	0	3	1	1	3	0	3	1	0	1	1	1	1
51	1	3	3	1	1	0	4	0	0	0	3	1	0	3	0	3	0	1	3	5	0	1	0	1	0	3
52	0	0	4	3	0	1	1	3	1	0	1	1	4	1	0	1	1	0	3	4	0	3	0	1	0	3
53	0	1	4	1	0	3	3	1	1	1	1	0	3	0	0	0	0	3	3	0	1	0	1	1	1	0
54	1	0	4	0	0	1	3	0	0	1	0	0	3	0	0	0	3	0	3	1	3	0	3	3	1	1
55	0	1	1	3	1	3	4	0	1	0	0	1	4	1	1	5	1	1	1	3	0	3	3	1	1	0
56	0	3	1	4	0	4	3	0	0	1	1	0	3	3	3	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	3
57	1	1	1	1	0	0	4	1	3	3	0	0	0	0	3	3	1	3	1	3	1	0	0	1	1	0
58	1	1	0	4	1	3	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	1	1	3	3	1
59	1	0	3	3	1	0	3	0	1	1	0	0	1	0	1	0	3	1	3	0	0	0	0	3	1	1
60	0	0	3	4	1	0	3	1	3	0	1	1	4	1	0	3	1	0	1	4	1	0	0	3	3	3

**Anexo 7.** Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (2º avaliação, repetições 1 e 2) avaliado em 16/01/2012. Arroz irrigado.

	Repetição 1													Repetição 2													
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	
1	0	0	1	4	1	0	0	4	5	1	1	1	4	0	1	0	0	4	0	1	0	4	4	4	0	1	
2	0	4	0	0	0	5	0	0	4	0	5	3	1	4	0	0	0	0	1	4	0	1	0	0	1	0	
3	0	0	0	3	1	0	1	3	0	1	3	0	3	0	0	3	1	3	0	0	1	0	1	1	1	0	
4	0	3	0	0	3	4	4	0	3	0	1	0	1	1	1	5	0	0	0	4	1	3	0	0	0	1	
5	0	1	1	0	0	3	1	0	0	4	3	3	0	0	1	0	0	1	1	4	0	0	0	0	0	0	
6	1	0	0	0	1	0	0	4	2	3	0	0	1	0	0	4	4	0	3	5	1	3	3	3	1	1	
7	0	1	1	1	0	0	1	3	5	1	1	0	3	1	1	3	0	1	3	1	3	4	1	1	3	0	
8	3	4	3	3	0	3	0	0	1	0	3	5	0	0	0	3	1	4	0	0	4	4	1	1	1	3	
9	3	3	0	0	0	4	0	3	0	4	0	3	3	0	0	3	0	4	0	5	3	0	3	3	1	1	
10	0	1	0	0	1	3	3	3	3	0	3	0	4	1	1	0	1	0	1	0	4	3	0	0	0	0	
11	1	0	0	0	0	1	0	3	0	0	1	1	5	0	1	1	4	1	3	0	1	0	1	1	0	3	
12	0	1	1	3	5	3	0	3	1	0	1	4	5	1	0	3	0	0	0	3	0	1	0	0	1	0	
13	1	1	1	1	3	4	0	4	1	0	1	1	3	1	1	0	0	3	0	1	0	0	3	3	0	4	
14	1	3	0	3	0	4	4	5	0	1	3	5	0	1	0	1	0	3	0	0	1	1	4	4	0	0	
15	0	3	3	0	0	3	4	3	0	0	0	3	3	1	0	4	1	0	1	1	0	0	4	4	1	0	
16	1	1	1	0	2	5	0	3	5	3	3	0	4	0	0	0	0	0	1	3	1	1	0	0	0	1	
17	3	0	0	0	3	0	3	1	0	3	1	0	3	1	1	0	0	0	3	4	1	0	3	3	0	4	
18	0	3	1	0	1	5	0	4	4	1	4	1	3	3	4	0	1	3	1	4	3	1	0	0	0	0	
19	0	3	3	0	0	0	3	5	4	5	0	0	0	3	4	0	0	4	0	1	0	0	4	4	0	1	
20	3	1	0	1	1	1	3	3	0	0	4	3	3	0	0	3	0	0	1	0	3	3	3	3	0	3	
21	0	0	0	1	4	3	0	3	1	1	3	3	3	0	0	0	0	4	1	1	0	0	0	0	0	1	
22	1	0	1	3	3	0	3	1	0	3	4	0	0	0	0	3	1	3	0	3	1	0	4	4	0	4	
23	0	0	0	0	0	0	3	1	0	1	0	0	1	0	0	0	4	0	0	0	3	0	0	0	1	0	
24	0	0	3	0	1	0	4	0	1	3	0	1	4	0	0	3	4	0	1	0	0	4	4	4	0	0	
25	3	3	0	0	3	3	4	1	3	0	3	0	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	5	5	1	1	
26	3	1	1	1	1	3	0	4	0	0	3	0	1	0	0	3	0	0	0	4	3	0	5	5	0	3	
27	0	0	3	0	0	0	4	0	1	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	
28	0	0	0	0	3	3	0	3	1	1	3	0	5	3	0	3	0	3	0	1	0	0	0	0	1	1	
29	0	1	1	3	1	3	0	4	3	0	0	0	4	0	4	1	0	1	1	1	1	3	1	1	0	0	
30	0	0	5	3	4	0	0	0	3	1	1	0	4	1	0	3	4	3	1	0	3	1	0	0	1	0	
31	0	0	5	1	1	4	3	4	1	0	0	3	3	3	1	0	1	0	0	1	1	0	3	3	0	3	
32	0	0	1	1	0	4	1	5	0	1	0	0	4	0	0	4	0	1	1	3	0	0	5	5	3	1	
33	0	0	3	0	0	3	1	4	0	3	4	5	1	0	0	3	1	4	3	0	1	1	1	1	1	0	
34	0	1	0	3	0	0	3	4	3	0	1	0	3	0	1	1	0	0	0	4	4	0	0	0	0	1	
35	3	3	3	1	5	3	0	0	1	1	1	0	3	0	0	0	3	1	1	3	3	1	1	1	0	0	
36	3	0	3	0	3	3	1	4	3	0	0	0	5	0	1	0	1	0	0	4	0	1	1	1	0	3	
37	0	0	5	0	4	4	1	3	0	0	1	3	5	3	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	4	
38	3	0	3	0	4	1	3	3	0	3	1	0	0	4	0	0	0	0	0	1	4	3	0	0	1	0	
39	0	0	3	3	3	3	0	1	3	1	3	0	1	1	1	1	0	1	1	1	3	1	1	1	3	0	
40	0	0	5	1	0	0	0	4	1	0	4	1	4	4	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
41	3	0	3	1	3	0	3	3	0	1	4	3	3	3	0	0	3	0	3	0	0	4	3	3	1	1	
42	0	0	3	0	0	1	4	3	0	0	1	3	4	0	0	1	1	0	1	1	0	3	3	3	0	3	
43	0	1	5	3	4	3	0	3	0	1	0	1	0	0	0	3	3	0	0	0	5	4	4	1	0	0	
44	3	3	3	0	3	4	0	5	1	1	0	0	4	3	0	3	1	0	0	3	1	0	4	4	0	3	
45	1	1	0	0	0	0	1	4	3	0	1	0	3	0	1	4	3	1	0	4	4	1	5	5	1	0	
46	3	1	4	3	4	4	3	3	4	0	1	1	3	1	1	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	
47	0	0	3	1	4	3	0	3	4	1	3	3	1	0	0	5	3	0	0	3	0	3	3	3	0	1	
48	0	0	0	0	0	3	0	1	1	0	0	0	0	3	1	3	0	0	1	1	4	0	1	1	0	0	
49	3	1	3	0	0	0	0	1	0	0	5	1	3	0	4	1	1	0	3	1	3	4	4	1	3		
50	1	0	3	3	3	1	1	0	3	0	1	4	0	4	0	3	3	0	0	1	4	1	0	5	5	1	1
51	3	3	4	0	0	0	1	4	0	1	0	3	0	1	1	0	0	0	0	3	1	4	4	0	0	0	
52	0	4	5	0	0	4	0	3	3	3	4	0	1	0	1	0	0	0	0	4	0	0	0	3	4	4	
53	1	3	3	1	4	0	0	0	4	1	1	0	4	0	0	1	1	1	1	3	0	1	0	0	3	0	
54	3	0	3	1	3	4	4	3	5	3	3	1	5	1	0	0	0	0	0	1	0	4	4	3	3	3	
55	5	1	1	0	0	0	3	4	5	0	0	0	0	3	0	1	3	3	1	0	1	3	0	0	0	0	
56	0	4	5	3	3	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	4	0	1	0	3	3	1	1	1	3	1	
57	4	0	0	0	0	3	3	3	0	0	4	0	4	0	0	3	1	0	1	1	3	3	0	0	3	4	
58	0	0	3	0	3	4	4	1	1	0	4	3	3	0	1	1	1	1	0	5	0	0	3	3	3	0	
59	3	3	3	1	0	1	1	3	3	1	1	1	0	1	0	0	3	3	1	4	0	1	1	0	1	1	
60	0	0	5	0	0	3	0	4	1	0	0	0	1	3	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	

**Anexo 8.** Dados de campo para incidência de brusone nas folhas (2º avaliação, repetições 3 e 4) avaliado em 16/01/2012. Arroz Irrigado.

	Repetição 3													Repetição 4												
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13
1	3	3	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	3	0	0	1	0	5	0	0	0	0
2	0	3	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
3	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	3	0	0	4	1	1	1	0	0	3	0	1	0	3
4	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3	3	3	4	0	0	0	3	0	0	0	3	0	1	3	0	0
5	0	1	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0	5	1	0	0	3	1	1	3	3	3	1	0	0	3
6	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	3	0
7	0	1	3	3	0	1	0	0	3	0	0	0	0	4	0	1	1	1	1	0	0	0	3	0	0	0
8	0	0	4	0	1	3	0	0	0	0	3	1	1	3	1	1	0	1	3	0	3	3	1	1	0	3
9	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	3	0	0	1	0	3	0	0
10	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	3	0	3	0	3	0	1	0	1	1	0
11	1	0	0	0	1	1	0	3	1	0	1	0	0	0	1	3	3	0	1	1	0	0	1	1	0	0
12	0	3	3	1	3	0	1	1	0	1	3	1	1	1	0	0	3	0	0	0	0	0	3	0	3	1
13	3	0	4	0	1	3	3	0	1	0	1	0	3	1	1	3	0	0	0	1	3	3	1	1	0	0
14	3	0	3	1	0	1	0	1	0	0	0	1	3	1	3	0	3	1	1	3	1	0	1	3	0	0
15	3	1	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	1	1	0	0	1	0	3	1	0	0	1	1	0	0
16	1	1	0	5	3	3	3	0	0	1	0	0	0	1	1	1	3	3	0	4	1	0	0	0	0	1
17	3	3	0	0	0	3	0	1	0	3	0	0	0	1	1	3	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	1	3	1	0	3	1	1	0
19	0	1	0	0	1	3	3	0	0	1	1	4	1	0	3	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1
20	0	4	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	5	0	3	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	4
21	1	0	0	0	3	0	0	0	0	3	1	1	4	0	3	1	3	1	0	3	0	4	3	3	0	4
22	3	1	0	0	1	0	4	0	1	0	0	0	1	3	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	4
23	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	3	0	3	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
24	0	0	1	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	3	1	0	0	1	3	0	1	0	4	0	3
25	0	1	4	1	0	4	3	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	3	1	1	0	0	1	0
26	1	0	0	0	1	0	3	0	0	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	3	4
27	3	0	3	1	0	1	0	0	1	1	0	3	4	4	0	3	3	0	1	1	0	0	4	3	1	3
28	0	0	3	1	0	1	3	1	0	0	1	0	4	0	0	0	3	0	3	0	0	1	0	0	0	0
29	0	1	1	0	1	0	4	1	1	0	0	1	4	3	1	4	0	3	0	4	1	0	0	0	1	0
30	1	0	3	1	0	0	3	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	4	0	3	1	1	0	0
31	3	0	4	0	1	0	0	1	3	1	0	1	0	1	3	0	0	0	1	1	0	0	0	3	0	0
32	0	1	0	1	0	1	3	0	0	0	1	0	1	0	4	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	4
33	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
34	0	3	3	0	3	0	3	0	3	0	1	3	3	3	0	0	3	1	0	0	0	0	1	1	3	4
35	1	0	0	1	0	3	4	0	0	0	3	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	3	4	0	4
36	3	1	4	3	0	4	0	1	0	0	1	0	0	1	0	3	3	0	1	3	0	1	0	1	1	3
37	0	0	4	0	0	0	3	3	0	1	0	3	3	1	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0
38	0	1	0	1	3	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	3	0	1	1	0
39	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	3	3	0	0	0	1
40	1	0	4	0	0	3	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	3
41	3	0	3	3	0	0	0	3	0	0	0	0	3	3	1	0	3	0	1	4	0	1	1	0	0	1
42	0	0	0	0	0	3	1	0	3	1	0	0	0	0	0	1	0	3	0	3	1	0	0	0	0	0
43	0	1	0	0	1	1	0	0	0	3	0	1	4	1	0	0	0	0	1	0	0	3	0	1	0	1
44	1	0	4	0	0	3	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	3	0	3	0	1	0	1	1
45	3	0	1	3	0	0	3	0	1	1	0	0	3	3	0	3	3	3	0	1	3	1	0	0	1	0
46	0	3	3	0	3	1	3	0	3	0	1	0	3	0	0	0	1	0	3	3	0	0	1	1	1	3
47	3	0	0	0	1	3	4	3	4	3	1	1	4	0	0	1	4	0	3	0	3	3	0	0	1	1
48	0	1	4	0	1	0	4	0	0	1	0	0	4	3	1	0	1	1	0	1	3	0	0	0	1	0
49	0	0	3	3	0	0	4	0	0	1	0	3	4	1	0	1	0	0	1	0	4	3	1	1	0	0
50	0	3	3	0	3	1	3	1	1	0	3	0	3	1	1	3	0	1	0	3	0	0	0	0	1	0
51	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	1	3	0	1	0	0
52	4	0	0	0	1	0	4	0	0	0	1	0	0	3	1	1	1	0	3	3	0	0	1	0	1	3
53	3	1	4	0	0	0	4	1	0	0	0	1	0	3	1	3	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
54	0	0	3	0	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	4	0	3	0	3	0	0
55	3	1	0	0	0	3	3	1	3	0	0	1	3	0	0	0	4	0	1	0	1	1	1	1	1	1
56	0	0	3	0	1	1	1	0	0	1	1	3	4	1	0	0	3	0	3	3	3	0	1	0	0	0
57	1	1	1	5	0	0	0	3	1	0	3	0	0	0	1	0	1	3	0	1	1	3	0	0	1	1
58	3	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	1	3	4	3	1	0	1	0	0	3	1	1	1	0	0
59	0	1	3	0	1	0	3	0	1	1	1	0	1	3	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1
60	1	0	0	0	3	3	4	1	1	0	0	1	3	1	1	3	3	3	1	3	1	1	1	0	1	3

**Anexo 9.** Dados de campo para incidência de brusone nas panículas (repetições 1 e 2) avaliado em 15/03/2012. Arroz Irrigado.

	Repetição 1													Repetição 2													
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
3	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
8	0	0	0	0	0	5	0	0	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
10	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	3	0	3	0	0	3	3	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	
16	0	0	0	0	1	3	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0
17	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
19	0	0	0	1	3	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0
22	0	0	1	0	0	3	1	0	3	0	0	1	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	1	0	1	0	0	0	0	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
31	0	1	0	3	0	1	5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
34	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
36	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	3	0	0	5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
42	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
43	0	0	0	3	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
49	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
52	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	3	0	1	0	0	0	0	0
53	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0
54	0	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0

**Anexo 10.** Dados de campo para incidência de brusone nas panículas (repetições 3 e 4) avaliado em 15/03/2012. Arroz Irrigado.

	Repetição 3													Repetição 4												
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13
1	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
7	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
9	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
13	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	0	0
15	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	1	1	
16	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	3	0	
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	
18	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
19	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0	0	0	0
22	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
31	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
33	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
34	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	3	1	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
38	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0	1
39	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1
40	1	0	0	0	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
41	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
42	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
43	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
45	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
46	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	1	1
47	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
48	0	0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
49	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
52	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1
54	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
56	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
57	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
59	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

**Anexo 11.** Genótipos observados nos locos microssatélites e SNPs para as linhagens puras recombinantes derivadas do cruzamento entre Chorinho x Puteca. Onde: 2= alelo de Puteca; 0= alelo de Chorinho; 1= heterozigoto; -1= dado faltante; colunas= código das linhagens RILs; linhas: marcador molecular.

	1	3	4	6	7	8	11	12	13	15	16	18	19	20	21	22	24	25	28	29	30	32	36	40	46	51	52	56	58	62	66	70	73	75	76	79	80	81	82		
RM1	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0	-1	2	0	2		
RM7383	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	-1	2	
RM7278	2	2	2	2	2	0	2	2	2	-1	2	0	2	0	-1	2	0	0	0	0	2	0	0	-1	2	2	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2
RM3252	0	2	2	-1	-1	2	2	2	-1	0	2	2	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	0	2	
RM84	0	2	-1	2	-1	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	2	-1	-1	-1	-1	-1	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	-1	-1	0	2	2	2	-1	2	-1	2	
OG65	2	-1	-1	0	0	-1	2	2	2	2	2	0	-1	2	0	2	2	2	0	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0	2	
OG79	0	2	2	-1	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0
S1_35810	0	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	-1	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2	-1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	
S1_37707	-1	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	-1	2	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	-1	0	2	2	2	2	2	0	0	0	
OG12	0	2	2	-1	0	0	-1	-1	-1	-1	0	0	-1	0	-1	0	2	2	-1	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	-1	-1	0	2	2	2	2	2	0	0	0	
S1_38340	0	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	-1	0	0	-1	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	-1	0	2	2	2	2	2	0	0	0	
RM431	-1	2	2	-1	0	-1	2	2	-1	-1	-1	0	0	-1	0	-1	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0
S1_42021	0	2	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	-1	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	-1	0	2	2	2	2	0	2	2	2	
S1_42653	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	-1	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_42523	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	-1	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	-1	0	2	0	2	0	2	2	2	2	2
S1_42491	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	-1	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	0	-1	-1	2	0	2	0	2	2	2	2	
S1_74258	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	-1	2	2	0	-1	-1	2	0	-1	-1	2	0	-1	2	0	2	2	2	-1	-1	-1	-1	-1	
S1_74505	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	-1	
S1_73964	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	-1	
S1_74933	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	2	2	2	0	-1	0	-1	
S1_74437	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	-1	0	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	-1	
S1_72505	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	-1	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	-1	
S1_72712	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	-1	
S1_73272	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	-1	
S1_73527	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	-1	

	1	3	4	6	7	8	11	12	13	15	16	18	19	20	21	22	24	25	28	29	30	32	36	40	46	51	52	56	58	62	66	70	73	75	76	79	80	81	82	
S1_73600	-1	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	2	0	-1	-1	0	2	2	-1	0	-1	0	-1	0	-1
RM259	2	0	2	0	-1	0	2	-1	2	2	0	0	2	-1	0	2	0	0	-1	2	0	0	0	2	0	2	-1	2	2	0	2	-1	2	2	0	0	-1	0	0	
RM5359	2	2	2	0	0	0	2	-1	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	-1	2	2	0	2	2	0	0	2	0	0	
OG78	2	-1	0	-1	0	0	-1	2	2	2	0	-1	2	2	-1	2	2	2	-1	0	-1	0	2	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0
S1_14734	2	0	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_15348	-1	2	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_18468	2	2	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_18604	2	2	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_18525	-1	2	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_18590	2	2	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	-1	0	0	0	-1	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_18530	2	2	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_19195	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	-1	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
S1_19139	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2
RM1075	0	0	2	0	2	2	0	2	0	-1	2	2	-1	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	-1	2	2	2	0	2	2	2	0	2	2	-1	0	2	0	2	
RM7636	0	0	0	-1	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	-1	-1	0	-1	-1	2	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	-1	0	2	2	0	0	
RM145	0	0	-1	-1	0	2	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	-1	0	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	
S2_80160	0	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	
RM7501	0	0	0	-1	0	2	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	
S2_16407	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	2	-1	2	2	-1	-1	0	2	-1	2	0	2	0	-1	2	2	0	-1	
S2_16252	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	0	-1	2	2	0	0	
S2_16398	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	0	-1	2	2	0	0	
S2_20343	2	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0
RM7205	2	2	-1	-1	2	-1	2	-1	-1	2	2	2	2	-1	0	2	-1	2	-1	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	2	-1	-1	0	2	-1	2	2	0	0	0	
RM7511	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	2	2	-1	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0
J3	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	0	2	0	0	-1	2	2	2	0	2	0	0	2	0	0	-1	2	0	0	0	
OG63	-1	0	2	2	-1	-1	-1	-1	0	2	-1	2	2	0	0	2	2	2	2	0	2	-1	0	2	-1	2	2	0	2	0	-1	-1	0	0	0	0	-1	0	0	
RM3774	2	0	2	2	0	0	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	-1	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	-1
RM498	2	0	2	-1	0	0	2	2	0	2	0	2	2	-1	-1	-1	2	2	-1	0	2	2	0	2	2	-1	2	0	2	-1	0	-1	0	0	0	0	2	0	-1	
RM207	-1	0	2	-1	0	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	-1	2	-1	0	2	2	0	2	-1	2	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	



	1	3	4	6	7	8	11	12	13	15	16	18	19	20	21	22	24	25	28	29	30	32	36	40	46	51	52	56	58	62	66	70	73	75	76	79	80	81	82	
RM22	2	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2	2	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	2	0	0	-1	2	0	2	0	2	0	2	2	0	2	0	0	
RM569	2	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2	-1	-1	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	0	-1	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0
OG5	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	-1	2	2	0	2	-1	2	2	0	0	-1	-1	2	-1	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	-1	0	0	0	
RM3461	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	0	2	0	-1	2	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	-1	0	0	2	0	0	
S3_86525	2	2	2	0	-1	2	0	2	0	2	0	2	2	0	2	0	-1	2	0	-1	0	0	-1	2	0	-1	0	2	2	-1	-1	0	2	2	-1	-1	2	0	-1	
RM232	-1	2	2	0	0	2	0	2	0	-1	0	2	2	0	2	-1	-1	-1	0	-1	0	0	2	2	-1	2	2	-1	2	-1	-1	0	2	2	0	0	-1	0	0	
RM5551	2	2	2	2	-1	2	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	2	-1	-1	-1	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	-1	0	2	2	0	0	-1	2	0	
OG44	2	2	2	-1	0	2	-1	-1	2	-1	2	0	-1	0	-1	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0
RM422	2	2	2	-1	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	0	-1	2	0	2	2	-1	0	0	-1	0	2	0	2	0	
S4_30176	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	-1	2	0	2	0	2	0	2	2	
S4_30261	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	2	2	2	2	
OSR15	2	2	2	2	-1	2	0	2	0	0	2	2	2	-1	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	-1	2	0	2	2	-1
RM348	-1	2	2	2	0	2	0	-1	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	-1	2	-1	2	2	2	0	0	0	2	0	2	2	0	
RM349	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	-1	-1	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	2	0	
S4_32558	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0
S4_32606	-1	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0
S4_32566	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	-1
S4_32515	-1	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0
S4_32015	-1	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0
S4_31953	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0
S4_32053	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0
RM7200	2	0	-1	0	0	-1	0	2	0	-1	2	0	2	2	0	0	0	2	0	2	-1	0	-1	-1	2	2	-1	2	0	0	-1	-1	0	0	0	2	2	0	0	
RM335	-1	0	0	0	0	2	0	0	2	-1	2	0	2	2	0	-1	-1	-1	0	-1	2	0	2	-1	-1	0	-1	-1	0	0	-1	2	0	0	0	2	-1	0	0	
OG61	0	0	0	-1	2	2	-1	2	2	-1	0	2	-1	2	-1	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
OG47	2	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2	-1	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	-1
RM164	0	0	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	-1	0	-1	0	0	0	0	-1	-1	0	2	2	2	0	2	-1	0	2	2	0	0	2	0	2	
RM7196	0	0	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	-1	0	2	-1	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	
RM7363	0	0	0	2	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	0	0
RM3853	2	-1	0	-1	2	2	-1	0	2	0	0	2	0	0	2	-1	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0

	1	3	4	6	7	8	11	12	13	15	16	18	19	20	21	22	24	25	28	29	30	32	36	40	46	51	52	56	58	62	66	70	73	75	76	79	80	81	82
S5_43479	2	2	0	2	2	2	-1	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0
S5_45643	2	2	0	2	2	2	-1	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0
RM437	2	2	0	-1	2	2	-1	-1	2	0	0	2	0	0	-1	-1	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	-1	0	2	0	2	-1	2	2	2	0	0	0	0
RM13	2	-1	2	2	2	2	0	-1	-1	2	2	-1	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	-1	-1	-1	0	2	0	0
S6_25179	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0
S6_24104	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0
S6_24136	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0
S6_24221	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0
S6_24269	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	2	-1	-1	2	0	-1	2	2	2	0	2	0	2	2	-1
RM7213	0	2	2	0	0	0	2	-1	0	0	2	0	0	0	0	2	2	-1	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2
RM5055	0	2	-1	0	0	-1	2	-1	0	-1	2	2	0	-1	0	0	2	2	0	0	-1	2	-1	0	2	0	2	0	0	0	2	-1	0	2	0	2	0	2	0
RM7161	0	0	2	0	0	2	2	-1	2	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	-1	0	0	-1	-1	2	0	2	2	0	-1	-1	0	-1	0	0	0
S7_69851	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	0	0
S7_21149	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	-1	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	-1	2	-1	-1	2	-1	0	2	-1	0	-1	-1	-1	0	0	0	0
S7_21028	-1	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	-1	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_20969	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_20950	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	-1	2	2	2	2	2	0	-1	2	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_20906	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_20843	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_20790	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_21075	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_20734	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0
S7_21134	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	-1
S7_20770	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	-1	2	2	-1	-1	2	0	-1	2	0	2	2	-1	0	0	0	0
S7_22645	-1	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	-1	0	0	2	0	2	2	2	0	-1	0	0
S7_23236	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	-1	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2
S7_22592	-1	0	-1	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	-1	0	2	2	2	0	-1	0	0
S7_22549	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	0	-1	0	0
S7_22492	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2	0	-1	0	0

	1	3	4	6	7	8	11	12	13	15	16	18	19	20	21	22	24	25	28	29	30	32	36	40	46	51	52	56	58	62	66	70	73	75	76	79	80	81	82	
RM10	2	0	2	-1	2	0	2	0	-1	0	0	2	2	-1	0	0	2	2	2	2	2	0	-1	2	0	2	0	2	-1	0	2	0	2	2	2	0	-1	0	-1	
RM234	2	0	2	-1	2	0	0	2	-1	0	0	2	2	-1	0	0	2	2	2	2	0	2	-1	0	0	0	-1	2	-1	0	2	0	2	2	0	2	2	0	2	
RM18	2	0	2	2	2	0	0	2	0	0	0	2	-1	-1	-1	-1	2	2	-1	-1	0	2	0	-1	0	0	-1	2	2	0	2	-1	2	0	0	2	2	0	2	
RM420	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	-1	0	0	0	2	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	
RM38	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	-1	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	-1	0	2	2	2	0	2	2	-1
S8_75069	0	0	-1	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	-1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	-1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	
S8_64655	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	
S8_59479	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	-1	2	-1	-1	-1	2	2	0	-1	2	2	2	-1	2	2	2	2	
S8_61191	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	-1	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_81198	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_81537	-1	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	-1	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	
S8_81108	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_79731	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_79494	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_84333	2	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_87742	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_17156	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	-1	2	-1	2	2	2	2	-1	0	2	2	2	2	2	2	0	2	
S8_17228	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
S8_16842	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
S8_16344	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
S8_16867	-1	-1	-1	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	-1	2
S8_16339	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
S8_16974	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
S8_17533	-1	0	0	-1	-1	0	-1	2	0	2	2	0	-1	2	0	2	-1	-1	2	0	0	-1	0	2	0	0	-1	2	-1	0	0	-1	-1	2	-1	-1	2	0	0	
S8_17553	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	-1	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	0	2	
S8_17623	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
S8_19459	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2
S8_20073	-1	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	-1	2	2	-1	0	0	0	2	0	-1	-1	2	2	0	0	2	2	0	-1	-1	2	0	-1	
RM5353	2	0	2	-1	2	0	2	2	2	-1	0	0	2	-1	0	0	2	2	2	2	0	-1	2	-1	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	

	1	3	4	6	7	8	11	12	13	15	16	18	19	20	21	22	24	25	28	29	30	32	36	40	46	51	52	56	58	62	66	70	73	75	76	79	80	81	82		
RM80	2	0	2	2	2	0	2	2	-1	0	0	0	2	2	-1	0	2	2	2	2	0	-1	2	-1	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2	
RM433	0	0	2	-1	2	0	2	-1	2	2	0	0	0	2	-1	-1	2	-1	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2	0	2	0	2	0	2	2	2
S9_21130	2	-1	2	0	0	2	0	2	-1	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	-1	2	2	2	0	2	-1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	
S9_21145	2	-1	2	0	0	2	0	2	-1	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	-1	2	-1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	
OG45	2	-1	2	2	0	2	0	2	-1	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	-1	-1	-1	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	-1	
OSR28	2	0	0	-1	0	2	0	-1	0	2	0	2	2	0	0	-1	2	0	0	2	-1	0	-1	-1	0	0	2	0	0	-1	-1	2	2	2	2	2	0	0	2	0	
RM3808	2	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	-1	-1	-1	-1	0	0	2	0		
S10_2684	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	
S10_2302	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	
S10_2242	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	
S10_2202	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	2	-1	2	2	-1	0	2	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	-1		
S10_3838	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	
S10_3781	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	
S10_4713	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	
S10_1173	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0	
S10_1174	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	-1	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0	
S10_1168	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	2	0	2	2	2	-1	2	0	0			
S10_1182	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	
S10_1188	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0	
S10_1194	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	
RM224	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	-1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	2	0		
S11_2736	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	-1	0	0	2	-1	-1	2	0	0	0	2	0	0	0		
S11_2752	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	0	-1	0		
S11_2753	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	0	-1	0		
RM144	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	-1	-1	2	0	2	0	2	0	0	2	0	-1	0	0		
RM254	0	2	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	-1	0	0	2	0	2	0	0	2	-1	2	2	0			
RM206	0	2	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	2	2	-1	-1	0	0	2	0	2	0	-1	2	2	0	2	0			
S11_2233	-1	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	0	-1	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0			
S11_2098	0	2	-1	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0			

	1	3	4	6	7	8	11	12	13	15	16	18	19	20	21	22	24	25	28	29	30	32	36	40	46	51	52	56	58	62	66	70	73	75	76	79	80	81	82	
S11_2133	-1	2	-1	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	-1	2	0	2	0	2	0	2	-1	
S11_2155	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	
S11_2153	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	
S11_2149	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	
S11_2132	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	
S11_2123	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	
S11_2138	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	
S11_2143	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	-1	2	0	-1	0	0	2	2	-1	2	0	2	0	2	0	2	0	
RM229	2	2	-1	0	2	2	0	2	2	0	2	2	-1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	0	
OG07	2	2	2	-1	2	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	-1	2	2	-1	0	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	-1	
RM209	2	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	0	0	0	0	-1	0	-1	2	0	0	0	0	-1	2	2	0	0	0	2	-1	0	2	2	0	2	0	2	0	
RM7391	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	2	2	-1	0	0	0	0	2	-1	0	0	-1	0	0	2	-1	0	0	2	-1	0	0	2	0	2	0	2	-1	
RM202	-1	2	0	-1	2	0	0	2	-1	0	0	2	2	-1	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	2	2	0	0	2	-1	-1	0	2	-1	2	2	2	2	
RM536	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	-1	0	-1	0	0	0	2	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	-1	2	2	
RM7283	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	0	-1	2	0	0	0	2	-1	0	-1	-1	0	0	2	-1	0	0	2	0	2	-1	2	-1	
S11_9073	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	0	0	-1	0	0	2	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	2	0	
S11_9092	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	0	0	-1	0	0	2	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	2	0	
S11_9011	2	2	-1	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	0	-1	-1	0	0	2	0	0	-1	-1	2	0	0	0	-1	2	-1	2	0	0	2	0	2	2	2	0	
RM3226	0	0	2	-1	2	0	0	0	-1	-1	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	0	-1	-1	0	2	0	2	2	0	0	0	
S12_2343	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0
S12_2331	-1	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0
S12_2330	2	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	-1	0	-1	2	2	-1	2	2	-1	2	0	-1	0	0	0	-1	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0

**Anexo 11. Continuação.**

	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	100	101	102	104	106	108	114	115	116	118	120	121	124	128	132	139	141	142	145	
RM1	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	2	0	-1	0	0	0	-1	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	-1	2	2	
RM7383	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2	2	0	0	-1	2	2	
RM7278	0	2	2	-1	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	-1	0	2	2	2	
RM3252	-1	2	2	-1	0	0	-1	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	2	0	0	-1	2	0	2	-1	2	-1	
RM84	-1	2	2	2	2	2	-1	2	2	2	-1	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2	
OG65	-1	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	
OG79	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	-1	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	
S1_35810	2	0	0	2	2	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	
S1_37707	2	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	
OG12	2	0	0	2	0	2	-1	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	
S1_38340	2	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	-1	2	2	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	
RM431	-1	2	0	2	0	2	-1	2	2	0	2	-1	2	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	-1	-1	-1	
S1_42021	2	0	2	2	0	2	2	2	-1	0	2	2	0	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2
S1_42653	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2
S1_42523	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2
S1_42491	2	0	2	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	-1	0	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2
S1_74258	2	2	2	-1	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	-1	0	2	0	0	2	2	-1	0	0	0	0	2	2	2
S1_74505	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2
S1_73964	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2
S1_74933	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	
S1_74437	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	0	-1	0	0	2	2	2	
S1_72505	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2
S1_72712	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2
S1_73272	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2
S1_73527	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2
S1_73600	2	-1	2	0	-1	2	-1	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	-1	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2
RM259	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	-1	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	

	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	100	101	102	104	106	108	114	115	116	118	120	121	124	128	132	139	141	142	145
RM5359	2	2	2	0	2	2	0	2	-1	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	-1	0	0	2	2	2
OG78	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	2	2	2	0	2	0	0	2	0	2
S1_14734	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	2	0	2
S1_15348	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_18468	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_18604	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_18525	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_18590	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_18530	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_19195	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
S1_19139	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2
RM1075	-1	2	0	0	2	2	2	0	2	2	-1	2	2	0	2	-1	0	0	0	0	2	0	2	0	2	-1	2	-1	0	-1	0
RM7636	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	-1	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0
RM145	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	-1	0	2	0	0	0	-1	2	2	0	-1	0	-1	2	-1	-1	0
S2_80160	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	-1	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0
RM7501	0	0	0	2	0	2	2	0	0	-1	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0
S2_16407	2	-1	0	2	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0
S2_16252	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0
S2_16398	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	2	-1	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0
S2_20343	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	0	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	2	0
RM7205	2	0	-1	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	-1	0	2	2	2	2	2	2	2	-1
RM7511	0	0	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	-1	2	2	2	-1	2	2
J3	0	-1	-1	2	2	2	0	0	2	2	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	-1	2	2	2	-1	-1	0
OG63	-1	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	2
RM3774	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	2
RM498	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0	-1	2
RM207	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	0	0	-1	0	2	0	0	0	0	0	2	0	-1	2	2	0	0	2
RM22	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2
RM569	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	-1	2	2	0	2	2	2	0	0	0	2	2

	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	100	101	102	104	106	108	114	115	116	118	120	121	124	128	132	139	141	142	145
OG5	0	-1	0	2	0	0	0	-1	0	0	0	2	0	2	0	-1	2	0	2	2	0	-1	0	2	0	0	0	0	2	2	0
RM3461	0	0	2	2	0	2	0	0	2	0	-1	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0
S3_86525	0	0	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0
RM232	0	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	-1	2	2	0
RM5551	0	2	0	0	2	2	0	-1	2	2	-1	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0	-1	2	2	0	0	0	0	2	-1	0
OG44	0	0	0	2	2	2	-1	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
RM422	-1	0	0	2	-1	2	-1	2	2	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	0	0
S4_30176	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	2	0	2
S4_30261	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2
OSR15	0	0	2	0	-1	2	0	2	2	2	0	0	2	2	-1	0	2	2	0	2	-1	2	2	2	-1	2	-1	2	2	0	0
RM348	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
RM349	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	-1	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
S4_32558	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
S4_32606	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	2	2	2	2	-1	2	2	0	0
S4_32566	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
S4_32515	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
S4_32015	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
S4_31953	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
S4_32053	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0
RM7200	-1	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	0	2	2	-1	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	0
RM335	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	-1	0	0	2
OG61	2	0	0	2	0	0	-1	2	0	2	0	2	2	0	0	-1	0	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0
OG47	2	2	0	0	2	2	2	2	-1	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2	-1	0
RM164	0	0	0	0	-1	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0
RM7196	0	0	0	2	-1	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	0
RM7363	0	0	0	2	-1	-1	2	2	-1	2	-1	2	0	0	2	-1	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	2	0	2	2
RM3853	0	0	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	-1	2	0	0	0	2	2
S5_43479	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2
S5_45643	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2



	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	100	101	102	104	106	108	114	115	116	118	120	121	124	128	132	139	141	142	145
RM437	-1	0	0	2	2	0	-1	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	-1	0	2	2	2	0	0	0	2	2
RM13	2	0	0	2	2	0	2	2	0	-1	0	2	-1	-1	0	-1	-1	0	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	0	2	2
S6_25179	2	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	-1	-1	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	-1	0	0
S6_24104	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	0	2	2	-1	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0
S6_24136	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	0	2	2	-1	2	0	2	2	0	0	0	0	2	0	-1	0	0	2	0	0
S6_24221	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	0	2	2	-1	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	-1	0	0	2	0	0
S6_24269	2	0	2	-1	2	0	-1	2	2	2	2	0	2	2	-1	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0
RM7213	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	2	-1	0	2	2	0
RM5055	-1	2	2	2	0	0	0	0	0	2	-1	2	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	0	-1	2	2	0
RM7161	2	2	-1	0	2	0	2	0	-1	-1	-1	-1	-1	-1	2	-1	-1	-1	2	2	0	0	0	0	0	-1	0	2	-1	0	0
S7_69851	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	-1	2	0
S7_21149	0	0	0	-1	-1	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0
S7_21028	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	-1	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_20969	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	-1	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_20950	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_20906	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_20843	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_20790	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_21075	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	-1	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_20734	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_21134	0	-1	0	2	2	0	-1	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_20770	0	0	0	-1	-1	0	0	0	0	0	0	-1	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_22645	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	-1	0	-1	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_23236	0	0	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	-1	2	0	0	0	0	0	0	-1	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_22592	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
S7_22549	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	-1	0	2	0	2	2	2	0
S7_22492	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	2	-1	2	2	2	0
RM10	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0
RM234	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0

	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	100	101	102	104	106	108	114	115	116	118	120	121	124	128	132	139	141	142	145
RM18	0	-1	0	0	2	0	0	-1	0	0	0	2	2	-1	-1	0	2	2	0	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	2	2	2
RM420	0	2	2	2	2	0	2	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2
RM38	-1	0	2	2	0	0	2	2	2	0	-1	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	-1	0	0	2	2	2	-1	-1
S8_75069	2	0	2	2	2	0	-1	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_64655	2	0	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_59479	2	0	2	-1	-1	0	0	2	0	0	0	-1	2	2	0	-1	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_61191	2	0	2	2	2	0	0	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_81198	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_81537	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	-1	2	0	2	2	2
S8_81108	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_79731	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_79494	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_84333	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_87742	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2
S8_17156	2	-1	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	-1	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
S8_17228	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
S8_16842	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
S8_16344	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
S8_16867	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
S8_16339	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
S8_16974	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	2	2
S8_17533	2	0	-1	-1	-1	-1	-1	0	0	0	2	0	-1	2	0	0	0	2	0	-1	0	0	2	2	-1	0	2	0	2	2	2
S8_17553	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	-1	2	0	2	2	2
S8_17623	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S8_19459	2	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S8_20073	2	0	2	-1	-1	2	-1	0	0	0	2	-1	2	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2
RM5353	2	2	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	-1	2	2	2	0	-1	0	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	-1	0
RM80	-1	2	2	0	0	2	0	-1	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0	2	-1	0	0	-1
RM433	2	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2	-1	0	-1	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2	0	2	0

	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	100	101	102	104	106	108	114	115	116	118	120	121	124	128	132	139	141	142	145
S9_21130	0	2	2	2	0	2	2	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0
S9_21145	0	2	2	2	0	2	2	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0
OG45	0	2	2	2	0	2	2	2	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	-1	0
OSR28	0	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	0	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0
RM3808	0	0	2	0	0	2	2	2	0	2	0	0	-1	-1	-1	0	0	0	0	0	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	2
S10_2684	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	-1	0	2	0	2	2	-1	2	0	0	0	0	2	2
S10_2302	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	2	0	2	2	-1	2	0	0	0	0	2	2
S10_2242	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	2	0	2	2	-1	2	0	0	0	0	2	2
S10_2202	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	-1	2	0	2	0	2	2	-1	2	0	0	0	0	2	2
S10_3838	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	0	0	2	2
S10_3781	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	0	0	2	2
S10_4713	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	0	0	2	2
S10_1173	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2
S10_1174	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2
S10_1168	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2
S10_1182	0	0	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2
S10_1188	0	0	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	-1	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2
S10_1194	0	0	0	0	2	0	0	2	0	2	2	-1	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2
RM224	0	0	0	2	0	2	-1	2	0	0	0	0	-1	0	2	0	2	0	0	0	-1	2	0	0	-1	2	2	2	0	-1	0
S11_2736	0	-1	0	-1	0	2	-1	2	2	0	0	0	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0
S11_2752	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0
S11_2753	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	2	2	2	0	0	0
RM144	0	-1	0	2	0	2	2	2	0	0	-1	0	0	0	2	0	2	0	0	-1	0	2	-1	0	0	2	2	2	0	0	0
RM254	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	-1	2	0	0	2	2	2	0	0	-1
RM206	0	2	0	2	0	2	0	2	2	0	0	0	-1	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2
S11_2233	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	0
S11_2098	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2
S11_2133	-1	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2
S11_2155	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2

	84	85	86	87	88	90	91	92	93	94	95	97	100	101	102	104	106	108	114	115	116	118	120	121	124	128	132	139	141	142	145
S11_2153	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	-1	0	2	0	2	2
S11_2149	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2
S11_2132	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	-1	2	0	2	2
S11_2123	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2
S11_2138	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2
S11_2143	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	0	0	2	-1	2	0	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	2	2
RM229	-1	0	-1	2	-1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	-1	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2
OG07	2	0	0	2	-1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2	-1	0	0	0	0	0	2	0	-1	2
RM209	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
RM7391	2	2	0	2	0	0	0	2	0	-1	0	0	2	0	0	2	2	0	0	2	0	0	0	0	-1	2	0	2	0	0	0
RM202	2	2	0	2	0	-1	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	-1	2	0	-1	0	-1	0	2	0	2	0	0	-1
RM536	-1	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	-1	-1
RM7283	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	-1	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0
S11_9073	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	-1	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0
S11_9092	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2	2	0	-1	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0
S11_9011	-1	2	0	-1	-1	0	0	2	0	0	0	-1	2	0	0	2	2	-1	-1	2	0	-1	0	0	0	2	0	2	0	0	0
RM3226	-1	0	2	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	-1	2	2	0	0	0	2	-1	2	2	2	2	0	2	-1	2
S12_2343	0	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S12_2331	0	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S12_2330	0	0	2	0	0	-1	-1	2	0	0	0	0	-1	2	2	2	-1	2	0	0	0	2	2	2	-1	2	2	0	2	2	2

## Anexo 11. Continuação

	146	147	148	151	163	164	165	168	169	171	172	173	176	179	183	187	188	189	195	197	199	200	201	203	204	207	209	210
RM1	2	2	2	0	0	0	-1	0	2	-1	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2	0	-1	2
RM7383	0	2	2	0	0	0	2	0	2	-1	2	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	-1	2	2	0	2	2
RM7278	0	2	2	-1	0	0	2	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	2
RM3252	0	2	-1	0	0	0	2	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	-1	2	2	0	2	2
RM84	0	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	2	2	2	2	0	0	-1	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2
OG65	2	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	-1	-1	2	0	0	0	0	2	2	0	2	2	-1	2	0	2	2
OG79	-1	2	2	2	2	2	0	0	0	-1	0	-1	0	2	2	-1	0	-1	0	0	0	2	2	0	2	0	0	2
S1_35810	0	2	2	0	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	2
S1_37707	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	-1	0	2	0	2	2
OG12	-1	0	0	0	2	-1	2	2	-1	0	0	-1	-1	2	-1	0	0	2	2	0	0	2	-1	0	2	0	2	2
S1_38340	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2
RM431	0	-1	-1	0	2	2	0	2	2	0	0	0	-1	2	2	0	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2
S1_42021	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0
S1_42653	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0
S1_42523	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0
S1_42491	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	-1	2	0	2	0	0	-1	2	-1	2	-1	2	2	0	0	-1	0
S1_74258	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	-1	2	0	-1
S1_74505	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0
S1_73964	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0
S1_74933	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	-1	2	0	0	0	2	2	2	-1	0	0	0	2	2	2	-1	0
S1_74437	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	-1	2	2	-1	0	0	0	-1	2	2	0	0
S1_72505	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0
S1_72712	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0
S1_73272	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0
S1_73527	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0
S1_73600	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	0	0
RM259	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	-1	-1	-1	0	-1	-1	0	2	0	0	0	0	-1	2	2	-1	0	0

	146	147	148	151	163	164	165	168	169	171	172	173	176	179	183	187	188	189	195	197	199	200	201	203	204	207	209	210
RM5359	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0
OG78	-1	0	-1	2	2	0	0	2	0	0	2	0	-1	0	0	0	0	0	2	2	0	-1	0	2	2	2	2	2
S1_14734	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	0	0	2	2	0	0	2
S1_15348	2	0	0	0	2	0	0	2	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	2	2	0	0	2
S1_18468	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
S1_18604	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
S1_18525	2	0	0	0	2	0	0	0	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
S1_18590	2	0	0	0	2	0	0	0	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
S1_18530	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
S1_19195	2	0	0	0	2	0	0	0	-1	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
S1_19139	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2
RM1075	0	2	-1	-1	0	0	2	0	0	2	0	2	2	0	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	0	2
RM7636	0	2	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0
RM145	0	2	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0
S2_80160	0	2	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	0	2	0	2	0	2	2	0
RM7501	-1	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	-1	0	2	2	0	0	-1	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0
S2_16407	0	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	0	-1	2	2	2	2	0	2	0	2	2	0
S2_16252	0	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	0	-1	2	2	2	2	0	2	0	2	2	0
S2_16398	0	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	0	-1	2	2	2	2	0	2	0	2	2	0
S2_20343	0	2	2	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	0	2	0
RM7205	2	2	0	2	2	-1	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0
RM7511	2	0	2	0	2	0	0	-1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	-1	2	2	-1	0	0	2	2	0
J3	-1	-1	-1	2	2	2	0	2	0	-1	0	-1	-1	0	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2	-1	-1
OG63	-1	2	0	2	2	2	0	0	2	2	-1	0	2	-1	2	0	0	2	0	2	2	-1	2	2	2	2	2	0
RM3774	-1	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	-1	-1	2	0	0	-1	-1	2	2	0	-1	-1	2	-1	2	0
RM498	2	2	0	-1	2	2	0	2	2	2	0	0	-1	-1	-1	-1	2	0	2	0	2	0	-1	0	2	-1	2	0
RM207	2	2	0	0	2	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	-1	0	-1	0	0	-1	2	0
RM22	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	2	2	-1	-1	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	2
RM569	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	-1	0	0	2	0	-1	2	0	-1	2	0	2	-1	2	2	0	0	2

	146	147	148	151	163	164	165	168	169	171	172	173	176	179	183	187	188	189	195	197	199	200	201	203	204	207	209	210	
OG5	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	
RM3461	2	2	2	0	0	-1	0	0	0	-1	2	2	0	2	0	0	2	-1	0	0	0	2	2	2	2	2	0	2	
S3_86525	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	
RM232	-1	2	-1	0	0	0	0	0	0	-1	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	2	
RM5551	2	-1	0	0	-1	0	0	0	0	2	2	0	-1	2	0	0	2	-1	2	0	-1	-1	2	2	0	2	2	2	
OG44	-1	2	0	0	0	-1	2	2	-1	2	2	-1	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	-1	2	2	0	0	2	
RM422	0	-1	0	0	0	2	-1	2	0	-1	2	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	2	
S4_30176	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	-1	0	2	2	2	-1	0	0	2	2	-1	-1	-1	2	2	-1	2	
S4_30261	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	-1	2	2	2	0	2	
OSR15	2	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0
RM348	2	2	-1	2	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0
RM349	2	2	2	2	2	0	2	0	2	-1	-1	2	2	2	0	-1	0	0	0	2	2	0	-1	0	0	0	2	2	0
S4_32558	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0
S4_32606	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0
S4_32566	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0
S4_32515	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0
S4_32015	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0
S4_31953	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0
S4_32053	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0
RM7200	2	2	0	0	0	-1	-1	-1	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0
RM335	-1	2	-1	0	0	2	0	2	0	-1	2	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2
OG61	-1	0	-1	0	0	-1	2	2	-1	2	2	0	2	2	-1	2	2	2	-1	2	2	0	-1	0	0	0	0	0	2
OG47	2	2	2	0	0	0	-1	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	0	0	-1	0	-1	0	2	2	2
RM164	-1	2	-1	0	0	0	-1	0	-1	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2
RM7196	2	2	-1	0	2	0	-1	0	0	0	0	0	-1	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	2
RM7363	2	0	0	0	2	-1	0	0	0	-1	0	0	0	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	0	0	0	2	2	2
RM3853	0	0	-1	0	2	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	-1	-1	0	2	2	-1	2	-1	0	0	2	2	2
S5_43479	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2
S5_45643	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2

	146	147	148	151	163	164	165	168	169	171	172	173	176	179	183	187	188	189	195	197	199	200	201	203	204	207	209	210
RM437	-1	0	-1	-1	2	0	2	2	0	-1	0	0	-1	2	0	-1	2	0	2	2	2	-1	2	-1	-1	0	2	2
RM13	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	0	2	0	-1	0	2	2	0	0	-1	0	0	2	2
S6_25179	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	2	0	0	-1	2	0	2	0	2	2	0	2	0	-1	2
S6_24104	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2
S6_24136	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	0	-1	0	2	2	0	-1	0	0	-1	0	0	2	-1	2	0	0	2
S6_24221	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	0	-1	0	0	-1	0	0	2	-1	2	0	0	2
S6_24269	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2
RM7213	2	-1	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	0	2	2	2	-1	2	0	2	2	2	0	0	2	0	2	2
RM5055	0	0	0	2	0	-1	-1	0	-1	0	0	2	2	2	-1	2	-1	0	-1	0	2	2	2	0	0	2	0	0
RM7161	0	0	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0	0	2	0	-1
S7_69851	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0
S7_21149	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	-1	2	2	2	0	2	2	-1	0
S7_21028	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_20969	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_20950	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_20906	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_20843	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_20790	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0
S7_21075	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	-1	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_20734	0	0	0	0	-1	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_21134	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	0
S7_20770	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	0
S7_22645	0	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	0	2	-1	2	2	0	2	2	2	2	0
S7_23236	0	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	0	-1	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0
S7_22592	0	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0
S7_22549	0	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0
S7_22492	0	0	0	0	2	0	2	2	-1	2	0	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0
RM10	0	0	-1	0	2	0	2	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	0	2	2	2	2	-1
RM234	0	0	-1	2	2	0	-1	2	2	2	-1	0	2	2	0	-1	0	-1	2	0	2	2	-1	0	0	2	2	-1



	146	147	148	151	163	164	165	168	169	171	172	173	176	179	183	187	188	189	195	197	199	200	201	203	204	207	209	210
RM18	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2	-1	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	2	2	2
RM420	2	0	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0
RM38	2	2	0	0	0	-1	2	0	2	0	0	2	0	2	2	0	0	-1	2	2	0	-1	2	-1	2	2	0	0
S8_75069	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S8_64655	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S8_59479	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S8_61191	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2
S8_81198	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_81537	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	-1	0	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	-1	2
S8_81108	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_79731	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_79494	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_84333	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_87742	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
S8_17156	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_17228	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_16842	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_16344	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_16867	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_16339	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_16974	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_17533	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_17553	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	-1	2	2	-1	2	2	2	-1	2	2	2	-1
S8_17623	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	-1	2	0
S8_19459	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	0
S8_20073	0	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	2	2	2	0	2	0	2	2	-1	2	0	0
RM5353	0	0	-1	-1	2	-1	2	2	-1	0	0	-1	2	2	2	0	2	-1	2	0	0	0	2	2	2	0	2	0
RM80	-1	0	0	2	2	2	2	-1	-1	0	0	-1	-1	2	2	0	2	0	2	0	-1	0	2	2	2	0	2	0
RM433	-1	0	2	2	2	2	2	2	-1	0	-1	-1	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	2	2	2	2	2	0

	146	147	148	151	163	164	165	168	169	171	172	173	176	179	183	187	188	189	195	197	199	200	201	203	204	207	209	210	
S9_21130	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	
S9_21145	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	
OG45	2	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	-1	2	0	2	2	2	
OSR28	2	0	0	0	0	0	-1	0	-1	0	2	-1	0	2	0	2	0	0	2	0	2	0	2	0	0	2	2	2	
RM3808	0	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	2	2	2	2	
S10_2684	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	0	2	
S10_2302	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	0	2	
S10_2242	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	0	2	
S10_2202	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2	0	0	2	0	2	
S10_3838	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	2	
S10_3781	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	2	
S10_4713	2	0	0	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0	-1	2	0	0	0	0	2	0	2	
S10_1173	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	
S10_1174	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	
S10_1168	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	
S10_1182	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	
S10_1188	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	
S10_1194	2	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	0	0	0	-1	-1	2	
RM224	-1	0	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	
S11_2736	0	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	
S11_2752	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	
S11_2753	0	0	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	-1	
RM144	0	0	2	-1	2	2	0	0	2	0	0	2	-1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	-1	2	2	0	
RM254	-1	0	2	0	0	-1	0	0	2	0	0	0	2	-1	-1	2	-1	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	
RM206	0	0	2	0	0	-1	0	0	2	0	0	0	0	0	2	2	2	0	-1	0	0	0	0	0	0	-1	2	0	
S11_2233	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	-1	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	-1	0	-1	0	0	
S11_2098	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S11_2133	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S11_2155	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0

	146	147	148	151	163	164	165	168	169	171	172	173	176	179	183	187	188	189	195	197	199	200	201	203	204	207	209	210
S11_2153	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	-1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S11_2149	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S11_2132	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S11_2123	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S11_2138	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
S11_2143	2	0	2	0	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
RM229	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	-1	-1	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	2	2	0
OG07	2	-1	2	0	0	0	-1	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	0	-1	2	0	0	-1	0	0	2	2	0
RM209	-1	0	-1	2	0	0	-1	0	-1	0	0	0	0	0	2	0	0	-1	0	0	0	0	2	0	2	2	2	0
RM7391	0	0	2	2	0	2	2	2	-1	0	-1	-1	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2
RM202	0	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	0	-1	2	2	0	0	0	0	2	-1	0	0	0	2	2	0	2
RM536	0	0	2	2	0	2	2	-1	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2
RM7283	-1	0	-1	2	0	2	-1	2	-1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2
S11_9073	0	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2
S11_9092	0	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2
S11_9011	0	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2
RM3226	0	0	0	2	2	-1	2	0	0	2	-1	0	2	2	-1	2	0	0	-1	0	0	0	2	2	0	-1	2	-1
S12_2343	0	0	0	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0
S12_2331	0	0	0	2	2	2	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0
S12_2330	0	0	0	2	2	2	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0

**Anexo 11. Continuação.**

	213	214	215	216	217	219	221	227	229	231	233	234	236	237	243	247	248	249
RM1	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2
RM7383	0	2	2	0	0	2	0	2	2	-1	-1	0	0	2	2	2	2	2
RM7278	2	2	2	0	2	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	2	2	2	2
RM3252	2	2	2	2	2	2	0	2	0	-1	2	0	0	2	2	2	2	2
RM84	-1	2	2	0	2	0	-1	2	2	2	2	-1	0	2	2	2	2	2
OG65	0	-1	2	0	2	2	2	2	0	-1	0	2	0	2	2	2	2	2
OG79	-1	2	2	0	2	0	2	0	-1	-1	2	2	2	0	2	2	2	2
S1_35810	2	0	2	2	2	0	2	2	0	0	2	2	0	0	2	2	-1	2
S1_37707	0	0	2	2	-1	0	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2	2	2
OG12	0	0	-1	2	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	2	2	2	2
S1_38340	0	0	2	2	-1	2	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
RM431	-1	0	-1	2	0	2	0	0	0	2	2	2	-1	2	2	2	2	2
S1_42021	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	2	2	2	0	-1	2
S1_42653	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	2	2	2	2	-1	2
S1_42523	0	0	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	2	2	2	2	-1	2
S1_42491	-1	0	2	2	0	2	0	0	2	2	0	-1	2	2	-1	2	-1	2
S1_74258	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	-1	2
S1_74505	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2
S1_73964	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2
S1_74933	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	-1	0	0	2	2	-1	2
S1_74437	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	-1	2
S1_72505	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	-1	2
S1_72712	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2
S1_73272	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	2	2
S1_73527	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	-1	2
S1_73600	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2	-1	2
RM259	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	-1	0	2	0	0	2	2	2	2

	213	214	215	216	217	219	221	227	229	231	233	234	236	237	243	247	248	249
RM5359	2	0	0	2	0	-1	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2
OG78	2	0	2	2	0	2	-1	2	2	-1	0	0	0	2	2	2	2	2
S1_14734	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_15348	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_18468	2	0	2	2	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_18604	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_18525	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_18590	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_18530	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_19195	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
S1_19139	2	0	2	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	2	0
RM1075	-1	-1	0	2	0	2	2	2	0	-1	0	0	0	0	-1	2	2	2
RM7636	-1	0	2	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0	2	2	0
RM145	-1	0	2	0	2	2	0	2	0	-1	2	0	0	0	0	2	2	0
S2_80160	2	0	2	0	2	2	0	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0
RM7501	-1	0	2	0	2	2	0	2	0	-1	2	0	0	0	0	2	0	0
S2_16407	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0
S2_16252	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0
S2_16398	2	2	2	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	0	0	2	-1	0
S2_20343	2	2	2	2	0	-1	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	-1	2
RM7205	2	2	2	2	2	0	0	0	2	2	2	2	2	0	0	2	-1	2
RM7511	2	2	2	2	-1	0	0	2	0	0	2	2	2	2	0	0	0	2
J3	2	2	2	2	-1	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	0	0
OG63	-1	0	-1	2	-1	2	0	0	0	0	2	-1	2	0	2	0	0	0
RM3774	2	0	2	2	-1	2	-1	0	0	0	2	-1	2	0	2	0	0	0
RM498	2	0	2	2	0	-1	0	0	0	0	2	0	2	0	-1	0	0	0
RM207	-1	-1	2	2	0	2	0	0	0	0	2	0	2	0	2	0	0	0
RM22	2	2	0	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0
RM569	2	2	0	2	-1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0

	213	214	215	216	217	219	221	227	229	231	233	234	236	237	243	247	248	249
OG5	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	2	0	2	2	0
RM3461	2	-1	0	0	-1	0	2	-1	0	0	2	2	0	2	0	-1	2	0
S3_86525	2	2	0	0	0	0	2	0	2	0	2	2	0	2	0	2	2	0
RM232	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	2	0	2	2	0
RM5551	2	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	-1	2	-1	0	0	0
OG44	0	0	-1	0	2	0	0	2	2	2	2	0	-1	2	2	0	0	0
RM422	0	0	2	0	2	0	0	2	2	-1	2	0	-1	2	2	0	0	0
S4_30176	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	-1	2
S4_30261	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	-1	2
OSR15	-1	0	2	0	2	2	2	2	2	-1	2	2	2	2	2	-1	2	0
RM348	0	0	2	0	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	0	2	0
RM349	0	0	2	0	2	2	2	2	2	-1	2	2	2	2	2	-1	2	0
S4_32558	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
S4_32606	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	-1	2	2	-1
S4_32566	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
S4_32515	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
S4_32015	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
S4_31953	0	0	2	0	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
S4_32053	0	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
RM7200	2	2	2	0	0	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	2	0	0	2
RM335	2	2	2	0	-1	2	2	0	2	-1	0	2	0	2	2	0	0	2
OG61	2	0	-1	0	-1	0	0	2	0	0	2	0	2	0	0	2	2	2
OG47	2	0	0	0	-1	0	0	2	0	-1	2	0	2	0	0	2	0	2
RM164	2	2	0	2	2	0	0	2	0	-1	2	0	0	0	2	0	2	2
RM7196	2	2	0	2	-1	0	0	2	2	0	2	0	0	0	0	0	-1	-1
RM7363	2	2	0	2	-1	0	0	2	2	0	0	0	0	0	-1	0	-1	2
RM3853	0	2	0	2	0	2	2	0	2	-1	0	0	0	0	0	-1	0	2
S5_43479	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2
S5_45643	0	2	0	2	0	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2

	213	214	215	216	217	219	221	227	229	231	233	234	236	237	243	247	248	249
RM437	0	2	2	2	-1	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	2
RM13	0	2	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
S6_25179	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	2	0	2	0
S6_24104	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0
S6_24136	-1	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	-1	2	2	-1	2	2	0
S6_24221	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	-1	2	2	2	2	2	0
S6_24269	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	0
RM7213	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	-1	0	0	2	0	2	2	2	0
RM5055	2	2	0	-1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2
RM7161	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	2	0	-1
S7_69851	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	0	0	0	0
S7_21149	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	-1	0	0	2	0	2	0
S7_21028	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_20969	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_20950	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_20906	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_20843	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_20790	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_21075	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_20734	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_21134	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_20770	2	2	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
S7_22645	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0
S7_23236	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0
S7_22592	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0
S7_22549	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	-1	0	2	0
S7_22492	2	2	0	0	2	2	0	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0
RM10	2	2	0	0	2	2	0	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0
RM234	2	2	2	0	2	-1	2	0	2	-1	2	0	2	0	2	0	2	0

	213	214	215	216	217	219	221	227	229	231	233	234	236	237	243	247	248	249
RM18	2	2	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	0
RM420	2	2	2	0	2	0	2	2	2	0	2	2	2	2	0	2	2	0
RM38	0	0	0	2	-1	0	2	0	2	0	2	2	2	0	0	0	0	0
S8_75069	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	-1	0
S8_64655	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0
S8_59479	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0
S8_61191	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0
S8_81198	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0
S8_81537	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	-1	2	0	0	2	0	0
S8_81108	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0
S8_79731	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	-1	0	0
S8_79494	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0
S8_84333	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	-1	0
S8_87742	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	-1	0
S8_17156	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2
S8_17228	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2
S8_16842	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2
S8_16344	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2
S8_16867	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2
S8_16339	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2
S8_16974	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	2
S8_17533	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	-1	2
S8_17553	-1	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	-1	2	-1	2
S8_17623	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	2	2
S8_19459	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	0	2	-1	2
S8_20073	0	2	0	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	0	2	2	-1	2
RM5353	-1	2	0	2	-1	0	2	0	-1	0	2	-1	0	0	2	2	2	2
RM80	2	2	0	2	-1	0	2	-1	0	0	2	0	0	0	-1	0	2	2
RM433	2	0	0	2	2	-1	2	0	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2



	213	214	215	216	217	219	221	227	229	231	233	234	236	237	243	247	248	249
S9_21130	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	-1	0
S9_21145	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0
OG45	2	2	0	2	0	2	2	0	0	0	0	0	2	2	2	-1	2	0
OSR28	2	2	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0
RM3808	2	0	2	0	2	0	2	0	0	0	0	2	2	2	0	2	0	0
S10_2684	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_2302	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0
S10_2242	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0
S10_2202	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	-1	2	0	0	2	0
S10_3838	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_3781	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_4713	2	-1	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_1173	0	-1	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_1174	0	-1	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_1168	0	-1	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_1182	0	-1	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0
S10_1188	0	-1	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0
S10_1194	0	-1	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0
RM224	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	2	0	0	0	0	2	2
S11_2736	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	-1	2
S11_2752	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	-1	0	-1	2
S11_2753	0	2	2	0	2	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	-1	2
RM144	0	2	2	0	2	0	0	0	2	0	2	2	0	0	0	0	2	2
RM254	0	2	0	0	2	2	2	2	2	-1	2	0	0	0	0	0	0	0
RM206	0	2	2	0	2	2	2	2	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2233	0	2	2	0	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2098	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2133	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2155	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0

	213	214	215	216	217	219	221	227	229	231	233	234	236	237	243	247	248	249
S11_2153	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2149	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2132	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2123	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2138	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_2143	0	2	0	2	2	2	2	0	2	0	-1	0	0	2	0	0	0	0
RM229	0	2	-1	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	0	0	0
OG07	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	0	0	0
RM209	0	2	0	0	2	2	-1	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0
RM7391	0	2	2	0	2	2	0	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0
RM202	-1	2	-1	2	2	-1	0	2	0	-1	-1	0	0	2	0	0	2	0
RM536	0	2	2	0	2	2	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
RM7283	0	2	2	0	2	2	0	2	0	0	-1	0	0	2	0	0	0	0
S11_9073	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_9092	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0	0	0	0
S11_9011	0	2	2	0	2	2	0	0	2	2	2	0	0	2	0	0	0	0
RM3226	0	0	2	0	-1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
S12_2343	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2
S12_2331	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2
S12_2330	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	2

**Anexo 12.** Testes de distorção de segregação Mendeliana dos marcadores utilizados na análise

MarkerID	MarkerName	Chromosome	Position	Size(2/12)	Size(1)	Size(0/10)	Size(-1)	Chi-Square	Pr>ChiSq	HetBand
1	RM1	1	0	50	0	59	7	0,7431	0,3887	NA
2	RM7383	1	4,75	59	0	50	7	0,7431	0,3887	NA
3	RM7278	1	7,85	62	0	47	7	2,0642	0,1508	NA
4	RM3252	1	16,26	62	0	41	13	4,2816	0,0385	NA
5	RM84	1	35,4	74	0	22	20	28,1667	0	NA
6	OG65	1	55,45	62	0	43	11	3,4381	0,0637	NA
7	OG79	1	79,55	56	0	50	10	0,3396	0,56	NA
8	S1_35810	1	92	58	0	54	4	0,1429	0,7055	NA
9	S1_37707	1	101,91	56	0	55	5	0,009	0,9244	NA
10	OG12	1	104,11	46	0	51	19	0,2577	0,6117	NA
11	S1_38340	1	109,42	61	0	50	5	1,0901	0,2965	NA
12	RM431	1	112,91	55	0	41	20	2,0417	0,153	NA
13	S1_42021	1	135,02	61	0	51	4	0,8929	0,3447	NA
14	S1_42653	1	136,4	60	0	54	2	0,3158	0,5741	NA
15	S1_42523	1	136,4	60	0	53	3	0,4336	0,5102	NA
16	S1_42491	1	137,91	58	0	44	14	1,9216	0,1657	NA
17	S1_74258	1	170,59	52	0	46	18	0,3673	0,5445	NA
18	S1_74505	1	170,59	56	0	57	3	0,0088	0,9251	NA
19	S1_73964	1	170,59	56	0	57	3	0,0088	0,9251	NA
20	S1_74933	1	172,05	56	0	50	10	0,3396	0,56	NA
21	S1_74437	1	172,54	53	0	53	10	0	1	NA
22	S1_72505	1	172,54	54	0	57	5	0,0811	0,7758	NA
23	S1_72712	1	172,54	56	0	57	3	0,0088	0,9251	NA
24	S1_73272	1	172,54	56	0	57	3	0,0088	0,9251	NA
25	S1_73527	1	172,54	55	0	57	4	0,0357	0,8501	NA
26	S1_73600	1	172,54	47	0	57	12	0,9615	0,3268	NA
27	RM259	1	174,9	48	0	51	17	0,0909	0,763	NA

MarkerID	MarkerName	Chromosome	Position	Size(2/12)	Size(1)	Size(0/10)	Size(-1)	Chi-Square	Pr>ChiSq	HetBand
28	RM5359	1	177,07	59	0	52	5	0,4414	0,5064	NA
29	OG78	1	197,09	57	0	46	13	1,1748	0,2784	NA
30	S1_14734	1	217,3	56	0	58	2	0,0351	0,8514	NA
31	S1_15348	1	218,68	57	0	55	4	0,0357	0,8501	NA
32	S1_18468	1	221,04	53	0	60	3	0,4336	0,5102	NA
33	S1_18604	1	221,49	55	0	59	2	0,1404	0,7079	NA
34	S1_18525	1	221,49	52	0	59	5	0,4414	0,5064	NA
35	S1_18590	1	221,49	53	0	58	5	0,2252	0,6351	NA
36	S1_18530	1	221,49	54	0	59	3	0,2212	0,6381	NA
37	S1_19195	1	221,49	53	0	59	4	0,3214	0,5708	NA
38	S1_19139	1	221,49	55	0	59	2	0,1404	0,7079	NA
39	RM1075	2	0	53	0	47	16	0,36	0,5485	NA
40	RM7636	2	37,2	44	0	64	8	3,7037	0,0543	NA
41	RM145	2	41,56	49	0	56	11	0,4667	0,4945	NA
42	S2_80160	2	44,59	55	0	60	1	0,2174	0,641	NA
43	RM7501	2	52,18	44	0	64	8	3,7037	0,0543	NA
44	S2_16407	2	60,99	56	0	52	8	0,1481	0,7003	NA
45	S2_16252	2	60,99	56	0	58	2	0,0351	0,8514	NA
46	S2_16398	2	60,99	56	0	56	4	0	1	NA
47	S2_20343	2	81,72	62	0	51	3	1,0708	0,3008	NA
48	RM7205	2	111,91	66	0	33	17	11	0,0009	NA
49	RM7511	2	137,76	48	0	59	9	1,1308	0,2876	NA
50	J3	2	155,91	49	0	50	17	0,0101	0,9199	NA
51	OG63	2	169,52	51	0	45	20	0,375	0,5403	NA
52	RM3774	2	169,52	55	0	48	13	0,4757	0,4904	NA
53	RM498	2	172,46	50	0	47	19	0,0928	0,7607	NA
54	RM207	2	174,81	47	0	57	12	0,9615	0,3268	NA
55	RM22	3	0	57	0	55	4	0,0357	0,8501	NA
56	RM569	3	3,03	48	0	59	9	1,1308	0,2876	NA

MarkerID	MarkerName	Chromosome	Position	Size(2/12)	Size(1)	Size(0/10)	Size(-1)	Chi-Square	Pr>ChiSq	HetBand
57	OG5	3	35,01	48	0	58	10	0,9434	0,3314	NA
58	RM3461	3	41,51	55	0	51	10	0,1509	0,6976	NA
59	S3_86525	3	48,79	55	0	50	11	0,2381	0,6256	NA
60	RM232	3	53,46	47	0	54	15	0,4851	0,4861	NA
61	RM5551	3	64,03	51	0	47	18	0,1633	0,6862	NA
62	OG44	3	96,71	47	0	55	14	0,6275	0,4283	NA
63	RM422	3	97,86	41	0	57	18	2,6122	0,106	NA
64	S4_30176	4	0	92	0	15	9	55,4112	0	NA
65	S4_30261	4	1,94	101	0	13	2	67,9298	0	NA
66	OSR15	4	25,35	68	0	36	12	9,8462	0,0017	NA
67	RM348	4	25,35	65	0	46	5	3,2523	0,0713	NA
68	RM349	4	25,35	69	0	38	9	8,9813	0,0027	NA
69	S4_32558	4	28,35	69	0	46	1	4,6	0,032	NA
70	S4_32606	4	28,35	66	0	44	6	4,4	0,0359	NA
71	S4_32566	4	28,35	69	0	45	2	5,0526	0,0246	NA
72	S4_32515	4	28,35	67	0	46	3	3,9027	0,0482	NA
73	S4_32015	4	28,35	68	0	46	2	4,2456	0,0394	NA
74	S4_31953	4	28,79	68	0	47	1	3,8348	0,0502	NA
75	S4_32053	4	29,23	69	0	46	1	4,6	0,032	NA
76	RM7200	4	70,5	45	0	55	16	1	0,3173	NA
77	RM335	4	78,46	45	0	53	18	0,6531	0,419	NA
78	OG61	5	0	55	0	45	16	1	0,3173	NA
79	OG47	5	25,9	57	0	50	9	0,4579	0,4986	NA
80	RM164	5	44,53	45	0	60	11	2,1429	0,1432	NA
81	RM7196	5	47,76	45	0	61	10	2,4151	0,1202	NA
82	RM7363	5	52,77	44	0	61	11	2,7524	0,0971	NA
83	RM3853	5	78,68	49	0	55	12	0,3462	0,5563	NA
84	S5_43479	5	82,85	54	0	61	1	0,4261	0,5139	NA
85	S5_45643	5	82,85	54	0	61	1	0,4261	0,5139	NA

MarkerID	MarkerName	Chromosome	Position	Size(2/12)	Size(1)	Size(0/10)	Size(-1)	Chi-Square	Pr>ChiSq	HetBand
86	RM437	5	88,69	51	0	45	20	0,375	0,5403	NA
87	RM13	5	103,14	51	0	49	16	0,04	0,8415	NA
88	S6_25179	6	0	42	0	69	5	6,5676	0,0104	NA
89	S6_24104	6	7,88	51	0	64	1	1,4696	0,2254	NA
90	S6_24136	6	8,83	47	0	60	9	1,5794	0,2088	NA
91	S6_24221	6	9,78	48	0	62	6	1,7818	0,1819	NA
92	S6_24269	6	9,78	51	0	57	8	0,3333	0,5637	NA
93	RM7213	6	40,98	66	0	43	7	4,8532	0,0276	NA
94	RM5055	7	0	48	0	50	18	0,0408	0,8399	NA
95	RM7161	7	14,95	43	0	52	21	0,8526	0,3558	NA
96	S7_69851	7	28,61	66	0	49	1	2,513	0,1129	NA
97	S7_21149	7	56,57	45	0	57	14	1,4118	0,2348	NA
98	S7_21028	7	57,09	56	0	56	4	0	1	NA
99	S7_20969	7	57,09	59	0	55	2	0,1404	0,7079	NA
100	S7_20950	7	57,09	57	0	56	3	0,0088	0,9251	NA
101	S7_20906	7	57,09	59	0	56	1	0,0783	0,7797	NA
102	S7_20843	7	57,09	59	0	56	1	0,0783	0,7797	NA
103	S7_20790	7	57,09	60	0	56	0	0,1379	0,7103	NA
104	S7_21075	7	57,09	59	0	54	3	0,2212	0,6381	NA
105	S7_20734	7	57,09	58	0	56	2	0,0351	0,8514	NA
106	S7_21134	7	57,09	60	0	53	3	0,4336	0,5102	NA
107	S7_20770	7	57,09	51	0	56	9	0,2336	0,6288	NA
108	S7_22645	7	60,82	55	0	55	6	0	1	NA
109	S7_23236	7	62,82	48	0	61	7	1,5505	0,2131	NA
110	S7_22592	7	63,29	51	0	60	5	0,7297	0,393	NA
111	S7_22549	7	63,29	53	0	59	4	0,3214	0,5708	NA
112	S7_22492	7	63,75	55	0	58	3	0,0796	0,7778	NA
113	RM10	7	67,36	57	0	49	10	0,6038	0,4371	NA
114	RM234	7	83,94	55	0	46	15	0,802	0,3705	NA

MarkerID	MarkerName	Chromosome	Position	Size(2/12)	Size(1)	Size(0/10)	Size(-1)	Chi-Square	Pr>ChiSq	HetBand
115	RM18	7	85,09	52	0	49	15	0,0891	0,7653	NA
116	RM420	7	108,88	66	0	49	1	2,513	0,1129	NA
117	RM38	8	0	52	0	50	14	0,0392	0,843	NA
118	S8_75069	8	27,47	72	0	38	6	10,5091	0,0012	NA
119	S8_64655	8	27,92	74	0	41	1	9,4696	0,0021	NA
120	S8_59479	8	28,9	64	0	42	10	4,566	0,0326	NA
121	S8_61191	8	28,9	71	0	44	1	6,3391	0,0118	NA
122	S8_81198	8	31,19	75	0	40	1	10,6522	0,0011	NA
123	S8_81537	8	31,19	70	0	39	7	8,8165	0,003	NA
124	S8_81108	8	31,19	75	0	40	1	10,6522	0,0011	NA
125	S8_79731	8	31,19	74	0	40	2	10,1404	0,0015	NA
126	S8_79494	8	31,19	75	0	40	1	10,6522	0,0011	NA
127	S8_84333	8	31,63	76	0	38	2	12,6667	0,0004	NA
128	S8_87742	8	32,53	74	0	40	2	10,1404	0,0015	NA
129	S8_17156	8	36,49	75	0	36	5	13,7027	0,0002	NA
130	S8_17228	8	36,49	75	0	41	0	9,9655	0,0016	NA
131	S8_16842	8	36,49	75	0	41	0	9,9655	0,0016	NA
132	S8_16344	8	36,49	75	0	41	0	9,9655	0,0016	NA
133	S8_16867	8	36,49	74	0	38	4	11,5714	0,0007	NA
134	S8_16339	8	36,49	75	0	41	0	9,9655	0,0016	NA
135	S8_16974	8	36,49	75	0	41	0	9,9655	0,0016	NA
136	S8_17533	8	38,74	49	0	44	23	0,2688	0,6041	NA
137	S8_17553	8	40,62	72	0	33	11	14,4857	0,0001	NA
138	S8_17623	8	40,62	75	0	40	1	10,6522	0,0011	NA
139	S8_19459	8	41,52	72	0	42	2	7,8947	0,005	NA
140	S8_20073	8	45,79	55	0	47	14	0,6275	0,4283	NA
141	RM5353	8	81,66	51	0	47	18	0,1633	0,6862	NA
142	RM80	8	82,85	51	0	48	17	0,0909	0,763	NA
143	RM433	8	92,85	57	0	47	12	0,9615	0,3268	NA

MarkerID	MarkerName	Chromosome	Position	Size(2/12)	Size(1)	Size(0/10)	Size(-1)	Chi-Square	Pr>ChiSq	HetBand
144	S9_21130	9	0	56	0	55	5	0,009	0,9244	NA
145	S9_21145	9	0	58	0	54	4	0,1429	0,7055	NA
146	OG45	9	1,94	57	0	50	9	0,4579	0,4986	NA
147	OSR28	9	11,19	44	0	61	11	2,7524	0,0971	NA
148	RM3808	9	38,15	50	0	58	8	0,5926	0,4414	NA
149	S10_2684	10	0	60	0	54	2	0,3158	0,5741	NA
150	S10_2302	10	0,9	62	0	52	2	0,8772	0,349	NA
151	S10_2242	10	0,9	62	0	52	2	0,8772	0,349	NA
152	S10_2202	10	0,9	58	0	52	6	0,3273	0,5673	NA
153	S10_3838	10	4,83	62	0	53	1	0,7043	0,4013	NA
154	S10_3781	10	4,83	62	0	53	1	0,7043	0,4013	NA
155	S10_4713	10	5,73	60	0	53	3	0,4336	0,5102	NA
156	S10_1173	10	12,34	60	0	53	3	0,4336	0,5102	NA
157	S10_1174	10	12,34	59	0	53	4	0,3214	0,5708	NA
158	S10_1168	10	12,34	60	0	53	3	0,4336	0,5102	NA
159	S10_1182	10	13,24	60	0	53	3	0,4336	0,5102	NA
160	S10_1188	10	13,7	62	0	51	3	1,0708	0,3008	NA
161	S10_1194	10	14,15	60	0	51	5	0,7297	0,393	NA
162	RM224	11	0	46	0	63	7	2,6514	0,1035	NA
163	S11_2736	11	9,64	43	0	63	10	3,7736	0,0521	NA
164	S11_2752	11	9,64	50	0	62	4	1,2857	0,2568	NA
165	S11_2753	11	9,64	50	0	63	3	1,4956	0,2214	NA
166	RM144	11	15,04	43	0	63	10	3,7736	0,0521	NA
167	RM254	11	26,79	46	0	59	11	1,6095	0,2046	NA
168	RM206	11	31,75	47	0	61	8	1,8148	0,1779	NA
169	S11_2233	11	39,02	45	0	65	6	3,6364	0,0565	NA
170	S11_2098	11	44,66	47	0	67	2	3,5088	0,061	NA
171	S11_2133	11	44,66	47	0	62	7	2,0642	0,1508	NA
172	S11_2155	11	44,66	49	0	66	1	2,513	0,1129	NA



MarkerID	MarkerName	Chromosome	Position	Size(2/12)	Size(1)	Size(0/10)	Size(-1)	Chi-Square	Pr>ChiSq	HetBand
173	S11_2153	11	44,66	47	0	66	3	3,1947	0,0739	NA
174	S11_2149	11	44,66	49	0	66	1	2,513	0,1129	NA
175	S11_2132	11	44,66	49	0	65	2	2,2456	0,134	NA
176	S11_2123	11	44,66	49	0	66	1	2,513	0,1129	NA
177	S11_2138	11	44,66	49	0	66	1	2,513	0,1129	NA
178	S11_2143	11	44,66	48	0	62	6	1,7818	0,1819	NA
179	RM229	11	63,78	49	0	58	9	0,757	0,3843	NA
180	OG07	11	64,84	45	0	60	11	2,1429	0,1432	NA
181	RM209	11	69,34	37	0	69	10	9,6604	0,0019	NA
182	RM7391	11	85,42	40	0	65	11	5,9524	0,0147	NA
183	RM202	11	89,08	45	0	52	19	0,5052	0,4772	NA
184	RM536	11	90,8	40	0	68	8	7,2593	0,0071	NA
185	RM7283	11	91,33	37	0	66	13	8,165	0,0043	NA
186	S11_9073	11	94,45	45	0	69	2	5,0526	0,0246	NA
187	S11_9092	11	94,45	45	0	69	2	5,0526	0,0246	NA
188	S11_9011	11	95,45	43	0	59	14	2,5098	0,1131	NA
189	RM3226	12	0	45	0	55	16	1	0,3173	NA
190	S12_2343	12	7,53	50	0	66	0	2,2069	0,1374	NA
191	S12_2331	12	7,97	51	0	64	1	1,4696	0,2254	NA
192	S12_2330	12	7,97	42	0	63	11	4,2	0,0404	NA